



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0128715
(43) 공개일자 2024년08월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/64 (2017.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/09 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/646 (2017.08)
A61K 39/092 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7026671
- (22) 출원일자(국제) 2023년01월10일
심사청구일자 2024년08월08일
- (85) 번역문제출일자 2024년08월08일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2023/050202
- (87) 국제공개번호 WO 2023/135515
국제공개일자 2023년07월20일
- (30) 우선권주장
63/299,101 2022년01월13일 미국(US)

- (71) 출원인
화이자 인코포레이티드
미국 뉴욕주 10001-2192 뉴욕 허드슨 블러바드 이스트 66
- (72) 발명자
앤더슨, 애널리사 시빌
미국 10965 뉴욕 펄 리버 엔. 미들타운 로드 401
화이자 인코포레이티드 내
갤러거, 케이틀린
미국 10965 뉴욕 펄 리버 엔. 미들타운 로드 401
화이자 인코포레이티드 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 발명의 명칭 **접합된 피막 사카라이드 항원을 포함하는 면역원성 조성물 및 그의 용도**

(57) 요약

본 발명은 신규 접합된 피막 사카라이드 항원 (당접합체), 상기 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물 및 그의 용도에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/6415 (2017.08)

A61K 2039/6037 (2013.01)

(72) 발명자

구, 쉐신

미국 10965 뉴욕 펠 리버 엔. 미들타운 로드 401
화이자 인코포레이티드 내

카네브스키, 이시스

미국 10965 뉴욕 펠 리버 엔. 미들타운 로드 401
화이자 인코포레이티드 내

김, 진-환

미국 10965 뉴욕 펠 리버 엔. 미들타운 로드 401
화이자 인코포레이티드 내

모런, 저스틴 키쓰

미국 10965 뉴욕 펠 리버 엔. 미들타운 로드 401
화이자 인코포레이티드 내

싱, 수드함

미국 10965 뉴욕 펠 리버 엔. 미들타운 로드 401
화이자 인코포레이티드 내

마르타, 아비셱 라빈드라

미국 10965 뉴욕 펠 리버 엔. 미들타운 로드 401
화이자 인코포레이티드 내

양, 위잉

미국 10965 뉴욕 펠 리버 엔. 미들타운 로드 401
화이자 인코포레이티드 내

명세서

청구범위

청구항 1

피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법으로서,

(a) 단리된 피막 사카라이드를 비양성자성 용매 중에서 탄산 유도체 및 아지도 링커와 반응시켜 활성화된 아지도 사카라이드를 생산하는 단계,

(b) 담체 단백질을 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제와 반응시키며, 여기서 NHS 모이어티는 아미노 기와 반응하여 아미드 연결을 형성하고, 그에 의해 알킨 관능화된 담체 단백질을 수득하는 단계,

(c) 단계 (a)의 활성화된 아지도 사카라이드를 Cu^{+1} 매개 아지도-알킨 고리화첨가 반응에 의해 단계 (b)의 활성화된 알킨-담체 단백질과 반응시켜 당접합체를 형성하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 2

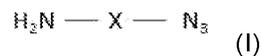
제2항에 있어서, 단리된 피막 사카라이드가 활성화 단계 (a) 전에 200 kDa 내지 800 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정되는 것인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 탄산 유도체가 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI), 1,1'-카르보닐-디-(1,2,4-트리아졸) (CDT), 디숙신이미딜 카르보네이트 (DSC) 및 (N)-히드록시숙신이미딜 클로로포르메이트로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아지도 링커가 하기 화학식 (I)의 화합물인 방법:



여기서 X는 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$, $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_n$ 및 $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서 n은 1 내지 10으로부터 선택되고, m은 1 내지 4로부터 선택된다.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아지도 링커가 하기 화학식 (II)의 화합물인 방법.



청구항 6

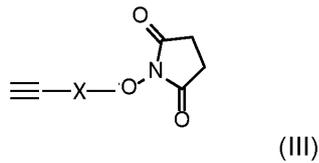
제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제가 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 말단 알킨을 보유하는 작용제인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제가 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 시클로알킨을 보유하는 작용제인 방법.

청구항 8

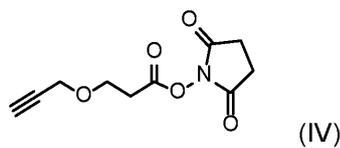
제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제가 하기 화학식 (III)의 화합물인 방법:



여기서 X는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 및 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 n은 0 내지 10으로부터 선택되고, m은 0 내지 4로부터 선택된다.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제가 하기 화학식 (IV)의 화합물인 방법.



청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 a)가 피막 사카라이드를 비양성자성 용매 중에서 탄산 유도체와 반응시킨 후, 탄산 유도체-활성화된 피막 사카라이드를 아지도 링커와 반응시켜 활성화된 아지도 피막 사카라이드를 생산하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 a)에서, 단리된 피막 사카라이드를 0.1% 내지 1% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시키는 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 a)에서, 탄산 유도체 활성화 후에 물을 첨가하는 것인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 a)가 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.01-10 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 접합 반응 c)가 촉매로서 구리 (I)의 존재 하에 수성 완충제 중에서 수행되는 것인 방법.

청구항 15

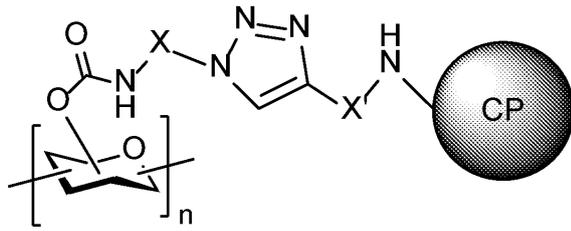
제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 당접합체가 생산된 후에 이를 정제하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항의 방법에 따라 생산된 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 17

스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 하기 화학식 (VII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체:



(VII)

여기서 X는 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$, $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_n$ 및 $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서 n'은 1 내지 10으로부터 선택되고, m은 1 내지 4로부터 선택되고,

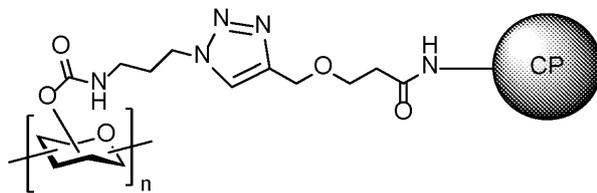
여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$, $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 n''은 0 내지 10으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택된다.

청구항 18

스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체로서, 여기서 X는 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$ 이고, 여기서 n'은 2이고, 여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n''은 1인 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 19

스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 하기 화학식 (VIII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체.



(VIII)

청구항 20

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 피막 사카라이드를 포함하고, 여기서 접합 전의 상기 피막 사카라이드의 중량 평균 분자량 (Mw)이 10 kDa 내지 2,000 kDa인 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 21

제16항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 250 kDa 내지 20,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 22

제16항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 피막 사카라이드 당접합체의 접합도가 2 내지 15인 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 23

제16항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 당접합체 내의 담체 단백질에 대한 피막 사카라이드의 비 (w/w)가 0.5 내지 3.0인 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 24

제16항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 사카라이드의 5 내지 10개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함하는 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 25

제16항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 담체 단백질이 CRM₁₉₇, SCP, DT (디프테리아 독소이드), TT, (파상풍 독소이드) 또는 PD (에이치. 인플루엔자에 단백질 D)인 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 병원성 박테리아로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 27

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 에스. 뉴모니아에로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아닌 것인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.

청구항 29

제16항 내지 제28항 중 어느 한 항의 피막 사카라이드 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규 접합된 피막 사카라이드 항원 (당접합체), 상기 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물 및 그의 용도에 관한 것이다. 본 발명의 면역원성 조성물은 전형적으로 당접합체를 포함할 것이며, 여기서 사카라이드는 박테리아 피막 폴리사카라이드 항원, 특히 병원성 박테리아로부터 유래된 피막 폴리사카라이드로부터 유래된다. 본 발명은 또한 상기 당접합체를 사용한 감염에 대한 인간 대상체, 특히 유아 및 노인의 백신접종에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 그람-양성 및 그람-음성 박테리아 둘 다는 세포의 구획인 캡슐을 생산할 수 있으며, 이는 박테리아 세포를 덮고, 종종 기저 세포 표면 항원과 그의 상동 항체의 반응을 방지한다. 캡슐은 의학적으로 중요한 여러 박테리아, 특히 장외 및 침습성 균주에서 발견된다. 박테리아 캡슐은 주로 폴리사카라이드로 구성된다. 이들은 세포 주위에 젤라틴성 덩어리를 형성한다. 피막 폴리사카라이드는 중요한 면역원이고 백신의 설계에서 중요한 성분으로 이어졌다. 이들은 특히 담체 단백질에 연결 시 면역 반응을 유도하는 데 유용한 것으로 입증되었다.

[0003] 면역원성이 불량한 분자를 "담체" 분자에 접합시킴으로써 이들 분자의 면역원성을 증가시키는 접근법이 수십년 동안 성공적으로 이용되었다 (예를 들어, 문헌 [Goebel et al. (1939) J. Exp. Med. 69: 53] 참조). 예를 들어, 정제된 피막 중합체가 담체 단백질에 접합되어 상기 "담체 효과"를 이용함으로써 보다 효과적인 면역원성 조성물을 생성하는 많은 면역원성 조성물이 기재되어 있다 (문헌 [Schneerson et al. (1984) Infect. Immun. 45: 582-591]). 접합은 또한 유리 폴리사카라이드로 면역화되었을 때 영아에서 통상적으로 관찰되는 불량한 항체 반응을 우회하는 것으로 밝혀졌다 (문헌 [Anderson et al. (1985) J. Pediatr. 107: 346; Insel et al. (1986) J. Exp. Med. 158: 294]).

[0004] 접합체는 다양한 가교 또는 커플링 시약, 예컨대 동중이관능성, 이중이관능성 또는 제로-길이 가교제를 사용하여 성공적으로 생성되었다. 면역원성 분자, 예컨대 사카라이드, 단백질 및 펩티드를 펩티드 또는 단백질 담체에 커플링시키기 위한 많은 방법이 현재 이용가능하다. 대부분의 방법은 아민, 아마이드, 우레탄, 이소티오우레아, 또는 디술피드 결합, 또는 일부 경우에 티오에테르를 생성한다. 반응성 부위를 담체 및/또는 면역원성 분

자 상의 반응성 아미노산 분자의 측쇄 내로 도입하는 가교 또는 커플링 시약의 사용에 대한 단점은 반응성 부위가 중화되지 않는 경우에는 이것이 임의의 원치않는 분자와 시험관내에서 자유롭게 반응하거나 (이로써, 접합체의 기능성 또는 안정성에 잠재적으로 유해한 영향을 미침) 또는 생체내에서 자유롭게 반응한다는 것이다 (이로써, 제제로면역화된 사람 또는 동물에서 유해 사건의 잠재적 위험을 제기함). 이러한 과도한 반응성 부위는 다양한 공지된 화학적 반응을 이용하여 이들 부위가 불활성화되도록 반응시키거나 "캡핑"할 수 있지만, 이들 반응은 접합체의 기능성에 달리 지장을 줄 수도 있다.

[0005] 따라서, 기능성이 보존되고 접합체가 목적하는 면역 반응을 도출하는 능력을 보유하도록 적절하게 캡핑된 신규 당접합체 및 상기 접합체를 제조하는 방법에 대한 필요가 남아있다.

[0006] 본 발명자들은 당접합체를 생성하는 신규하고 효과적인 방법을 발견하였다. 방법은 매우 낮은 유리 사카라이드 및 우수한 수율을 갖는 접합체를 생성하는 것을 가능하게 한다. 게다가, 본 발명자들은 일부 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 (예를 들어, 35B 및 29 폴리사카라이드)이 그의 독특한 구조로 인해 접합체를 생성하는 데 특정한 도전과제를 제기한다는 것을 발견하였다. 면역원성 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 폴리사카라이드-담체 단백질 접합체 및 그의 개선된 제조 방법에 대한 필요성이 존재한다.

발명의 내용

[0007] 한 측면에서, 본 발명은 하기를 포함하는 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법에 관한 것이다:

[0008] (a) 단리된 피막 사카라이드를 비양성자성 용매 중에서 탄산 유도체 및 아지도 링커와 반응시켜 활성화된 아지도 사카라이드를 생산하는 단계,

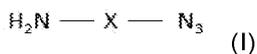
[0009] (b) 담체 단백질을 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제와 반응시키며, 여기서 NHS 모이어티는 아미노 기와 반응하여 아미드 연결을 형성하고, 그에 의해 알킨 관능화된 담체 단백질을 수득하는 단계,

[0010] (c) 단계 (a)의 활성화된 아지도 사카라이드를 Cu^{+1} 매개 아지도-알킨 고리화침가 반응에 의해 단계 (b)의 활성화된 알킨-담체 단백질과 반응시켜 당접합체를 형성하는 단계.

[0011] 한 측면에서, 단리된 사카라이드는 활성화 단계 (a) 전에 크기조정된다.

[0012] 한 측면에서, 탄산 유도체는 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI), 1,1'-카르보닐-디-(1,2,4-트리아졸) (CDT), 디숙신이미딜 카르보네이트 (DSC) 및 (N)-히드록시숙신이미딜 클로로포르메이트로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0013] 한 측면에서, 상기 아지도 링커는 화학식 (I)의 화합물이다:



[0014] 여기서 X는 $CH_2(CH_2)_n$, $(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$, $NHCO(CH_2)_n$, $NHCO(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$, $OCH_2(CH_2)_n$ 및 $O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서 n은 1 내지 10으로부터 선택되고, m은 1 내지 4로부터 선택된다.

[0016] 한 측면에서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제는 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 말단 알킨을 보유하는 작용제이다.

[0017] 한 측면에서, 단계 a)는 비양성자성 용매 중에서 피막 사카라이드를 탄산 유도체와 반응시킨 후, 탄산 유도체-활성화된 피막 사카라이드를 아지도 링커와 반응시켜 활성화된 아지도 피막 사카라이드를 생산하는 것을 포함한다.

[0018] 한 측면에서, 접합 반응 c)는 촉매로서 구리 (I)의 존재 하에 수성 완충제 중에서 수행된다.

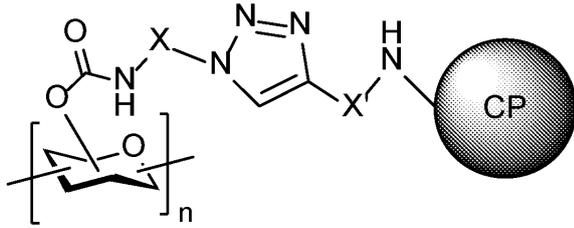
[0019] 한 측면에서, 단계 c) 후에, 방법은 접합체에 남아있는 미반응 아지도 기를 아지도 기 캡핑제로 캡핑하는 단계를 추가로 포함한다.

[0020] 한 측면에서, 단계 c) 후에, 방법은 접합체에 남아있는 미반응 알킨 기를 알킨 기 캡핑제로 캡핑하는 단계를 추가로 포함한다.

[0021] 한 측면에서, 본 발명은 상기 방법에 따라 생산된 피막 사카라이드 당접합체에 관한 것이다.

[0022] 추가 측면에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 하기

화학식 (VII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체에 관한 것이다:



(VII)

[0023]

[0024]

[0025]

[0026]

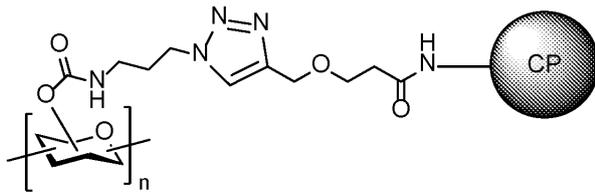
[0027]

여기서 X는 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{n'}$, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_{n'}$, $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_{n'}$ 및 $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서 n' 은 1 내지 10으로부터 선택되고, m 은 1 내지 4로부터 선택되고,

여기서 X' 는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_{n''}\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$, $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m'}(\text{CH}_2)_{n''}\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 n'' 은 0 내지 10으로부터 선택되고, m' 은 0 내지 4로부터 선택된다.

특정한 측면에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체에 관한 것이며, 여기서 X는 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{n'}$ 이고, 여기서 n' 은 2이고, 여기서 X' 는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_{n''}\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n'' 은 1이다.

특정한 측면에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 하기 화학식 (VIII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체에 관한 것이다.



(VIII)

[0028]

도면의 간단한 설명

[0029]

도 1은 에스. 뉴모니아에 혈청형 35B 피막 폴리사카라이드의 반복되는 폴리사카라이드 구조를 도시한다.

도 2는 에스. 뉴모니아에 혈청형 29 피막 폴리사카라이드의 반복되는 폴리사카라이드 구조를 도시한다.

도 3은 클릭 화학을 사용하고 아지도 링커로서 3-아지도-1-프로필아민을 사용하여 제조된 본 발명의 당접합체의 제조를 위한 반응식을 도시한다. CP = 담체 단백질, CDI = 1,1'-카르보닐디이미다졸.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030]

본 발명자들은 신규 폴리사카라이드-담체 단백질 접합체 및 이들 접합체를 제조하는 방법을 개발하였다. 당접합체를 생성하는 방법은 매우 낮은 유리 사카라이드 및 우수한 수율을 갖는 당접합체의 생산을 가능하게 하는 것으로 밝혀졌다.

[0031]

또한, 본 발명자들은 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 35B 및 29 폴리사카라이드가 접합체를 생성하는 데 특정한 도전과제를 제기한다는 것을 발견하였다. 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 35B 및 29 폴리사카라이드는 통상적으로 사용되는 환원성 아미노화 과정에 사용되는 전형적인 산화제인 퍼아이오데이트에 의한 활성화 동안 절단되는 것으로 밝혀졌다. 퍼아이오데이트 산화는 혈청형 35B 및 29 폴리사카라이드의 백분 상에서 발생하고, 만니톨 또는 리비톨을 절단하여 크기 감소를 유도하는 것으로 보인다. 이는 특정 크기의 활성화된 혈청형 35B 및 29 폴리사카라이드를 수득하는 것에 대한 어려움을 포함한 여러 문제를 유발한다. 퍼아이오데이트에 의한 활성화는 유효 활성화 범위를 대폭 제한하는 폴리사카라이드 Mw의 감소를 초래한다.

[0032]

WO 2020/247299는 혈청형 35B 접합체 속성을 주장한 대로 개선시키기 위해 퍼아이오데이트의 양을 감소시키고 접합 반응을 위해 특정 온도 범위를 사용하는 것을 제안한다. 그러나, 이러한 해결책은 낮은 수율 및/또는 높은 유리 사카라이드를 유도하는 것으로 밝혀졌다. 본 발명자들은 신규 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 35B

및 29 폴리사카라이드-담체 단백질 접합체 및 이들 접합체를 제조하기 위한 상기 결합을 겪지 않는 개선된 방법을 개발하였다.

- [0033] 1. 본 발명의 당접합체
- [0034] 본 발명은 부분적으로 접합된 박테리아 피막 사카라이드 항원 (당접합체로도 명명됨)에 관한 것이다. 본 발명의 목적을 위해 용어 '당접합체'는 담체 단백질에 공유 연결된 피막 사카라이드 (특히 박테리아 피막 사카라이드)를 나타낸다.
- [0035] 1.1 본 발명의 피막 사카라이드
- [0036] 본 명세서 전반에 걸쳐 용어 "사카라이드"는 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드를 나타낼 수 있고, 둘 다를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 사카라이드는 올리고사카라이드일 수 있다. 올리고사카라이드는 적은 수의 반복 단위 (전형적으로 5-15개의 반복 단위)를 갖고, 전형적으로 합성적으로 또는 폴리사카라이드의 가수분해에 의해 유래된다. 그러나 바람직하게는, 본 발명의 사카라이드 및 본 발명의 면역원성 조성물 중의 사카라이드는 모두 폴리사카라이드이다. 고분자량 폴리사카라이드는 항원 표면 상에 존재하는 에피토프로 인해 특정 항체 면역 반응을 유도할 수 있다. 고분자량 피막 폴리사카라이드의 단리 및 정제는 바람직하게는 본 발명의 접합체, 조성물 및 방법에 사용하기 위해 고려된다. 따라서, 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 사카라이드는 폴리사카라이드이다.
- [0037] 바람직하게는, 본 발명에 사용된 사카라이드는 박테리아 피막 사카라이드 (본원에서 '피막 사카라이드'로도 명명됨)이다. 캡슐은 의학적으로 중요한 여러 박테리아에서 발견된다. 박테리아 캡슐은 주로 폴리사카라이드로 구성된다. 피막 사카라이드는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 표준 기술에 의해 제조된다.
- [0038] 본 발명의 가장 바람직한 실시양태에서, 사카라이드는 에스. 뉴모니아에 피막 폴리사카라이드이다.
- [0039] 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 합성 탄수화물이다.
- [0040] 그러나, 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 따른 박테리아 피막 사카라이드의 공급원은 박테리아 세포일 수 있다. 피막 사카라이드의 공급원으로서 사용될 수 있는 박테리아 균주는 확립된 배양 수집물 (예컨대, 예를 들어 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (ATCC, 미국 버지니아주 마나사스) 또는 스트렙토코쿠스 표준 실험실 (질병 관리 예방 센터, 미국 조지아주 애틀랜타)) 또는 임상 시편으로부터 획득될 수 있다.
- [0041] 박테리아 피막 사카라이드는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 단리 절차를 사용하여 박테리아로부터 직접 획득될 수 있다 (예를 들어, US2006/0228380, US2006/0228381, US2007/0184071, US2007/0184072, US2007/0231340, 및 US2008/0102498 및 W02008/118752에 개시된 방법 참조). 이들은 또한 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 합성 프로토콜을 사용하여 제조될 수 있다.
- [0042] 박테리아 피막 사카라이드가 박테리아로부터 직접 획득되는 경우, 박테리아 세포는 배지에서 성장될 수 있다. 피막 사카라이드를 생산하는 박테리아 세포의 발효 후, 박테리아 세포를 용해시켜 세포 용해물을 생산할 수 있다. 이어서, 원심분리, 침출 여과, 침전, 환외여과, 활성탄으로의 처리, 투석여과 및/또는 칼럼 크로마토그래피의 사용을 포함한 관련 기술분야에 공지된 정제 기술을 사용하여 세포 용해물로부터 피막 사카라이드를 단리할 수 있다 (예를 들어, US2006/0228380, US2006/0228381 및 W02008/118752 참조). 이어서, 정제된 피막 사카라이드는 면역원성 접합체의 제조에 사용될 수 있다.
- [0043] 정제에 의해 획득된 단리된 피막 사카라이드는, 예를 들어 중량 평균 분자량 (Mw)을 포함한 상이한 파라미터에 의해 특징화될 수 있다. 폴리사카라이드의 분자량은 다각도 레이저 광 산란 검출기 (MALLS)와 합한 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의해 측정될 수 있다.
- [0044] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 제조 방법 또는 그의 부분에 사용된 피막 사카라이드는 병원성 박테리아로부터의 피막 사카라이드이다. 바람직하게는, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 병원성 스트렙토코쿠스, 병원성 스태필로코쿠스, 병원성 엔테로코쿠스, 병원성 바실루스, 병원성 코리네박테리움, 병원성 리스테리아, 병원성 에리시켈로트리кс, 병원성 클로스트리디움, 병원성 헤모필루스, 병원성 네이세리아 또는 병원성 에스케리키아로부터의 피막 사카라이드이다. 보다 바람직하게는, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 병원성 스트렙토코쿠스, 병원성 네이세리아 또는 병원성 에스케리키아로부터의 피막 사카라이드이다.
- [0045] 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 아에로모나스 히드로필라 및 다른 종 (종); 바실루스 안트라시스; 바실루스 세레우스; 클로스트리디움의 보툴리눔 신경독소 생산 종; 브루셀라 아보르투스; 브루셀라

멜리텐시스; 브루셀라 수이스; 부르크홀데리아 말레이 (이전에 슈도모나스 말레이); 부르크홀데리아 슈도말레이 (이전에 슈도모나스 슈도말레이); 캄필로박터 제주니; 클라미디아 프시타시; 클라미디아 트라코마티스, 클로스트리디움 보틀리눔; 클로스트리디움 디피실레; 클로스트리디움 페르프린젠스; 콕시디오이데스 임피티스; 콕시디오이데스 포사다시이; 코우드리아 루미난티움 (심수); 콕시엘라 부르네티가; 엔테로코쿠스 파에칼리스; 장병독성 에스케리키아 콜라이 군 (EEC 군), 예컨대 에스케리키아 콜라이 - 장독소생성 (ETEC), 에스케리키아 콜라이 - 장병원성 (EPEC), 에스케리키아 콜라이 - O157:H7 장출혈성 (EHEC), 및 에스케리키아 콜라이 - 장침습성 (EIEC); 에를리키아 종, 예컨대 에를리키아 카즈페엔시스; 프란시셀라 툴라렌시스; 레지오넬라 뉴모필리아; 리베로박터 아프리카누스; 리베로박터 아시아티쿠스; 리스테리아 모노시토게네스; 기타 장용체, 예컨대 클레브시엘라, 엔테로박터, 프로테우스, 시트로박터, 아에로박터, 프로비덴시아, 및 세라티아; 미코박테리움 보비스; 미코박테리움 투베르쿨로시스; 미코플라스마 카프리카움; 미코플라스마 미코이데스 종 미코이데스; 페로노스클레로스포라필리피넨시스; 파코프소라 파키리지; 플레시오모나스 시겔로이데스; 랄스토니아 솔라나세아룸 라세 3, 생물변이형 2; 리케치아 프로와제키이; 리케치아 리케치아; 살모넬라 종; 슐레로프로토라 레이시아에 변종 제아에; 시겔라 종; 스타필로코쿠스 아우레우스; 스트렙토코쿠스; 신키트리움 엔도비오티쿰; 비브리오 콜레라에 논-01; 비브리오 콜레라에 01; 비브리오 파르 아헤모 아이이 티쿠스 및 다른 비브리오; 비브리오 볼니피쿠스; 크산토모나스 오리자에; 크실렐라 파스티디오사 (시트러스 변이성 황백화 균주); 예르시니아 엔테로콜리티카 및 예르시니아 슈도투베르쿨로시스; 또는 예르시니아 페스티스로부터의 피막 사카라이드이다. 바람직하게는, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 엔테로코쿠스 파에칼리스, 에스케리키아 콜라이, 스타필로코쿠스 아우레우스 또는 스트렙토코쿠스로부터의 피막 사카라이드이다.

[0046] 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 헤모필루스 인플루엔자에, 네이세리아 메닝기티디스, 에스. 뉴모니아에, 에스. 피오게네스, 에스. 아갈락티아에, 군 C & G 스트렙토코쿠스 또는 에스케리키아 콜라이로부터의 피막 사카라이드이다. 보다 바람직하게는, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 네이세리아 메닝기티디스, 에스. 뉴모니아에, 에스. 아갈락티아에 또는 에스케리키아 콜라이로부터의 피막 사카라이드이다. 보다 더 바람직하게는, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 에스. 뉴모니아에 또는 에스. 아갈락티아에로부터의 피막 사카라이드이다. 보다 더 바람직하게는, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 에스. 뉴모니아에로부터의 피막 사카라이드이다.

