

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2013년 12월 27일 (27.12.2013)



(10) 국제공개번호
WO 2013/191459 A1

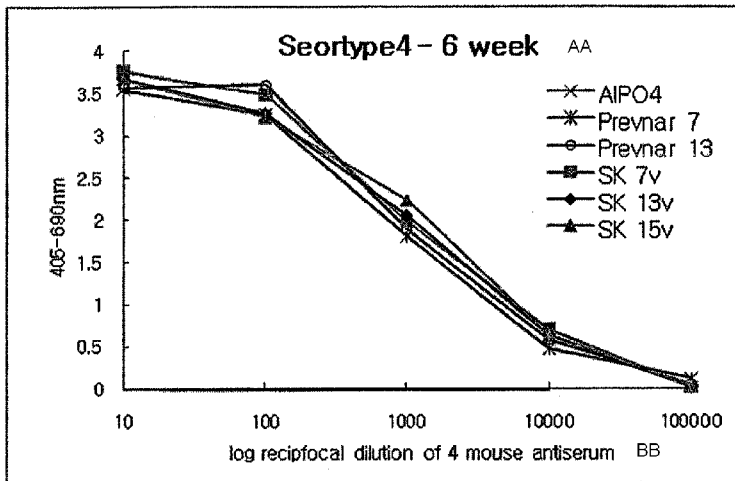
- (51) 국제특허분류:
A61K 47/48 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01) A61P 31/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/005392
- (22) 국제출원일: 2013년 6월 19일 (19.06.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2012-0065893 2012년 6월 20일 (20.06.2012) KR
- (71) 출원인: 에스케이케미칼주식회사 (SK CHEMICALS CO., LTD.) [KR/KR]; 463-400 경기도 성남시 분당구 판교로 310 (삼평동), Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 신진환 (SHIN, Jin-Hwan); 138-160 서울시 송파구 가락동 101-3(23/1) 아카존아파트 1동 502호, Seoul (KR). 양지혜 (YANG, Ji-Hye); 120-813 서울시 서대문구 북가좌동 456 휴먼빌아파트 102동 603호, Seoul (KR). 함동수 (HAM, Dong-Soo); 442-754 경기도 수원시 팔달구 우만동 600 월드메르디앙아파트 113동 505호, Gyeonggi-do (KR). 박만훈 (PARK, Mahn-Hoon); 446-902 경기도 용인시 기흥구 공세동 대주피오레아파트 B단지 205동 1703호, Gyeonggi-do (KR). 김훈 (KIM, Hun); 442-754 경기도 수원시 팔달구 우만동 600 월드메르디앙아파트 108동 1904호, Gyeonggi-

- do (KR). 노명주 (NOH, Myeong-Ju); 151-763 서울시 관악구 성현동 일두아파트 3동 108호, Seoul (KR). 박수진 (PARK, Su-Jin); 463-856 경기도 성남시 분당구 야탑동 294-2, Gyeonggi-do (KR). 양선영 (YANG, Seon-Young); 402-709 인천시 남구 관교동 신비마을아파트 111동 510호, Incheon (KR).
- (74) 대리인: 오국진 (OH, Kook-Jin); 137-884 서울시 서초구 서초동 1708-6 두언빌딩 302호, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: POLYVALENT PNEUMOCOCCAL POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATE COMPOSITION

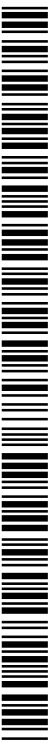
(54) 발명의 명칭: 다가 폐렴구균 다당류-단백질 접합체 조성물



AA ... Serotype 4 - 6 week
BB ... log reciprocal dilution of 4 mouse antiserum

(57) Abstract: Provided is an immunogenic composition comprising 15 different polysaccharide-protein conjugate. Each of the conjugates comprises a capsular polysaccharide prepared from different serotype Streptococcus pneumoniae conjugated to a carrier protein, that is, serotypes 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9N, 9V, 14, 18C, 19A, 19F and 23F. An immunogenic composition formulated into a vaccine comprising an aluminum-based adjuvant increases the application range with respect to pneumococcal diseases in infants and children.

(57) 요약서: 15 개의 상이한 다당류-단백질 접합체를 포함하는 면역원성 조성물이 기술된다. 각 접합체는 운반체 단백질에 접합된 상이한 혈청형의 스트렙토코쿠스 뉴모니에 즉, 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9N, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터 제조된 결합 다당류를 포함한다. 알루미늄염계 에뮤버트를 가진 백신으로 제제화된 면역원성 조성물은 유아 및 소아에서 폐렴구균 질환에 대한 적용범위를 증가시킨다.



WO 2013/191459 A1

MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, **공개:**
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, — 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

명세서

발명의 명칭: 다가 폐렴구균 다당류-단백질 접합체 조성물 기술분야

- [1] 본 발명은 15개 폐렴구균 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9N, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F 유래의 헵막 다당류(capsular polysaccharide)를 CRM₁₉₇ 등의 운반체 단백질에 접합하여 제조된 다가 면역원성 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 접합체 조성물은 의학 분야, 특히 미생물학, 면역학, 백신과 관련되며, 면역접종으로 영·유아 및 소아 그리고 성인의 폐렴구균에 의한 질환을 예방하는데 유용하다.

배경기술

- [2] 스트렙토코커스 뉴모니에(*Streptococcus pneumoniae*)는 폐렴의 주요한 원인균이다. 통계청 「2010년 주요 사망원인별 사망률 추이」에 의하면 2010년 폐렴으로 인한 사망률은 10만 명당 14.9 명으로 10대 사망원인의 하나이며, 2000년 대비 82.9% 증가한 것으로 나타났다. 또한 2012년 WHO에 따르면 2008년도에 전세계적으로 HIV 음성인 5세 이하 어린이 476,000명이 스트렙토코커스 뉴모니에에 의한 감염으로 사망했으며, 5세 이하 어린이 전체 사망자 중 5%가 이 균에 의한 질환으로 사망하였다.
- [3] 폐렴구균에 의한 질환을 예방하기 위해 1977년 Dr. Robert Austrian에 의해 14가 다당류 백신이 개발되었고, 이후 23가 다당류 백신으로 발전하였다. 다가 폐렴구균 다당류 백신은 노인 및 고위험 환자에서 폐렴구균 질환을 예방하는데 있어서 유용한 것으로 입증되었다. 그러나 유아 및 소아는 대부분의 폐렴구균 다당류에 대해 면역 반응이 잘 일어나지 않는데 이는 T-cell 비의존적 면역반응 현상 때문이다. 7가 폐렴구균 접합체 백신(프레브나(Prevnar)[®])은 가장 발생 빈도가 높은 7개 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F 유래의 헵막 다당류(capsular polysaccharide)를 포함한다. 2000년 미국에서 최초로 승인된 이후 유아 및 소아에서 침습성 질환 및 중이염에 대해 면역원성이 높고 효과적인 것으로 입증되었다. 이 백신은 현재 전세계 약 80여 개 국가에서 승인되어 있다. 프레브나는 미국, 유럽 및 전세계의 다른 지역에서 침습성 폐렴구균 질환의 대략 80 내지 90%, 60 내지 80%, 및 40 내지 80%를 각각 감당한다. 프레브나의 도입 이후에 수년간 축적된 감시(surveillance) 데이터에서는 예상된 바와 같이, 미국에서 프레브나에 포함된 혈청형에 의한 침습성 폐렴구균 질환이 명확히 감소하였다. 하지만 일부 지역에서는 혈청형 적용 범위에 한계가 있었으며, 프레브나에 포함되지 않은 혈청형, 특히 19A로 인한 침습성 폐렴구균 질환은 증가하였다.
- [4] 2010년 2월 Advisory Committee on Immunization Practices(ACIP)는 새로 허가받은 13가 폐렴 구균 접합 백신(PCV-13)의 사용 권고를 발표하였다.

PCV-13은 프레브나에 포함된 7개 혈청형(4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F) 외에 6개의 추가 혈청형(1, 3, 5, 6A, 7F, 19A)들이 함유된 폐렴구균 접합체 백신이다. 미국 Active Bacterial Core surveillance(ABCs) 조사에 의하면, 5세 이하 어린이의 발병 혈청형으로 알려진 IPD 건 중에서 총 64 %가 PCV13에 포함되어 있으며, 2007의 경우 5세 이하 어린이에서 발병한 4600 IPD 건 중에 PCV7에 의한 경우가 70 건인데 반해 PCV13의 경우는 2900 건으로 과반수 이상을 차지하고 있다. 또한 혈청형 교체가 나타나면서 incidence가 증가한 다른 혈청형을 적용범위에 넣은 15가 폐렴구균 접합체백신도 개발 중이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 본 발명은 면역접종으로 영·유아, 소아, 및 성인의 폐렴구균에 의한 질환을 예방하는데 유용한 다가 면역원성 조성물로서, 혈청형 2 및 9N을 포함한 15개 폐렴구균 혈청형 유래의 헵막 다당류를 포함하는 다가 면역원성 조성물을 제공한다.
- [6] 즉, 본 발명은 혈청형 2 및 9N을 포함한 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9N, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F를 포함하는 15가 폐렴구균 접합체(PCV-15) 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명의 일 태양에 따라, 생리학적으로 허용되는 비히클과 함께 15개의 상이한 다당류-단백질 접합체를 포함하는 다가 면역원성 조성물로서, 각각의 접합체가 운반체 단백질에 접합된 상이한 혈청형의 스트렙토코커스 뉴모니에(*Streptococcus pneumoniae*) 유래의 헵막 다당류(capsular polysaccharide)를 포함하며, 상기 헵막 다당류가 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9N, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터 제조되는, 다가 면역원성 조성물이 제공된다.
- [8] 본 발명에 따른 다가 면역원성 조성물에 있어서, 상기 운반체 단백질은 CRM₁₉₇일 수 있다. 본 발명에 따른 다가 면역원성 조성물은 에쥬번트를 추가로 포함할 수 있으며, 예를 들어, 에쥬번트가 알루미늄계 에쥬번트를 포함할 수 있다. 상기 에쥬번트는 알루미늄 포스페이트, 알루미늄 설페이트 및 알루미늄 하이드록사이드로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으며, 바람직하게는 알루미늄 포스페이트일 수 있다.
- [9] 본 발명의 다른 태양에 따라, 상기 면역원성 조성물의 면역학적 유효량을 포함하는, 스트렙토코커스 뉴모니에 헵막 다당류 접합체에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 약학 조성물이 제공된다.
- [10] 일 구현예에서, 상기 약학 조성물은 2 μ g의 각 당류, 단 6B는 4 μ g; 약 34 μ g의 CRM₁₉₇ 운반체 단백질; 0.125 mg의 알루미늄 원소(0.5 mg의 알루미늄 포스페이트) 에쥬번트; 및 부형제로서 염화나트륨 및 나트륨 석시네이트 완충액을 함유하도록 제제화된 면역원성 조성물일 수 있다.

발명의 효과

- [11] 본 발명에 따른 다가 면역원성 조성물은 혈청형 2 및 9N을 포함한 15개 폐렴구균 혈청형 유래의 헵막 다당류를 포함함으로써, 우수한 혈청 IgG 역가와 기능적 항체 활성을 유도할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 다가 면역원성 조성물은 영·유아, 소아, 및 성인의 폐렴구균에 의한 질환을 예방하는데 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [12] 도 1 내지 도 15는 본 발명에 따른 백신 조성물 및 비교예[(프레브나 7가 백신(Prevnar) 및 프레브나 13가 백신(Prevnar 13)]의 2차 접종 3주 후(즉, 총 6주 후)에 혈청형 특이적 IgG 농도를 측정된 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [13] 항생제 내성 및 다재내성을 나타내는 일부 혈청형에 의해 혈청형 교체(serotype replacement)가 나타났다. 또한 혈청형 분포의 지역간 편차로 인해 프레브나 적용범위가 지역에 따라 달라지는 한계가 제기되었다(Harboe ZB, Benfield TL, Valentiner-Branth P, et al. Temporal Trends in Invasive Pneumococcal Disease and Pneumococcal Serotypes over 7 Decades. *Clin Infect Dis* 2010; 50:329-37). 따라서 기존의 폐렴구균 접합체 백신으로부터 어떤 혈청형도 제거할 이유가 없으며 오히려 혈청형을 추가하여 적용범위를 더 넓혀야 할 필요성이 있다.
- [14] 2008년 Pneumococcal Global Serotype Project (GSP)에서 1980년부터 2007년까지의 IPD 데이터를 수집하여 발표한 보고자료에서는, 혈청형 2가 top 20 global serotype에서 혈청형 18C에 이어 11번째로 발생 빈도가 높은 혈청형으로 나타났다. 또한 Samir K. Saha 등은 혈청형 2가 방글라데시에서 폐렴구균성 수막염 유발 확률이 높고 폐렴구균 접합체 백신에 포함되지 않아 앞으로 위협이 될 수 있다고 보고하였다(Saha SK, Al Emran HM, Hossain B, Darmstadt GL, Saha S, et al. (2012) Streptococcus pneumoniae Serotype-2 Childhood Meningitis in Bangladesh: A Newly Recognized Pneumococcal Infection Threat. *PLoS ONE* 2012; 7(3): e32134). 따라서 혈청형 2를 포함시키면 폐렴구균 질환의 수가 감소할 수 있을 뿐만 아니라, 앞으로 PCV-13 접종으로 나타날 혈청형 교체 현상에도 대비할 수 있을 것이다.
- [15] 폐렴구균 혈청형은 나이에 따라 다른 분포 양상을 보인다. 특히 폐렴구균 접합백신 접종 대상인 0 내지 23개월 이하의 영유아에서는 24 내지 59 개월의 소아와 비교해, 혈청형 9N의 중요성이 상대적으로 증가하는 것으로 나타났다. PCV-13에 포함된 혈청형 13개에 이어 14번째로 흔한 분리주였다. 이것은 혈청형 9N을 포함시키면 전체, 특히 영유아에서 폐렴구균 질환의 감소에 기여할 수 있음을 시사한다.
- [16] 본 발명은 혈청형 2 및 9N을 포함한 15개 폐렴구균 혈청형 유래의 헵막 다당류를 포함하는 다가 면역원성 조성물을 제공한다. 즉, 본 발명은

생리학적으로 허용되는 비히클과 함께 15개의 상이한 다당류-단백질 접합체를 포함하는 다가 면역원성 조성물로서, 각각의 접합체가 운반체 단백질에 접합된 상이한 혈청형의 스트렙토코커스 뉴모니에(*Streptococcus pneumoniae*) 유래의 협막 다당류(capsular polysaccharide)를 포함하며, 상기 협막 다당류가 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9N, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터 제조되는, 다가 면역원성 조성물을 제공한다.

- [17] 협막 다당류는 당업자에게 공지된 표준 기술에 의해서 제조될 수 있다. 협막 다당류는 점도를 감소시키기 위해서 또는 활성화된 협막 다당류의 용해도를 증가시키기 위해서 크기를 줄일 수 있다. 본 발명에서, 협막 다당류는 스트렙토코커스 뉴모니에의 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9N, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터 제조된다. 이 폐렴구균 접합체들은 별개의 과정에 의해서 제조되고 단일 투여 제형으로 제제화된다. 예를 들면, 각 폐렴구균 다당류 혈청형을 대두-기제 배지에서 증식시키고, 이어서 개개의 다당류를 원심분리, 침전, 한외여과를 통해서 정제한다.
- [18] 운반체 단백질은 바람직하게는 무독성이고 비반응원성이며, 충분한 양 및 순도로 수득할 수 있는 단백질이다. 상기 운반체 단백질은 표준 접합 방법에 적절해야 한다. 본 발명에 따른 다가 면역원성 조성물에 있어서, 상기 운반체 단백질은 CRM₁₉₇일 수 있다. CRM₁₉₇은 카사미노산 및 효모 추출물-기제 배지에서 증식시킨 코리네박테리움 디프테리아(*Corynebacterium diphtheria*) 균주 C7 (β197)의 배양물로부터 분리된 디프테리아 독소의 무독성 변이체(즉, 독소이드)이다. CRM₁₉₇은 한외여과, 암모늄 설페이트 침전 및 이온 교환 크로마토그래피를 통해서 정제된다. CRM₁₉₇은 미국특허 제5,614,382호에 따라 재조합적으로 제조될 수 있다.
- [19] 다른 디프테리아 독소이드도 또한 운반체 단백질로서 사용될 수 있다. 다른 적당한 운반체 단백질에는, 파상풍 독소이드, 백일해 독소이드, 콜레라 독소이드(제WO2004/083251호), 이.콜라이(*E. coli*) LT, 이.콜라이 ST, 및 슈도모나스 애루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 유래의 외독소 A와 같은 불활성화된 세균 독소가 포함된다. 세균 외막 단백질, 예를 들면, 외막복합체 c (OMPC), 포린, 트랜스페린 결합 단백질, 뉴모리신, 폐렴구균 표면 단백질 A(PspA), 폐렴구균 어드헤신(adhesin) 단백질(PsaA), 그룹 A 또는 그룹 B 연쇄구균 유래의 C5a 펩티다제, 또는 헤모필러스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*) 단백질 D도 또한 사용될 수 있다. 오브알부민, 키홀 림펫 헤모시아닌(KLH), 소 혈청 알부민(BSA) 또는 투베르쿨린의 정제된 단백질 유도체(PPD)와 같은 다른 단백질도 또한 운반체 단백질로서 사용될 수 있다. CRM₁₇₃, CRM₂₂₈, CRM₄₅와 같은 디프테리아 독소의 변이체도 운반체 단백질로 사용할 수 있다.
- [20] 운반체 단백질과 반응할 수 있는 당류를 제조하기 위하여, 정제된 다당류는 화학적으로 활성화시킨다. 일단 활성화되면, 각 협막 다당류를 운반체 단백질에