[0047] 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스타필로코쿠스 아우레우스로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스타필로코쿠스 아우레우스 유형 5 또는 스타필로코쿠스 아우레우스 유형 8로부터의 피막 사카라이드이다.

[0048] 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 엔테로코쿠스 파에칼리스로부터의 피막 사카라이드이다. 추가 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 헤모필루스 인플루엔자에 유형 b로부터의 피막 사카라이드이다.

[0049] 추가 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 네이세리아 메닝기티디스로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 엔. 메닝기티디스 혈청군 A (MenA), 엔. 메닝기티디스 혈청군 W135 (MenW135), 엔. 메닝기티디스 혈청군 Y (MenY), 엔. 메닝기티디스 혈청군 X (MenX) 또는 엔. 메닝기티디스 혈청군 C (MenC)로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 엔. 메닝기티디스 혈청군 A (MenA)로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 엔. 메닝기티디스 혈청군 W135 (MenW135)로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 엔. 메닝기티디스 혈청군 Y (MenY)로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 엔. 메닝기티디스 혈청군 C (MenC)로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 엔. 메닝기티디스 혈청군 X (MenX)로부터의 피막 사카라이드이다.

[0050] 추가 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 에스케리키아 콜라이로부터의 피막 사카라이드이다. 추가 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 엔테로코쿠스 파에칼리스로부터의 피막 사카라이드이다.

[0051] 추가 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 아갈락티아에 (B군 스트렙토코쿠스 (GBS))로부터의 피막 사카라이드이다. 일부 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 GBS 유형 Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII 또는 VIII로부터의 피막 사카라이드이다. 일부 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 GBS 유형 Ia, Ib, II, III 또는 V로부터의 피막 사카라이드이다.

- [0052] 추가 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 에스케리키아 콜라이로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 장병독성 에스케리키아 콜라이 군 (EEC 군)의 에스케리키아 콜라이 부분, 예컨대 에스케리키아 콜라이 - 장독소생성 (ETEC), 에스케리키아 콜라이 - 장병원성 (EPEC), 에스케리키아 콜라이 - O157:H7 장출혈성 (EHEC), 또는 에스케리키아 콜라이 - 장침습성 (EIEC)으로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 요로병원성 에스케리키아 콜라이 (UPEC)로부터의 피막 사카라이드이다.
- [0053] 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 혈청형 0157:H7, 026:H11, 0111:H- 및 0103:H2로 이루어진 군으로부터 선택된 에스케리키아 콜라이 혈청형으로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 혈청형 06:K2:H1 및 018:K1:H7로 이루어진 군으로부터 선택된 에스케리키아 콜라이 혈청형으로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 혈청형 045:K1, 017:K52:H18, 019:H34 및 07:K1로 이루어진 군으로부터 선택된 에스케리키아 콜라이 혈청형으로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 에스케리키아 콜라이 혈청형 0104:H4로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 에스케리키아 콜라이 혈청형 01:K12:H7로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 에스케리키아 콜라이 혈청형 0127:H6으로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 에스케리키아 콜라이 혈청형 0139:H28로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 에스케리키아 콜라이 혈청형 0128:H2로부터의 피막 사카라이드이다.
- [0054] 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에로부터의 피막 사카라이드이다. 바람직하게는, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 혈청형 1, 2, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7C, 7F, 8, 9V, 9N, 10A, 10B, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 15C, 16F, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 21, 22A, 22F, 23A, 23B, 23F, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 33F, 34, 35B, 35F, 38, 72 및 73으로 이루어진 군으로부터 선택된 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형으로부터의 피막 사카라이드이다.
- [0055] 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.
- [0056] 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 1로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 2로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 4로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 5로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 6A로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 6B로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 7C로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 7F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 8로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 9V로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 9N으로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 10A로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 10B로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 11A로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 12F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 14로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 15A로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 15B로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 15C로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 16F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 17F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 피막 사카라이드

이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 19A로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 19F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 20으로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 21로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 22A로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 22F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 23A로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 23B로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 23F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 24B로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 24F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 27로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 29로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 31로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 33B로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 33F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 34로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 35B로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 35F로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 38로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 72로부터의 피막 사카라이드이다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 73으로부터의 피막 사카라이드이다.

- [0057] 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 35B로부터의 피막 사카라이드이다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 29로부터의 피막 사카라이드이다.
- [0058] 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드 (추가 처리 전에 정제됨)는 50 kDa 내지 5000 kDa의 중량 평균 분자량을 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 500 kDa 내지 5000 kDa의 중량 평균 분자량을 갖는다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명에 사용된 피막 사카라이드는 1000 kDa 내지 5000 kDa의 중량 평균 분자량을 갖는다.
- [0059] 임의의 상기 범위 내의 임의의 정수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.
- [0060] 바람직하게는, 유리한 여과성 특징, 면역원성 및/또는 수율을 갖는 당접합체를 생성하기 위해, 담체 단백질에의 접합 전에 사카라이드를 표적 분자량 범위로 크기조정한다.
- [0061] 유리하게는, 정제된 피막 사카라이드의 크기는 폴리사카라이드 구조의 중요한 특색을 보존하면서 감소된다. 기계적 또는 화학적 크기조정이 사용될 수 있다.
- [0062] 한 실시양태에서, 정제된 피막 사카라이드의 크기는 화학적 가수분해에 의해 감소된다. 화학적 가수분해는 약산 (예를 들어, 아세트산, 포름산, 프로판산)을 사용하여 수행될 수 있다. 한 실시양태에서, 화학적 가수분해는 포름산을 사용하여 수행된다. 한 실시양태에서, 화학적 가수분해는 프로판산을 사용하여 수행된다. 바람직한 실시양태에서, 화학적 가수분해는 아세트산을 사용하여 수행된다. 화학적 가수분해는 또한 희석된 강산 (예컨대, 묽은 염산, 묽은 황산, 묽은 인산, 묽은 질산 또는 묽은 과염소산)을 사용하여 수행될 수 있다. 한 실시양태에서, 화학적 가수분해는 묽은 염산을 사용하여 수행된다. 한 실시양태에서, 화학적 가수분해는 묽은 황산을 사용하여 수행된다. 한 실시양태에서, 화학적 가수분해는 묽은 인산을 사용하여 수행된다. 한 실시양태에서, 화학적 가수분해는 묽은 질산을 사용하여 수행된다. 한 실시양태에서, 화학적 가수분해는 묽은 과염소산을 사용하여 수행된다.
- [0063] 정제된 피막 사카라이드의 크기는 또한 기계적 균질화에 의해 감소될 수 있다. 한 실시양태에서, 정제된 피막

사카라이드의 크기는 고압 균질화에 의해 감소된다. 고압 균질화는 충분히 작은 치수를 갖는 유동 경로를 통해 공정 스트림을 펌핑함으로써 고전단 속도를 달성한다. 전단 속도는 보다 큰 적용된 균질화 압력을 사용함으로써 증가되고, 노출 시간은 균질화기를 통해 공급 스트림을 재순환시킴으로써 증가될 수 있다.

- [0064] 고압 균질화 공정은 사카라이드의 구조적 특색을 보존하면서 정제된 피막 사카라이드의 크기를 감소시키는 데 적절할 수 있다.
- [0065] 바람직한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 10 kDa 내지 1000 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 50 kDa 내지 500 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 50 kDa 내지 400 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 50 kDa 내지 250 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다.
- [0066] 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 250 kDa 내지 1000 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 250 kDa 내지 500 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 250 kDa 내지 400 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 바람직한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 200 kDa 내지 800 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다.
- [0067] 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 250 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 300 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 350 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 400 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 450 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 500 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 550 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 600 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 700 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 800 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 900 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 약 1000 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정된다.
- [0068] 한 실시양태에서, 단리된 피막 사카라이드는 크기조정되지 않는다.
- [0069] 본원에 추가로 기재된 바와 같이, 상기 기재된 단리된 피막 사카라이드는 이들이 (예를 들어, 링커와) 반응할 수 있도록 활성화 (예를 들어, 화학적으로 활성화)될 수 있고, 이어서 당접합체 내로 혼입될 수 있다.
- [0070] 본 발명의 목적을 위해, 용어 '당접합체'는 담체 단백질에 공유 연결된 사카라이드를 나타낸다.
- [0071] 일반적으로, 사카라이드의 담체에의 공유 접합은 사카라이드를 T-비의존성 항원으로부터 T-의존성 항원으로 전환시켜 면역 기억을 위한 프라이밍을 가능하게 하기 때문에 사카라이드의 면역원성을 증진시킨다. 접합은 소아 백신에 특히 유용하다.
- [0072] 1.2 본 발명의 피막 사카라이드 당접합체
- [0073] 일부 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 접합 전의 상기 폴리사카라이드의 중량 평균 분자량 (Mw)이 10 kDa 내지 2,000 kDa인 피막 사카라이드를 포함한다.
- [0074] 접합 전의 사카라이드의 중량 평균 분자량 (Mw)은 사카라이드의 활성화 전 (즉, 궁극적인 크기조정 단계 후이지만 사카라이드를 활성화제와 반응시키기 전)의 Mw를 지칭한다. 본 발명의 문맥에서, 사카라이드의 Mw는 활성화 단계에 의해 실질적으로 변형되지 않고, 접합체에 혼입된 사카라이드의 Mw는 활성화 전에 측정된 사카라이드의 Mw와 유사하다. 한 실시양태에서, 사카라이드는 아직도 링커와 조합된 탄산 유도체 (예를 들어, CDI 또는 CD T)로 활성화된다 (하기 섹션 1.3 참조). 한 실시양태에서, 사카라이드는 아직도 링커와 조합된 CDI로 활성화된다 (하기 섹션 1.3 참조). 한 실시양태에서, 사카라이드는 아직도 링커와 조합된 CDT로 활성화된다 (하기 섹션 1.3 참조).
- [0075] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 접합 전의 상기 사카라이드의 중량 평균 분자량 (Mw)이 50 kDa 내지 1,000 kDa인 피막 사카라이드를 포함한다. 한 실시양태에서, 중량 평균 분자량 (Mw)은 50 kDa 내지 750 kDa이다. 한 실시양태에서, 중량 평균 분자량 (Mw)은 50 kDa 내지 500 kDa이다. 한 실시양태에서, 중량 평균 분자량 (Mw)은 50 kDa 내지 250 kDa이다. 한 실시양태에서, 중량 평균 분자량 (Mw)은 50 kDa 내지 200 kDa이다.

양태에서, 본 발명의 당접합체는 750 kDa 내지 2,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 750 kDa 내지 2,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 750 kDa 내지 1,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 750 kDa 내지 1,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다.

[0086] 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 1,000 kDa 내지 10,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 1,000 kDa 내지 7,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 1,000 kDa 내지 5,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 1,000 kDa 내지 2,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 1,000 kDa 내지 2,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 1,000 kDa 내지 1,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다.

[0087] 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 2,000 kDa 내지 10,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 2,000 kDa 내지 7,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 2,000 kDa 내지 5,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 2,000 kDa 내지 4,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 2,000 kDa 내지 3,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 2,000 kDa 내지 3,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다.

[0088] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 2,250 kDa 내지 3,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다.

[0089] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 1,000 kDa 내지 2,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다.

[0090] 임의의 상기 범위 내의 임의의 정수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.

[0091] 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 10,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 9,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 8,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 7,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 6,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 5,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 4,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 3,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 3,250 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 3,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 2,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 2,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 1,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 1,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 약 750 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는다.

[0092] 본 발명의 당접합체를 특징화하는 또 다른 방식은 사카라이드에 접합되는 담체 단백질 (예를 들어, CRM₁₉₇ 또는 SCP) 내의 리신 잔기의 수에 의한 것이며, 이는 접합된 리신의 범위 (접합도)로서 특징화될 수 있다. 사카라이드에 대한 공유 연결로 인한 담체 단백질의 리신 변형에 대한 증거는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 상용 방법을 사용하여 아미노산 분석에 의해 획득될 수 있다. 접합은 접합체 물질을 생성하는 데 사용된 담체 단백질 출발 물질과 비교하여 회수된 리신 잔기의 수의 감소를 유발한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 2 내지 15이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 2 내지 13이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 2 내지 10이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 2 내지 8이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 2 내지 6이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 2 내지 5이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 2 내지 4이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 3 내지 15이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 3 내지 13이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 3 내지 10이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 3 내지 8이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 3 내지 6이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 3 내지 5이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 3 내지 4이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 5 내지 15이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 5 내지 10이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 8 내지 15이다.

한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 8 내지 12이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 10 내지 15이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 10 내지 12이다.

[0093] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 2이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 3이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 4이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 5이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 6이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 7이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 8이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 9이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 10, 약 11이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 12이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 13이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 14이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 약 15이다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합도는 4 내지 7이다. 일부 이러한 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다. 다른 이러한 실시양태에서, 담체 단백질은 SCP이다.

[0094] 본 발명의 당접합체는 또한 담체 단백질에 대한 사카라이드의 비 (중량/중량)에 의해 특징화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 당접합체 내의 담체 단백질에 대한 사카라이드의 비 (w/w)는 0.5 내지 3.0이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 0.5 내지 2.0이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 0.5 내지 1.5이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 0.5 내지 1.0이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 1.0 내지 1.5이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 1.0 내지 2.0이다. 추가 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 0.8 내지 1.2이다. 바람직한 실시양태에서, 접합체 내의 담체 단백질에 대한 사카라이드의 비는 0.9 내지 1.1이다.

[0095] 한 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 0.5이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 0.6이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 0.7이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 0.8이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 0.9이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.0이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.1이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.2이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.3이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.4이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.5이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.6이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.7이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.8이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 1.9이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 2.0이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 2.1이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 2.2이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 2.5이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 2.8이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질에 대한 사카라이드 비 (w/w)는 약 3.0이다. 일부 이러한 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다. 다른 이러한 실시양태에서, 담체 단백질은 SCP이다.

[0096] 본 발명의 당접합체는 또한 사카라이드의 반복 단위의 함수로서 담체 단백질과 사카라이드 사이의 공유 연결의 수를 특징으로 할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 사카라이드의 4개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 담체 단백질과 사카라이드 사이의 공유 연결은 사카라이드의 10개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1회 발생한다. 또 다른 실시양태에서, 담체 단백질과 사카라이드 사이의 공유 연결은 사카라이드의 15개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1회 발생한다. 추가 실시양태에서, 담체 단백질과 사카라이드 사이의 공유 연결은 사카라이드의 25개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1회 발생한다. 추가 실시양태에서, 담체 단백질과 사카라이드 사이의 공유 연결은 사카라이드의 50개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1회 발생한다. 추가 실시양태에서, 담체 단백질과 사카라이드 사이의 공유 연결은 사카라이드의 100개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1회 발생한다.

[0097] 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 사카라이드의 5 내지 10개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함한다.

- [0098] 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 사카라이드의 2 내지 7개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함한다.
- [0099] 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 사카라이드의 6 내지 11개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함한다.
- [0100] 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 사카라이드의 9 내지 14개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함한다.
- [0101] 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 사카라이드의 10 내지 20개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함한다.
- [0102] 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 사카라이드의 4 내지 25개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함한다.
- [0103] 빈번한 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질은 SCP이다.
- [0104] 일부 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이고, CRM₁₉₇과 사카라이드 사이의 공유 연결은 사카라이드의 4, 10, 15 또는 25개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1회 발생한다. 다른 실시양태에서, 담체 단백질은 SCP이고, SCP와 사카라이드 사이의 공유 연결은 사카라이드의 4, 10, 15 또는 25개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1회 발생한다.
- [0105] 본 발명의 당접합체 및 면역원성 조성물은 담체 단백질에 공유 접합되지 않지만 그럼에도 불구하고 당접합체 조성물에 존재하는 유리 사카라이드를 함유할 수 있다. 유리 사카라이드는 당접합체와 비공유적으로 회합될 수 있다 (즉, 당접합체에 비공유적으로 결합되거나, 당접합체에 흡착되거나, 또는 당접합체 내에 또는 당접합체와 함께 포획됨).
- [0106] 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 상기 사카라이드의 총량과 비교하여 약 50% 미만의 유리 사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 상기 사카라이드의 총량과 비교하여 약 40% 미만의 유리 사카라이드를 포함한다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 상기 사카라이드의 총량과 비교하여 약 25% 미만의 유리 사카라이드를 포함한다. 보다 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 상기 사카라이드의 총량과 비교하여 약 20% 미만의 유리 사카라이드를 포함한다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 상기 사카라이드의 총량과 비교하여 약 15% 미만의 유리 사카라이드를 포함한다.
- [0107] 당접합체는 또한 그의 분자 크기 분포 (K_d)에 의해 특징화될 수 있다. 크기 배제 크로마토그래피 매질 (CL-4B)을 사용하여 접합체의 상대 분자 크기 분포를 결정할 수 있다. 접합체의 분자 크기 분포를 프로파일링하기 위해 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)를 중력 공급 칼럼에서 사용하였다. 매질 내의 세공으로부터 배제된 대형 분자는 소형 분자보다 더 신속하게 용리된다. 분획 수집기를 사용하여 칼럼 용리액을 수집하였다. 분획을 사카라이드 검정에 의해 비색계로 시험하였다. K_d 의 결정을 위해, 칼럼을 보정하여 분자가 완전히 배제된 분획 (V_0), ($K_d=0$), 및 최대 체류를 나타내는 분획 (V_i), ($K_d=1$)을 확립한다. 명시된 샘플 속성에 도달하는 분획 (V_e)은 $K_d = (V_e - V_0)/(V_i - V_0)$ 이라는 표현에 의해 K_d 와 관련된다.
- [0108] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 적어도 30%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 적어도 40%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 적어도 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 또는 85%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 적어도 60%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 50% 내지 80%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 65% 내지 80%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다.
- [0109] 1.3 클릭 화학을 사용하여 제조된 본 발명의 피막 사카라이드 당접합체
- [0110] 본 발명의 당접합체는 클릭 화학을 사용하여 제조된다. 본 발명은 또한 본원에 개시된 바와 같은 당접합체를 제조하는 방법에 관한 것이다.

- [0111] 본 발명에 따르면, 클릭 화학은 (a) 단리된 피막 사카라이드를 비양성자성 용매 중에서 탄산 유도체 및 아지도 링커와 반응시켜 활성화된 아지도 사카라이드를 생산하는 단계 (사카라이드의 활성화), (b) 담체 단백질을 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제와 반응시키며, 여기서 NHS 모이어티는 아미노기와 반응하여 아미드 연결을 형성하고, 그에 의해 알킨 관능화된 담체 단백질을 수득하는 단계 (담체 단백질의 활성화), (c) 단계 (a)의 활성화된 아지도 사카라이드를 Cu^{+1} 매개 아지드-알킨 고리화첨가 반응에 의해 단계 (b)의 활성화된 알킨-담체 단백질과 반응시켜 당접합체를 형성하는 단계의 3 단계를 포함한다.
- [0112] 단계 (a) 후에 사카라이드는 활성화되는 것으로 언급되고, 본원에서 "활성화된 사카라이드" 또는 "활성화된 아지도 사카라이드"로 지칭된다.
- [0113] 단계 (b) 후에, 담체는 활성화되는 것으로 언급되고, "활성화된 담체"로 지칭된다.
- [0114] 상기 언급된 바와 같이, 활성화 (a) 전에, 사카라이드를 표적 분자량 (MW) 범위로 크기조정할 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드는 탄산 유도체 및 아지도 링커에 의한 활성화 전에 크기조정된다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드는 상기 정의된 임의의 표적 분자량 (MW) 범위로 크기조정된다.
- [0115] 한 실시양태에서, 상기 탄산 유도체는 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI), 1,1'-카르보닐-디-(1,2,4-트리아졸) (CDT), 디숙신이미딜 카르보네이트 (DSC) 및 (N)-히드록시숙신이미딜 클로로포르메이트로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0116] 한 실시양태에서, 상기 탄산 유도체는 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI)이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 탄산 유도체는 1,1'-카르보닐-디-(1,2,4-트리아졸) (CDT)이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 탄산 유도체는 디숙신이미딜 카르보네이트 (DSC)이다. 추가 실시양태에서, 상기 탄산 유도체는 N-히드록시숙신이미딜 클로로포르메이트이다.
- [0117] 한 실시양태에서, 상기 탄산 유도체는 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI) 또는 1,1'-카르보닐-디-(1,2,4-트리아졸) (CDT)이다. 바람직하게는, 상기 탄산 유도체는 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI)이다.
- [0118] 한 실시양태에서, 상기 아지도 링커는 하기 화학식 (I)의 화합물이다.
- $$H_2N - X - N_3 \quad (I)$$
- [0119]
- [0120] 여기서 X는 $CH_2(CH_2)_n$, $(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$, $NHCO(CH_2)_n$, $NHCO(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$, $OCH_2(CH_2)_n$ 및 $O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서 n은 1 내지 10으로부터 선택되고, m은 1 내지 4로부터 선택된다.
- [0121] 한 실시양태에서, 상기 아지도 링커는 X가 $CH_2(CH_2)_n$ 이고, n이 1 내지 10으로부터 선택되는 화학식 (I)의 화합물이다. 한 실시양태에서, n은 1 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 1 내지 4로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 1 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 1 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, n은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n은 3이다. 추가 실시양태에서, n은 4이다. 추가 실시양태에서, n은 5이다. 추가 실시양태에서, n은 6이다. 추가 실시양태에서, n은 7이다. 추가 실시양태에서, n은 8이다. 추가 실시양태에서, n은 9이다. 추가 실시양태에서, n은 10이다.
- [0122] 한 실시양태에서, 상기 아지도 링커는 X가 $(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 이고, m이 1 내지 4로부터 선택되는 화학식 (I)의 화합물이다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, m은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이다.
- [0123] 한 실시양태에서, 상기 아지도 링커는 X가 $NHCO(CH_2)_n$ 이고, n이 1 내지 10으로부터 선택되는 화학식 (I)의 화합물이다. 한 실시양태에서, n은 1 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 1 내지 4로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 1 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 1 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, n은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n은 3이다. 추가 실시양태에서, n은 4이다. 추가 실시양태에서, n은 5이다. 추가 실시양태에서, n은 6이다. 추가 실시양태에서, n은 7이다. 추가 실시양태에서, n은 8이다. 추가 실시양태에서, n은 9이다. 추가 실시양태에서, n은 10이다.
- [0124] 한 실시양태에서, 상기 아지도 링커는 X가 $NHCO(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 이고, m이 1 내지 4로부터 선택되는 화학식 (I)

의 화합물이다. 한 실시양태에서, m 은 1 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m 은 1 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, m 은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m 은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m 은 3이다. 추가 실시양태에서, m 은 4이다.

[0125] 한 실시양태에서, 상기 아지도 링커는 X가 $OCH_2(CH_2)_n$ 이고, n 이 1 내지 10으로부터 선택되는 화학식 (I)의 화합물이다. 한 실시양태에서, n 은 1 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 1 내지 4로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 1 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 1 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, n 은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n 은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n 은 3이다. 추가 실시양태에서, n 은 4이다. 추가 실시양태에서, n 은 5이다. 추가 실시양태에서, n 은 6이다. 추가 실시양태에서, n 은 7이다. 추가 실시양태에서, n 은 8이다. 추가 실시양태에서, n 은 9이다. 추가 실시양태에서, n 은 10이다.

[0126] 한 실시양태에서, 상기 아지도 링커는 X가 $O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 이고, m 이 1 내지 4로부터 선택되는 화학식 (I)의 화합물이다. 한 실시양태에서, m 은 1 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m 은 1 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, m 은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m 은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m 은 3이다. 추가 실시양태에서, m 은 4이다.

[0127] 한 실시양태에서, 상기 아지도 링커는 하기 화학식 (II)의 화합물이다.



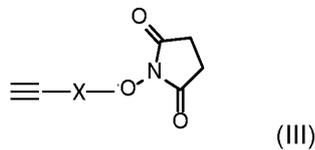
[0128] 바람직한 실시양태에서, 상기 아지도 링커는 3-아지도-프로필아민이다.

[0129] 한 실시양태에서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 상기 작용제는 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 말단 알킨을 보유하는 작용제이다.

[0130] 한 실시양태에서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 상기 작용제는 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 말단 알킨을 보유하는 작용제이다.

[0131] 한 실시양태에서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 상기 작용제는 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 시클로알킨을 보유하는 작용제이다.

[0132] 한 실시양태에서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제는 하기 화학식 (III)의 화합물이다.



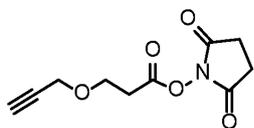
[0133] 여기서 X는 $CH_2O(CH_2)_nCH_2C=O$ 및 $CH_2O(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_nCH_2C=O$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 n 은 0 내지 10으로부터 선택되고, m 은 0 내지 4로부터 선택된다.

[0134] 한 실시양태에서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제는 X가 $CH_2O(CH_2)_nCH_2C=O$ 이고, n 이 0 내지 10으로부터 선택되는 화학식 (III)의 화합물이다. 한 실시양태에서, n 은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 0 내지 4로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 0 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, n 은 0이다. 특정 실시양태에서, n 은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n 은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n 은 3이다. 추가 실시양태에서, n 은 4이다. 추가 실시양태에서, n 은 5이다. 추가 실시양태에서, n 은 6이다. 추가 실시양태에서, n 은 7이다. 추가 실시양태에서, n 은 8이다. 추가 실시양태에서, n 은 9이다. 추가 실시양태에서, n 은 10이다.

[0135] 한 실시양태에서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제는 화학식 (III)의 화합물이고, 여기서 X는 $CH_2O(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_nCH_2C=O$ 이고, 여기서 n 은 0 내지 10으로부터 선택되고, m 은 0 내지 4로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 0 내지 4로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n 은 0 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, n 은 0이다. 특정 실시양태에서, n 은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n 은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n 은 3이다. 추가 실시양태에서, n 은 4이다. 추가 실시양태에서, n 은 5이다. 추가 실시양태에서, n 은 6이다. 추가 실시양태에서, n 은 7이다. 추가 실시양태에서, n 은 8이다. 추가 실시양태에서, n 은 9이다.

다. 추가 실시양태에서, n은 10이다. 한 실시양태에서, m은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 0 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, m은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이다.

- [0137] 한 실시양태에서, n은 0 내지 5로부터 선택되고, m은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 0 내지 5로부터 선택되고, m은 0 내지 2로부터 선택된다.
- [0138] 한 실시양태에서, n은 0 내지 4로부터 선택되고, m은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 0 내지 4로부터 선택되고, m은 0 내지 2로부터 선택된다.
- [0139] 한 실시양태에서, n은 0 내지 3으로부터 선택되고, m은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 0 내지 3으로부터 선택되고, m은 0 내지 2로부터 선택된다.
- [0140] 한 실시양태에서, n은 0 내지 2로부터 선택되고, m은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 0 내지 2로부터 선택되고, m은 0 내지 2로부터 선택된다.
- [0141] 한 실시양태에서, n은 0 내지 1로부터 선택되고, m은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n은 0 내지 1로부터 선택되고, m은 0 내지 2로부터 선택된다.
- [0142] 한 실시양태에서, n은 0이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 1이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 2이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 3이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 4이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 5이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 6이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 7이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 8이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 9이고, m은 0이다. 한 실시양태에서, n은 10이고, m은 0이다.
- [0143] 한 실시양태에서, n은 0이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 1이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 2이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 3이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 4이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 5이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 6이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 7이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 8이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 9이고, m은 1이다. 한 실시양태에서, n은 10이고, m은 1이다.
- [0144] 한 실시양태에서, n은 0이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 1이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 2이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 3이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 4이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 5이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 6이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 7이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 8이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 9이고, m은 2이다. 한 실시양태에서, n은 10이고, m은 2이다.
- [0145] 한 실시양태에서, n은 0이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 1이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 2이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 3이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 4이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 5이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 6이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 7이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 8이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 9이고, m은 3이다. 한 실시양태에서, n은 10이고, m은 3이다.
- [0146] 한 실시양태에서, n은 0이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 1이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 2이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 3이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 4이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 5이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 6이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 7이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 8이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 9이고, m은 4이다. 한 실시양태에서, n은 10이고, m은 4이다.
- [0147] 한 실시양태에서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용체는 하기 화학식 (IV)의 화합물이다:



(IV)

- [0148]
- [0149] 한 실시양태에서, 단계 a)는 비양성자성 용매 중에서 사카라이드를 탄산 유도체와 반응시킨 후, 탄산 유도체-활

- [0213] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 0.05-0.3 몰 당량인 양의 탄산 유도체와 반응시키는 것을 포함한다.
- [0214] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 0.1-0.3 몰 당량인 양의 탄산 유도체와 반응시키는 것을 포함한다.
- [0215] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 0.2-0.3 몰 당량인 양의 탄산 유도체와 반응시키는 것을 포함한다.
- [0216] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 0.01 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0217] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 0.05 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0218] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 0.08 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0219] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 0.1 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0220] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 0.2 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0221] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 0.3 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0222] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 0.4 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0223] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 0.5 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0224] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 1 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0225] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 2 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0226] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 3 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0227] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 4 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0228] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 5 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0229] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 8 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0230] 한 실시양태에서, 단계 a)는 사카라이드를 반응 혼합물에 존재하는 사카라이드의 양에 대해 약 10 몰 당량의 탄산 유도체의 양과 반응시키는 것을 포함한다.
- [0231] 한 실시양태에서, 단계 a)에서, 단리된 사카라이드를 비양성자성 용매 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다.
- [0232] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸술폭시드 (DMSO) 또는 디메틸포름아미드 (DMF)로 본질적으로 이루어진 용액 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸포름아미드 (DMF)로 본질적으로 이루어진 용액 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸술폭시드 (DMSO)로 본질적으로 이루어진 용액 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다.
- [0233] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸아세트아미드로 본질적으로 이루어진 용액 중에서 탄산 유도체와

반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 N-메틸-2-피롤리돈으로 본질적으로 이루어진 용액 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 헥사메틸포스포르아미드 (HMPA)로 본질적으로 이루어진 용액 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다.

- [0234] 바람직한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸설폭시드 (DMSO)로 본질적으로 이루어진 용액 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다.
- [0235] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸설폭시드 (DMSO) 또는 디메틸포름아미드 (DMF) 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸포름아미드 (DMF) 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸설폭시드 (DMSO) 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다.
- [0236] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸아세트아미드 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 N-메틸-2-피롤리돈 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 헥사메틸포스포르아미드 (HMPA) 중에서 탄산 유도체와 반응시킨다.
- [0237] 바람직한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 디메틸설폭시드 (DMSO) 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 무수 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다.
- [0238] 놀랍게도, 약 0.1% 내지 1% (v/v)의 수분 수준을 갖는 환경에서, 단리된 사카라이드를 CDI와 반응시키는 것은 부반응을 피할 수 있게 하는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 1% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.8% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.5% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.4% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.3% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.2% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다.
- [0239] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 1% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 0.8% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 0.5% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 0.4% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 0.3% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다.
- [0240] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.3% 내지 0.8% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.3% 내지 0.5% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.3% 내지 0.4% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다.
- [0241] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.1% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.2% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.3% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.4% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.5% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.6% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.7% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.8% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.9% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시킨다.
- [0242] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 1% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.8% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.5% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.4% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.3% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다.

실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.1% 내지 0.2% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다.

- [0243] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 1% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 0.8% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 0.5% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 0.4% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.2% 내지 0.3% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다.
- [0244] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.3% 내지 0.8% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.3% 내지 0.5% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 0.3% 내지 0.4% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다.
- [0245] 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.1% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.2% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.3% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.4% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.5% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.6% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.7% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.8% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다. 한 실시양태에서, 단리된 사카라이드를 약 0.9% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응시킨다.
- [0246] 한 실시양태에서, 유리 탄산 유도체는 이어서 아지도 링커의 첨가 전에 물의 첨가에 의해 켄칭된다. 물은 유리 CDI를 불활성화시킬 수 있다.
- [0247] 따라서, 한 실시양태에서, 탄산 유도체 활성화 후에 물을 첨가한다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 1% 내지 약 10% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 1.2% 내지 약 8% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 1.5% 내지 약 3% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 1.5% 내지 약 2.5% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 1% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 1.2% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 1.4% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 1.5% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 2% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 2.5% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 3% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 5% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 7% (v/v)로 만든다. 한 실시양태에서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량을 약 10% (v/v)로 만든다.
- [0248] 사카라이드를 탄산 유도체와 반응시킨 후, 탄산 유도체를 물로 최종 켄칭한 후, 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 아지도 링커와 반응시킨다.
- [0249] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.01-10 몰 당량 (RU의 몰 당량)인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0250] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.01-8 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0251] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.01-5 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0252] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.01-4 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0253] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.01-3 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0254] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복

단위의 양에 대해 3-4 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.

- [0297] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 4-10 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0298] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 4-8 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0299] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 4-5 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0300] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 5-10 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0301] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 5-8 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0302] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 8-10 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0303] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 0.01 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0304] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 0.05 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0305] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 0.1 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0306] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 0.5 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0307] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 1 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0308] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 2 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0309] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 3 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0310] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 4 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0311] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 5 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0312] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 8 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0313] 한 실시양태에서, 단계 a)는 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 10 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0314] 상기 실시양태에서, 상기 탄산 유도체는 바람직하게는 CDI이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 탄산 유도체는 CDT이다.
- [0315] 한 실시양태에서, 단계 a) 후의 활성화된 사카라이드의 활성화도는 0.5 내지 50%이다. 아지도 사카라이드의 활성화도는 아지도 링커에 연결된 반복 단위의 백분율로서 정의된다.
- [0316] 한 실시양태에서, 단계 a) 후의 활성화된 사카라이드의 활성화도는 1 내지 30%이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 a) 후의 활성화된 사카라이드의 활성화도는 2 내지 25%이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 a) 후의 활성화된 사카라이드의 활성화도는 3 내지 20%이다.

- [0374] 한 실시양태에서, 단계 b)는 담체 단백질을 담체 상의 리신에 대해 약 0.1 몰 당량인 양의 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제와 반응시키는 것을 포함한다.
- [0375] 한 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체의 활성화도는 1 내지 50이다. 활성화된 담체의 활성화도는 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제에 연결된 담체 단백질 내의 리신 잔기의 수로서 규정된다.
- [0376] 한 실시양태에서, 담체 단백질은 39개의 리신 잔기를 함유하는 CRM₁₉₇이다. 상기 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체의 활성화도는 1 내지 30일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 5 내지 20이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 9 내지 18이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 8 내지 11이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 15 내지 20이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 5이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 6이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 7이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 8이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 9이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 10이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 11이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 12이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 13이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 14이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 15이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 16이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 17이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 18이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 19이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 20이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 21이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 22이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 23이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 24이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (CRM₁₉₇)의 활성화도는 약 25이다.
- [0377] 한 실시양태에서, 담체 단백질은 SCP 또는 그의 단편이다. 상기 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체의 활성화도는 1 내지 50일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 5 내지 50이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 7 내지 45이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 5 내지 15이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 20 내지 30이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 30 내지 50이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 30 내지 40이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 10 내지 40이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 5이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후에 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 7이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 10이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 13이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 15이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 20이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 26이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 30이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 35이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 37이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 40이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 45이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (SCP)의 활성화도는 약 50

이다.

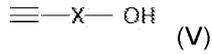
[0378] 한 실시양태에서, 담체 단백질은 TT 또는 그의 단편이다. 상기 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체의 활성화도는 1 내지 30일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 5 내지 25이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 7 내지 25이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 10 내지 20이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 약 5이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 약 7이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 약 10이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 약 12이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 약 15이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 약 20이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 약 25이다. 또 다른 실시양태에서, 단계 b) 후의 활성화된 담체 (TT)의 활성화도는 약 30이다.

[0379] 한 실시양태에서, 접합 반응 c)는 수성 완충제 중에서 수행된다. 한 실시양태에서, 접합 반응 c)는 촉매로서 구리 (I)의 존재 하에 수성 완충제 중에서 수행된다. 한 실시양태에서, 접합 반응 c)는 촉매로서 산화제 및 구리 (I)의 존재 하에 수성 완충제 중에서 수행된다. 바람직한 실시양태에서, 접합 반응 c)는 촉매로서 구리 (I) 및 산화제로서 아스코르베이트의 존재 하에 수성 완충제 중에서 수행된다. 한 실시양태에서, THPTA (트리스(3-히드록시프로필트리아졸릴메틸)아민) 및 아미노구아니딘을 추가로 첨가하여 단백질을 부반응으로부터 보호할 수 있다. 따라서, 바람직한 실시양태에서, 접합 반응 c)는 촉매로서 구리 (I) 및 산화제로서 아스코르베이트의 존재 하에 수성 완충제 중에서 수행되며, 여기서 반응 혼합물은 THPTA (트리스(3-히드록시프로필트리아졸릴메틸)아민) 및 아미노구아니딘을 추가로 포함한다.

[0380] 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 0.1 내지 3이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 0.5 내지 2이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 0.6 내지 1.5이다. 바람직한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 0.8 내지 1이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 0.5이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 0.6이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 0.7이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 0.8이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 0.9이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1.1이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1.2이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1.3이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1.4이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1.5이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1.6이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1.7이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1.8이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 1.9이다. 한 실시양태에서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의 초기 투입비 (중량 대 중량)는 약 2이다.

[0381] 클릭 접합 반응 후, 미반응 아지도 기가 접합체에 잔류할 수 있고, 이들은 적합한 아지도 기 캡핑제를 사용하여 캡핑될 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 단계 c) 후에 접합체 내의 미반응 아지도 기는 적합한 아지도 기 캡핑제를 사용하여 캡핑된다. 한 실시양태에서, 이러한 아지도 기 캡핑제는 알킨 기를 보유하는 작용제이다. 한 실시양태에서, 이러한 아지도 기 캡핑제는 말단 알킨을 보유하는 작용제이다. 한 실시양태에서, 이러한 아지도 기 캡핑제는 시클로알킨을 보유하는 작용제이다.

[0382] 한 실시양태에서, 상기 아지도 기 캡핑제는 하기 화학식 (V)의 화합물이다.



[0383]

[0384] 여기서 X는 (CH₂)_n이고, 여기서 n은 1 내지 15로부터 선택된다.

[0385]

한 실시양태에서, 이러한 아지도 기 캡핑제는 프로파르길 알콜이다.

[0386]

따라서, 한 실시양태에서, 단계 (c) 후에 방법은 접합체에 잔류하는 미반응 아지도 기를 아지도 기 캡핑제로 캡핑하는 단계를 추가로 포함한다.

[0387]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.05 내지 20 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0388]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.1 내지 15 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0389]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.5 내지 10 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0390]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.5 내지 5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0391]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.5 내지 2 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0392]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.5 내지 1 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0393]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 1 내지 2 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0394]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.75 내지 1.5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0395]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 1 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0396]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양과 약 1.5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0397]

한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 0.5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0398]

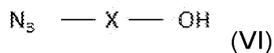
한 실시양태에서, 미반응 아지도 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 2 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.

[0399]

클릭 접합 반응 후, 미반응 알킨 기가 접합체에 잔류할 수 있고, 이들은 적합한 알킨 기 캡핑제를 사용하여 캡핑될 수 있다. 한 실시양태에서, 이러한 알킨 기 캡핑제는 아지도 기를 보유하는 작용제이다.

[0400]

한 실시양태에서, 상기 알킨 기 캡핑제는 하기 화학식 (VI)의 화합물이다.



[0401]

[0402] 여기서 X는 (CH₂)_n이고, 여기서 n은 1 내지 15로부터 선택된다.

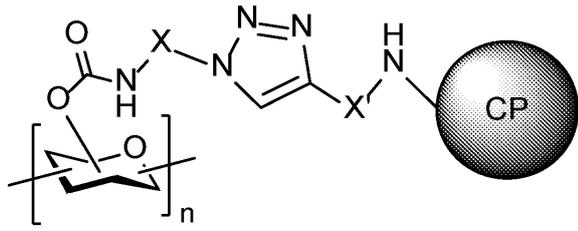
[0403]

한 실시양태에서, 이러한 알킨 기 캡핑제는 3-아지도-1-프로판올이다.

[0404]

따라서, 한 실시양태에서, 단계 (c) 후에 방법은 접합체에 잔류하는 미반응 알킨 기를 알킨 기 캡핑제로 캡핑하는 단계를 추가로 포함한다.

- [0405] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.05 내지 20 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0406] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.1 내지 15 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0407] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.5 내지 10 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0408] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.5 내지 5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0409] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.5 내지 2 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0410] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.5 내지 1 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0411] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 1 내지 5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0412] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 1 내지 2 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0413] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 1.5 내지 2.5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0414] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 0.5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0415] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 1 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0416] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 1.5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0417] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 2 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0418] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 2.5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0419] 한 실시양태에서, 미반응 알킨 기의 캡핑은 활성화된 사카라이드의 폴리사카라이드 반복 단위의 양에 대해 약 5 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행된다.
- [0420] 담체 단백질에의 접합 후, 당접합체는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다양한 기술에 의해 정제될 수 있다 (사카라이드-단백질 접합체의 양과 관련하여 농축됨). 이들 기술은 투석, 농축/투석여과 작업, 접선 흐름 여과 침전/용리, 칼럼 크로마토그래피 (DEAE 또는 소수성 상호작용 크로마토그래피), 및 심층 여과를 포함한다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체를 생산하는 방법은 당접합체가 생산된 후에 이를 정제하는 단계를 포함한다.
- [0421] 한 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 방법에 따라 생산된 당접합체를 제공한다.
- [0422] 한 측면에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 하기 화학식 (VII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체를 제공한다:



(VII)

[0423]

[0424]

[0425]

[0426]

[0427]

[0428]

[0429]

여기서 X는 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{n'}$, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_{n'}$, $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_{n'}$ 및 $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서 n' 은 1 내지 10으로부터 선택되고, m 은 1 내지 4로부터 선택되고,

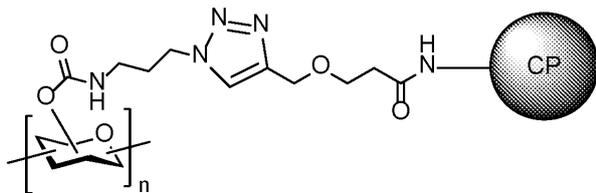
여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_{n''}\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$, $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m''}(\text{CH}_2)_{n''}\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 n'' 은 0 내지 10으로부터 선택되고, m'' 은 0 내지 4로부터 선택된다. 여기서 대괄호 안의 구조는 피막 사카라이드의 반복 단위를 나타낸다.

한 실시양태에서, 피막 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.

화학식 (VII)은 본 발명의 당접합체의 개략적 표현이다. 연결은 사카라이드의 모든 반복 단위 (대괄호 안의 구조)에 존재하는 것으로 이해되어서는 안된다. 오히려, 대부분의 사카라이드 반복 단위는 비변형된 채로 남아있고, 담체 단백질과 사카라이드 사이의 공유 연결은 소수의 사카라이드 반복 단위에 대한 것이다. 추가로, 개별 담체 단백질 (CP) 분자는 1개 초과인 사카라이드 분자에 연결될 수 있고, 개별 사카라이드 분자는 1개 초과인 개별 담체 단백질 (CP) 분자에 연결될 수 있다. 대괄호 안의 구조는 피막 사카라이드의 반복 단위를 나타낸다.

바람직한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{n'}$ 이고, 여기서 n' 은 2이고, 여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_{n''}\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n'' 은 1이다. 한 실시양태에서, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.

따라서, 바람직한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 하기 화학식 (VIII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체를 제공한다:



(VIII)

[0430]

[0431]

[0432]

[0433]

[0434]

여기서 대괄호 안의 구조는 피막 사카라이드의 반복 단위를 나타낸다.

화학식 (VIII)은 본 발명의 바람직한 당접합체의 개략적 표현이다. 연결은 사카라이드의 모든 반복 단위 (대괄호 안의 구조)에 존재하는 것으로 이해되어서는 안된다. 오히려, 대부분의 사카라이드 반복 단위는 비변형된 채로 남아있고, 담체 단백질과 사카라이드 사이의 공유 연결은 소수의 사카라이드 반복 단위에 대한 것이다. 추가로, 개별 담체 단백질 (CP) 분자는 1개 초과인 사카라이드 분자에 연결될 수 있고, 개별 사카라이드 분자는 1개 초과인 개별 담체 단백질 (CP) 분자에 연결될 수 있다. 대괄호 안의 구조는 사카라이드의 반복 단위의 개략적 표현이다.

한 실시양태에서, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.

한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{n'}$ 이고, 여기서 n' 은 1 내지 10으로부터 선택되고, 여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_{n''}\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n'' 은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 5로부터 선택되고, n'' 은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 5로부터 선택되고, n'' 은 0

내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 3으로부터 선택되고, n"은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 0이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 6이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 6이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 6이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 6이다. 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.

- [0435] 한 실시양태에서, 본 발명은 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$ 이고, 여기서 n'은 1 내지 10으로부터 선택되고, 여기서 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m'}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n"은 0 내지 10으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택된다.
- [0436] 한 실시양태에서, n'은 1 내지 5로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 5로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 3으로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 1로부터 선택된다.
- [0437] 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0438] 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0439] 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0440] 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0441] 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0442] 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 3이고, n"은 1이다.

4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 3이고, n"은 4이다.

- [0458] 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0459] 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0460] 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0461] 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0462] 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0463] 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0464] 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0465] 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0466] 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0467] 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.
- [0468] 한 실시양태에서, 본 발명은 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 이고, 여기서 m은 1 내지 4로부터 선택되고, 여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택되고, n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택되고, n"은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 0이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 5이다.

다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 6이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 6이다. 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.

- [0469] 한 실시양태에서, 본 발명은 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 이고, 여기서 m은 1 내지 4로부터 선택되고, 여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m'}(\text{CH}_2)_{n''}\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n"은 0 내지 10으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택된다.
- [0470] 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 1로부터 선택된다.
- [0471] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0472] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0473] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0474] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0475] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0476] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0477] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0478] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0479] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 2이다.
- [0480] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 2이다.
- [0481] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 2이다.

- [0482] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 2이다.
- [0483] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 3이다.
- [0484] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 3이다.
- [0485] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 3이다.
- [0486] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 3이다.
- [0487] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0488] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0489] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0490] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0491] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0492] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0493] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0494] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0495] 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.
- [0496] 한 실시양태에서, 본 발명은 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$ 이고, 여기서 n'은 1 내지 10으로부터 선택되고, 여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{-CH}_2\text{C=O}$ 이고, 여기서 n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 5로부터 선택되고, n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 5로부터 선택되고, n"은 0

내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 3으로부터 선택되고, n"은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 0이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, n"은 6이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, n"은 6이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, n"은 6이다. 추가 실시양태에서, n'은 6이고, n"은 6이다. 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.

- [0497] 한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $\text{NHCO}(\text{CH}_2)_n$ 이고, 여기서 n'은 1 내지 10으로부터 선택되고, 여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n"은 0 내지 10으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택된다.
- [0498] 한 실시양태에서, n'은 1 내지 5로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 5로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 3으로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n'은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 1로부터 선택된다.
- [0499] 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0500] 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0501] 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0502] 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0503] 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0504] 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 1이고, n"은

- [0519] 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0520] 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0521] 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0522] 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0523] 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0524] 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0525] 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0526] 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0527] 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0528] 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0529] 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.
- [0530] 한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 이고, 여기서 m은 1 내지 4로부터 선택되고, 여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택되고, n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택되고, n"은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 0이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 4이다.

추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 6이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 6이다. 바람직하게는, 사카라이드는 스트랩토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.

- [0531] 한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $\text{NHCO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2$ 이고, 여기서 m은 1 내지 4로부터 선택되고, 여기서 X'는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m'}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n"은 0 내지 10으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택된다.
- [0532] 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 1로부터 선택된다.
- [0533] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0534] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0535] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0536] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0537] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0538] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0539] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0540] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0541] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 2이다.
- [0542] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 2이다.
- [0543] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고,

n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 2이다.

- [0544] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 2이다.
- [0545] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 3이다.
- [0546] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 3이다.
- [0547] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 3이다.
- [0548] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 3이다.
- [0549] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0550] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0551] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0552] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0553] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0554] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0555] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0556] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 5이다. 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.
- [0557] 한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $OCH_2(CH_2)_n$ 이고, n'은 1 내지 10으로부터 선택되고, 여기서 X'

는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, n "은 0 내지 10으로부터 선택된다.

- [0558] 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 5로부터 선택되고, n'' 은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 5로부터 선택되고, n'' 은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 3으로부터 선택되고, n'' 은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 2로부터 선택되고, n'' 은 0 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, n' 은 1이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, n'' 은 0이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, n'' 은 0이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, n'' 은 0이다. 추가 실시양태에서, n' 은 6이고, n'' 은 0이다. 특정 실시양태에서, n' 은 1이고, n'' 은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, n'' 은 1이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, n'' 은 1이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, n'' 은 1이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, n'' 은 1이다. 추가 실시양태에서, n' 은 6이고, n'' 은 1이다. 특정 실시양태에서, n' 은 1이고, n'' 은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, n'' 은 2이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, n'' 은 2이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, n'' 은 2이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, n'' 은 2이다. 추가 실시양태에서, n' 은 6이고, n'' 은 2이다. 특정 실시양태에서, n' 은 1이고, n'' 은 3이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, n'' 은 3이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, n'' 은 3이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, n'' 은 3이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, n'' 은 3이다. 추가 실시양태에서, n' 은 6이고, n'' 은 3이다. 특정 실시양태에서, n' 은 1이고, n'' 은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, n'' 은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, n'' 은 4이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, n'' 은 4이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, n'' 은 4이다. 추가 실시양태에서, n' 은 6이고, n'' 은 4이다. 특정 실시양태에서, n' 은 1이고, n'' 은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, n'' 은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, n'' 은 5이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, n'' 은 5이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, n'' 은 5이다. 추가 실시양태에서, n' 은 6이고, n'' 은 5이다. 특정 실시양태에서, n' 은 1이고, n'' 은 6이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, n'' 은 6이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, n'' 은 6이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, n'' 은 6이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, n'' 은 6이다. 추가 실시양태에서, n' 은 6이고, n'' 은 6이다. 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.
- [0559] 한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X 는 $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_n$ 이고, 여기서 n' 은 1 내지 10으로부터 선택되고, 여기서 X' 는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 이고, 여기서 n'' 은 0 내지 10으로부터 선택되고, m' 은 0 내지 4로부터 선택된다.
- [0560] 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 5로부터 선택되고, m' 은 0 내지 4로부터 선택되고, n'' 은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 5로부터 선택되고, m' 은 0 내지 4로부터 선택되고, n'' 은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 3으로부터 선택되고, m' 은 0 내지 2로부터 선택되고, n'' 은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, n' 은 1 내지 2로부터 선택되고, m' 은 0 내지 2로부터 선택되고, n'' 은 0 내지 1로부터 선택된다.
- [0561] 특정 실시양태에서, n' 은 1이고, m' 은 0이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 1이고, m' 은 1이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 1이고, m' 은 2이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 1이고, m' 은 3이고, n'' 은 0이다.
- [0562] 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, m' 은 0이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, m' 은 1이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, m' 은 2이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 2이고, m' 은 3이고, n'' 은 0이다.
- [0563] 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, m' 은 0이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, m' 은 1이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, m' 은 2이고, n'' 은 0이다. 또 다른 실시양태에서, n' 은 3이고, m' 은 3이고, n'' 은 0이다.
- [0564] 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, m' 은 0이고, n'' 은 0이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, m' 은 1이고, n'' 은 0이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, m' 은 2이고, n'' 은 0이다. 추가 실시양태에서, n' 은 4이고, m' 은 3이고, n'' 은 0이다.
- [0565] 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, m' 은 0이고, n'' 은 0이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, m' 은 1이고, n'' 은 0이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, m' 은 2이고, n'' 은 0이다. 추가 실시양태에서, n' 은 5이고, m' 은 3이고,

3이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 2이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 3이고, n"은 3이다.

- [0581] 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0582] 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0583] 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0584] 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0585] 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 0이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 1이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 2이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 3이고, n"은 4이다.
- [0586] 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, n'은 1이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0587] 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 2이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0588] 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, n'은 3이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0589] 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 4이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0590] 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 0이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 1이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 2이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, n'은 5이고, m'은 3이고, n"은 5이다.
- [0591] 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.
- [0592] 한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 이고, 여기서 m은 1 내지 4로부터 선택되고, 여기서 X'는 $CH_2O(CH_2)_nCH_2C=O$ 이고, 여기서 n"은 0 내지 10으로부터 선택된다.
- [0593] 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택되고, n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택되고, n"은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 3으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 2로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 0이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 2이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 3이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 3이

다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 3이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 3이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 4이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 4이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 4이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 5이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 5이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 5이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, n"은 6이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, n"은 6이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, n"은 6이다. 바람직하게는, 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.