하나씩 접합시켜서 당접합체(glycoconjugate)를 형성한다. 일 구현예에서, 각 헵막 다당류를 동일한 운반체 단백질에 접합시킨다. 다당류의 화학적 활성화 및 이어지는 운반체 단백질에의 접합은 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다(미국특허 제4,673,574호, 제4,902,506호 등). 과요오드산염(과요오드산 나트륨, 과요오드산 칼륨, 또는 과요오드산 포함)과 같은 산화제로 헵막 다당류의 말단 히드록실 기를 알데히드 기로 산화시킨다. 화학적 활성화 반응은 불규칙한 서로 인접한 히드록실 기의 산화적 분해를 일으킨다. 접합은 환원적 아미노화에 의해서 달성된다. 예를 들면, 소듐 시아노보로하이드라이드와 같은 환원제와 함께 활성화된 헵막 다당류와 운반체 단백질을 반응시킨다. 미반응의 알데히드 기는 강력한 산화제를 첨가하여 제거할 수 있다.

- [21] 얻어진 다당류-단백질 접합체는 다양한 방법에 의해 정제할 수 있다(즉, 다당류-단백질 접합체의 양을 풍부화할 수 있다). 이들 방법의 예는 농축/투석여과 공정, 칼럼 크로마토그래피 및 다층 여과를 포함한다. 정제된 다당류-단백질 접합체들은 각각을 혼합하여 본 발명의 면역원성 조성물로 제제화하고, 이를 백신으로서 사용할 수 있다. 당업계에서 인정된 방법을 사용하여 본 발명의 면역원성 조성물의 제제화를 수행할 수 있다. 예를 들면, 15개의 개개의 폐렴구균 접합체를 생리학적으로 허용되는 비히클과 함께 제형화하여 조성물을 제조할 수 있다. 이러한 비히클의 예에는, 물, 완충 식염수, 폴리올(예: 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜) 및 텍스트로소 용액이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [22] 일 구현예에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하나 이상의 애주번트를 포함한다. 본원에서 정의되는 "애주번트"는 본 발명의 면역원성 조성물의 면역원성을 증가시키는데 사용되는 물질이다. 따라서, 애주번트는 종종 면역 반응을 부스터하기 위하여 제공되고 당업자에게 잘 알려져 있다. 조성물의 유효성을 증가시키기에 적당한 애주번트는 다음을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다:
- [23] (1) 알루미늄 염(명반) (예: 알루미늄 하이드록사이드, 알루미늄 포스페이트, 알루미늄 설페이트 등);
- [24] (2) 수중유형 에멀전 제형(무라밀 펩티드(아래에서 정의됨) 또는 세균 세포벽 성분과 같은 다른 특정한 면역 자극제를 함유하거나 함유하지 않음), 예를 들면 (a) MF59 (제WO90/14837호): 5% 스쿠알렌(Squalene), 0.5% 트윈(Tween) 80 및 0.5% 스팬(Span) 85를 함유하며(임의로 다양한 양의 MTP-PE(필요하지는 않지만, 아래를 참조)를 함유함), Model 110Y 마이크로플루이다이저(microfluidizer)[Microfluidics, Newton, MA]와 같은 마이크로플루이다이저를 사용하여 서브마이크론 입자로 제형화됨, (b) SAF: 10% 스쿠알렌, 0.4% 트윈 80, 5% 플루로닉(pluronic)-블럭 중합체 L121 및 thr-MDP(아래를 참조)를 함유하며, 서브마이크론 에멀전으로 미세유동화(microfluidization)되거나, 와동시켜 큰 입자 크기의 에멀전을

- 형성시킴, 및 (c) 리비(Ribi)TM 애주번트 시스템(RAS) [Corixa, Hamilton, MT]: 2% 스쿠알렌, 0.2% 트윈 80 및, 미국특허 제4,912,094호에 기술된 3-O-탈아실화된 모노포스포릴 리피드 A(MPLTM)[Corixa], 트레할로스 디미콜레이트(TDM) 및 세포벽 골격(CWS)으로 이루어진 그룹으로부터의 하나 이상의 세균 세포벽 성분, 바람직하게는 MPL + CWS (디톡스(Detox)TM)를 함유함;
- [25] (3) 퀴일 에이(Quil A) 또는 스티물론(STIMULON)TM QS-21[Antigenics, Framingham, MA](미국특허 제5,057,540호)과 같은 사포닌 애주번트가 사용되거나 이로부터 생성된 입자(예: ISCOM(면역자극 복합체));
- [26] (4) 세균 지질다당류, 합성 리피드 A 동족체 (예: 아미노알킬 글루코사민 포스페이트 화합물(AGP)), 또는 이의 유도체 또는 동족체 [이는 Corixa로부터 구입할 수 있고, 미국특허 제6,113,918호에 기술되어 있음; 한가지 이러한 AGP는 2-[(R)-3-테트라데카노일옥시테트라데카노일아미노]에틸 2-데옥시-4-O-포스포노-3-O-[(R)-3-테트라데카노일옥시테트라데카노일]-2-[(R)-3-테트라데카노일옥시테트라데카노일아미노]-b-D-글루코피라노시드이고, 이는 또한 529로도 알려져 있으며(이전에는 RC529로 알려짐), 이는 수성형 또는 안정적인 에멀전으로서 제형화됨],
- [27] (5) 합성 폴리뉴클레오타이드 (예: CpG 모티프를 함유하는 올리고뉴클레오타이드(미국특허 제6,207,646호));
- [28] (6) 사이토카인, 예를 들어, 인터루킨(예: IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL 12, IL-15, IL-18 등), 인터페론(예: 감마 인터페론), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 대식세포 콜로니 자극 인자(MCSF), 종양 괴사 인자(TNF), 공동자극 분자 B7-1 및 B7-2 등;
- [29] (7) 야생형 콜레라 독소(CT) 또는, 예를 들면, 제WO 00/18434호에 따라 아미노산 29번 위치에 있는 글루탐산이 다른 아미노산, 바람직하게는 히스티딘으로 치환된, 돌연변이형 콜레라 독소 (제WO 02/098368호 및 제WO 02/098369호), 백일해 독소(PT), 또는 이-콜라이 열-불안정성 독소(LT), 특히 LT-K63, LT-R72, CT-S109, PT-K9/G129(제WO 93/13302호 및 제WO 92/19265호)와 같은 세균 ADP-리보실화 독소의 무독화된 돌연변이체; 및
- [30] (8) Complement component C3d의 trimer와 같은 보체.
- [31] 무라밀 펩티드에는 N-아세틸-무라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민(thr-MDP), N-아세틸-노르무라밀-L-알라닌-2-(1'-2' 디팔미토일-sn-글리세로-3-하이드록시포스포릴옥시)-에틸아민 (MTP-PE) 등이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [32] 특정 구현예에서, 알루미늄 염이 애주번트로서 사용된다. 알루미늄 염 애주번트는 알루미늄-침전 백신(alum-precipitated vaccine)이거나 알루미늄-흡착 백신(alum-adsorbed vaccine)일 수 있다. 알루미늄 염에는 수화된 알루미늄, 알루미늄 수화물, 알루미늄 3수화물(ATH), 알루미늄 수화물, 알루미늄 3수화물, 알하이드로겔, Superfos, 암포젤, 수산화알루미늄(III), 알루미늄

히드록시포스페이트 설페이트(Aluminum Phosphate Adjuvant(APA)), 무정형 알루미늄 등이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. APA는 알루미늄 히드록시포스페이트의 현탁액이다. 염화알루미늄과 인산나트륨을 1:1의 비율로 혼합하면 알루미늄 히드록시포스페이트 설페이트가 침전된다. High shear mixer를 이용하여 침전물의 크기가 2~8 μm 이 되도록 한 다음 생리식염수로 투석하고 멸균하여 제조한다. 일 구현예에서, 상업적으로 이용가능한 $\text{Al}(\text{OH})_3$ (예를 들어 알하이드로겔 또는 Superfos)를 사용하여 단백질을 흡착한다. 수산화알루미늄 1 mg당 50~200g의 단백질이 흡착될 수 있으며 이 비율은 단백질의 pI와 용매의 pH에 의존적이다. 낮은 pI의 단백질은 높은 pI를 가진 단백질에 비해 강하게 결합한다. 알루미늄 염은 2~3주간 서서히 항원을 방출하는 항원 저장소를 형성하여 비특이적으로 대식세포, 보체, 선천성 면역 메커니즘을 활성화시킨다.