- [0594] 한 실시양태에서, 본 발명은, 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 당접합체를 제공하며, 여기서 X는 $O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 이고, 여기서 m은 1 내지 4로부터 선택되고, 여기서 X'는 $CH_2O(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_n-CH_2C=O$ 이고, 여기서 n"은 0 내지 10으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택된다.
- [0595] 한 실시양태에서, m은 1 내지 3으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 10으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택되고, n"은 0 내지 5로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 3로부터 선택된다. 한 실시양태에서, m은 1 내지 2로부터 선택되고, m'은 0 내지 2로부터 선택되고, n"은 0 내지 1로부터 선택된다.
- [0596] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0597] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0598] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0599] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 0이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 0이다.
- [0600] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0601] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0602] 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 또 다른 실시양태에서, m은 3이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0603] 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 0이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 1이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 2이고, n"은 1이다. 추가 실시양태에서, m은 4이고, m'은 3이고, n"은 1이다.
- [0604] 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 1이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 특정 실시양태에서, m은 1이고, m'은 3이고, n"은 2이다.
- [0605] 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 0이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 1이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고, m'은 2이고, n"은 2이다. 또 다른 실시양태에서, m은 2이고,

- [0621] 바람직하게는, 본 발명의 당접합체의 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아니다.
- [0622] 1.5 본 발명의 당접합체의 담체 단백질
- [0623] 당접합체의 한 성분은 사카라이드가 접합되는 담체 단백질이다. 용어 "단백질 담체" 또는 "담체 단백질" 또는 "담체"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 담체 단백질은 표준 접합 절차에 적용가능해야 한다.
- [0624] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 DT (디프테리아 독소이드), TT (과상풍 독소이드) 또는 TT의 단편 C, CRM₁₉₇ (디프테리아 독소의 비독성이지만 항원적으로 동일한 변이체), 다른 DT 돌연변이체 (예컨대, CRM₁₇₆, CRM₂₂₈, CRM₄₅ (문헌 [Uchida et al. (1973) J. Biol. Chem. 218:3838-3844]), CRM₉, CRM₁₀₂, CRM₁₀₃ 또는 CRM₁₀₇; 및 문헌 [Nicholls and Youle in Genetically Engineered Toxins, Ed: Frankel, Maecel Dekker Inc. (1992)]에 기재된 다른 돌연변이; Glu-148의 Asp, Gln 또는 Ser로의 및/또는 Ala 158의 Gly로의 결실 또는 돌연변이 및 미국 특허 번호 4,709,017 및 4,950,740에 개시된 다른 돌연변이; 적어도 하나 이상의 잔기 Lys 516, Lys 526, Phe 530 및/또는 Lys 534의 돌연변이 및 미국 특허 번호 5,917,017 및 6,455,673에 개시된 다른 돌연변이; 또는 미국 특허 번호 5,843,711에 개시된 단편, 폐렴구균 뉴모리신 (ply) (문헌 [Kuo et al. (1995) Infect Immun 63:2706-2713]), 예를 들어 일부 방식으로 해독된 플라이, 예를 들어 dPLY-GMBS (WO 2004/081515, WO 2006/032499) 또는 dPLY-포르물, PhtX, 예를 들어 PhtA, PhtB, PhtD, PhtE (PhtA, PhtB, PhtD 또는 PhtE의 서열은 WO 00/37105 및 WO 00/39299에 개시되어 있음) 및 Pht 단백질의 융합체, 예를 들어 PhtDE 융합체, PhtBE 융합체, Pht A-E (WO 01/98334, WO 03/054007, WO 2009/000826), OMPC (수막구균 외막 단백질), 이는 통상적으로 네이세리아 메닝기티디스 혈청군 B (EP0372501), PorB (엔. 메닝기티디스(*N. meningitidis*)로부터), PD (헤모필루스 인플루엔자에(*Haemophilus influenzae*) 단백질 D; 예를 들어, EP0594610 B 참조), 또는 그의 면역학적 기능적 등가물로부터 추출됨, 합성 펩티드 (EP0378881, EP0427347), 열 쇼크 단백질 (WO 93/17712, WO 94/03208), 백일해 단백질 (WO 98/58668, EP0471177), 시토카인, 림포카인, 성장 인자 또는 호르몬 (WO 91/01146), 다양한 병원체 유래 항원으로부터의 다중 인간 CD4+ T 세포 에피토프를 포함하는 인공 단백질 (문헌 [Falugi et al. (2001) Eur J Immunol 31:3816-3824]), 예컨대 N19 단백질 (문헌 [Baraldoi et al. (2004) Infect Immun 72:4884-4887]), 폐렴구균 표면 단백질 PspA (WO 02/091998), 철 흡수 단백질 (WO 01/72337), 클로스트리디움 디피실레의 독소 A 또는 B (WO 00/61761), 트랜스페린 결합 단백질, 폐렴구균 부착 단백질 (PsaA), 재조합 슈도모나스 아에루기노사 외독소 A (특히, 그의 비-독성 돌연변이체 (예컨대, 글루탐산 553에서 치환을 보유하는 외독소 A (문헌 [Douglas et al. (1987) J. Bacteriol. 169(11):4967-4971]))로 이루어진 군에서 선택된다. 다른 단백질, 예컨대 오브알부민, 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH), 소 혈청 알부민 (BSA) 또는 투베르쿨린의 정제된 단백질 유도체 (PPD)가 또한 담체 단백질로서 사용될 수 있다. 다른 적합한 담체 단백질은 불활성화된 박테리아 독소, 예컨대 콜레라 독소이드 (예를 들어, WO 2004/083251에 기재된 바와 같음), 에스케리키아 콜라이 LT, 이. 콜라이 ST, 및 피. 아에루기노사로부터의 외독소 A를 포함한다. 또 다른 적합한 담체 단백질은 스트렙토코쿠스 (SCP)로부터의 C5a 펩티다제이다.
- [0625] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 TT, DT, DT 돌연변이체 (예컨대, CRM₁₉₇) 또는 스트렙토코쿠스 (SCP)로부터의 C5a 펩티다제이다.
- [0626] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 DT (디프테리아 독소이드)이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 TT (과상풍 독소이드)이다.
- [0627] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 PD (에이치. 인플루엔자에 단백질 D; 예를 들어 EP0594610 B 참조)이다.
- [0628] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 CRM₁₉₇ 또는 스트렙토코쿠스 (SCP)로부터의 C5a 펩티다제이다.
- [0629] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다. CRM₁₉₇ 단백질은 디프테리아 독소의 비독성 형태이지만, 디프테리아 독소와 면역학적으로 구별불가능하다. CRM₁₉₇은 독소생성 코리네박티리움 베타의 니트로소구아니딘 돌연변이유발에 의해 생성된 비독소생성 과지 β 197^{tox-}에 의해 감염된 코리네박티리움 디프테리아에(*Corynebacterium diphtheriae*)에 의해 생산된다 (문헌 [Uchida et al. (1971) Nature New Biology 233:8-11]). CRM₁₉₇ 단백질은 디프테리아 독소와 동일한 분자량을 갖지만, 구조 유전자에서 단일 염기 변화 (구아닌에

서 아테닌으로)에 의해 그와 상이하다. 이러한 단일 염기 변화는 성숙 단백질에서 아미노산 치환 (글리신에서 글루탐산으로 치환)을 야기하고, 이는 디프테리아 독소의 독성 특성을 제거한다. CRM₁₉₇ 단백질은 사카라이드에 대한 안전하고 효과적인 T-세포 의존성 담체이다. CRM₁₉₇ 및 그의 생산에 대한 추가의 세부사항은 예를 들어 미국 특허 5,614,382에서 볼 수 있다.

[0630] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 CRM₁₉₇의 A 쇠이다 (CN103495161 참조). 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 유전자 재조합 이. 콜라이에 의한 발현을 통해 수득된 CRM₁₉₇의 A 쇠이다 (CN103495161 참조).

[0631] 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCP (스트렙토코쿠스 C5a 펩티다제)이다. 인두염 및 농가진의 경도 사례로부터 피사성 근막염 (GAS) 및 신생아 패혈증 (GBS)과 같은 심각한 침습성 질환에 이르는 다양한 심각한 인간 감염을 유발하는 β-용혈성 스트렙토코쿠스의 2종의 중요한 종인 스트렙토코쿠스 피오게네스 (A군 스트렙토코쿠스, GAS) 및 스트렙토코쿠스 아갈락티아에 (B군 스트렙토코쿠스, GBS)는 이러한 면역 반응을 무산시키는 방법을 개발하였다. GAS 및 GBS를 비롯한 β-용혈성 스트렙토코쿠스의 모든 인간 단리물은 C5a를 특이적으로 불활성화시키는 고도로 보존된 세포벽 단백질 SCP (연쇄구균 C5a 펩티다제)를 생산한다. GAS 및 GBS로부터의 scp 유전자는 1,134 내지 1,181개의 아미노산을 함유하는 폴리펩티드를 코딩한다 (문헌 [Brown et al., PNAS, 2005, vol. 102, no. 51 pages 18391-18396]). 처음 31개의 잔기는 외수송 신호 프리서열이고, 세포질 막을 통과할 때 제거된다. 다음 68개의 잔기는 프로-서열로서 기능하고, 활성 SCP를 생산하기 위해 제거되어야 한다. 다음 10개의 잔기는 프로테아제 활성의 손실 없이 제거될 수 있다. 다른 말단에서, Lys-1034로 시작하여, 4개의 연속적인 17-잔기 모티프, 및 이어서 세포 분류 및 세포벽 부착 신호가 존재한다. 이 조합된 신호는 LPTTND 서열을 함유하는 20-잔기 친수성 서열, 17-잔기 소수성 서열, 및 짧은 염기성 카르복실 말단으로 구성된다.

[0632] SCP는 도메인으로 나눌 수 있다 (문헌 [Brown et al., PNAS, 2005, vol. 102, no. 51 pages 18391-18396]의 도 1B 참조). 이들 도메인은 프리/프로 도메인 (이는 외수송 신호 프리서열 (통상적으로 처음 31개의 잔기) 및 프로-서열 (통상적으로 다음 68개의 잔기)을 포함함), 프로테아제 도메인 (이는 2개의 부분으로 분할됨 (프로테아제 부분 1, 통상적으로 잔기 89-333/334 및 프로테아제 도메인 부분 2, 통상적으로 잔기 467/468-583/584), 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) (통상적으로 잔기 333/334-467/468), 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인 (Fn1, 통상적으로 잔기 583/584-712/713; Fn2, 통상적으로 잔기 712/713-928/929/930; 통상적으로 Fn3, 잔기 929/930-1029/1030/1031) 및 세포벽 앵커 도메인 (통상적으로 C-말단에 대한 리디시즈 1029/1030/1031)이다.

[0633] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 GBS로부터의 SCP (SCP_B)이다. SCP_B의 예는 W097/26008의 서열식별번호: 3에 제공된다. 또한, W000/34487의 서열식별번호: 3을 참조한다.

[0634] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 GAS로부터의 SCP (SCP_A)이다. SCP_A의 예는 W097/26008의 서열식별번호: 1 및 서열식별번호: 2에서 찾아볼 수 있다. 또한, W000/34487의 서열식별번호: 1, 2 및 23을 참조한다.

[0635] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCP이다.

[0636] 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 GBS로부터의 효소적 불활성 SCP (SCP_B)이다.

[0637] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 GAS로부터의 효소적 불활성 SCP (SCP_A)이다.

[0638] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCP의 단편이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCP_A의 단편이다. 바람직하게는, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCP_B의 단편이다.

[0639] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 단편이다.

[0640] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 단편이다.

- [0641] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인 중 2개를 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 효소적 불활성 단편이다.
- [0642] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCP의 효소적 불활성 단편이다. 한 실시양태에서, 상기 SCP의 효소적 불활성 단편은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만, 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는다.
- [0643] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCPA의 효소적 불활성 단편이다. 한 실시양태에서, 상기 SCPA의 효소적 불활성 단편은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만, 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는다.
- [0644] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCPB의 효소적 불활성 단편이다. 바람직하게는, 상기 SCPB의 효소적 불활성 단편은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만, 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는다.
- [0645] 한 실시양태에서, SCP의 효소적 활성은 야생형 서열의 적어도 1개의 아미노산을 대체함으로써 불활성화된다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 숫자는 W000/34487의 서열식별번호: 1의 넘버링에 따른 펩티다제에서의 아미노산 잔기 위치를 나타낸다.
- [0646] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCP이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 1개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 H193A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 N295A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 S512A이다.
- [0647] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCPA이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 1개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 H193A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 N295A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 S512A이다.
- [0648] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCPB이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 1개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 H193A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 N295A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 S512A이다.
- [0649] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCP의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 1개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 H193A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 N295A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 S512A이다.
- [0650] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA

도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 1개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 H193A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 N295A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 S512A이다.

[0651] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCPA의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 1개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 H193A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 N295A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 S512A이다.

[0652] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCPB의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 1개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 대체는 D130A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 H193A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 N295A이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 대체는 S512A이다.

[0653] 한 실시양태에서, SCP의 효소적 활성은 야생형 서열의 적어도 2개의 아미노산을 대체함으로써 불활성화된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 H193A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 N295A 및 S512A이다.

[0654] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성인 SCP이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 2개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 H193A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 N295A이다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 N295A 및 S512A이다.

[0655] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCPA이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 2개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 H193A이다. 한 실시양태에서, 상기

적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 N295A이다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 N295A 및 S512A이다.

[0656] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCPB이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 2개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 H193A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 N295A이다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 N295A 및 S512A이다.

[0657] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCP의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 2개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 H193A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 N295A이다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 N295A 및 S512A이다.

[0658] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 2개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 H193A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 N295A이다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 N295A 및 S512A이다.

[0659] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCPA의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 2개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 H193A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 N295A이다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 N295A 및 S512A이다.

[0660] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA

도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCPB의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 2개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 H193A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 N295A이다. 바람직하게는, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 N295A 및 S512A이다.

[0661] 한 실시양태에서, SCP의 효소적 활성은 야생형 서열의 적어도 3개의 아미노산을 대체함으로써 불활성화된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, N295A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 H193A, N295A 및 S512A이다.

[0662] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCP이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 3개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, N295A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 H193A, N295A 및 S512A이다.

[0663] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCPA이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 3개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, N295A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 H193A, N295A 및 S512A이다.

[0664] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCPB이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 3개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, N295A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 H193A, N295A 및 S512A이다.

[0665] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCP의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 3개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터

터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, N295A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 H193A, N295A 및 S512A이다.

[0666] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 3개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, N295A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 H193A, N295A 및 S512A이다.

[0667] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCPA의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 3개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, N295A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 H193A, N295A 및 S512A이다.

[0668] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCPB의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 3개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 N295A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, H193A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 D130A, N295A 및 S512A이다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 3개의 아미노산 대체는 H193A, N295A 및 S512A이다.

[0669] 한 실시양태에서, SCP의 효소적 활성은 야생형 서열의 적어도 4개의 아미노산을 대체함으로써 불활성화된다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A이다.

[0670] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCP이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 4개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A이다.

[0671] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCPA이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 4개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다.

한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A이다.

- [0672] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 효소적 불활성 SCPB이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 4개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A이다.
- [0673] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 SCP의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 4개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A이다.
- [0674] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 4개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A이다.
- [0675] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCPA의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 4개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A이다.
- [0676] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCPB의 효소적 불활성 단편이며, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 4개의 아미노산을 대체함으로써 달성된다. 바람직하게는, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 1에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산의 대체는 프로테아제 도메인의 부분 2에 있다. 한 실시양태에서, 상기 적어도 4개의 아미노산 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A이다.
- [0677] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 41로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.
- [0678] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 42로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0679] 서열식별번호: 41:

MAKTADTPATSKATIRDLNDPSQVKTLEKAGKGAGTVVAVIAAGFDKNH
EAWRLTDKAKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGKT
AVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLAD
YARNYAQAIRDAINLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGV
SIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVVGTAAADSTLTVASYSPDKQL
TETVTVKTADQQDKEMPVLSNRFEPNKAYDYAYANRGTKEDDFKDVKGK
IALIERGDIDFKDKIAKAKKAGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAF
ISRKDGLLLKDNPQKTITFNATPKVLPPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIKP
DIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTAMSAPLVAGIMGLLQEYETQYPDMT
PSERLDLAKKVLMSATALYDEDEKAYFSRQQGAGAVDAKKASAATMYV
TDKDNNTSSKVHLNNVSDKFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQTDKVDGKH
FALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTPIDASRFSDLLAQMKNGYFLE
GFVRFKQDPKKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEAN
SDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGVENIEDIESS
EITETIFAGTFAKQDDDSHYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDYVQFQGT
FLRNAKNLVAEVLDEKGNVWVTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRFEKTR
WDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIDNTTPEVATS
ATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAAYTYMDEDLPTTEYISPNEGTF
TLPEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNKPEQ

[0680]

[0681] 서열식별번호: 41은 950개 아미노산 길이이다.

[0682] 서열식별번호: 42:

AKTADTPATSKATIRDLNDPSQVKTLQEKGAGTVVAVIAAGFDKNH
EAWRLTDKAKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGKT
AVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLAD
YARNYAQAIRDAINLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGV
SIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVVGTAAADSTLTVASYSPDKQL
TETVTVKTADQQDKEMPVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGTKEDDFKDVKGK
IALIERGDIDFKDKIAKAKKAGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAF
ISRKDGLLLKDNPKQTITFNATPKVLPASGKLSRFSSWGLTADGNIKP
DIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTAMSAPLVAGIMGLLQEYETQYPDMT
PSERLDLAKKVLMSATALYDEDEKAYFSRQQGAGAVDAKKASAATMYV
TDKDNNTSSKVHLNNVSDKFEVTVTVHNKSDKPQELYQATVQTDKVDGKH
FALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTPIDASRFSKDLAQMKNGYFLE
GFVRFKQDPKKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEAN
SDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIHKAVKEGVENIEDIESS
EITETIFAGTFAKQDDDSHYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDYVQFQGT
FLRNAKNLVAEVLDEKGNVWVTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGGSTRFEKTR
WDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIDNTTPEVATS
ATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAITYMDEDLPTTEYISPNEGTF
TLPEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNKPEQ

[0683]

[0684] 서열식별번호: 42는 949개 아미노산 길이이다.

[0685] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 41과 적어도 90% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0686] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 41과 적어도 95% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0687] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 41과 적어도 99% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0688] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 41과 적어도 99.5% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0689] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 41과 적어도 99.8% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0690] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 41과 적어도 99.85% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0691] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 42와 적어도 90% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0692] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 42와 적어도 95% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0693] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 42와 적어도 99% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

[0694] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 42와 적어도 99.5% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.

- [0695] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 42와 적어도 99.8% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.
- [0696] 특정한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 서열식별번호: 42와 적어도 99.85% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편이다.
- [0697] 2 면역원성 조성물
- [0698] 2.1 본 발명의 당접합체의 조합
- [0699] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체 (상기 섹션 1에 개시된 바와 같음)를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다.
- [0700] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 1 내지 25종의 상이한 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다.
- [0701] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에의 상이한 혈청형으로부터의 1 내지 25종의 당접합체 (1 내지 25종의 폐렴구균 접합체)를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에의 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25종의 상이한 혈청형으로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에의 16 또는 20종의 상이한 혈청형으로부터의 당접합체를 포함한다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20가 폐렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 14, 15, 16, 17, 18 또는 19가 폐렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 16가 폐렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 19가 폐렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 20가 폐렴구균 접합체 조성물이다.
- [0702] 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 21, 22, 23, 24 또는 25가 폐렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 21가 폐렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 22가 폐렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 23가 폐렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 24가 폐렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 25가 폐렴구균 접합체 조성물이다.
- [0703] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 11가 폐렴구균 접합체 조성물이다.
- [0704] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 13가 폐렴구균 접합체 조성물이다.
- [0705] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 15가 폐렴구균 접합체 조성물이다.
- [0706] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 20가 폐렴구균 접합체 조성물이다.
- [0707] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 21가 폐렴구균 접합체 조성물이다.
- [0708] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 9N, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 21가 폐렴구균 접합체 조성물이다.
- [0709] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 2, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 9N, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체를 포함하는 면역

합하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 24가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0739] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23A, 23F, 24F, 33F 및 35B로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 24가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0740] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23B, 23F, 24F, 33F 및 35B로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 24가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0741] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23A, 23B, 23F, 24F, 33F 및 35B로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 24가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0742] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23A, 23B, 23F, 24F, 33F 및 35B로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 25가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0743] 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 7C, 9N, 10B, 15A, 16F, 17F, 20, 21, 22A, 23A, 23B, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 34, 35B, 35F 및 38로부터의 당접합체로 이루어진 군으로부터 선택된 본 발명의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다.

[0744] 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 7C, 9N, 10B, 15A, 16F, 17F, 20, 21, 22A, 23A, 23B, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 34, 35B, 35F 및 38로부터의 당접합체로 이루어진 군으로부터 선택된 본 발명의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 21가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0745] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 7C, 9N, 10B, 15A, 16F, 17F, 20, 21, 22A, 23A, 23B, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 34, 35B, 35F 및 38로부터의 당접합체로 이루어진 군으로부터 선택된 21종의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 22가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0746] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 7C, 9N, 10B, 15A, 16F, 17F, 19A, 19F, 20, 21, 22A, 23A, 23B, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 34, 35B, 35F 및 38로부터의 당접합체로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다.

[0747] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 7C, 9N, 10B, 15A, 16F, 17F, 19A, 19F, 20, 21, 22A, 23A, 23B, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 34, 35B, 35F 및 38로부터의 당접합체로 이루어진 군으로부터 선택된 22종의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 23가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0748] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 7C, 9N, 10B, 15A, 16F, 17F, 19A, 19F, 20, 21, 22A, 23A, 23B, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 34, 35B, 35F 및 38로부터의 당접합체로 이루어진 군으로부터 선택된 23종의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 24가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0749] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 9N, 15A, 17F, 20, 23A, 23B, 24F 및 35B로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 10가 페렴구균 접합체 조성물이다.

[0750] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 9N, 15A, 17F, 19A, 19F, 20, 23A, 23B, 24F 및 35B로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에

서, 면역원성 조성물은 12가 페럼구균 접합체 조성물이다.

- [0751] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 7C, 9N, 10B, 15A, 16F, 17F, 20, 21, 22A, 23A, 23B, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 34, 35B, 35F 및 38로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 23가 페럼구균 접합체 조성물이다.
- [0752] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 당접합체를 포함하고 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 7C, 9N, 10B, 15A, 16F, 17F, 19A, 19F, 20, 21, 22A, 23A, 23B, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 34, 35B, 35F 및 38로부터의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 면역원성 조성물은 25가 페럼구균 접합체 조성물이다.
- [0753] 바람직한 실시양태에서, 사카라이드는 단백질 담체의 상이한 분자에 각각 개별적으로 접합된다 (단백질 담체의 각각의 분자는 단지 그에 접합된 1종의 유형의 사카라이드를 가짐). 상기 실시양태에서, 피막 사카라이드는 담체 단백질에 개별적으로 접합된 것으로 언급된다. 바람직하게는, 상기 면역원성 조성물의 모든 당접합체는 담체 단백질에 개별적으로 접합된다.
- [0754] 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 SCP에 접합된다.
- [0755] 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 22F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 33F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 15B로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 12F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 10A로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 11A로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 8로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 5 및 7F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A 및 19A로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다.
- [0756] 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 당접합체는 모두 개별적으로 CRM₁₉₇에 접합된다.
- [0757] 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 SCP에 접합되고, 다른 당접합체(들)는 모두 개별적으로 CRM₁₉₇에 접합된다.
- [0758] 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및/또는 23F로부터의 당접합체는 PD에 개별적으로 접합된다.
- [0759] 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체는 TT에 접합된다.
- [0760] 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 19F로부터의 당접합체는 DT에 접합된다.
- [0761] 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및/또는 23F로부터의 당접합체는 PD에 개별적으로 접합되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체는 TT에 접합되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19F로부터의 당접합체는 DT에 접합된다.
- [0762] 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에의 8 내지 25종의 상이한 혈청형을 포함한다.
- [0763] 본 발명의 조성물은 소량의 유리 담체를 포함할 수 있다. 주어진 담체 단백질이 본 발명의 조성물 중에 유리 형태 및 접합된 형태 둘 다로 존재하는 경우, 비접합된 형태는 바람직하게는 전체로서의 조성물 중 담체 단백질

의 총량의 5% 이하이고, 보다 바람직하게는 2 중량% 미만으로 존재한다.

- [0764] 2.2 본 발명의 면역원성 조성물의 투여량
- [0765] 각각의 용량에서 당접합체(들)의 양은 전형적인 백신에서 유의한 유해 부작용 없이 면역보호 반응을 유도하는 양으로서 선택된다. 이러한 양은 어떤 특이적 면역원이 사용되는지 및 그것이 어떻게 제시되는지에 따라 달라질 것이다.
- [0766] 면역원성 조성물 중 특정한 당접합체의 양은 그 접합체 (접합 및 비-접합)에 대한 총 사카라이드를 기준으로 하여 계산될 수 있다. 예를 들어, 20% 유리 사카라이드를 갖는 당접합체는 100 μg 사카라이드 용량 중에 약 80 μg 의 접합된 사카라이드 및 약 20 μg 의 비접합된 사카라이드를 가질 것이다. 당접합체의 양은 박테리아 및 박테리아 혈청형에 따라 달라질 수 있다. 사카라이드 농도는 우론산 검정에 의해 결정될 수 있다.
- [0767] 면역원성 조성물 중 상이한 사카라이드 성분의 "면역원성 양"은 다양할 수 있고, 각각은 약 0.5 μg , 약 0.75 μg , 약 1 μg , 약 2 μg , 약 3 μg , 약 4 μg , 약 5 μg , 약 6 μg , 약 7 μg , 약 8 μg , 약 9 μg , 약 10 μg , 약 15 μg , 약 20 μg , 약 30 μg , 약 40 μg , 약 50 μg , 약 60 μg , 약 70 μg , 약 80 μg , 약 90 μg , 또는 약 100 μg 의 임의의 특정한 사카라이드 항원을 포함할 수 있다.
- [0768] 일반적으로, 각각의 용량은 0.1 μg 내지 100 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 0.1 μg 내지 100 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 바람직한 실시양태에서, 각각의 용량은 0.5 μg 내지 20 μg 을 포함할 것이다. 바람직한 실시양태에서, 각각의 용량은 1.0 μg 내지 10 μg 을 포함할 것이다. 보다 바람직한 실시양태에서, 각각의 용량은 2.0 μg 내지 5.0 μg 의 혈청형 3 폴리사카라이드를 포함할 것이다. 임의의 상기 범위 내의 임의의 정수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.
- [0769] 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 0.5 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 0.55 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 0.75 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 1.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 1.1 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 1.5 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 2.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 2.2 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 2.5 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 3.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 3.5 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 4.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 4.4 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 5.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 5.5 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 6.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다.
- [0770] 일반적으로, 각각의 용량은 주어진 박테리아 또는 혈청형에 대해 0.1 μg 내지 100 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 주어진 박테리아 또는 혈청형에 대해 0.1 μg 내지 100 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 바람직한 실시양태에서, 각각의 용량은 0.5 μg 내지 20 μg 을 포함할 것이다. 바람직한 실시양태에서, 각각의 용량은 1.0 μg 내지 10 μg 을 포함할 것이다. 보다 바람직한 실시양태에서, 각각의 용량은 주어진 박테리아 또는 혈청형에 대해 2.0 μg 내지 5.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 임의의 상기 범위 내의 임의의 정수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.
- [0771] 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 0.5 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 0.55 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 0.75 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 1.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 1.1 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 1.5 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 2.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 2.2 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 2.5 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 3.0 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 3.5 μg 의 사카라이드를 포함할 것이다.

한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 4.0 μg의 사카라이드를 포함할 것이다.
 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 4.4 μg의 사카라이드를 포함할 것이다.
 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 5.0 μg의 사카라이드를 포함할 것이다.
 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 5.5 μg의 사카라이드를 포함할 것이다.
 한 실시양태에서, 각각의 용량은 각각의 특정한 당접합체에 대해 약 6.0 μg의 사카라이드를 포함할 것이다.

[0772] 2.3 담체 양

[0773] 일반적으로, 각각의 용량은 10 μg 내지 150 μg의 담체 단백질, 특히 15 μg 내지 100 μg의 담체 단백질, 보다 특히 25 μg 내지 75 μg의 담체 단백질, 보다 더 특히 40 μg 내지 60 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 상기 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다. 한 실시양태에서, 상기 담체 단백질은 SCP이다.

[0774] 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 10 μg, 약 15 μg, 약 20 μg, 약 25 μg, 약 26 μg, 약 27 μg, 약 28 μg, 약 29 μg, 약 30 μg, 약 31 μg, 약 32 μg, 약 33 μg, 약 34 μg, 약 35 μg, 약 36 μg, 약 37 μg, 약 38 μg, 약 39 μg, 약 40 μg, 약 41 μg, 약 42 μg, 약 43 μg, 약 44 μg, 약 45 μg, 약 46 μg, 약 47 μg, 약 48 μg, 약 49 μg, 약 50 μg, 약 51 μg, 약 52 μg, 약 53 μg, 약 54 μg, 약 55 μg, 약 56 μg, 약 57 μg, 약 58 μg, 약 59 μg, 약 60 μg, 약 61 μg, 약 62 μg, 약 63 μg, 약 64 μg, 약 65 μg, 약 66 μg, 약 67 μg, 약 68 μg, 약 69 μg, 약 70 μg, 약 71 μg, 약 72 μg, 약 73 μg, 약 74 μg 또는 약 75 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다.

[0775] 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 25 μg, 약 26 μg, 약 27 μg, 약 28 μg, 약 29 μg, 약 30 μg, 약 31 μg, 약 32 μg, 약 33 μg, 약 34 μg, 약 35 μg, 약 36 μg, 약 37 μg, 약 38 μg, 약 39 μg, 약 40 μg, 약 41 μg, 약 42 μg, 약 43 μg, 약 44 μg, 약 45 μg, 약 46 μg, 약 47 μg, 약 48 μg, 약 49 μg, 약 50 μg, 약 51 μg, 약 52 μg, 약 53 μg, 약 54 μg, 약 55 μg, 약 56 μg, 약 57 μg, 약 58 μg, 약 59 μg, 약 60 μg, 약 61 μg, 약 62 μg, 약 63 μg, 약 64 μg, 약 65 μg, 약 66 μg, 약 67 μg, 약 68 μg, 약 69 μg, 약 70 μg, 약 71 μg, 약 72 μg, 약 73 μg, 약 74 μg 또는 약 75 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다.

[0776] 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 30 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 31 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 32 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 33 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 34 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 45 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다.

[0777] 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 40 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 41 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 42 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 43 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 44 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 45 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다.

[0778] 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 48 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 49 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 50 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 51 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 52 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 53 μg의 담체 단백질을 포함할 것이다.

[0779] 한 실시양태에서, 상기 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다.

[0780] 한 실시양태에서, 상기 담체 단백질은 SCP이다.

[0781] 2.4 추가의 항원

[0782] 본 발명의 면역원성 조성물은 접합된 사카라이드 항원(들) (당접합체(들))을 포함한다. 이들은 또한 다른 병원체(들), 특히 박테리아 및/또는 바이러스로부터의 항원(들)을 추가로 포함할 수 있다. 바람직한 추가의 항원은 디프테리아 독소이드 (D), 과상풍 독소이드 (T), 백일해 항원 (P) (전형적으로 무세포성임 (Pa)), B형 간염 바이러스 (HBV) 표면 항원 (HBsAg), A형 간염 바이러스 (HAV) 항원, 접합된 헤모필루스 인플루엔자에 b형 피막 사

카라이드 (Hib), 불활성화된 폴리오바이러스 백신 (IPV)으로부터 선택된다.

- [0783] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 D-T-Pa를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 D-T-Pa-Hib, D-T-Pa-IPV 또는 D-T-Pa-HBsAg를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 D-T-Pa-HBsAg-IPV 또는 D-T-Pa-HBsAg-Hib를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 D-T-Pa-HBsAg-IPV-Hib를 포함한다.
- [0784] 백일해 항원: 보르데텔라 페르투스시스(*Bordetella pertussis*)는 백일해를 유발한다. 백신 내의 백일해 항원은 세포성 (전세포, 불활성화된 비. 페르투스시스 세포의 형태) 또는 무세포성이다. 세포성 백일해 항원의 제조는 널리 문서화되어 있다 (예를 들어, 이는 비. 페르투스시스의 I상 배양물의 열 불활성화에 의해 획득될 수 있음). 그러나, 바람직하게는, 본 발명은 무세포성 항원을 사용한다. 무세포성 항원이 사용되는 경우, 다음 항원 중 1, 2 또는 (바람직하게는) 3종을 사용하는 것이 바람직하다: (1) 해독된 백일해 독소 (백일해 특소이드, 또는 PT); (2) 사상 헤마글루티닌 (FHA); (3) 페르타틴 (69 킬로달톤 외막 단백질로도 공지됨). FHA 및 페르타틴은 본 발명에 따른 사용 전에 포름알데히드로 처리될 수 있다. PT는 바람직하게는 포름알데히드 및/또는 글루타르알데히드로의 처리에 의해 해독된다. 무세포성 백일해 항원은 바람직하게는 1종 이상의 알루미늄 염 아주반트 상에 흡착된다. 대안으로서, 이들은 흡착되지 않은 상태로 첨가될 수 있다. 페르타틴이 첨가되는 경우, 이는 바람직하게는 수산화알루미늄 아주반트 상에 미리 흡착된다. PT 및 FHA는 수산화알루미늄 아주반트 또는 인산알루미늄 상에 흡착될 수 있다. PT, FHA 및 페르타틴 모두를 수산화알루미늄에 흡착시키는 것이 가장 바람직하다.
- [0785] 불활성화된 폴리오바이러스 백신: 폴리오바이러스는 회색질척수염을 유발한다. 경구 폴리오바이러스 백신을 사용하기보다는, 본 발명의 바람직한 실시양태는 IPV를 사용한다. 환자에게 투여하기 전에, 폴리오바이러스는 불활성화되어야 하고, 이는 포름알데히드를 사용한 처리에 의해 달성될 수 있다. 회색질척수염은 3가지 유형의 폴리오바이러스 중 하나에 의해 유발될 수 있다. 3가지 유형은 유사하고, 동일한 증상을 유발하지만, 이들은 항원적으로 상이하고, 1가지 유형에 의한 감염은 다른 것에 의한 감염에 대해 보호하지 않는다. 따라서, 본 발명에서 3종의 폴리오바이러스 항원: 폴리오바이러스 유형 1 (예를 들어, 마호니 균주), 폴리오바이러스 유형 2 (예를 들어, MEF-1 균주), 및 폴리오바이러스 유형 3 (예를 들어, 사우케트 균주)을 사용하는 것이 바람직하다. 바이러스는 바람직하게는 개별적으로 성장, 정제 및 불활성화되고, 이어서 합하여 본 발명과 함께 사용하기 위한 벌크 3가 혼합물을 제공한다.
- [0786] 디프테리아 특소이드: 코리네박테리움 디프테리아에는 디프테리아를 유발한다. 디프테리아 독소는 주사 후 특이적 항-독소 항체를 유도하는 능력을 유지하면서 독성을 제거하도록 처리될 수 있다 (예를 들어, 포르말린 또는 포름알데히드를 사용함). 이들 디프테리아 특소이드는 디프테리아 백신에 사용된다. 바람직한 디프테리아 특소이드는 포름알데히드 처리에 의해 제조된 것이다. 디프테리아 특소이드는 성장 배지에서 씨. 디프테리아에를 성장시킨 후, 포름알데히드 처리, 한외여과 및 침전에 의해 획득될 수 있다. 이어서, 특소이드화된 물질은 멸균 여과 및/또는 투석을 포함하는 공정에 의해 처리될 수 있다. 디프테리아 특소이드는 바람직하게는 수산화알루미늄 아주반트 상에 흡착된다.
- [0787] 과상풍 특소이드: 클로스트리디움 테타니는 과상풍을 유발한다. 과상풍 독소는 보호 특소이드를 제공하도록 처리될 수 있다. 특소이드는 과상풍 백신에 사용된다. 바람직한 과상풍 특소이드는 포름알데히드 처리에 의해 제조된 것이다. 과상풍 특소이드는 성장 배지에서 씨. 테타니를 성장시킨 후, 포름알데히드 처리, 한외여과 및 침전에 의해 얻을 수 있다. 이어서, 물질은 멸균 여과 및/또는 투석을 포함하는 공정에 의해 처리될 수 있다.
- [0788] A형 간염 바이러스 항원: A형 간염 바이러스 (HAV)는 바이러스성 간염을 유발하는 공지된 작용제 중 하나이다. 바람직한 HAV 성분은 불활성화된 바이러스를 기재로 하고, 불활성화는 포르말린 처리에 의해 달성될 수 있다.
- [0789] B형 간염 바이러스 (HBV)는 바이러스성 간염을 유발하는 공지된 작용제 중 하나이다. 캡시드의 주요 성분은 HBV 표면 항원, 또는 보다 일반적으로는 HBsAg로 공지된 단백질이고, 이는 전형적으로 분자량이 ~24 kDa인 226-아미노산 폴리펩티드이다. 모든 기존 B형 간염 백신은 HBsAg를 함유하고, 이 항원이 정상 백신접종자에게 투여되는 경우에 이는 HBV 감염에 대해 보호하는 항-HBsAg 항체의 생산을 자극한다.
- [0790] 백신 제조를 위해, HBsAg는 2가지 방식으로 제조되었다: 만성 B형 간염 담체의 혈장으로부터 미립자 형태의 항원의 정제 또는 재조합 DNA 방법에 의한 단백질의 발현 (예를 들어, 효모 세포에서의 재조합 발현). 천연 HBsAg (즉, 혈장-정제된 생성물에서와 같이)와 달리, 효모-발현된 HBsAg는 일반적으로 비-글리코실화되고, 이것은 본 발명에서 사용하기 위한 HBsAg의 가장 바람직한 형태이다.

[0791] 접합된 헤모필루스 인플루엔자에 b형 항원: 헤모필루스 인플루엔자에 b형 (Hib)은 박테리아성 수막염을 유발한다. Hib 백신은 전형적으로 피막 사카라이드 항원에 기반하며, 그의 제조는 널리 문서화되어 있다. Hib 사카라이드는 특히 소아에서 그의 면역원성을 증진시키기 위해 담체 단백질에 접합될 수 있다. 전형적인 담체 단백질은 파상풍 독소이드, 디프테리아 독소이드, CRM₁₉₇, 에이치. 인플루엔자에 단백질 D, 및 혈청군 B 수막구균으로부터의 외막 단백질 복합체이다. 접합체의 사카라이드 모이어티는 Hib 박테리아로부터 제조된 바와 같은 전장 폴리리보실리비톨 포스페이트 (PRP) 및/또는 전장 PRP의 단편을 포함할 수 있다. Hib 접합체는 알루미늄 염 아주반트에 흡착되거나 흡착되지 않을 수 있다.

[0792] 2.5 아주반트(들)

[0793] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 적어도 1, 2 또는 3종의 아주반트를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 적어도 1종의 아주반트를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 1종의 아주반트를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 2종의 아주반트를 추가로 포함할 수 있다. 용어 "아주반트"는 항원에 대한 면역 반응을 증진시키는 화합물 또는 혼합물을 지칭한다. 항원은 주로 전달 시스템으로서, 주로 면역 조절제로서 작용할 수 있거나 또는 둘 다의 강한 특색을 가질 수 있다.

[0794] 적합한 아주반트는 인간을 비롯한 포유동물에서 사용하기에 적합한 것을 포함한다. 인간에서 사용될 수 있는 공지된 적합한 전달-시스템 유형 아주반트의 예는 명반 (예를 들어, 인산알루미늄, 황산알루미늄 또는 수산화알루미늄), 인산칼슘, 리포솜, 수중유 에멀전, 예컨대 MF59 (4.3% w/v 스쿠알렌, 0.5% w/v 폴리소르베이트 80 (트윈 80), 0.5% w/v 소르비탄 트리올레이트 (스판 85)), 유중수 에멀전, 예컨대 몬타나드, 및 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드) (PLG) 마이크로입자 또는 나노입자를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0795] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 아주반트로서 알루미늄 염 (명반)을 포함한다 (예를 들어, 인산알루미늄, 황산알루미늄 또는 수산화알루미늄). 바람직한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 아주반트로서 인산알루미늄 또는 수산화알루미늄을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 아주반트로서 인산알루미늄을 포함한다.

[0796] 본원에 개시된 바와 같은 면역원성 조성물의 유효성을 증진시키기 위한 추가의 예시적인 아주반트는 다음을 포함하나 이에 제한되지는 않는다: (1) 수중유 에멀전 제제 (다른 특이적 면역자극제, 예컨대 뮤라밀 펩티드 (하기 참조) 또는 박테리아 세포벽 성분을 함유하거나 함유하지 않음), 예컨대 예를 들어 (a) 서브마이크로미터 에멀전으로 미세유동화되거나 또는 보다 큰 입자 크기의 에멀전을 생성하도록 불텍스팅, 10% 스쿠알렌, 0.4% 트윈 80, 5% 플루로닉-차단된 중합체 L121 및 thr-MDP를 함유하는 SAF, 및 (b) 2% 스쿠알렌, 0.2% 트윈 80, 및 1종 이상의 박테리아 세포벽 성분, 예컨대 모노포스포릴 지질 A (MPL), 트레할로스 디미콜레이트 (TDM) 및 세포벽 골격 (CWS), 바람직하게는 MPL+ CWS (데톡스(DETOX)TM)를 함유하는 리비(RIBI)TM 아주반트 시스템 (RAS) (리비 이뮤노캠(Ribi Immunochem), 몬타나주 해밀턴); (2) 사포닌 아주반트, 예컨대 QS21, 스티물론(STIMULON)TM (캠브리지 바이오사이언스(Cambridge Bioscience), 매사추세츠주 우스터), 아비스코(ABISCO)[®] (이스코노바(Isconova), 스웨덴), 또는 이스코 매트릭스(ISCOMATRIX)[®] (커먼웰스 세럼 래보러토리즈(Commonwealth Serum Laboratories), 오스트레일리아)가 사용될 수 있거나, 또는 그로부터 생성된 입자, 예컨대 이스콤(ISCOM) (면역 자극 복합체) (이스콤은 추가의 세제가 결합될 수 있음) (예를 들어, WO 00/07621); (3) 완전 프로인트 아주반트 (CFA) 및 불완전 프로인트 아주반트 (IFA); (4) 시토카인, 예컨대 인터류킨 (예를 들어, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12 (예를 들어, WO 99/44636)), 인터페론 (예를 들어, 감마 인터페론), 대식세포 콜로니 자극 인자 (M-CSF), 종양 괴사 인자 (TNF) 등; (5) 모노포스포릴 지질 A (MPL) 또는 3-O-탈아실화 MPL (3dMPL) (예를 들어, GB-2220221, EP0689454 참조), 임의로 페럼구균 사카라이드와 함께 사용되는 경우 알룸의 실질적 부재 하에 있음 (예를 들어, WO 00/56358 참조); (6) 3dMPL과, 예를 들어 QS21 및/또는 수중유 에멀전의 조합물 (예를 들어, EP0835318, EP0735898, EP0761231 참조); (7) 폴리옥시에틸렌 에테르 또는 폴리옥시에틸렌 에스테르 (예를 들어, WO 99/52549 참조); (8) 옥톡시놀과 조합된 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르 계면활성제 (예를 들어, WO 01/21207) 또는 적어도 1종의 추가의 비-이온성 계면활성제, 예컨대 옥톡시놀과 조합된 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르 또는 에스테르 계면활성제 (예를 들어, WO 01/21152); (9) 사포닌 및 면역자극 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, CpG 올리고뉴클레오타이드) (예를 들어, WO 00/62800); (10) 면역자극제 및 금속 염의 입자 (예를 들어, WO 00/23105 참조); (11) 사포닌 및 수중유 에멀전 (예를 들어, WO 99/11241); (12) 사포닌 (예를 들어, QS21) + 3dMPL + IM2 (임의로 + 스테롤) (예를 들어, WO 98/57659); (13) 조성물의 효능을 증진시키기 위한 면역자극제로서 작용하는 다른 물질. 뮤라밀 펩티드는 N-아세틸-뮤라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민 (thr-

MDP), N-25 아세틸-노르무라밀-L-알라닐-D-이소글루타민 (nor-MDP), N-아세틸무라밀-L-알라닐-D-이소글루타르니닐-L-알라닌-2-(1'-2'-디팔미토일-sn-글리세로-3-히드록시포스포릴옥시)-에틸아민 MTP-PE) 등을 포함한다.

- [0797] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 면역원성 조성물은 아주반트로서 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 본원에 사용된 CpG 올리고뉴클레오티드는 면역자극 CpG 올리고데옥시뉴클레오티드 (CpG ODN)를 지칭하고, 따라서 이들 용어는 달리 나타내지 않는 한 상호교환가능하게 사용된다. 면역자극성 CpG 올리고데옥시뉴클레오티드는, 임의로 특정의 바람직한 염기 맥락 내에서, 메틸화되지 않은 시토신-구아닌 디뉴클레오티드인 하나 이상의 면역자극성 CpG 모티프를 함유한다. CpG 면역자극 모티프의 메틸화 상태는 일반적으로 디뉴클레오티드 내의 시토신 잔기를 지칭한다. 적어도 하나의 비메틸화 CpG 디뉴클레오티드를 함유하는 면역자극 올리고뉴클레오티드는, 포스페이트 결합에 의해 3' 구아닌에 연결된 5' 비메틸화 시토신을 함유하고 툴-유사 수용체 9 (TLR-9)에 대한 결합을 통해 면역계를 활성화시키는 올리고뉴클레오티드이다. 또 다른 실시양태에서, 면역자극 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 메틸화된 CpG 디뉴클레오티드를 함유할 수 있고, 이는 TLR9를 통해 면역계를 활성화시킬 것이지만, CpG 모티프(들)가 메틸화되지 않은 것처럼 강하지는 않다. CpG 면역자극 올리고뉴클레오티드는 CpG 디뉴클레오티드를 포함할 수 있는 하나 이상의 팔린드롬을 포함할 수 있다. CpG 올리고뉴클레오티드는 미국 특허 번호 6,194,388; 6,207,646; 6,214,806; 6,218,371; 6,239,116; 및 6,339,068을 비롯한 다수의 허여된 특허, 공개된 특허 출원, 및 다른 간행물에 기재되어 있다.
- [0798] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 면역원성 조성물은 WO 2010/125480의 제3면 제22행 내지 제12면 제36행에 기재된 임의의 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다.
- [0799] 상이한 부류의 CpG 면역자극 올리고뉴클레오티드가 확인되었다. 이들은 A, B, C 및 P 부류로 지칭되고, WO 2010/125480의 제3면 제22행 내지 제12면 제36행에 보다 상세히 기재되어 있다. 본 발명의 방법은 이들 상이한 부류의 CpG 면역자극 올리고뉴클레오티드의 사용을 포함한다.
- [0800] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 면역원성 조성물은 A 부류 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 "A 부류" CpG 올리고뉴클레오티드는 다음의 핵산 서열을 갖는다: 5' GGGGACGACGTCGTGGGGGGG 3' (서열식별번호: 1). A-부류 올리고뉴클레오티드의 일부 비제한적 예는 5' G*G*G_G_A_C_G_A_C_G_T_C_G_T_G_G*G*G*G*G*G 3' (서열식별번호: 2)을 포함하고; 여기서 "*"는 포스포로티오에이트 결합을 지칭하고, "_"는 포스포디에스테르 결합을 지칭한다.
- [0801] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 면역원성 조성물은 B 부류 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용하기 위한 CpG 올리고뉴클레오티드는 적어도 화학식: 5' X₁X₂CGX₃X₄ 3' (여기서, X₁, X₂, X₃, 및 X₄는 뉴클레오티드임)에 의해 나타내어지는 B 부류 CpG 올리고뉴클레오티드이다. 한 실시양태에서, X₂는 아데닌, 구아닌 또는 티민이다. 또 다른 실시양태에서, X₃은 시토신, 아데닌 또는 티민이다.
- [0802] 본 발명의 B 부류 CpG 올리고뉴클레오티드 서열은, 상기 광범위하게 설명되고 WO 96/02555, WO 98/18810 및 미국 특허 6,194,388; 6,207,646; 6,214,806; 6,218,371; 6,239,116 및 6,339,068에 개시된 것이다. 예시적인 서열은 이들 후자의 출원 및 특허에 개시된 것을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0803] 한 실시양태에서, 본 발명의 "B 부류" CpG 올리고뉴클레오티드는 하기 핵산 서열을 갖는다:
- [0804] 5' TCGTCGTTTTTCGGTGCCTTT 3' (서열식별번호: 3), 또는
- [0805] 5' TCGTCGTTTTTCGGTCGTTTT 3' (서열식별번호: 4), 또는
- [0806] 5' TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT 3' (서열식별번호: 5), 또는
- [0807] 5' TCGTCGTTTCGTCGTTTTGTCGTT 3' (서열식별번호: 6), 또는
- [0808] 5' TCGTCGTTTTGTCGTTTTTTTCGA 3' (서열식별번호: 7).
- [0809] 임의의 이들 서열에서, 모든 연결은 모두 포스포로티오에이트 결합일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 임의의 이들 서열에서, 연결 중 1개 이상은 바람직하게는 반-연결 CpG 올리고뉴클레오티드를 만드는 CpG 모티프의 "C"와 "G" 사이의 포스포디에스테르일 수 있다. 임의의 이들 서열에서, 에틸-우리딘 또는 할로젠이 5' T를 치환할 수 있고; 할로겐 치환의 예는 브로모-우리딘 또는 아이오도-우리딘 치환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0810] B-부류 올리고뉴클레오티드의 일부 비제한적인 예는 다음을 포함한다:

- [0811] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*T*G*C*T*T*T 3' (서열식별번호: 8), 또는
- [0812] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*T*C*G*T*T*T 3' (서열식별번호: 9), 또는
- [0813] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T*T*G*T*C*G*T*T 3' (서열식별번호: 10), 또는
- [0814] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T*T*G*T*C*G*T*T 3' (서열식별번호: 11), 또는
- [0815] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T*T*T*T*T*C*G*A 3' (서열식별번호: 12).
- [0816] 여기서 "*"는 포스포로티오에이트 결합을 지칭한다.
- [0817] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 면역원성 조성물은 C 부류 CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 "C 부류" CpG 올리고뉴클레오티드는 하기 핵산 서열을 갖는다:
- [0818] 5' TCGCGTCGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 13), 또는
- [0819] 5' TCGTCGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 14), 또는
- [0820] 5' TCGGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 15), 또는
- [0821] 5' TCGGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 16), 또는
- [0822] 5' TCGCGTCGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 17), 또는
- [0823] 5' TCGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 18), 또는
- [0824] 5' TCGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 19), 또는
- [0825] 5' TCGCGTCGTTTCGGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 20), 또는
- [0826] 5' TCGGACGTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 21), 또는
- [0827] 5' TCGTCGTTTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 22), 또는
- [0828] 5' TCGTCGTTTTTCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 23), 또는
- [0829] 5' TCGTCGTTTTACGGCGCGCGTCCG 3' (서열식별번호: 24), 또는
- [0830] 5' TCGTCGTTTTTCGGCGCGCGCCGT 3' (서열식별번호: 25).
- [0831] 임의의 이들 서열에서, 모든 연결은 모두 포스포로티오에이트 결합일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 임의의 이들 서열에서, 연결 중 1개 이상은 바람직하게는 반-연질 CpG 올리고뉴클레오티드를 만드는 CpG 모티프의 "C"와 "G" 사이의 포스포디에스테르일 수 있다.
- [0832] C-부류 올리고뉴클레오티드의 일부 비제한적인 예는 다음을 포함한다:
- [0833] 5' T*C_G*C_G*T*C_G*T*T*C_G*C*G*C_G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 26), 또는
- [0834] 5' T*C_G*T*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C_G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 27), 또는
- [0835] 5' T*C_G*G*A*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C_G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 28), 또는
- [0836] 5' T*C_G*G*A*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 29), 또는
- [0837] 5' T*C_G*C_G*T*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 30), 또는
- [0838] 5' T*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C_G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 31), 또는
- [0839] 5' T*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 32), 또는
- [0840] 5' T*C_G*C_G*T*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 33), 또는
- [0841] 5' T*C_G*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C_G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 34), 또는
- [0842] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*C*G*C*G*C*G*C*G 3' (서열식별번호: 35), 또는
- [0843] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*C*G*C*G*C*G*C*G 3' (서열식별번호: 36), 또는

- [0844] 5' T*C*G*T*C_G*T*T*T*A*C_G*G*C*G*C*C_G*T*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 37), 또는
- [0845] 5' T*C_G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*C*G*C*G*C*C*G*T 3' (서열식별번호: 38)
- [0846] 여기서 "*"는 포스포로티오에이트 결합을 지칭하고, "_"는 포스포디에스테르 결합을 지칭한다.
- [0847] 임의의 이들 서열에서, 에틸-우리딘 또는 할로겐이 5' T를 치환할 수 있고; 할로겐 치환의 예는 브로모-우리딘 또는 아이오도-우리딘 치환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0848] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 면역원성 조성물은 P 부류 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명에 사용하기 위한 CpG 올리고뉴클레오타이드는, 5' TLR 활성화 도메인, 및 1개의 팔린드롬 영역이 적어도 6개의 뉴클레오타이드 길이의 5' 팔린드롬 영역이고 적어도 8개의 뉴클레오타이드 길이의 3' 팔린드롬 영역에 직접 또는 스페이서를 통해 연결된 적어도 2개의 팔린드롬 영역을 함유하는 P 부류 CpG 올리고뉴클레오타이드이며, 여기서 올리고뉴클레오타이드는 적어도 1개의 YpR 디뉴클레오타이드를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 T*C_G*T*C_G*A*C_G*T*T*C_G*G*C*G*C_G*C*G*C*C*G (서열식별번호: 27)가 아니다. 한 실시양태에서, P 부류 CpG 올리고뉴클레오타이드는 적어도 1개의 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, TLR 활성화 도메인은 TCG, TTCG, TTTCG, TYpR, TTYpR, TTTYpR, UCG, UUCG, UUUCG, TTT 또는 TTTT이다. 또 다른 실시양태에서, TLR 활성화 도메인은 5' 팔린드롬 영역 내에 있다. 또 다른 실시양태에서, TLR 활성화 도메인은 5' 팔린드롬 영역에 대해 바로 5'에 있다.
- [0849] 한 실시양태에서, 본 발명의 "P 부류" CpG 올리고뉴클레오타이드는 다음의 핵산 서열을 갖는다: 5' TCGTCGACGATCGGCGCGCGCCG 3' (서열식별번호: 39).
- [0850] 상기 서열에서, 모든 연결은 모두 포스포로티오에이트 결합일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 연결 중 1개 이상은 바람직하게는 반-연질 CpG 올리고뉴클레오타이드를 만드는 CpG 모티프의 "C"와 "G" 사이의 포스포디에스테르일 수 있다. 임의의 이들 서열에서, 에틸-우리딘 또는 할로겐이 5' T를 치환할 수 있고; 할로겐 치환의 예는 브로모-우리딘 또는 아이오도-우리딘 치환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0851] P-부류 올리고뉴클레오타이드의 비제한적인 예는 다음을 포함한다:
- [0852] 5' T*C_G*T*C_G*A*C_G*A*T*C_G*G*C*G*C_G*C*G*C*C*G 3' (서열식별번호: 40)
- [0853] 여기서 "*"는 포스포로티오에이트 결합을 지칭하고, "_"는 포스포디에스테르 결합을 지칭한다.
- [0854] 한 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 1개의 포스포로티오에이트 연결을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드의 모든 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 또 다른 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 1개의 포스포디에스테르-유사 연결을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 포스포디에스테르-유사 연결은 포스포디에스테르 연결이다. 또 다른 실시양태에서, 친지성 기는 올리고뉴클레오타이드에 접합된다. 한 실시양태에서, 친지성 기는 콜레스테롤이다.
- [0855] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 CpG 올리고뉴클레오타이드의 모든 뉴클레오타이드간 연결은 포스포디에스테르 결합이다 (WO 2007/026190에 기재된 바와 같은 "연질" 올리고뉴클레오타이드). 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오타이드는 분해에 대해 저항성이 된다 (예를 들어, 안정화됨). "안정화된 올리고뉴클레오타이드"는 (예를 들어, 엑소- 또는 엔도-뉴클레아제를 통한) 생체내 분해에 대해 비교적 저항성인 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다. 핵산 안정화는 백본 변형을 통해 달성될 수 있다. 포스포로티오에이트 연결을 갖는 올리고뉴클레오타이드는 최대 활성을 제공하고, 세포내 엑소- 및 엔도-뉴클레아제에 의한 분해로부터 올리고뉴클레오타이드를 보호한다.
- [0856] 면역자극성 올리고뉴클레오타이드는 포스포디에스테르 및 포스포로티오에이트 연결의 조합을 갖는 키메라 백본을 가질 수 있다. 본 발명의 목적상, 키메라 백본은 부분적으로 안정화된 백본을 지칭하며, 여기서 적어도 1개의 뉴클레오타이드간 연결은 포스포디에스테르 또는 포스포디에스테르-유사이고, 적어도 1개의 다른 뉴클레오타이드간 연결은 안정화된 뉴클레오타이드간 연결이고, 적어도 1개의 포스포디에스테르 또는 포스포디에스테르-유사 연결 및 적어도 1개의 안정화된 연결은 상이하다. 포스포디에스테르 연결이 CpG 모티프 내에 우선적으로 위치하는 경우, 이러한 분자는 WO 2007/026190에 기재된 바와 같이 "반-연질"로 불린다.
- [0857] 다른 변형된 올리고뉴클레오타이드는 포스포디에스테르, 포스포로티오에이트, 메틸포스포네이트, 메틸포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 및/또는 p-에톡시 연결의 조합을 포함한다.