- [33] 본 발명은 상기 면역원성 조성물의 면역학적 유효량을 포함하는, 스트렙토코커스 뉴모니아 협막 다당류 접합체에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 약학 조성물(예를 들어, 백신 제제)을 제공한다.
- [34] 본 발명에 따른 백신 제제는, 전신 또는 점막 경로로 투여함으로써, 폐렴구균에 감염되기 쉬운 사람을 보호 또는 치료하는데 사용될 수 있다. 본원에서 정의되는 "유효량"이란 스트렙토코커스 뉴모니아에 감염될 확률 또는 감염의 심각성을 상당히 감소시킬 수 있을 정도의 항체를 유발하는데 필요한 투여량을 말한다. 투여에는 근육내, 복강내, 피내 또는 피하 경로를 통한 주사; 또는 구강/소화관, 기도관 또는 비뇨생식관으로의 점막 투여가 포함될 수 있다. 일 구현예에서, 폐렴 또는 중이염의 치료를 위하여 비내 투여가 사용되며, 이는 폐렴구균의 비인두 보균을 보다 효과적으로 예방하여, 초기 단계에서 감염을 약화시킬 수 있기 때문이다. 각 백신 용량에서 상기 접합체의 양은, 상당한 부작용 없이 면역보호 반응을 유도하는 양으로 선택된다. 이러한 양은 폐렴구균의 혈청형에 따라 달라질 수 있다. 일반적으로, 각 용량은 0.1 내지 100 μg , 바람직하게는 0.1 내지 10 μg , 더욱 바람직하게는 1 내지 5 μg 의 다당류를 포함할 것이다. 특정 백신에 대한 성분의 최적량은 피험자에서 적당한 면역 반응의 관찰을 포함하는 표준 연구에 의해서 확인될 수 있다. 예를 들어 동물실험 결과를 외삽하여 사람을 대상으로 한 백신접종 용량을 결정할 수 있다. 또한 경험적으로 용량을 결정할 수 있다.
- [35] 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명의 백신 조성물은 각각 CRM₁₉₇에 접합된 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9N, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F의 폐렴구균 협막 다당류의 멸균 액체 제형이다. 각 0.5mL 용량에, 2 μg 의 각 당류, 단 6B는 4 μg ; 약 34 μg CRM₁₉₇ 운반체 단백질; 0.125 mg의 알루미늄 원소(0.5 mg 알루미늄 포스페이트) 애주번트; 및 부형제로서 염화나트륨 및 나트륨 석시네이트 완충액이 함유되도록 제제화될 수 있다. 상기 액체는 보존제 없이 단일 용량 주사기 속에 충전될 수 있다. 진탕하고 나면, 즉시 근육 내 투여할 수 있는 균질한

백색 현탁액의 백신이 된다.

- [36] 본 발명의 다른 구현예에서, 본 발명의 조성물은 단회 접종으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 백신 조성물은 적당한 간격으로 2회, 3회, 4회 또는 그 이상 투여될 수 있으며, 예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개월 간격으로, 혹은 이것의 어떠한 조합에 따라 투여될 수 있다. 면역접종 계획은 프레브나에 대해 명시된 것을 따를 수 있다. 예를 들면, 에스.뉴모니아에 의해서 발생하는 침습성 질환에 대해 유아 및 갓난아이를 대상으로 한 정기접종 계획은 생후 2, 4, 6 및 12 내지 15개월이다. 따라서 당해 양태에서, 조성물을 생후 2, 4, 6 및 12 내지 15개월에 4회 접종한다.
- [37] 본 발명의 조성물은 또한 스트렙토코커스 뉴모니아 유래의 하나 이상의 단백질을 포함할 수 있다. 포함시키기에 적당한 스트렙토코커스 뉴모니아 단백질의 예에는 제WO 02/053761호에 기술된 단백질뿐만 아니라, 제WO 02/083855호에서 동정된 단백질도 포함된다.
- [38] 본 발명의 조성물은 당업자에게 공지된 하나 이상의 투여경로, 비경구, 경피 또는 점막, 비내, 근육내, 복강내, 피내, 정맥 또는 피하 경로 등으로 피험자에게 투여될 수 있으며, 그에 따라 제제화할 수 있다. 일 구현예에서, 본 발명의 조성물은 액상제제로서 근육내, 복강내, 표피, 정맥, 동맥 또는 피하 경로를 통한 주사; 또는 호흡기 점막 주사로 투여할 수 있다. 주사용 액상 제제는 용액 또는 그와 같은 종류를 포함한다.
- [39] 본 발명의 조성물은 단회 투여 용량 바이얼, 다회 투여 용량 바이얼 또는 프리필드시린지 형태로 제제화할 수 있다. 액상 제제에 사용되는 약제학적으로 허용되는 담체에는 수성 또는 비수성 용매, 현탁액, 에멀전, 오일이 있다. 비수성 용매의 예로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 에틸 올레이트가 있다. 수성 담체는 물, 알코올/수성 용매, 에멀전 또는 현탁액, 생리식염수, 버퍼 용액을 포함한다. 오일의 예로는 식물성 또는 동물성 오일, 피넛 오일, 대두유, 올리브 오일, 해바라기 오일, 간유, 수산유지(marine oil)와 같은 합성 오일, 우유나 달걀에서 얻은 지질이 있다. 약제학적 조성물은 등장성, 고장성 또는 저장성일 수 있다. 하지만 infusion이나 주사로 투여되는 약제학적 조성물은 기본적으로 등장성이 바람직하다. 따라서 등장성이나 고장성이 조성물의 저장에 유리할 수 있다. 약제학적 조성물이 고장성일 경우, 투여 전에 등장성이 되도록 희석할 수 있다. 등장화제는 염과 같은 이온성 등장화제이거나 탄수화물과 같은 비이온성 등장화제일 수 있다. 이온성 등장화제에는 염화나트륨, 염화칼슘, 염화칼륨, 염화마그네슘 등이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 비이온성 등장화제에는 솔비톨, 글리세롤 등이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 바람직하게는 최소한 한 가지의, 약제학적으로 허용되는 완충액을 포함한다. 예를 들면, 약제학적 조성물이 주입제(infusion)나 주사제일 경우 pH 4 내지 10, 예를 들어, 5 내지 9, 6 내지 8에서 완충능을 가지는 완충액으로 구성되는 것이 바람직하다. 완충액은 TRIS, 아세테이트, 글루타메이트, 락테이트, 말리에이트,

타트레이트, 포스페이트, 시트레이트, 카보네이트, 글리시네이트, 히스티딘, 글리신, 석시네이트, 트리에탄올아민 완충액으로 구성된 group에서 선택할 수 있다.