- [0858] 혼합된 백본 변형된 ODN은 WO 2007/026190에 기재된 바와 같이 합성될 수 있다.
- [0859] CpG 올리고뉴클레오타이드의 크기 (즉, 올리고뉴클레오타이드의 길이에 따른 뉴클레오타이드 잔기의 수)는 또한 올리고뉴클레오타이드의 자극 활성에 기여할 수 있다. 세포 내로의 흡수를 용이하게 하기 위해, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오타이드는 바람직하게는 6개 뉴클레오타이드 잔기의 최소 길이를 갖는다. 보다 큰 올리고뉴클레오타이드가 세포 내에서 분해되기 때문에, 6개 초과 뉴클레오타이드 (심지어 수 kb 길이)의 임의의 크기의 올리고뉴클레오타이드는 충분한 면역자극성 모티프가 존재하는 경우에 면역 반응을 유도할 수 있다. 특정 실시양태에서, CpG 올리고뉴클레오타이드는 6 내지 100개 뉴클레오타이드 길이, 우선적으로 8 내지 30개 뉴클레오타이드 길이이다. 중요한 실시양태에서, 본 발명의 핵산 및 올리고뉴클레오타이드는 플라스미드 또는 발현 벡터가 아니다.
- [0860] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 CpG 올리고뉴클레오타이드는 WO 2007/026190의 단락 134 내지 147에 기재된 바와 같이, 예컨대 염기 및/또는 당에서 치환 또는 변형을 포함한다.
- [0861] 한 실시양태에서, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오타이드는 화학적으로 변형된다. 화학적 변형의 예는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Uhlmann et al. (1990) Chem. Rev. 90:543; S. Agrawal, Ed., Humana Press, Totowa, USA 1993; Crooke et al. (1996) Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 36:107-129; and Hunziker et al. (1995) Mod. Synth. Methods 7:331-417]에 기재되어 있다. 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 변형을 가질 수 있고, 여기서 각각의 변형은 천연 DNA 또는 RNA로 구성된 동일한 서열의 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 특정한 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 가교에 및/또는 특정한 β-D-리보스 단위에 및/또는 특정한 천연 뉴클레오시드 염기 위치에 위치한다.
- [0862] 본 발명의 일부 실시양태에서, CpG-함유 핵산은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 따라 면역원성 담체와 간단히 혼합될 수 있다 (예를 들어, WO 03/024480 참조).
- [0863] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물은 2 μg 내지 100 mg의 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 0.1 mg 내지 50 mg의 CpG 올리고뉴클레오타이드, 바람직하게는 0.2 mg 내지 10 mg의 CpG 올리고뉴클레오타이드, 보다 바람직하게는 0.3 mg 내지 5 mg의 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 0.3 mg 내지 5 mg의 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 면역원성 조성물은 0.5 내지 2 mg의 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 가장 바람직하게는, 본 발명의 면역원성 조성물은 0.75 내지 1.5 mg CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물은 약 1 mg CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.
- [0864] 3 제제
- [0865] 본 발명의 면역원성 조성물은 액체 형태 (즉, 용액 또는 현탁액) 또는 동결건조 형태로 제제화될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 액체 형태로 제제화된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 동결건조 형태로 제제화된다. 액체 제제는 유리하게는 그의 포장된 형태로부터 직접 투여될 수 있고, 따라서 본 발명의 동결건조된 조성물에 달리 요구되는 수성 매질 중에서 재구성할 필요 없이 주사용으로 이상적이다.
- [0866] 본 개시내용의 면역원성 조성물의 제제화는 관련 기술분야에 인식된 방법을 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 개별 폴리사카라이드 및/또는 집합체는 조성물을 제조하기 위해 생리학상 허용되는 비히클과 함께 제제화될 수 있다. 이러한 비히클의 예는 물, 완충 염수, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜) 및 텍스트로스 용액을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0867] 본 개시내용은 본원에 개시된 당접합체의 임의의 조합, 및 제약상 허용되는 부형제, 담체 또는 희석제를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다.
- [0868] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 면역원성 조성물은 액체 형태, 바람직하게는 수성 액체 형태이다.
- [0869] 본 개시내용의 면역원성 조성물은 완충제, 염, 2가 양이온, 비-이온성 세제, 동결보호제, 예컨대 당, 및 항산화제, 예컨대 자유 라디칼 스캐빈저 또는 킬레이트화제, 또는 이들의 임의의 다중 조합 중 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0870] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 면역원성 조성물은 완충제를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 완충제는 약 3.5 내지 약 7.5의 pKa를 갖는다. 일부 실시양태에서, 완충제는 포스페이트, 숙시네이트, 히스티딘 또는 시트레이트이다. 일부 실시양태에서, 완충제는 숙시네이트이다. 일부 실시양태에서, 완충제는 히스티딘이다. 특

정 실시양태에서, 완충제는 1 mM 내지 10 mM의 최종 농도의 숙시네이트이다. 하나의 특정한 실시양태에서, 숙시네이트 완충제의 최종 농도는 약 5 mM이다.

[0871] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 면역원성 조성물은 염을 포함한다. 일부 실시양태에서, 염은 염화마그네슘, 염화칼륨, 염화나트륨 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 특정한 실시양태에서, 염은 염화나트륨이다. 하나의 특정한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 150 mM의 염화나트륨을 포함한다.

[0872] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 면역원성 조성물은 계면활성제를 포함한다. 한 실시양태에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20 (트윈(TWEEN)TM20), 폴리소르베이트 40 (트윈TM40), 폴리소르베이트 60 (트윈TM60), 폴리소르베이트 65 (트윈TM65), 폴리소르베이트 80 (트윈TM80), 폴리소르베이트 85 (트윈TM85), 트리톤(TRITON)TM N-101, 트리톤TM X-100, 옥스톡시놀 40, 노녹시놀-9, 트리에탄올아민, 트리에탄올아민 폴리펩티드 올레에이트, 폴리옥시에틸렌-660 히드록시스테아레이트 (PEG-15, 솔루톨(Solutol) H 15), 폴리옥시에틸렌-35-리시놀레이트 (크레모포르(CREMOPHOR)[®] EL), 대두 레시틴 및 폴록사머로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0873] 하나의 특정한 실시양태에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 80이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 적어도 0.0001% 내지 10% 폴리소르베이트 80 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 적어도 0.001% 내지 1% 폴리소르베이트 80 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 적어도 0.01% 내지 1% 폴리소르베이트 80 중량/중량 (w/w)이다. 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09% 또는 0.1% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 0.02% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 0.01% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 0.03% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 0.04% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 0.05% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 1% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다.

[0874] 하나의 특정한 실시양태에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 적어도 0.0001% 내지 10% 폴리소르베이트 20 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 적어도 0.001% 내지 1% 폴리소르베이트 20 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 적어도 0.01% 내지 1% 폴리소르베이트 20 중량/중량 (w/w)이다. 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09% 또는 0.1% 폴리소르베이트 20 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 0.02% 폴리소르베이트 20 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 0.01% 폴리소르베이트 20 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 0.03% 폴리소르베이트 20 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 0.04% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 0.05% 폴리소르베이트 20 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 20의 최종 농도는 1% 폴리소르베이트 20 (w/w)이다.

[0875] 하나의 특정한 실시양태에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 40이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 40의 최종 농도는 적어도 0.0001% 내지 10% 폴리소르베이트 40 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 40의 최종 농도는 적어도 0.001% 내지 1% 폴리소르베이트 40 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 40의 최종 농도는 적어도 0.01% 내지 1% 폴리소르베이트 40 중량/중량 (w/w)이다. 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 40의 최종 농도는 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09% 또는 0.1% 폴리소르베이트 40 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 40의 최종 농도는 1% 폴리소르베이트 40 (w/w)이다.

[0876] 하나의 특정한 실시양태에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 60이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 60의 최종 농도는 적어도 0.0001% 내지 10% 폴리소르베이트 60 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 60의 최종 농도는 적어도 0.001% 내지 1% 폴리소르베이트 60 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 60의 최종 농도는 적어도 0.01% 내지 1% 폴리소르베이트 60 중량/중량 (w/w)이다. 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 60의 최종 농도는 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09% 또는 0.1% 폴리소르베이트 60 (w/w)이다. 또 다른

실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 60의 최종 농도는 1% 폴리소르베이트 60 (w/w)이다.

- [0877] 하나의 특정한 실시양태에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 65이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 65의 최종 농도는 적어도 0.0001% 내지 10% 폴리소르베이트 65 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 65의 최종 농도는 적어도 0.001% 내지 1% 폴리소르베이트 65 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 65의 최종 농도는 적어도 0.01% 내지 1% 폴리소르베이트 65 중량/중량 (w/w)이다. 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 65의 최종 농도는 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09% 또는 0.1% 폴리소르베이트 65 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 65의 최종 농도는 1% 폴리소르베이트 65 (w/w)이다.
- [0878] 하나의 특정한 실시양태에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 85이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 85의 최종 농도는 적어도 0.0001% 내지 10% 폴리소르베이트 85 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 85의 최종 농도는 적어도 0.001% 내지 1% 폴리소르베이트 85 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 85의 최종 농도는 적어도 0.01% 내지 1% 폴리소르베이트 85 중량/중량 (w/w)이다. 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 85의 최종 농도는 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09% 또는 0.1% 폴리소르베이트 85 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 85의 최종 농도는 1% 폴리소르베이트 85 (w/w)이다.
- [0879] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 면역원성 조성물은 5.5 내지 7.5의 pH, 보다 바람직하게는 5.6 내지 7.0의 pH, 보다 더 바람직하게는 5.8 내지 6.0의 pH를 갖는다.
- [0880] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물로 충전된 용기를 제공한다. 한 실시양태에서, 용기는 바이알, 시린지, 플라스크, 발효기, 생물반응기, 백, 단지, 앰플, 카트리지 및 일회용 펜으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 용기는 실리콘화된다.
- [0881] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 용기는 유리, 금속 (예를 들어, 강철, 스테인레스강, 알루미늄 등) 및/또는 중합체 (예를 들어, 열가소성 물질, 엘라스토머, 열가소성-엘라스토머)로 제조된다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 용기는 유리로 제조된다.
- [0882] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물로 충전된 시린지를 제공한다. 특정 실시양태에서, 시린지는 실리콘화되고/거나 유리로 제조된다.
- [0883] 주사를 위한 본 발명의 면역원성 조성물의 전형적인 용량은 0.1 mL 내지 2 mL의 부피를 갖는다. 한 실시양태에서, 주사를 위한 본 발명의 면역원성 조성물은 0.2 mL 내지 1 mL의 부피, 보다 더 바람직하게는 약 0.5 mL의 부피를 갖는다.
- [0884] 4 본 발명의 당접합체 및 면역원성 조성물의 용도
- [0885] 본원에 개시된 당접합체는 항원으로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 이들은 백신의 일부일 수 있다.
- [0886] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 의약으로서 사용하기 위한 것이다.
- [0887] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 백신으로서 사용하기 위한 것이다.
- [0888] 따라서, 한 실시양태에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 대상체에서 면역 반응을 생성하는 데 사용하기 위한 것이다. 한 측면에서, 대상체는 포유동물, 예컨대 인간, 비-인간 영장류, 고양이, 양, 돼지, 말, 소 또는 개이다. 한 측면에서, 대상체는 인간이다.
- [0889] 본원에 기재된 면역원성 조성물은 대상체에서 박테리아 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선하기 위한 치료적 또는 예방적 방법에 사용될 수 있다. 따라서, 한 측면에서, 본 개시내용은 대상체에게 면역학적 유효량의 본 개시내용의 면역원성 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 박테리아 감염과 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 호전시키는 방법을 제공한다.
- [0890] 본 개시내용의 면역원성 조성물은 면역원성 조성물을 전신 또는 점막 경로를 통해 투여함으로써 박테리아 감염에 걸리기 쉬운 인간을 보호 또는 치료하는 데 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 근육내, 복강내, 피내 또는 피하 경로에 의해 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 근육내, 복강내, 피내 또는 피하 주사에 의해 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 근육내 주사에 의해 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 피하 주사에 의해 투여된다.

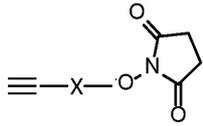
- [0891] 5 본 발명의 면역원성 조성물로 치료될 대상체
- [0892] 본원에 개시된 바와 같이, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 대상체에서 박테리아 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선하기 위한 다양한 치료적 또는 예방적 방법에 사용될 수 있다.
- [0893] 바람직한 실시양태에서, 상기 대상체는 인간이다. 가장 바람직한 실시양태에서, 상기 대상체는 신생아 (즉, 3개월 미만), 영아 (즉, 3개월 내지 1세) 또는 유아 (즉, 1세 내지 4세)이다.
- [0894] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 백신으로서 사용하기 위한 것이다.
- [0895] 이러한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 1세 미만일 수 있다. 예를 들어, 백신접종될 대상체는 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11 또는 약 12개월령일 수 있다. 한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 약 2, 약 4 또는 약 6개월령이다. 또 다른 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 2세 미만이다. 예를 들어, 백신접종될 대상체는 약 12 내지 약 15개월령일 수 있다. 일부 경우에, 본 발명에 따른 면역원성 조성물의 1회 용량만큼 적은 용량이 필요하지만, 일부 상황 하에 제2, 제3 또는 제4 용량이 주어질 수 있다 (하기 섹션 8 참조).
- [0896] 본 발명의 한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 50세 이상의 인간 성인, 보다 바람직하게는 55세 이상의 인간 성인이다. 한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 65세 이상, 70세 이상, 75세 이상 또는 80세 이상의 인간 성인이다.
- [0897] 한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 면역손상 개체, 특히 인간이다. 면역손상 개체는 일반적으로 감염원에 의한 켈린지에 대해 정상적인 체액성 또는 세포성 방어를 개시하는 능력의 약화 또는 감소를 나타내는 사람으로서 정의된다.
- [0898] 본 발명의 한 실시양태에서, 백신접종될 면역손상 대상체는 면역계를 손상시키고 폐렴구균성 질환에 대해 보호하거나 이를 치료하기에 불충분한 항체 반응을 유발하는 질환 또는 상태를 앓고 있다.
- [0899] 한 실시양태에서, 상기 질환은 원발성 면역결핍 장애이다. 바람직하게는, 상기 원발성 면역결핍 장애는 복합 T- 및 B-세포 면역결핍, 항체 결핍, 잘 정의된 증후군, 면역 조절이상 질환, 식세포 장애, 선천성 면역 결핍, 자가염증성 장애 및 보체 결핍으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 원발성 면역결핍 장애는 WO 2010/125480의 제24면, 제11행 내지 제25면, 제19행에 개시된 것으로부터 선택된다.
- [0900] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역손상 대상체는 HIV-감염, 후천성 면역결핍 증후군 (AIDS), 암, 만성 심장 또는 폐 장애, 울혈성 심부전, 당뇨병, 만성 간 질환, 알콜중독, 간경변증, 척수액 누출, 심근병증, 만성 기관지염, 기종, 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD), 비장 기능장애 (예컨대, 겸상 적혈구 질환), 비장 기능 결여 (무비증), 혈액 악성종양, 백혈병, 다발성 골수종, 호지킨병, 림프종, 신부전, 신증후군 및 천식으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환을 앓고 있다.
- [0901] 본 발명의 한 실시양태에서, 백신접종될 면역손상 대상체는 영양실조를 앓고 있다.
- [0902] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역손상 대상체는 감염에 대한 신체의 내성을 저하시키는 약물 또는 치료를 받고 있다. 한 실시양태에서, 상기 약물은 WO 2010/125480의 제26면, 제33행 내지 제26면, 제4행에 개시된 것으로부터 선택된다.
- [0903] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역손상 대상체는 흡연자이다.
- [0904] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역손상 대상체는 5×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 4×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 3×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 2×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 1×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 0.5×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 0.3×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 0.1×10^9 개 세포/리터 미만의 백혈구 계수 (백혈구 계수)를 갖는다.
- [0905] 백혈구 계수 (류코사이트 계수): 혈액 중 백혈구 (WBC)의 수. WBC는 통상적으로 CBC (전혈구 계수)의 일부로서 측정된다. 백혈구는 혈액 내의 감염과 싸우는 세포이고, 적혈구로 공지된 적색 (산소-운반) 혈액 세포와 구별된다. 호중구 (다형핵 백혈구; PMN), 밴드 세포 (약간 미성숙 호중구), T-유형 림프구 (T-세포), B-유형 림프구 (B-세포), 단핵구, 호산구 및 호염기구를 포함한 다양한 유형의 백혈구가 존재한다. 모든 유형의 백혈구가 백혈구 계수에 반영된다. 백혈구 계수에 대한 정상 범위는 통상적으로 혈액 세제곱 밀리미터당 4,300 내지

10,800개 세포이다. 이는 또한 백혈구 계수로서 지칭될 수 있고, 리터당 $4.3 - 10.8 \times 10^9$ 개 세포로서 국제 단위로 표현될 수 있다.

- [0906] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역손상 대상체는 호중구감소증을 앓고 있다. 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역손상 대상체는 2×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 1×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 0.5×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 0.1×10^9 개 세포/리터 미만, 또는 0.05×10^9 개 세포/리터 미만의 호중구 수를 갖는다.
- [0907] 낮은 백혈구 계수 또는 "호중구감소증"은 순환 혈액 내의 비정상적으로 낮은 수준의 호중구를 특징으로 하는 상태이다. 호중구는 감염을 예방하고 싸우는 것을 돕는 특정 종류의 백혈구이다. 암 환자가 호중구감소증을 경험하는 가장 흔한 이유는 화학요법의 부작용이다. 화학요법-유발 호중구감소증은 환자의 감염 위험을 증가시키고, 암 치료를 방해한다.
- [0908] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역손상 대상체는 $500/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포 계수, 또는 $300/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포 계수, 또는 $200/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포 계수, $100/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포 계수, $75/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포 계수, 또는 $50/\text{mm}^3$ 미만의 CD4+ 세포 계수를 갖는다.
- [0909] CD4 세포 시험은 통상적으로 mm^3 단위의 세포의 수로서 보고된다. 정상 CD4 계수는 500 내지 1,600이고, CD8 계수는 375 내지 1,100이다. CD4 계수는 HIV를 갖는 사람에서 극적으로 저하된다.
- [0910] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역손상 대상체는 인간 남성이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역손상 대상체는 인간 여성이다.
- [0911] 6 요법
- [0912] 일부 경우에, 본 발명에 따른 면역원성 조성물의 1회 용량만큼 적은 용량이 필요하지만, 일부 상황, 예컨대 더 큰 면역 결핍의 상태 하에 제2, 제3 또는 제4 용량이 주어질 수 있다. 초기 백신접종 후, 대상체는 1회 또는 수회의 적절한 간격의 부스터 면역화를 받을 수 있다.
- [0913] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 면역원성 조성물의 백신접종 스케줄은 단일 용량이다. 특정한 실시양태에서, 상기 단일 용량 스케줄은 적어도 2세인 건강한 사람에 대한 것이다.
- [0914] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 면역원성 조성물의 백신접종 스케줄은 다중 용량 스케줄이다. 특정한 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월 내지 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 2회 용량으로 이루어진다. 특정한 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월의 간격으로 분리된 일련의 2회 용량, 또는 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 2회 용량으로 이루어진다.
- [0915] 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월 내지 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량으로 이루어진다. 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량, 또는 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량으로 이루어진다.
- [0916] 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월 내지 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량, 및 이어서, 제1 용량의 약 10개월 내지 약 13개월 후의 제4 용량으로 이루어진다. 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량, 및 이어서 제1 용량의 약 10개월 내지 약 13개월 후의 제4 용량, 또는 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량, 및 이어서 제1 용량의 약 10개월 내지 약 13개월 후의 제4 용량으로 이루어진다.
- [0917] 한 실시양태에서, 다중 용량 스케줄은 1세 연령에서의 적어도 1회의 용량 (예를 들어, 1, 2 또는 3회 용량), 및 이어서 적어도 1회의 유아 용량으로 이루어진다.
- [0918] 한 실시양태에서, 다중 용량 스케줄은 2개월령에 시작되는 약 1개월 내지 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 2회 또는 3회 용량 (예를 들어, 용량들 사이에 28-56일), 및 이어서 12-18개월령에서의 유아 용량으로 이루어진다. 한 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 2개월령에 시작되는 약 1개월 내지 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량 (예를 들어, 용량들 사이에 28-56일), 및 이어서 12-15개월령에서의 유아 용량으로 이루어진다. 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 2개월령에 시작되는 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 2회

용량, 및 이어서 12-18개월령에서의 유아 용량으로 이루어진다.

- [0919] 한 실시양태에서, 다중 용량 스케줄은 2, 4, 6 및 12-15개월령에서의 일련의 4회-용량 백신으로 이루어진다.
- [0920] 한 실시양태에서, 프라임 용량은 제0일에 제공되고, 1회 이상의 부스트는 약 2 내지 약 24주 범위의 간격으로, 바람직하게는 4-8주의 투여 간격으로 제공된다.
- [0921] 한 실시양태에서, 제0일에 프라임 용량이 제공되고, 약 3개월 후에 부스트가 제공된다.
- [0922] 7. 본 발명은 또한 하기 넘버링된 단락 1 내지 96에 정의된 바와 같은 하기 실시양태를 제공한다.
- [0923] 1. 하기를 포함하는, 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법:
- [0924] (a) 단리된 피막 사카라이드를 비양성자성 용매 중에서 탄산 유도체 및 아지도 링커와 반응시켜 활성화된 아지도 사카라이드를 생산하는 단계,
- [0925] (b) 담체 단백질을 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제와 반응시키며, 여기서 NHS 모이어티는 아미노 기와 반응하여 아마이드 연결을 형성하고, 그에 의해 알킨 관능화된 담체 단백질을 수득하는 단계,
- [0926] (c) 단계 (a)의 활성화된 아지도 사카라이드를 Cu^{+1} 매개 아지도-알킨 고리화첨가 반응에 의해 단계 (b)의 활성화된 알킨-담체 단백질과 반응시켜 당접합체를 형성하는 단계.
- [0927] 2. 단락 1에 있어서, 단리된 사카라이드가 활성화 단계 (a) 전에 크기조정되는 것인 방법.
- [0928] 3. 단락 2에 있어서, 단리된 피막 사카라이드가 200 kDa 내지 800 kDa의 중량 평균 분자량으로 크기조정되는 것인 방법.
- [0929] 4. 단락 1-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 탄산 유도체가 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI), 1,1'-카르보닐-디-(1,2,4-트리아졸) (CDT), 디숙신이미딜 카르보네이트 (DSC) 및 (N)-히드록시숙신이미딜 클로로포르메이트로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.
- [0930] 5. 단락 1-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 탄산 유도체가 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI)인 방법.
- [0931] 6. 단락 1-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 탄산 유도체가 1,1'-카르보닐-디-(1,2,4-트리아졸) (CDT)인 방법.
- [0932] 7. 단락 1-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 아지도 링커가 하기 화학식 (I)의 화합물인 방법:
- $$H_2N - X - N_3 \quad (I)$$
- [0933] 여기서 X는 $CH_2(CH_2)_n$, $(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$, $NHCO(CH_2)_n$, $NHCO(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$, $OCH_2(CH_2)_n$ 및 $O(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서 n은 1 내지 10으로부터 선택되고, m은 1 내지 4로부터 선택된다.
- [0935] 8. 단락 1-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 아지도 링커가 하기 화학식 (II)의 화합물인 방법.
- $$H_2N \text{---} \text{---} \text{---} N_3 \quad (II)$$
- [0936] 9. 단락 1-8 중 어느 하나에 있어서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제가 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 말단 알킨을 보유하는 작용제인 방법.
- [0938] 10. 단락 1-8 중 어느 하나에 있어서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제가 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 시클로알킨을 보유하는 작용제인 방법.
- [0939] 11. 단락 1-8 중 어느 하나에 있어서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용제가 하기 화학식 (III)의 화합물인 방법.



(III)

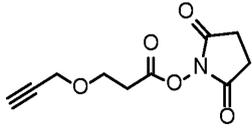
[0940]

[0941]

여기서 X는 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 및 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 n은 0 내지 10으로부터 선택되고, m은 0 내지 4로부터 선택된다.

[0942]

12. 단락 1-8 중 어느 하나에 있어서, 상기 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용체가 하기 화학식 (IV)의 화합물인 방법.



(IV)

[0943]

[0944]

13. 단락 1-12 중 어느 하나에 있어서, 단계 a)가 피막 사카라이드를 비양성자성 용매 중에서 탄산 유도체와 반응시킨 후, 탄산 유도체-활성화된 피막 사카라이드를 아지도 링커와 반응시켜 활성화된 아지도 피막 사카라이드를 생산하는 것을 포함하는 것인 방법.

[0945]

14. 단락 1-13 중 어느 하나에 있어서, 단계 a)에서, 단리된 피막 사카라이드를 비양성자성 용매 중에서 상기 탄산 유도체와 반응시키는 것인 방법.

[0946]

15. 단락 1-13 중 어느 하나에 있어서, 단계 a)에서, 단리된 피막 사카라이드를 디메틸설폭시드 (DMSO)로 본질적으로 이루어진 용액 중에서 탄산 유도체와 반응시키는 것인 방법.

[0947]

16. 단락 1-14 중 어느 하나에 있어서, 단계 a)에서, 단리된 피막 사카라이드를 0.1% 내지 1% (v/v) 물을 포함하는 비양성자성 용매 중에서 CDI와 반응시키는 것인 방법.