- [40] 특히 약제학적 조성물이 비경구 투여를 목적으로 할 경우, 완충액은 USP에 적합한 완충액 중에서 선택할 수 있다. 예를 들면, 완충액은 아세트산, 벤조산, 글루콘산, 글리세르산, 젖산과 같은 일염기산; 아코니트산, 아디프산(adipic), 아스코르빈산, 탄산(carbonic), 글루타민산, 말산, 석신산, 주석산과 같은 이염기산; 시트르산, 인산과 같은 다염기산; 암모니아, 다이에탄올아민, 글리신, 트리에탄올아민, TRIS와 같은 염기로 구성된 group에서 선택할 수 있다. 비경구적 투여 시 비히클(피하, 정맥내, 동맥내, 근육내 주사)에는 염화나트륨 용액, Ringer's 덱스트로스 용액, 덱스트로스과 염화나트륨, lactated Ringer's 용액 및 불휘발성유(fixed oils)가 포함된다. 정맥내 투여용 비히클에는 Ringer's dextrose 용액 또는 이와 같은 용액을 기본으로 한 수액과 영양 보충제와 전해질 보충제가 포함된다. 계면활성제와 약제학적으로 적합한 에주번트가 첨가되거나 혹은 첨가되지 않은 물과 오일 같은 멸균된 액체가 그 예이다. 일반적으로, 물, 생리식염수, 덱스트로스 용액, 관련 당 용액, 프로필렌 글리콜이나 폴리에틸렌 글리콜과 같은 글리콜, 폴리소르베이트 80이 특히 주사액에 적합하다. 오일의 예로는 동물성 및 식물성 오일, 피넛 오일, 대두유, 올리브 오일, 해바라기 오일, 간유, 수산유지(marine oil)과 같은 합성 오일, 우유나 달걀에서 얻은 지질이 있다

- [41] 본 발명의 제제(formulation)은 계면활성제를 포함할 수 있다. 바람직하게는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르(보통 Tweens이라고 불리는) 중 특히 폴리소르베이트 20과 폴리소르베이트 80; 에틸렌 옥시드(EO), 프로필렌 옥시드(PO), 부틸렌 옥시드(BO)의 공중합체(예: DOWFAX™); 에톡시(oxy-1,2-ethanediyl) 그룹의 반복 수가 서로 다른 옥스톡시놀류, 특히 옥스톡시놀-9(Triton-100); 에틸페녹시폴리에톡시에탄올(IGEPAL CA-630/NP-40); 레시틴과 같은 인지질; Tergitol™ NP 시리즈와 같은 노닐페놀 에톡시레이트; 라우릴, 세틸, 스테아릴, 올레일 알코올에서 유도된 폴리옥시에틸렌 지방산 에테르(Brij 계면활성제), 특히 트리에틸렌글리콜 모노라우릴 에테르(Brij 30); SPANs으로 알려진 소르비탄 에테르, 특히 소르비탄 트리올레이트(Span 85)와 소르비탄 모노라우레이트와 같은 계면활성제를 포함하지만, 이에 국한되는 것은 아니다. Tween 80는 에멀전에 포함되기에 바람직하다.

- [42] Tween 80/Span 85와 같은 계면활성제의 혼합물도 사용할 수 있다. Tween 80과 같은 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 Triton X-100과 같은 옥토시놀의 조합도 적합하다. Laureth 9과 Tween, 그리고 혹은 옥토시놀의 조합도 유용하다. 바람직하게는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르(예: Tween 80)를 0.01% 내지 1%(w/v), 특히 0.1%; 옥틸페녹시 폴리옥시에탄올 또는 노닐페녹시 폴리옥시에탄올(예: Triton X-100)은 0.001% 내지 0.1%, 특히 0.005% 내지 0.02%;

폴리옥시에틸렌 에테르(예: laureth 9)는 0.1% 내지 20%, 가급적 0.1% 내지 10%, 특히 0.1% 내지 1% 또는 약 0.5%를 포함한다. 일 구현예에서, 약제학적 조성물은 방출조절시스템에 의해 전달된다. 예를 들면, 정맥내주입, 경피접포(transdermal patch), 리포솜, 또는 다른 경로로 투여될 수 있다. 한가지 양태에서, 마이크로스피어 또는 임플란트와 같은 고분자 물질이 사용된다.

[43] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나, 하기 실시예는 본 발명의 설명을 위한 것이며, 이들 실시예에 의해 본 발명이 제한되는 것으로 해석되어서는 안된다.

[44]

[45] 실시예 1. 에스.뉴모니아 협막 다당류의 제조

[46] 에스.뉴모니아 배양과 협막 다당류의 정제는 당업자에게 공지된 방법에 의해서 수행하였다. 에스.뉴모니아 각 혈청형은 수탁기관[American Type Culture Collection (ATCC)]로부터 입수할 수 있다. 협막과 비운동성, 그람 양성, lancet-shaped 쌍구균, 혈액한천배지에서 알파용혈현상으로 에스.뉴모니아를 동정하였다. 혈청형은 특정한 항혈청을 이용한 Quellung test를 바탕으로 확인하였다(미국특허 제5,847,112호).

[47] 세포은행의 제조

[48] 균주를 증대시키고 동물성 기원의 성분을 제거하기 위하여 원종균(seed stock)을 여러 세대 배양하였다(F1, F2 및 F3 세대). 원종균을 추가적으로 두 세대 더 배양하였다. 추가적인 제1세대는 F3 바이알로부터 배양하였고, 후속 세대는 추가적인 제1세대의 바이알로부터 배양하였다. 냉동보존제로서 합성 글리세롤과 함께 종균 바이알을 냉동보관하였다(-70°C 이하). 세포 은행 제조를 위하여, 모든 배양물을 대두-기제 배지에서 증식시켰다. 냉동시키기 전에, 원심분리에 의해서 세포를 농축시키고, 사용된 배지를 제거한 후, 냉동보존제(예: 합성 글리세롤)를 함유하는 새로운 배지에 세포 펠렛을 재현탁시켰다.

[49] 접종

[50] 제조용 세포 은행 유래의 배양물을 사용하여 대두-기제 배지를 함유하는 종균병에 접종하였다. 종균병을 사용하여 대두-기제 배지를 함유하는 종균 발효기에 접종하였다.

[51] 종균배양

[52] 온도와 pH를 조절하면서 종균발효기에서 발효하였다. 목표 흡광도에 도달한 후에, 대두-기제 배지를 함유하는 생산 발효기에 접종하였다.

[53] 생산배양

[54] 생산 배양은 발효의 마지막 단계이다. 온도와 pH 및 교반 속도를 조절하였다.

[55] 불활성화

[56] 성장이 중단된 후 불활성화제를 첨가하여 발효를 종결시켰다. 불활성화 후 발효기의 내용물을 냉각시키고 pH를 조절하였다.

[57] 정제

[58] 배양물 브로스를 원심분리하고 여과하여 세균 세포 잔해를 제거하였다. 수회의 농축/투석여과 작업, 침전/용출 및 다중여과를 사용하여 불순물을 제거하고 헤파막 다당류를 정제하였다.

[59]

[60] 실시예 2. 에스.뉴모니아 헤파막 다당류와 CRM₁₉₇의 접합체 제조

[61] 상이한 혈청형 다당류는 상이한 경로를 따라 활성화시킨 후 CRM₁₉₇에 접합시켰다. 활성화 공정은 목표 분자량이 되도록 헤파막 다당류의 크기를 줄이고, 화학적으로 활성화하며, 한외여과를 통한 비피 교환을 포함한다. 정제 CRM₁₉₇은 활성화된 헤파막 다당류와 접합되며, 접합체는 한외여과를 이용하여 정제하고 최종적으로 0.22 μ m 필터로 여과한다. pH, 온도, 농도 및 시간 등의 공정 파라미터는 하기에 기재된 바와 같다.

[62] (1) 활성화 공정

[63] Step 1

[64] 최종 농도 범위가 1.0 내지 2.0mg/mL이 되도록 각각의 혈청형 다당류를 주사용수, 아세트산나트륨 및 인산나트륨에 희석시켰다. 혈청형 1의 경우, 수산화나트륨(0.05M 최종 염기 농도)을 첨가하고 50°C±2°C에서 용액을 항온처리하였다. 21 내지 25°C로 냉각시키고 6.0±0.1의 목표 pH로 염산을 첨가함으로써 가수분해를 중지시켰다. 혈청형 3의 경우, 염산(0.01M 최종 산 농도)을 첨가하고 50°C±2°C에서 용액을 항온처리하였다. 21 내지 25°C로 냉각시키고 6.0±0.1의 목표 pH로 1M 인산나트륨을 첨가함으로써 가수분해를 중지시켰다. 혈청형 4의 경우, 염산(0.1M 최종 산 농도)을 첨가하고 45°C±2°C에서 용액을 항온처리하였다. 21 내지 25°C로 냉각시키고 6.0±0.1의 목표 pH로 1M 인산나트륨을 첨가함으로써 가수분해를 중지시켰다. 혈청형 6A의 경우, 빙초산(0.2M 최종 산 농도)을 첨가하고 60°C±2°C에서 용액을 항온처리하였다. 이어서, 온도를 21 내지 25°C로 낮추고 6.0±0.1의 목표 pH가 되도록 1M 수산화나트륨을 첨가하였다. 혈청형 14, 18C의 경우, 빙초산(0.2M 최종 산 농도)을 첨가하고 94°C±2°C에서 용액을 항온처리하였다. 이어서, 온도를 21 내지 25°C로 낮추고 6.0±0.1의 목표 pH가 되도록 1M 인산나트륨을 첨가하였다.

[65] Step 2: 과요오드산염 반응

[66] 페렴구균 당류 활성화에 필요한 과요오드산나트륨 몰당량을 총 당류 함량을 사용하여 측정하였다. 완전히 혼합하면서, 모든 혈청형에 대해 21 내지 25°C에서 16 내지 20시간 동안 산화 반응을 진행시켰다. 단 혈청형 1, 7F, 19F의 경우, 온도를 10°C 이하로 하였다.

[67] Step 3: 한외여과

[68] 산화된 당류를 100 kDa MWCO 한외여과 필터(혈청형 1의 경우 30kDa, 혈청형 18C의 경우 5kDa 한외여과 필터)에 주사용수로 농축 및 투석여과 하였다. 혈청형 1의 경우 0.9% 염화나트륨 용액으로, 혈청형 7F의 경우 0.01M 아세트산나트륨

완충액(pH 4.5)으로, 그리고 혈청형 19F의 경우 0.01M 인산나트륨 완충액(pH 6.0)으로 투석여과 하였다. 투과액을 폐기하고 잔류액을 0.22 μ m 필터를 통해서 여과시켰다.

[69] Step 4: 동결건조

[70] 혈청형 3, 4, 5, 9N, 9V 및 14의 경우, 농축된 당류를 CRM₁₉₇ 운반체 단백질과 혼합하여, 유리병 속에 충전하고, 동결건조시킨 다음, -25°C±5°C에서 보관하였다. 혈청형 2, 6A, 6B, 7F, 19A, 19F 및 23F의 경우, 5%±3% 슈크로스 농도에 도달하도록 계산된 특정량의 슈크로스를 첨가하였다. 혈청형 1, 18C는 슈크로스 첨가를 요구하지 않았다. 농축된 당류를 유리병 속에 충전하고 동결건조시킨 다음, -25°C±5°C에서 보관하였다.

[71] (2) 접합 공정

[72] 혈청형 1, 3, 4, 5, 9N, 9V, 14 및 18C의 경우 수성 접합을 사용하고, 혈청형 2, 6A, 6B, 7F, 19A, 19F 및 23F의 경우 DMSO 접합을 사용하였다.

[73] Step 1: 용해

[74] 수성접합

[75] 혈청형 3, 4, 5, 9N, 9V 및 14의 경우, 동결건조된 활성화된 당류-CRM₁₉₇ 혼합물을 해동시키고 실온에서 평형화시켰다. 이어서, 동결건조된 활성화된 당류-CRM₁₉₇을 혈청형에 따라 정해진 비율로 0.1M 인산나트륨 완충액에 재구성시켰다. 혈청형 1, 18C의 경우, 동결건조된 당류를 CRM₁₉₇ 용액 1L 당 인산나트륨 0.11L의 통상적 비율로 1M 2염기성 인산나트륨 중의 CRM₁₉₇ 용액에 재구성시켰다.

[76] DMSO 접합

[77] 동결건조된 활성화된 당류 혈청형 2, 6A, 6B, 7F, 19A, 19F, 23F 및 동결건조된 CRM₁₉₇ 운반체 단백질을 실온에서 평형화시키고 DMSO에 재구성시켰다.

[78] Step 2: 접합 반응

[79] 수성접합

[80] 혈청형 1, 3, 4, 5, 9N, 9V, 14 및 18C의 경우, 당류 1몰 당 나트륨 시아노보로하이드라이드 1.0 내지 1.2몰이 되도록 나트륨 시아노보로하이드라이드 용액(100mg/mL)을 첨가함으로써 접합 반응을 개시시켰다. 반응 혼합물을 23°C 내지 37°C에서 44 내지 96시간 동안 항온처리하였다. 온도 및 반응시간은 혈청형에 따라 다르게 조절하였다. 이어서, 온도를 23°C±2°C로 낮추고 염화나트륨 0.9%를 반응기에 첨가하였다. 당류 1몰 당 나트륨 보로하이드라이드 1.8 내지 2.2 몰당량이 되도록 나트륨 보로하이드라이드 용액(100mg/mL)을 첨가하고 혼합물을 23°C±2°C에서 3 내지 6시간 동안 항온처리하였다. 이 과정을 통해서, 당류에 존재하는 반응하지 않은 임의의 알데히드를 환원시켰다. 염화나트륨 0.9%를 사용하여 혼합물을 희석시키고 희석된 접합 혼합물을 1.2 μ m 예비필터를 사용하여 여과시켰다.

[81] DMSO 접합

[82] 혈청형 2, 6A, 6B, 7F, 19A, 19F 및 23F의 경우, 활성화된 당류 및 CRM₁₉₇ 운반체 단백질을 0.8 내지 1.25g 당류/g CRM₁₉₇ 범위의 비로 혼합하였다. 활성화된 당류 1몰에 대해 나트륨 시아노보로하이드라이드 0.8 내지 1.2 몰당량의 비로 나트륨 시아노보로하이드라이드 용액(100mg/mL)을 첨가함으로써 접합 반응을 개시시켰다. 1%(v/v)의 목표 농도로 주사용수를 반응 혼합물에 첨가하고 혼합물을 23°C±2°C에서 11 내지 27시간 항온처리하였다. 100mg/mL의 나트륨 보로하이드라이드 용액(활성화된 당류 1몰 당 통상적으로 나트륨 보로하이드라이드 1.8 내지 2.2 몰당량) 및 주사용수(목표 농도 5% v/v)를 반응물에 첨가하고 혼합물을 23°C±2°C에서 3 내지 6시간 동안 항온처리하였다. 이 과정을 통해서, 당류에 존재하는 반응하지 않은 임의의 알데히드를 환원시켰다. 이어서, 반응 혼합물을 0.9% 염화나트륨으로 희석하고, 희석된 접합체 혼합물을 1.2 μ m 필터를 통해서 여과시켰다.

[83] 단계 3: 한외여과

[84] 희석된 접합 혼합물을 최소 20 용적의 0.9% 염화나트륨 또는 완충액을 사용하여 100 kDa MWCO 한외여과필터에 농축 및 투석여과시켰다. 투과액을 폐기하였다.

[85] 단계 4: 멸균 여과

[86] 100 kDa MWCO 투석여과 후의 잔류액을 0.22 μ m 필터를 통해서 여과시켰다. 여과된 산물에 대해 제조과정 중 제어(당류 함량, 유리 단백질, 유리 당류 및 잔여 시아나이드; DMSO 접합의 경우, 잔여 DMSO 추가)를 실시하였다. 여과시킨 잔류액에 대해 제조과정 중 제어를 실시하여 추가적인 농축, 투석여과 및/또는 희석이 필요한지의 여부를 결정하였다. 필요한 경우, 여과된 접합체를 최종 농도가 0.55g/L 미만인 되도록 0.9% 염화나트륨을 사용하여 희석시켰다. 이 단계에서 당류 함량, 단백질 함량 및 당류:단백질 비에 대한 유리 시험을 실시하였다. 접합체를 여과시키고(0.22 μ m) 유리 시험(외관, 유리 단백질, 유리 당류, 내독소, 분자 크기 결정, 잔여 시아나이드, 잔여 DMSO, 당류 동일성 및 CRM₁₉₇ 동일성)을 실시하였다. 최종 벌크 농축액을 2 내지 8°C에 냉장 보관하였다.

[87]

[88] 실시예 3. 다가 폐렴구균 접합체 백신의 제제화

[89] 배치 용적(batch volume) 및 벌크 당류 농도를 기준으로 하여 최종 벌크 농축액의 필요량을 계산하였다. 필요량의 0.85% 염화나트륨(생리 식염수), 폴리솔베이트 80 및 석시네이트 완충액을 미리 라벨링한 제제화 용기에 첨가한 후에, 벌크 농축액을 첨가하였다. 충분히 혼합하고 0.22 μ m 필터를 통해서 여과시켰다. 벌크 알루미늄 포스페이트의 첨가 중 및 후에 제제화된 벌크액을 서서히 혼합하였다. pH를 체크하고 필요한 경우에 조절하였다. 제제화된 벌크 제품을 2 내지 8°C에서 보관하였다. 얻어진 백신 조성물은 총 0.5 mL 중에 2 μ g의 각 당류, 단 6B는 4 μ g; 약 32 μ g의 CRM₁₉₇ 운반체 단백질; 0.125 mg의 알루미늄

원소(0.5 mg 알루미늄 포스페이트) 애주번트; 염화나트륨 약 4.25 mg;
석시네이트 완충액 약 295 μ g; 및 폴리솔베이트 80 약 100 μ g을 함유하였다.