[0948]

17. 단락 1-14 중 어느 하나에 있어서, 단계 a)에서, 단리된 피막 사카라이드가 0.1% 내지 1% (v/v) 물을 포함하는 DMSO 중에서 CDI와 반응하는 것인 방법.

[0949]

18. 단락 1-17 중 어느 하나에 있어서, 단계 a)에서, 탄산 유도체 활성화 후에 물을 첨가하는 것인 방법.

[0950]

19. 단락 18에 있어서, 물을 첨가하여 혼합물 중 총 물 함량이 약 1% 내지 약 10% (v/v)가 되도록 하는 것인 방법.

[0951]

20. 단락 1-19 중 어느 하나에 있어서, 단계 a)가 탄산 유도체-활성화된 사카라이드를 활성화된 사카라이드의 사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.01-10 몰 당량인 양의 아지도 링커와 반응시키는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

[0952]

21. 단락 1-20 중 어느 하나에 있어서, 단계 a) 후의 활성화된 사카라이드의 활성화도가 0.5 내지 50%인 방법.

[0953]

22. 단락 1-21 중 어느 하나에 있어서, 단계 b)가 담체 단백질을 담체 상의 리신에 대해 0.1-10 몰 당량인 양의 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 모이어티 및 알킨 기를 보유하는 작용체와 반응시키는 것을 포함하는 것인 방법.

[0954]

23. 단락 1-22 중 어느 하나에 있어서, 단계 b) 후의 활성화된 담체의 활성화도가 1 내지 50인 방법.

[0955]

24. 단락 1-23 중 어느 하나에 있어서, 접합 반응 c)가 촉매로서 구리 (I)의 존재 하에 수성 완충제 중에서 수행되는 것인 방법.

[0956]

25. 단락 1-23 중 어느 하나에 있어서, 접합 반응 c)가 촉매로서의 산화제 및 구리 (I)의 존재 하에 수성 완충제 중에서 수행되는 것인 방법.

[0957]

26. 단락 1-23 중 어느 하나에 있어서, 접합 반응 c)가 촉매로서 구리 (I) 및 산화제로서 아스코르베이트의 존재 하에 수성 완충제 중에서 수행되며, 여기서 반응 혼합물은 THPTA (트리스(3-히드록시프로필트리아졸릴메틸)아민) 및 아미노구아니딘을 추가로 포함하는 것인 방법.

[0958]

27. 단락 1-26 중 어느 하나에 있어서, 단계 c)에서 활성화된 알킨-담체에 대한 활성화된 아지도 사카라이드의

초기 투입비 (중량 대 중량)가 0.1 내지 3인 방법.

[0959] 28. 단락 1-27 중 어느 하나에 있어서, 단계 c) 후에, 접합체에 잔류하는 미반응 아지도 기를 아지도 기 캡핑제로 캡핑하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

[0960] 29. 단락 28에 있어서, 상기 아지도 기 캡핑제가 하기 화학식 (V)의 화합물인 방법:



[0962] 여기서 X는 (CH₂)_n이고, 여기서 n은 1 내지 15로부터 선택된다.

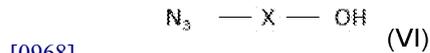
[0963] 30. 단락 28에 있어서, 상기 아지도 기 캡핑제가 프로파르길 알콜인 방법.

[0964] 31. 단락 28-30 중 어느 하나에 있어서, 미반응 아지도 기의 캡핑이 활성화된 사카라이드의 사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.05 내지 20 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행되는 것인 방법.

[0965] 32. 단락 1-31 중 어느 하나에 있어서, 단계 c) 후에, 접합체에 잔류하는 미반응 알킨 기를 알킨 기 캡핑제로 캡핑하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

[0966] 33. 단락 32에 있어서, 상기 알킨 기 캡핑제가 아지도 기를 보유하는 작용제인 방법.

[0967] 34. 단락 33에 있어서, 상기 알킨 기 캡핑제가 하기 화학식 (VI)의 화합물인 방법:



[0969] 여기서 X는 (CH₂)_n이고, 여기서 n은 1 내지 15로부터 선택된다.

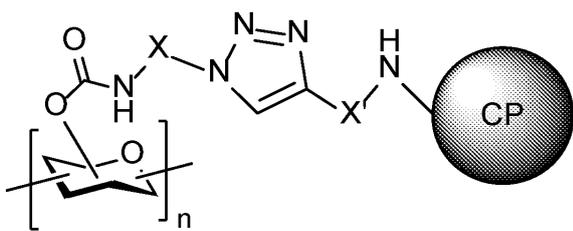
[0970] 35. 단락 32에 있어서, 상기 알킨 기 캡핑제가 3-아지도-1-프로판올인 방법.

[0971] 36. 단락 32-35 중 어느 하나에 있어서, 미반응 알킨 기의 캡핑이 활성화된 사카라이드의 사카라이드 반복 단위의 양에 대해 0.05 내지 20 몰 당량인 양의 캡핑제로 수행되는 것인 방법.

[0972] 37. 단락 1-36 중 어느 하나에 있어서, 당접합체가 생산된 후에 이를 정제하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

[0973] 38. 단락 1-37의 방법 중 어느 하나에 따라 생산된 피막 사카라이드 당접합체.

[0974] 39. 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 하기 화학식 (VII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체:



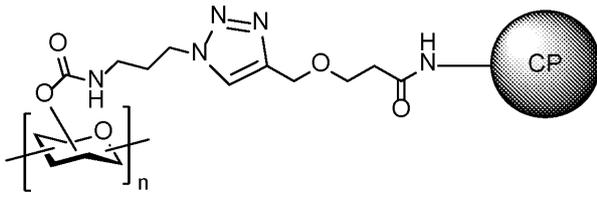
(VII)

[0975] 여기서 X는 CH₂(CH₂)_{n'}, (CH₂CH₂O)_mCH₂CH₂, NHCO(CH₂)_{n'}, NHCO(CH₂CH₂O)_mCH₂CH₂, OCH₂(CH₂)_{n'} 및 O(CH₂CH₂O)_mCH₂CH₂로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서 n'은 1 내지 10으로부터 선택되고, m은 1 내지 4로부터 선택되고,

[0977] 여기서 X'는 CH₂O(CH₂)_{n''}CH₂C=O, CH₂O(CH₂CH₂O)_{m'}(CH₂)_{n''}CH₂C=O로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 n''은 0 내지 10으로부터 선택되고, m'은 0 내지 4로부터 선택된다.

[0978] 40. 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 화학식 (VII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체로서, 여기서 X는 CH₂(CH₂)_{n'}이고, 여기서 n'은 2이고, 여기서 X'는 CH₂O(CH₂)_{n''}CH₂C=O이고, 여기서 n''은 1인 피막 사카라이드 당접합체.

[0979] 41. 스페이서를 통해 담체 단백질 (CP)에 공유 접합된 피막 사카라이드를 포함하고 하기 화학식 (VIII)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체.



(VIII)

- [0980]
- [0981] 42. 단락 38-41 중 어느 하나에 있어서, 피막 사카라이드를 포함하고, 여기서 접합 전의 상기 피막 사카라이드의 중량 평균 분자량 (Mw)이 10 kDa 내지 2,000 kDa인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0982] 43. 단락 38-41 중 어느 하나에 있어서, 피막 사카라이드를 포함하고, 여기서 접합 전의 상기 피막 사카라이드의 중량 평균 분자량 (Mw)이 50 kDa 내지 1,000 kDa인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0983] 44. 단락 38-41 중 어느 하나에 있어서, 피막 사카라이드를 포함하며, 여기서 접합 전의 상기 피막 사카라이드의 중량 평균 분자량 (Mw)이 200 kDa 내지 750 kDa인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0984] 45. 단락 38-44 중 어느 하나에 있어서, 250 kDa 내지 20,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체.
- [0985] 46. 단락 38-44 중 어느 하나에 있어서, 500 kDa 내지 5,000 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체.
- [0986] 47. 단락 38-44 중 어느 하나에 있어서, 750 kDa 내지 2,500 kDa의 중량 평균 분자량 (Mw)을 갖는 피막 사카라이드 당접합체.
- [0987] 48. 단락 38-47 중 어느 하나에 있어서, 피막 사카라이드 당접합체의 접합도가 2 내지 15인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0988] 49. 단락 38-48 중 어느 하나에 있어서, 당접합체 내 담체 단백질에 대한 피막 사카라이드의 비 (w/w)가 0.5 내지 3.0인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0989] 50. 단락 38-49 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드 당접합체가 사카라이드의 4개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함하는 것인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0990] 51. 단락 38-49 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드 당접합체가 사카라이드의 25개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함하는 것인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0991] 52. 단락 38-49 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드 당접합체가 사카라이드의 5 내지 10개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이에 적어도 1개의 공유 연결을 포함하는 것인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0992] 53. 단락 38-56 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 CRM₁₉₇인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0993] 54. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 SCP인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0994] 55. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 효소적 불활성 SCP인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0995] 56. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 GBS로부터의 효소적 불활성 SCP (SCPB)인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0996] 57. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 SCPB의 단편인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0997] 58. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 단편인 피막 사카라이드 당접합체.
- [0998] 59. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 SCP의 효소적 불활성 단편이고, 여기서 상기 SCP의 효소적 불활성 단편은 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3종의 피브로넥틴 유형 III

(Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 것인 피막 사카라이드 당접합체.

- [0999] 60. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 효소적 불활성 단편이고, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 1개의 아미노산을 대체함으로써 달성되고, 상기 대체는 D130A, H193A, N295A 및 S512A로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 숫자는 W000/34487의 서열식별번호: 1의 넘버링에 따른 펩티다제에서의 아미노산 잔기 위치를 나타내는 것인 피막 사카라이드 당접합체.
- [1000] 61. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 프로테아제 도메인, 프로테아제-연관 도메인 (PA 도메인) 및 3개의 피브로넥틴 유형 III (Fn) 도메인을 포함하지만 외수송 신호 프리서열, 프로-서열 및 세포벽 앵커 도메인을 포함하지 않는 SCP의 효소 불활성 단편이고, 여기서 상기 불활성화는 야생형 서열의 적어도 2개의 아미노산을 대체함으로써 달성되고, 상기 적어도 2개의 아미노산 대체는 D130A 및 S512A이고, 여기서 숫자는 W000/34487의 서열식별번호: 1의 넘버링에 따른 펩티다제에서의 아미노산 잔기 위치를 나타내는 것인 피막 사카라이드 당접합체.
- [1001] 62. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 서열식별번호: 41와 적어도 95% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편인 피막 사카라이드 당접합체.
- [1002] 63. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 서열식별번호: 42와 적어도 95% 동일성을 갖는 폴리펩티드로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편인 피막 사카라이드 당접합체.
- [1003] 64. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 서열식별번호: 41로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편인 피막 사카라이드 당접합체.
- [1004] 65. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 서열식별번호: 42로 이루어진 SCP의 효소적 불활성 단편인 피막 사카라이드 당접합체.
- [1005] 66. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 DT (디프테리아 독소이드)인 피막 사카라이드 당접합체.
- [1006] 67. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 TT (파상풍 독소이드)인 피막 사카라이드 당접합체.
- [1007] 68. 단락 38-53 중 어느 하나에 있어서, 상기 담체 단백질이 PD (에이치. 인플루엔자에 단백질 D)인 피막 사카라이드 당접합체.
- [1008] 69. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 병원성 박테리아로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1009] 70. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 병원성 스트렙토코쿠스, 병원성 스태필로코쿠스, 병원성 엔테로코쿠스, 병원성 바실루스, 병원성 코리네박테리움, 병원성 리스테리아, 병원성 에리시펠로트리кс, 병원성 클로스트리디움, 병원성 헤모필루스, 병원성 네이세리아 또는 병원성 에스케리키아로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1010] 71. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 엔테로코쿠스 파에칼리스, 에스케리키아 콜라이, 스태필로코쿠스 아우레우스 또는 스트렙토코쿠스로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1011] 72. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 헤모필루스 인플루엔자에, 네이세리아 메닌기티디스, 에스. 뉴모니아에, 에스. 피오케네스, 에스. 아갈락티아에, 군 C & G 스트렙토코쿠스 또는 에스케리키아 콜라이로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1012] 73. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 네이세리아 메닌기티디스, 에스. 뉴모니아에, 에스. 아갈락티아에 또는 에스케리키아 콜라이로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1013] 74. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 에스. 뉴모니아에 또는 에스. 아갈락티아에로부

터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.

- [1014] 75. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 에스. 뉴모니아에로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1015] 76. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스타필로코쿠스 아우레우스로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1016] 77. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 엔테로코쿠스 파에칼리스로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1017] 78. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 헤모필루스 인플루엔자에 유형 b로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1018] 79. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 네이세리아 메닌기티디스로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1019] 80. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 에스케리키아 콜라이로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1020] 81. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 엔테로코쿠스 파에칼리스로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1021] 82. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 아갈락티아에로부터의 피막 사카라이드 (B군 스트렙토코쿠스 (GBS))인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1022] 83. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 GBS 유형 Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII 또는 VIII로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1023] 84. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 혈청형 1, 2, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7C, 7F, 8, 9V, 9N, 10A, 10B, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 15C, 16F, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 21, 22A, 22F, 23A, 23B, 23F, 24B, 24F, 27, 29, 31, 33B, 33F, 34, 35B, 35F, 38, 72 및 73으로 이루어진 군으로부터 선택된 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형으로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1024] 85. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 35B로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1025] 86. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 29로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1026] 87. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 15A로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1027] 88. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 24F로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1028] 89. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 23A로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1029] 90. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 23B로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1030] 91. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 6B로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1031] 92. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 19A로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1032] 93. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 19F로부터의

피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.

- [1033] 94. 단락 1-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 23F로부터의 피막 사카라이드인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1034] 95. 단락 1-94 중 어느 하나에 있어서, 상기 피막 사카라이드가 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 피막 사카라이드가 아닌 것인 피막 사카라이드 당접합체를 제조하는 방법 또는 피막 사카라이드 당접합체.
- [1035] 96. 단락 38-95 중 어느 하나의 피막 사카라이드 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [1036] 본원에 사용된 용어 "약"은 언급된 농도 범위, 시간 프레임, 분자량, 온도 또는 pH와 같은 값의 통계적으로 의미있는 범위 이내를 의미한다. 이러한 범위는 주어진 값 또는 범위의 한 자릿수 이내, 전형적으로 20% 이내, 보다 전형적으로 10% 이내, 보다 더 전형적으로 5% 이내 또는 1% 이내일 수 있다. 때때로, 이러한 범위는 주어진 값 또는 범위의 측정 및/또는 결정에 사용된 표준 방법에 전형적인 실험 오차 내에 있을 수 있다. 용어 "약"에 의해 포괄되는 허용가능한 편차는 연구 중인 특정한 시스템에 좌우될 것이고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 용이하게 인지될 수 있다. 범위가 본 출원 내에서 인용될 때마다, 범위 내의 모든 숫자가 또한 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.
- [1037] 본원에서 용어 "포함하는", "포함하다" 및 "포함한다"는 본 발명자들에 의해 모든 경우에 각각 용어 "본질적으로 이루어진", "본질적으로 이루어지다", "본질적으로 이루어진다", "이루어진", "이루어지다" 및 "이루어진 다"로 임의로 치환가능한 것으로 의도된다.
- [1038] 각각이 본원에서 상호교환가능하게 사용된 "면역원성 양", "면역학적 유효량", "치료 유효량", "예방 유효량" 또는 "용량"은 일반적으로 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 표준 검정에 의해 측정 시 세포성 (T 세포) 또는 체액성 (B 세포 또는 항체) 반응 중 하나, 또는 둘 다의 면역 반응을 도출하기에 충분한 항원 또는 면역원성 조성물의 양을 지칭한다.
- [1039] 본 명세서의 임의의 범위 내의 임의의 정수가 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.
- [1040] 본 특허 명세서 내에 인용된 모든 참고문헌 또는 특허 출원은 본원에 참조로 포함된다.
- [1041] 본 발명은 첨부된 실시예에서 예시된다. 하기 실시예는 달리 상세하게 기재된 경우를 제외하고는, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있고 상용적인 표준 기술을 사용하여 수행된다. 실시예는 예시적이지만, 본 발명을 제한하지 않는다.
- [1042] 실시예
- [1043] 실시예 1: 클릭 화학을 사용한 에스. 뉴모니아에 혈청형 35B 피막 폴리사카라이드의 접합 (도 3 참조)
- [1044] 1. 아지도 링커를 사용한 혈청형 35B 피막 폴리사카라이드의 활성화
- [1045] 혈청형 35B 피막 폴리사카라이드 (200 mg)를 이미다졸 (600 mg)과 혼합한 다음, 동결 및 동결건조시켰다.
- [1046] 3일 동결건조 후, 동결건조된 폴리사카라이드를 무수 DMSO (100 mL)로 재구성하였다. 이어서, 반응 혼합물을 45°C로 가온하고, CDI (DMSO 중 100 mg/mL), 669 μ L (2 MEq)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 45°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 23°C로 냉각시킨 후, WFI 2 mL (2% v/v)를 첨가하여 유리 CDI를 켜고, 23°C에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, 3-아지도-1-프로필아민 41 μ L (2 MEq)를 첨가한 다음, 23°C에서 20시간 동안 교반하였다. 20시간 반응 후, 반응 혼합물을 (5°C에서) 냉각된 400 mL 염수 중 10 mM 인산나트륨 완충제 (SPB) (pH 7) (5X, v/v)로 희석하였다. 이어서, 희석된 반응 혼합물을 염수 중 10 mM SPB (pH 7) (30X, v/v)에 대해 10K MWCO PES 막 (밀리포어 펠리콘 2 미니)을 사용하여 UF/DF에 의해 정제하였다.
- [1047] 2. 알킨 NHS 에스테르를 사용한 CRM₁₉₇ 및 SCP의 알킨-CRM₁₉₇로의 활성화
- [1048] CRM₁₉₇의 활성화:
- [1049] CRM₁₉₇ 용액 (1000 mg)에 WFI 57 mL 및 0.5 M 인산나트륨 완충제 (pH 8.3) 50 mL를 첨가하였다. 8°C로 냉각시킨 후, 3-프로파르길옥시-프로판산 NHS 에스테르 (POPS) (DMSO 중 20 mg/mL) 3.8 mL (CRM₁₉₇ 상의 리신에 대해 0.5 MEq)를 반응 혼합물에 적가하면서, 반응 온도를 8 \pm 3°C에서 유지하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 8°C에서 교반한 후, 염수 중 100 mM 인산나트륨 완충제 (pH 7.0) (30X 정용부피)에 대해 10K MWCO PES 막 (밀리포

어 펠리콘 2 미니)을 사용하여 UF/DF에 의해 정제하였다. UF/DF 후, 수크로스 23 g (15% v/v)을 첨가하였다.

[1050]

SCP의 활성화:

[1051]

SCP의 활성화는 링커의 양을 조정된 것을 제외하고는 CRM₁₉₇의 활성화와 유사하였다. 링커의 최종 양은 SCP에 대해 0.5 MEq였다 (SCP당 0.092 w/w의 링커).

[1052]

클릭 접합:

[1053]

활성화된 아지도 폴리 및 알킨 CRM₁₉₇ 또는 SCP는 "클릭 반응"으로 지칭되는 Cu+1 매개 아지도-알킨 고리화첨가 반응에 의해 접합된다.

[1054]

5 mM 황산구리 (CuSO₄) (1 mL) 및 25 mM 트리스(3-히드록시프로필트리아졸릴메틸)아민 (THPTA) (1 mL)의 혼합물을 23°C에서 아지도 링커를 사용하여 활성화된 혈청형 35B 피막 폴리사카라이드 (상기 단계 1 참조) 및 알킨-CRM₁₉₇ 또는 알킨-SCP (상기 단계 2 참조) (염수 중 100 mM 인산나트륨 완충제 (SPB), pH 7.0 중)의 혼합물에 첨가하고, 이어서 100 mM 아미노구아니딘 (2 mL) 및 100 mM 아스코르브산나트륨 (2 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 23°C에서 2시간 동안 교반한 후, 미반응 아지도 기를 23°C에서 2시간 동안 프로파르길 알콜 (1 MEq)에 의해 캡핑하고, 제1 캡핑 후, 후속적으로 미반응 알킨 기를 23°C에서 2시간 동안 3-아지도-1-프로판올 (2 MEq)에 의해 캡핑하였다. 이어서, 반응 혼합물을 염수 중 10 mM EDTA + 10 mM SPB (pH 7.0) (30X 정용부피), 및 이어서 염수 중 5 mM 숙시네이트 (pH 6.0) (30X 정용부피)에 대해 100K MWCO PES 막을 사용하여 UF/DF에 의해 정제하였다.

[1055]

표 1. 클릭 화학을 사용하여 수득된 Pn35B 접합체의 속성

접합체 #	1	2	3
폴리사카라이드			
폴리사카라이드 MW, kDa	816	252	252
활성화된 폴리사카라이드 속성			
활성화도 (DoA)	~18	~20	~26
활성화된 폴리사카라이드 MW, kDa	898	326	306
활성화된 담체 속성			
활성화도 (DoA)	15	17	~26
활성화된 담체 MW, kDa	58	58	101
접합체 속성			
담체 단백질	CRM ₁₉₇	CRM ₁₉₇	SCP
수율 (%)	56	79	73
SPR 비	1.2	0.9	0.8
유리 사카라이드, %	6	<5	<5
접합체 MW, kDa	1729	1093	939

[1056]

[1057]

MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1058]

클릭 화학은 매우 낮은 유리 사카라이드 및 우수한 수율을 갖는 35B 접합체를 생성하는 것을 가능하게 한다. 게다가, 이는 천연 폴리사카라이드에 근접한 폴리사카라이드를 포함하는 35B 접합체를 수득하는 것을 가능하게 한다 (퍼아이오다르테를 사용한 활성화와 대조적으로 활성화 단계 동안 크기 감소가 관찰되지 않음, WO 2020/247299 참조).

[1059]

실시예 2: 클릭 화학을 사용한 에스. 뉴모니아에 혈청형 29 피막 폴리사카라이드의 접합 (도 3 참조)

[1060]

1. 아지도 링커를 사용한 혈청형 29 피막 폴리사카라이드의 활성화

[1061]

혈청형 29 피막 폴리사카라이드 (200 mg)를 이미다졸 (600 mg)과 혼합한 다음, 동결 및 동결건조시켰다.

[1062]

3일 동결건조 후, 동결건조된 폴리사카라이드를 무수 DMSO (100 mL)로 재구성하였다. 이어서, 반응 혼합물을 45°C로 가온하고, CDI (DMSO 중 100 mg/mL), 1050 μL (3 MEq)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 45°C에서 3시간 동안 교반하였다 (300 rpm). 반응 혼합물을 23°C로 냉각시킨 후, WFI 2 mL (2% v/v)를 첨가하여 유리 CDI를 켄칭하고, 23°C에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, 3-아지도-1-프로필아민 42 μL (2 MEq), 및 이어서 트리에틸아민 60 μL를 첨가한 다음, 23°C에서 20시간 동안 교반하였다. 20시간 반응 후, 반응 혼합물을 (5°C에서)

냉각된 400 mL 염수 중 10 mM 인산나트륨 완충제 (SPB) (pH 7) (5X, v/v)로 희석하였다. 이어서, 희석된 반응 혼합물을 염수 중 10 mM SPB (pH 7) (30X, v/v)에 대해 10K MWCO PES 막 (밀리포어 펠리콘 2 미니)을 사용하여 UF/DF에 의해 정제하였다.

[1063] 2. 알킨 NHS 에스테르를 사용한 CRM₁₉₇의 알킨-CRM₁₉₇로의 활성화

[1064] CRM₁₉₇ 용액 (1000 mg)에 WFI 57 mL 및 0.5 M 인산나트륨 완충제 (pH 8.3) 50 mL를 첨가하였다. 8°C로 냉각시킨 후, 3-프로파르길옥시-프로판산 NHS 에스테르 (POPS) (DMSO 중 20 mg/mL) 3.8 mL (CRM₁₉₇ 상의 리신에 대해 0.5 MEq)를 반응 혼합물에 적가하면서, 반응 온도를 8 ± 3°C에서 유지하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 8°C에서 교반한 후, 염수 중 100 mM 인산나트륨 완충제 (pH 7.0) (30X 정용부피)에 대해 10K MWCO PES 막 (밀리포어 펠리콘 2 미니)을 사용하여 UF/DF에 의해 정제하였다. UF/DF 후, 수크로스 23 g (15% v/v)을 첨가하였다.

[1065] 3. 클릭 접합: 활성화된 아지도 폴리 및 알킨 CRM₁₉₇은 "클릭 반응"으로 지칭되는 Cu+1 매개 아지도-알킨 고리화 첨가 반응에 의해 접합된다.

[1066] 5 mM 황산구리 (CuSO₄) (1 mL) 및 25 mM 트리스(3-히드록시프로필트리아졸릴메틸)아민 (THPTA) (1 mL)의 혼합물을 23°C에서 아지도 링커를 사용하여 활성화된 혈청형 29 피막 폴리사카라이드 (상기 단계 1 참조) 및 알킨-CRM₁₉₇ (상기 단계 2 참조) (염수 중 100 mM 인산나트륨 완충제 (SPB), pH 7.0 중)의 혼합물에 첨가하고, 이어서 100 mM 아미노구아니딘 (2 mL) 및 100 mM 아스코르브산나트륨 (2 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 23°C에서 2시간 동안 교반한 후, 미반응 아지도 기를 23°C에서 2시간 동안 프로파르길 알콜 (1 MEq)에 의해 캡핑하고, 제1 캡핑 후, 후속적으로 미반응 알킨 기를 23°C에서 2시간 동안 3-아지도-1-프로판올 (2 MEq)에 의해 캡핑하였다. 이어서, 반응 혼합물을 염수 중 10 mM EDTA + 10 mM SPB (pH 7.0) (30X 정용부피), 및 이어서 염수 중 5 mM 속시네이트 (pH 6.0) (30X 정용부피)에 대해 100K MWCO PES 막을 사용하여 UF/DF에 의해 정제하였다.

[1067] 표 2. 클릭 화학을 사용하여 수득된 Pn29 접합체의 속성

접합체 #	1
출발 폴리사카라이드	
폴리사카라이드 MW, kDa	674
활성화된 폴리사카라이드 속성	
활성화도 (DoA)	~9
활성화된 폴리사카라이드 MW, kDa	755
접합체 속성	
담체 단백질	CRM ₁₉₇
수율 (%)	56
SPR 비	1.6
유리 사카라이드, %	11
접합체 MW, kDa	1165

[1068]

[1069] MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1070] 클릭 화학은 낮은 유리 사카라이드 및 우수한 수율을 갖는 29 접합체를 생성하는 것을 가능하게 한다. 게다가, 이는 천연 폴리사카라이드에 근접한 폴리사카라이드를 포함하는 혈청형 29 접합체를 수득하는 것을 가능하게 한다 (피아이오다르테를 사용한 활성화와 대조적으로 활성화 단계 동안 크기 감소가 관찰되지 않음, WO 2020/247299 참조).