[90]

[91] 실시예 4. 다가 폐렴구균 접합체 백신의 면역원성 평가

[92] 다가 폐렴구균 백신, 즉, 실시예 3에서 제조한 백신 조성물(SK-15)이 래빗에서 면역 반응을 유도하는 능력을 평가하기 위한 연구를 수행하였다. 이러한 면역원성을, 혈청 IgG 농도의 경우 항원-특이적 ELISA에 의해, 그리고 항체 기능의 경우 옵소노파고시토시스 분석(OPA)에 의해서 특성화시켰다. 제제화된 각 다당류의 계획된 사람 임상 용량(각 PS 2 μ g, 예외: 6B 4 μ g)을 사용하여 0주차 및 3주차에 뉴질랜드 화이트(New Zealand White) 래빗을 근육내로 면역접종시켰다. 접종 후 3주 간격으로 혈청을 채취하였다.

[93] 혈청형 특이적 IgG 농도 측정

[94] 각 혈청형에 대한 헵막 다당류(PnPs)를 500ng/well로 96 웰 플레이트에 코팅하였다. 각 개체 별로 동일한 양의 혈청을 취하여 같은 그룹끼리 혈청을 풀링(pooling)하였다. 혈청 풀(serum pool)을 Tween 20, C-PS 4 μ g/mL과 혈청형 22F 헵막 다당류(PnPs 22F) 4 μ g/mL가 포함된 항체 희석용 완충액으로 10-배로 순차 희석하고 30분간 상온에서 반응시켰다. 플레이트를 세척용 완충액으로 5회 세척하고, 미리 흡착 및 희석한 혈청 50 μ L를 코팅된 웰 플레이트에 넣은 후 실온에서 18시간 반응시켰다. 반응시킨 웰 플레이트를 같은 방법으로 세척하고, 각 웰에 고우트 항-래빗 Ig-G-알칼리 포스파타아제 컨쥬게이트(goat anti-Rabbit IgG-alkaline phosphatase conjugates) (1:50000)를 넣은 후 실온에서 2시간 반응시켰다. 플레이트를 위와 같은 방법으로 세척하고 각 웰에 기질 용액인 1mg/mL p-니트로페닐아민 완충액을 넣은 후 실온에서 2시간 반응시켰다. 50 μ L의 3M NaOH를 넣어 반응을 정지시킨 후 405nm와 690nm에서 흡광도를 측정하였다. 비교예로서 7가 백신(프레브나 7, 화이자), 13가 백신(프레브나 13, 화이자)를 사용하여 동일하게 평가하였으며, 그 결과는 도 1 내지 도 15와 같다.

[95] 기능적 면역원성 확인시험(OPA)

[96] OPA assay로 혈청을 분석하여 항체의 기능을 평가하였다. 각 개체 별로 동일한 양의 혈청을 취하여 같은 그룹끼리 혈청을 풀링(pooling)하고 10-배씩 희석하였다. 에스.뉴모니애를 각 혈청형별로 THY 배지에서 배양하고 1000CFU/10 μ L가 되도록 희석하였다. Opsonization buffer 200 μ L, 희석한 혈청 10 μ L, 희석한 에스.뉴모니애 10 μ L를 혼합하고 실온에서 1시간 반응시켰다. 미리 분화시킨 HL-60 세포와 보체의 혼합액을 첨가하고 CO₂ 배양기(37°C)에서 1시간 반응시켰다. 온도를 낮춰 식세포 작용을 중단시키고 반응액 5 μ L를 미리 30 내지 60분간 말린 한천 배지에 도말하였다. CO₂ 배양기(37°C)에서 12 내지 18시간 배양하고 균집의 개수를 세었다. OPA 역가는 50% 사멸이 관찰되는 희석배수로 표현하였다. 비교예로서 13가 백신(프레브나 13, 화이자)를 사용하여 동일하게 평가하였으며, 그 결과는 하기 표 1 내지 3과 같다.

[97] 표 1

[Table 1]

1차 접종 3주 후, 15가 혈청형에 대한 OPA 역가

혈청형	프레브나 13	SK-15	혈청형	프레브나 13	SK-15
1	1:16	1:4	9V	1:256	1:256
2	-	1:128	9N	-	1:512
3	No dilution	No dilution	14	1:256	1:256
4	1:128	1:128	18C	1:1024	1:1024
5	1:64	1:32	19A	1:512	1:256
6A	1:512	1:256	19F	1:256	1:128
6B	1:256	1:128	23F	1:256	1:256
7F	1:1024	1:1024	-	-	-

[98]

[99] 표 2

[Table 2]

2차 접종 3주 후, 15가 혈청형에 대한 OPA 역가

혈청형	프레브나13	SK-15	혈청형	프레브나 13	SK-15
1	1:64	1:64	9V	1:512	1:512
2	-	1:512	9N	-	1:2048
3	1:2	1:4	14	1:1024	1:1024
4	1:1024	1:1024	18C	1:1024	1:512
5	1:256	1:256	19A	1:1024	1:1024
6A	1:2048	1:2048	19F	1:1024	1:512
6B	1:2048	1:2048	23F	1:2048	1:2048
7F	1:2048	1:2048	-	-	-

[100]

[101] 표 3

[Table 3]

2차 접종 6주 후, 15가 혈청형에 대한 OPA 역가

혈청형	프레브나 13	SK-15	혈청형	프레브나 13	SK-15
1	1:64	1:64	9V	1:512	1:512
2	-	1:512	9N	-	1:2048
3	1:4	1:4	14	1:1024	1:1024
4	1:1024	1:1024	18C	1:2048	1:2048
5	1:512	1:512	19A	1:2048	1:1024
6A	1:2048	1:2048	19F	1:1024	1:512
6B	1:2048	1:1024	23F	1:2048	1:2048
7F	1:2048	1:2048	-	-	-

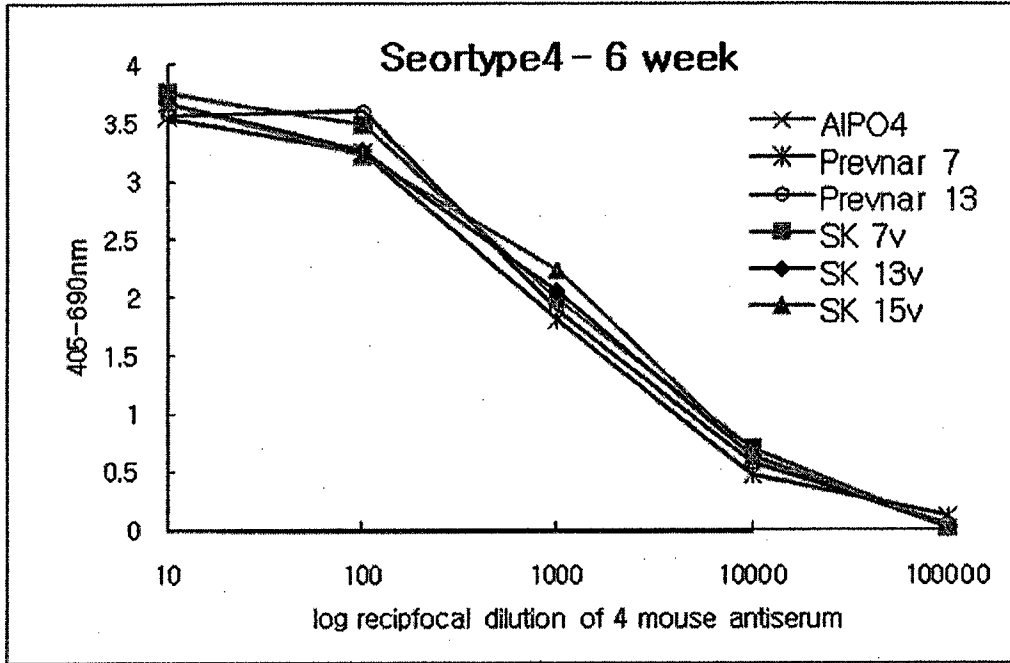
[102]

[103] 본 발명에 따른 백신 제제 및 비교예의 백신 제제에 대한 혈청형 특이적 면역 반응을 IgG ELISA 및 기능적 항체를 측정하는 보체-메개 OPA로 평가하였다. 도 1 내지 도 15에 ELISA를 이용한 IgG 측정 결과를 나타내었으며, 표 1 내지 표 3에 OPA를 이용한 기능성 면역원성 측정 결과를 표시하였하여, 각 처리 그룹 간에 면역 반응을 비교하였다. 상기 결과는 15가 폐렴구균 백신 다당류를 접합시키면 프레브나-13과 비교하여 동등하거나 우수한 혈청 IgG 역가와 기능적 항체 활성을 유도할 수 있다는 것을 나타낸다.