[1071] 실시예 3. 클릭 화학을 사용하여 접합된 혈청형 35B 접합체의 면역원성

[1072] 마우스에서 -CRM₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 35B에 대한 흡소닌식세포 활성 (OPA) 역가를 표준 조건 하에 결정하였다. 클릭 화학 (클릭)을 사용하여 시험된 접합체를 생성하였다 (표 1의 속성 참조).

[1073] 6-8주령 암컷 스위스 웹스터 마우스의 균을 제0주에 피하 경로를 통해 0.01 µg/동물, 0.05 µg/동물 또는 0.1 µg/동물의 시험 접합체로 면역화시켰다 (250 µL). 마우스를 제3주에 동일한 용량의 접합체로 부스팅한 다음, 제5주에 채혈하였다. 혈청형-특이적 OPA를 제5주 혈청 샘플에서 수행하였다.

[1074] 결과를 표 3에 제시한다.

표 3 - 클릭을 사용하여 -CRM ₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 35B 항원으로의 백신접종 후 OPA 역가. 접합된 혈청형 35B를 사용하여 아주반트의 존재 하에 마우스를 백신접종하였음. 암컷 스위스-웹스터 마우스, 6-8주령; 용량: 0.01; 0.05 및 0.1 µg/ 동물 + AIPO4; 백신접종: 제0주 및 제3주; 방혈 제5주 관독: OPA				
	용량 (µg/ 동물)	0.01	0.05	0.1
표 1의 클릭-CRM ₁₉₇ (천연) 접합체 #1	평균 (OPA 역가)	21	341	2013
	마우스 중 #	45	25	46
	비-반응자 #	31	5	0
	비-반응자 %	69	20	0
표 1의 클릭-CRM ₁₉₇ (크기조정됨) 접합체 #2	평균 (OPA 역가)	NA	44	NA
	마우스 중 #	NA	25	NA
	비-반응자 #	NA	14	NA
	비-반응자 %	NA	56	NA
표 1의 클릭-SCP 접합체 #3	평균 (OPA 역가)	27	182	752
	마우스 중 #	25	25	25
	비-반응자 #	13	5	3
	비-반응자 %	52	20	12

[1075]

[1076] NA: '이용가능하지 않음'

[1077] 표 3의 데이터는 모든 혈청형 35B 접합체가 무린 면역원성 모델에서 용량 의존성 OPA 역가를 도출하였음을 나타낸다.

[1078] 실시예 4: 클릭 화학을 사용한 에스. 뉴모니아에 혈청형 23A 및 23B 피막 폴리사카라이드의 접합 (도 3 참조)

[1079] 혈청형 23A 및 23B 피막 폴리사카라이드를 혈청형 35B 및 29에 대해 사용된 유사한 방법을 사용하여 아지도 링커 (3-아지도-1-프로필아민)로 활성화하였다 (실시예 1 및 2 참조). CRM₁₉₇ 및 SCP의 알킨 NHS 에스테르를 사용한 알킨-CRM₁₉₇ 또는 알킨-SCP로의 활성화, 및 활성화된 아지도 폴리사카라이드 23A 및 23B의 알킨 CRM₁₉₇ 또는 SCP와의 클릭 접합 (Cu+1 매개 아지도-알킨 고리화첨가 반응에 의해 접합됨)을 실시예 1 및 2의 것과 유사한 공정을 사용하여 수행하였다.

[1080] 수득된 접합체의 속성을 표 4 및 5에 제시한다.

[1081] 표 4. 클릭 화학을 사용하여 수득된 Pn23A 접합체의 속성

접합체 #	1	2
폴리사카라이드		
폴리사카라이드 MW, kDa	196	196
활성화된 폴리사카라이드 속성		
활성화도 (DoA)	~10-20	~10-20
활성화된 폴리사카라이드 MW, kDa	248	248
활성화된 담체 속성		
활성화도 (DoA)	15	26
활성화된 담체 MW, kDa	65	99.3
접합체 속성		
담체 단백질	CRM ₁₉₇	SCP
수율 (%)	57	77
SPR 비	1.2	1
유리 사카라이드, %	<5	<5
접합체 MW, kDa	1469	1412

[1082]

[1083] MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1084] 클릭 화학은 매우 낮은 유리 사카라이드 및 우수한 수율을 갖는 23A 접합체를 생성하는 것을 가능하게 한다.

[1085] 표 5. 클릭 화학을 사용하여 수득된 Pn23B 집합체의 속성

집합체 #	1	2
폴리사카라이드		
폴리사카라이드 MW, kDa	157	157
활성화된 폴리사카라이드 속성		
활성화도 (DoA)	18	18
활성화된 폴리사카라이드 MW, kDa	165	165
활성화된 담체 속성		
활성화도 (DoA)	17	26
활성화된 담체 MW, kDa	58	101
집합체 속성		
담체 단백질	CRM ₁₉₇	SCP
수율 (%)	58	63
SPR 비	0.91	0.85
유리 사카라이드, %	10.6	11.5
집합체 MW, kDa	1113	919

[1086]

[1087]

MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1088]

클릭 화학은 낮은 % 유리 사카라이드 및 우수한 수율을 갖는 23B 집합체를 생성하는 것을 가능하게 한다.

[1089]

실시예 5: 클릭 화학을 사용한 에스. 뉴모니아에 혈청형 15A 피막 폴리사카라이드의 집합 (도 3 참조)

[1090]

혈청형 15A 피막 폴리사카라이드를 혈청형 35B 및 29에 대해 사용된 유사한 방법을 사용하여 아지도 링커 (3-아지도-1-프로필아민)를 사용하여 활성화하였다 (실시예 1 및 2 참조). CRM₁₉₇ 및 SCP의 알킨 NHS 에스테르를 사용한 알킨-CRM₁₉₇ 또는 알킨-SCP로의 활성화, 및 활성화된 아지도 폴리사카라이드 15A의 알킨 CRM₁₉₇ 또는 SCP와의 클릭 집합 (Cu+1 매개 아지도-알킨 고리화첨가 반응에 의해 집합됨)을 실시예 1 및 2의 것과 유사한 공정을 사용하여 수행하였다.

[1091]

수득된 집합체의 속성을 표 6에 제시한다.

[1092]

표 6. 클릭 화학을 사용하여 수득된 Pn15A 집합체의 속성

집합체 #	1	2
폴리사카라이드		
폴리사카라이드 MW, kDa	175	229
활성화된 폴리사카라이드 속성		
활성화도 (DoA)	~15	~17
활성화된 폴리사카라이드 MW, kDa	244	320
활성화된 담체 속성		
활성화도 (DoA)	17	~26
활성화된 담체 MW, kDa	58	101
집합체 속성		
담체 단백질	CRM ₁₉₇	SCP
수율 (%)	25	64
SPR 비	1.0	1.1
유리 사카라이드, %	6	9
집합체 MW, kDa	2249	802

[1093]

[1094]

MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1095]

클릭 화학은 SPC에 대해 낮은 유리 사카라이드 및 우수한 수율을 갖는 15A 집합체를 생성하는 것을 가능하게 한다.

[1096]

실시예 6: 클릭 화학을 사용한 에스. 뉴모니아에 혈청형 24F 피막 폴리사카라이드의 집합 (도 3 참조)

[1097]

혈청형 24F 피막 폴리사카라이드를 혈청형 35B 및 29에 대해 사용된 유사한 방법을 사용하여 아지도 링커 (3-아지도-1-프로필아민)를 사용하여 활성화하였다 (실시예 1 및 2 참조). CRM₁₉₇ 및 SCP의 알킨 NHS 에스테르를 사

용한 알킨-CRM₁₉₇ 또는 알킨-SCP로의 활성화, 및 활성화된 아지도 폴리사카라이드 24F의 알킨 CRM₁₉₇ 또는 SCP와의 클릭 접합 (Cu+1 매개 아지도-알킨 고리화점가 반응에 의해 접합됨)을 실시예 1 및 2의 것과 유사한 공정을 사용하여 수행하였다.

[1098] 수득된 접합체의 속성을 표 7에 제시한다.

[1099] 표 7. 클릭 화학을 사용하여 수득된 Pn24F 접합체의 속성

접합체 #	1	2
폴리사카라이드		
폴리사카라이드 MW, kDa	194	194
활성화된 폴리사카라이드 속성		
활성화도 (DoA)	6~10	6~10
활성화된 폴리사카라이드 MW, kDa	282	282
활성화된 담체 속성		
활성화도 (DoA)	15	20
활성화된 담체 MW, kDa	65	101
접합체 속성		
담체 단백질	CRM ₁₉₇	SCP
수율 (%)	52	82
SPR 비	1.1	0.9
유리 사카라이드, %	7	<5
접합체 MW, kDa	1195	2206

[1100]

[1101] MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1102] 클릭 화학은 낮은 유리 사카라이드 및 우수한 수율을 갖는 24F 접합체를 생성하는 것을 가능하게 한다.

[1103] 실시예 7: 클릭 화학을 사용한 에스. 뉴모니아에 혈청형 6B 피막 폴리사카라이드의 접합 (도 3 참조)

[1104] 혈청형 6B 피막 폴리사카라이드를 혈청형 35B 및 29에 대해 사용된 유사한 방법을 사용하여 아지도 링커 (3-아지도-1-프로필아민)를 사용하여 활성화하였다 (실시예 1 및 2 참조). CRM₁₉₇ 및 SCP의 알킨 NHS 에스테르를 사용한 알킨-CRM₁₉₇ 또는 알킨-SCP로의 활성화, 및 활성화된 아지도 폴리사카라이드 6B의 알킨 CRM₁₉₇ 또는 SCP와의 클릭 접합 (Cu+1 매개 아지도-알킨 고리화점가 반응에 의해 접합됨)을 실시예 1 및 2의 것과 유사한 공정을 사용하여 수행하였다.

[1105] 수득된 접합체의 속성을 표 8에 제시한다.

[1106] 표 8. 클릭 화학을 사용하여 수득된 6B 접합체의 속성

접합체 #	1	2
활성화된 폴리사카라이드 속성		
활성화도 (DoA)	20	20
활성화된 담체 속성		
활성화도 (DoA)	15	26
접합체 속성		
담체 단백질	CRM ₁₉₇	SCP
SPR 비	1.20	1.10
유리 사카라이드, %	<5	<5
유리 단백질, %	<1	<1
접합체 MW, kDa	1919	1927

[1107]

[1108] MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1109] 클릭 화학은 매우 낮은 유리 사카라이드 및 유리 단백질을 갖는 6B 접합체를 생성하는 것을 가능하게 한다.

[1110] 실시예 8: 클릭 화학을 사용한 에스. 뉴모니아에 혈청형 19A 피막 폴리사카라이드의 접합 (도 3 참조)

[1111] 혈청형 19A 피막 폴리사카라이드를 혈청형 35B 및 29에 대해 사용된 유사한 방법을 사용하여 아지도 링커 (3-아지도-1-프로필아민)를 사용하여 활성화하였다 (실시예 1 및 2 참조). CRM₁₉₇ 및 SCP의 알킨 NHS 에스테르를 사

용한 알킨-CRM₁₉₇ 또는 알킨-SCP로의 활성화, 및 활성화된 아지도 폴리사카라이드 19A의 알킨 CRM₁₉₇ 또는 SCP와의 클릭 접합 (Cu+1 매개 아지도-알킨 고리화점이 반응에 의해 접합됨)을 실시예 1 및 2의 것과 유사한 공정을 사용하여 수행하였다.

[1112] 수득된 접합체의 속성을 표 9에 제시한다.

[1113] 표 9. 클릭 화학을 사용하여 수득된 19A 접합체의 속성

접합체 #	1	2
활성화된 폴리사카라이드 속성		
활성화도 (DoA)	17	17
활성화된 담체 속성		
활성화도 (DoA)	15	26
접합체 속성		
담체 단백질	CRM ₁₉₇	SCP
SPR 비	1.50	1.20
유리 사카라이드, %	14	<5
유리 단백질, %	<1	<1
접합체 MW, kDa	1360	994

[1114]

[1115] MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1116] 클릭 화학은 낮은 유리 사카라이드 및 매우 낮은 유리 단백질을 갖는 19A 접합체를 생성하는 것을 가능하게 한다.

[1117] 실시예 9: 클릭 화학을 사용한 에스. 뉴모니아에 혈청형 19F 피막 폴리사카라이드의 접합 (도 3 참조)

[1118] 혈청형 19F 피막 폴리사카라이드를 혈청형 35B 및 29에 대해 사용된 유사한 방법을 사용하여 아지도 링커 (3-아지도-1-프로필아민)를 사용하여 활성화시켰다 (실시예 1 및 2 참조). CRM₁₉₇ 및 SCP의 알킨 NHS 에스테르를 사용한 알킨-CRM₁₉₇ 또는 알킨-SCP로의 활성화, 및 활성화된 아지도 폴리사카라이드 19F의 알킨 CRM₁₉₇ 또는 SCP와의 클릭 접합 (Cu+1 매개 아지도-알킨 고리화점이 반응에 의해 접합됨)을 실시예 1 및 2의 것과 유사한 공정을 사용하여 수행하였다.

[1119] 수득된 접합체의 속성을 표 10에 제시한다.

[1120] 표 10. 클릭 화학을 사용하여 수득된 19F 접합체의 속성

접합체 #	1	2
활성화된 폴리사카라이드 속성		
활성화도 (DoA)	24	24
활성화된 담체 속성		
활성화도 (DoA)	15	26
접합체 속성		
담체 단백질	CRM ₁₉₇	SCP
SPR 비	0.88	0.92
유리 사카라이드, %	7	1
유리 단백질, %	<1	<1
접합체 MW, kDa	1775	2099

[1121]

[1122] MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1123] 클릭 화학은 낮은 유리 사카라이드 및 매우 낮은 유리 단백질을 갖는 19F 접합체를 생성하는 것을 가능하게 한다.

[1124] 실시예 10: 클릭 화학을 사용한 에스. 뉴모니아에 혈청형 23F 피막 폴리사카라이드의 접합 (도 3 참조)

[1125] 혈청형 23F 피막 폴리사카라이드를 혈청형 35B 및 29에 대해 사용된 유사한 방법을 사용하여 아지도 링커 (3-아지도-1-프로필아민)를 사용하여 활성화하였다 (실시예 1 및 2 참조). CRM₁₉₇ 및 SCP의 알킨 NHS 에스테르를 사용한 알킨-CRM₁₉₇ 또는 알킨-SCP로의 활성화, 및 활성화된 아지도 폴리사카라이드 23F의 알킨 CRM₁₉₇ 또는 SCP와

의 클릭 접합 (Cu+1 매개 아지드-알킨 고리화합가 반응에 의해 접합됨)을 실시예 1 및 2의 것과 유사한 공정을 사용하여 수행하였다.

[1126] 수득된 접합체의 속성을 표 11에 제시한다.

[1127] 표 11. 클릭 화학을 사용하여 수득된 23F 접합체의 속성

접합체 #	1	2
활성화된 폴리사카라이드 속성		
활성화도 (DoA)	26	28
활성화된 담체 속성		
활성화도 (DoA)	15	26
접합체 속성		
담체 단백질	CRM ₁₉₇	SCP
SPR 비	1.20	1.10
유리 사카라이드, %	5	8
유리 단백질, %	<1	<1
접합체 MW, kDa	2111	1798

[1128]

[1129] MW: 분자량; SPR: 단백질에 대한 사카라이드 비

[1130] 클릭 화학은 낮은 유리 사카라이드 및 매우 낮은 유리 단백질을 갖는 23F 접합체를 생성하는 것을 가능하게 한다.

[1131] 실시예 11. 클릭 화학을 사용하여 접합된 혈청형 19F 접합체의 면역원성

[1132] 마우스에서 -CRM₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 19F에 대한 옥소닌식세포 활성 (OPA) 역가를 표준 조건 하에 결정하였다. 클릭 화학 (클릭)을 사용하여 시험된 접합체를 생성하였다 (실시예 9, 표 10의 속성 참조).

[1133] 6-8주령 암컷 스위스 웹스터 마우스의 군을 제0주에 피하 경로를 통해 0.05 µg/동물 또는 0.1 µg/동물의 시험 접합체로 면역화시켰다 (250 µL). 마우스를 제3주에 동일한 용량의 접합체로 부스팅한 다음, 제5주에 채혈하였다. 혈청형-특이적 OPA를 제5주 혈청 샘플에서 수행하였다.

[1134] 결과를 표 12에 제시한다.

표 12 - 클릭을 사용하여 -CRM ₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 19F 항원으로의 백신접종 후 OPA 역가. 접합된 혈청형 19F를 사용하여 아주반트의 존재 하에 마우스를 백신접종하였음. 암컷 스위스-웹스터 마우스, 6-8주령; 용량: 0.1, 및 0.05 µg/동물 + AIPO4; 백신접종: 제0주 및 제3주; 방혈 제5주 관독: OPA			
	용량 (µg/동물)	0.05	0.1
표 10의 클릭- CRM ₁₉₇ 접합체 #1	평균	102	143
	마우스 총 #	50	50
	비-반응자 #	8	8
	비-반응자 %	16	16
표 10의 클릭 - SCP 접합체 #2	평균	306	328
	마우스 총 #	50	50
	비-반응자 #	0	1
	비-반응자 %	0	2

[1135]

[1136] 실시예 12. 클릭 화학을 사용하여 접합된 혈청형 29 접합체의 면역원성

[1137] 마우스에서 -CRM₁₉₇에 접합된 혈청형 29에 대한 옥소닌식세포 활성 (OPA) 역가를 표준 조건 하에 결정하였다. 클릭 화학 (클릭)을 사용하여 시험된 접합체를 생성하였다 (실시예 2, 표 2의 속성 참조).

[1138] 6-8주령 암컷 스위스 웹스터 마우스의 군을 제0주에 피하 경로를 통해 0.01 µg/동물, 0.05 µg/동물 또는 0.1 µg/동물의 시험 접합체로 면역화시켰다 (250 µL). 마우스를 제3주에 동일한 용량의 접합체로 부스팅한 다음, 제5주에 채혈하였다. 혈청형-특이적 OPA를 제5주 혈청 샘플에서 수행하였다.

[1139] 결과를 표 13에 제시한다.

<p>표 13 - 클릭 화학을 사용하여 -CRM₁₉₇에 접합된 혈청형 29 항원으로의 백신접종 후 OPA 역가. 접합된 혈청형 29를 사용하여 아주반트의 존재 하에 마우스를 백신접종하였음. 암컷 스위스-웹스터 마우스, 6-8주령; 용량: 0.01; 0.05 및 0.1 µg/동물 + AIPO4; 백신접종: 제0주 및 제3주; 방혈 제5주 판독: OPA</p>				
	용량 (µg/동물)	0.01	0.05	0.1
클릭-CRM ₁₉₇	평균 (OPA 역가)	28	1332	2271
	마우스 총 #	25	25	25
	비-반응자 #	12	1	0
	비-반응자 %	48	4	0

[1140]

[1141] 표 13의 데이터는 혈청형 29 접합체가 무린 면역원성 모델에서 용량 의존성 OPA 역가를 도출하였음을 나타낸다.

[1142] 실시예 13. 클릭 화학을 사용하여 접합된 혈청형 19A 접합체의 면역원성

[1143] 마우스에서 -CRM₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 19A에 대한 옥소닌식세포 활성 (OPA) 역가를 표준 조건 하에 결정하였다. 클릭 화학 (클릭)을 사용하여 시험된 접합체를 생성하였다 (실시예 8, 표 9의 속성 참조).

[1144] 6-8주령 암컷 스위스 웹스터 마우스의 군을 제0주에 피하 경로를 통해 0.05 µg/동물 또는 0.1 µg/동물의 시험 접합체로 면역화시켰다 (250 µL). 마우스를 제3주에 동일한 용량의 접합체로 부스팅한 다음, 제5주에 채혈하였다. 혈청형-특이적 OPA를 제5주 혈청 샘플에서 수행하였다.

[1145] 결과를 표 14에 제시한다.

<p>표 14 - 클릭을 사용하여 -CRM₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 19A 항원으로의 백신접종 후 OPA 역가. 접합된 혈청형 19A를 사용하여 아주반트의 존재 하에 마우스를 백신접종하였음. 암컷 스위스-웹스터 마우스, 6-8주령; 용량: 0.05 및 0.1 µg/동물 + AIPO4; 백신접종: 제0주 및 제3주; 방혈 제5주 판독: OPA</p>			
	용량 (µg/동물)	0.05	0.1
표 9의 클릭-CRM ₁₉₇ 접합체 #1	평균	25	40
	마우스 총 #	50	49
	비-반응자 #	24	19
	비-반응자 %	48	39
표 9의 클릭-SCP 접합체 #2	평균	126	327
	마우스 총 #	50	50
	비-반응자 #	4	2
	비-반응자 %	8	4

[1146]

[1147] 실시예 14. 클릭 화학을 사용하여 접합된 혈청형 6B 접합체의 면역원성

[1148] 마우스에서 -CRM₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 6B에 대한 옥소닌식세포 활성 (OPA) 역가를 표준 조건 하에 결정하였다. 클릭 화학 (클릭)을 사용하여 시험된 접합체를 생성하였다 (실시예 7, 표 8의 속성 참조).

[1149] 6-8주령 암컷 스위스 웹스터 마우스의 군을 제0주에 피하 경로를 통해 0.05 µg/동물, 0.1 µg/동물 또는 0.2 µg/동물의 시험 접합체로 면역화시켰다 (250 µL). 마우스를 제3주에 동일한 용량의 접합체로 부스팅한 다음, 제5주에 채혈하였다. 혈청형-특이적 OPA를 제5주 혈청 샘플에서 수행하였다.

[1150] 결과를 표 15에 제시한다.

표 15 - 클릭을 사용하여 -CRM ₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 6B 항원으로서의 백신접종 후 OPA 역가. 접합된 혈청형 6B를 사용하여 아주반트의 존재 하에 마우스를 백신접종하였음. 암컷 스위스-웹스터 마우스, 6-8주령; 용량: 0.2, 0.1, 및 0.05 µg/동물 + AIPO4; 백신접종: 제0주 및 제3주; 방혈 제5주 판독: OPA				
	용량 (µg/동물)	0.05	0.1	0.2
표 8의 클릭 - CRM ₁₉₇ 접합체 #1	평균	76	255	217
	마우스 총 #	50	50	50
	비-반응자 #	15	9	7
	비-반응자 %	30	18	14
표 8의 클릭 - SCP 접합체 #2	평균	54	70	202
	마우스 총 #	48	50	49
	비-반응자 #	18	16	7
	비-반응자 %	38	32	14

[1151]

[1152] 실시예 15. 클릭 화학을 사용하여 접합된 혈청형 15A 접합체의 면역원성

[1153] 마우스에서 -CRM₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 15A에 대한 흡소닌식세포 활성 (OPA) 역가를 표준 조건 하에 결정하였다. 클릭 화학 (클릭)을 사용하여 시험된 접합체를 생성하였다 (실시예 5, 표 6의 속성 참조).

[1154] 6-8주령 암컷 스위스 웹스터 마우스의 군을 제0주에 피하 경로를 통해 0.01 µg/동물, 0.1 µg/동물 또는 1.0 µg/동물의 시험 접합체로 면역화시켰다 (250 µL). 마우스를 제3주에 동일한 용량의 접합체로 부스팅한 다음, 제5주에 채혈하였다. 혈청형-특이적 OPA를 제5주 혈청 샘플에서 수행하였다.

[1155] 결과를 표 16에 제시한다.

표 16 - 클릭을 사용하여 -CRM ₁₉₇ 또는 SCP에 접합된 혈청형 15A 항원으로서의 백신접종 후 OPA 역가. 접합된 혈청형 15A를 사용하여 아주반트의 존재 하에 마우스를 백신접종하였음. 암컷 스위스-웹스터 마우스, 6-8주령; 용량: 1.0, 0.1, 및 0.01 µg/동물 + AIPO4; 백신접종: 제0주 및 제3주; 방혈 제5주 판독: OPA				
	용량 (µg/동물)	0.01	0.1	1.0
표 6의 클릭 - CRM ₁₉₇ 접합체 #1	평균	135	6457	16624
	마우스 총 #	23	25	25
	비-반응자 #	5	0	0
	비-반응자 %	22	0	0
표 6의 클릭 - SCP 접합체 #2	평균	463	3294	5578
	마우스 총 #	25	25	25
	비-반응자 #	2	0	1
	비-반응자 %	8	0	4

[1156]

[1157] 본 명세서에 언급된 모든 간행물 및 특허 출원은 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자의 수준을 나타낸다. 모든 간행물 및 특허 출원은 각각의 개별 간행물 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 참조로 포함되는 것으로 지시된 것과 동일한 정도로 본원에 참조로 포함된다.

[1158] 상기 발명은 이해의 명료함을 위해 예시 및 실시예로서 일부 상세히 기재되었지만, 첨부된 청구범위의 범주 내에서 특정 변화 및 변형이 실시될 수 있다.

도면

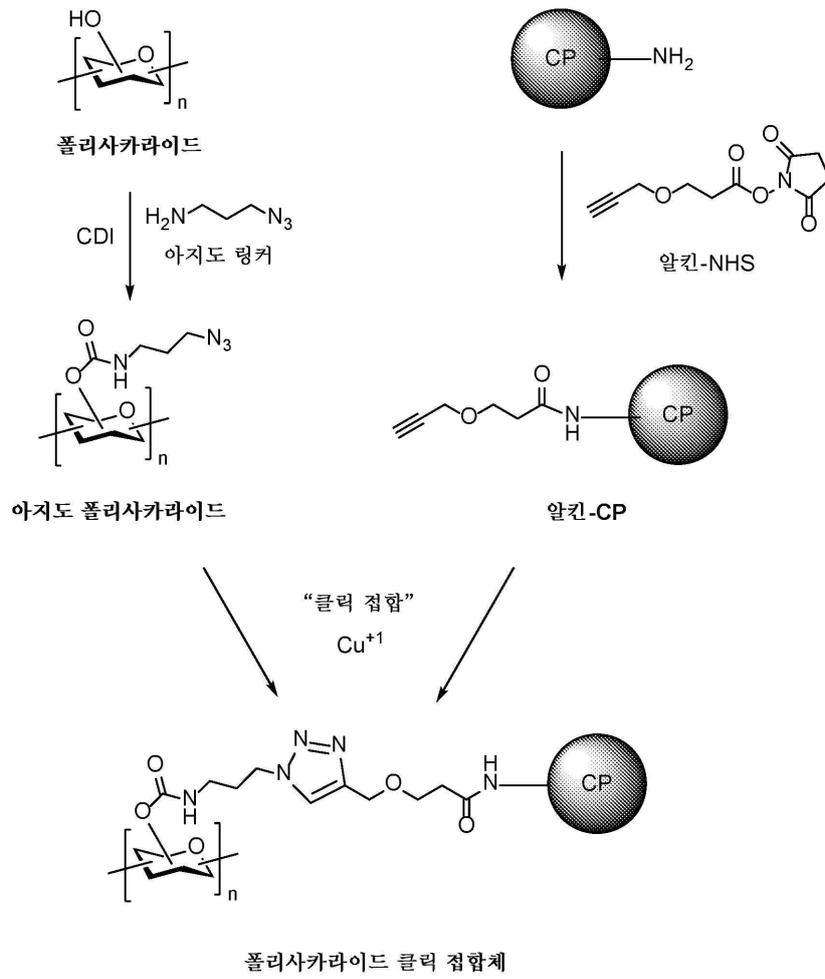
도면1



도면2



도면3



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.