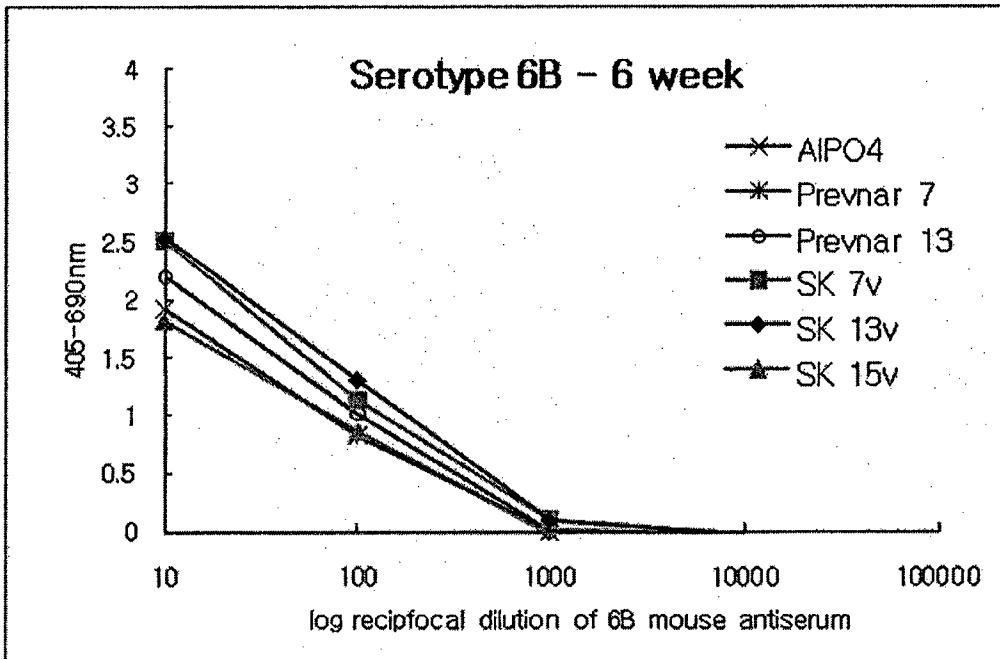
청구범위

- [청구항 1] 생리학적으로 허용되는 비히클과 함께 15개의 상이한 다당류-단백질 접합체를 포함하는 다가 면역원성 조성물로서, 각각의 접합체가 운반체 단백질에 접합된 상이한 혈청형의 스트렙토코커스 뉴모니에(*Streptococcus pneumoniae*) 유래의 헤파막 다당류(capsular polysaccharide)를 포함하며, 상기 헤파막 다당류가 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9N, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터 제조되는, 다가 면역원성 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 운반체 단백질이 CRM₁₉₇인 면역원성 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 에쥬번트를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 에쥬번트가 알루미늄계 에쥬번트인 면역원성 조성물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 에쥬번트가 알루미늄 포스페이트, 알루미늄 설페이트 및 알루미늄 하이드록사이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역원성 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 에쥬번트가 알루미늄 포스페이트인 면역원성 조성물.
- [청구항 7] 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 면역원성 조성물의 면역학적 유효량을 포함하는, 스트렙토코커스 뉴모니에 헤파막 다당류 접합체에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 약학 조성물.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 면역원성 조성물이 2 μ g의 각 당류, 단 6B는 4 μ g; 약 34 μ g의 CRM₁₉₇ 운반체 단백질; 0.125 mg의 알루미늄 원소(0.5 mg의 알루미늄 포스페이트) 에쥬번트; 및 부형제로서 염화나트륨 및 나트륨 석시네이트 완충액을 함유하도록 제제화된 단일 0.5 mL 용량인 약학 조성물.

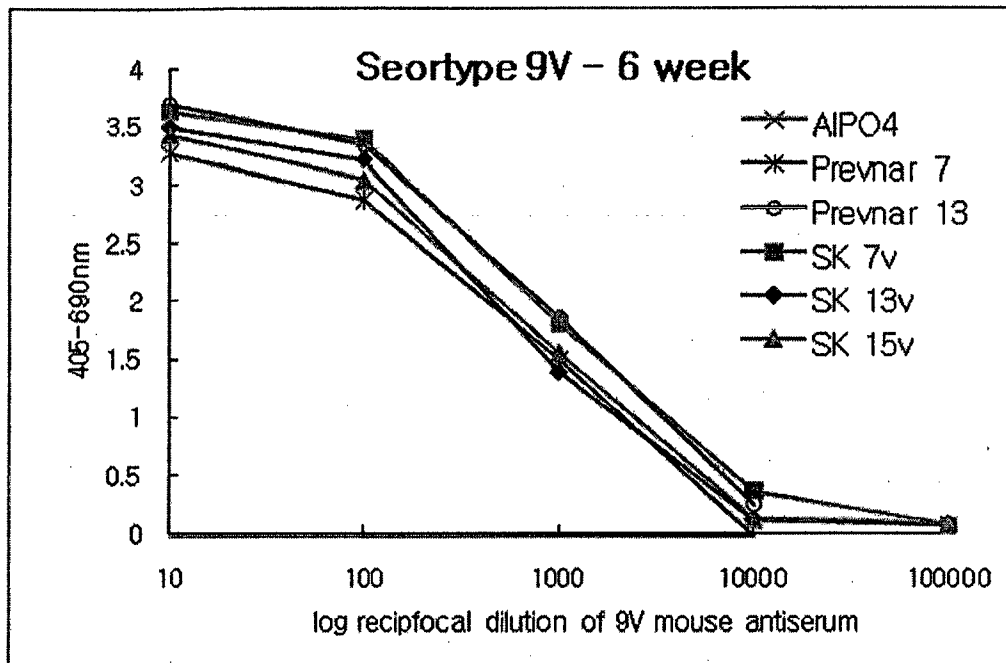
[Fig. 1]



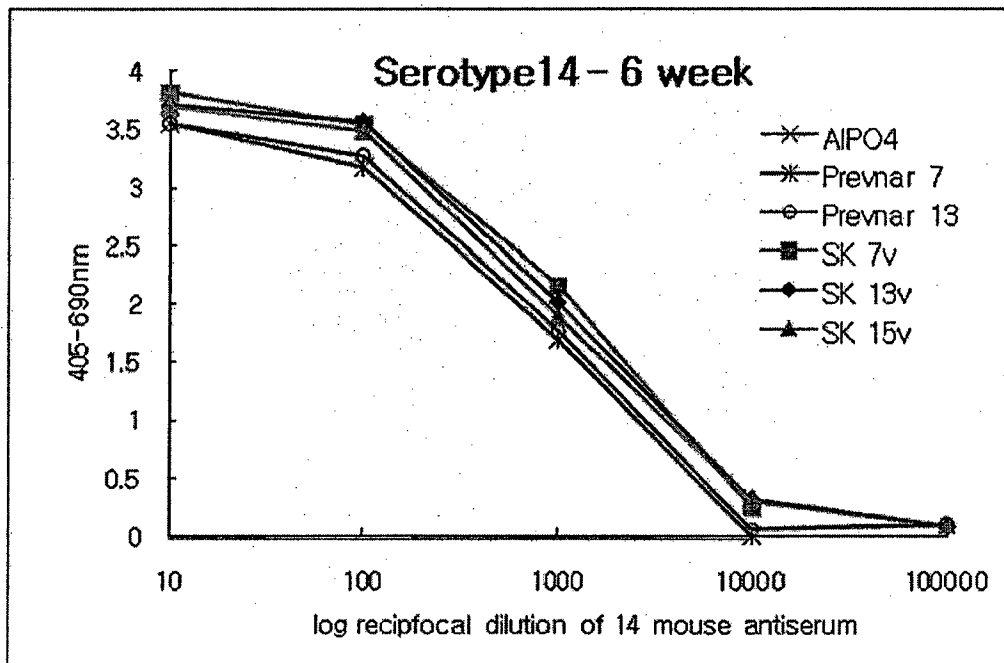
[Fig. 2]



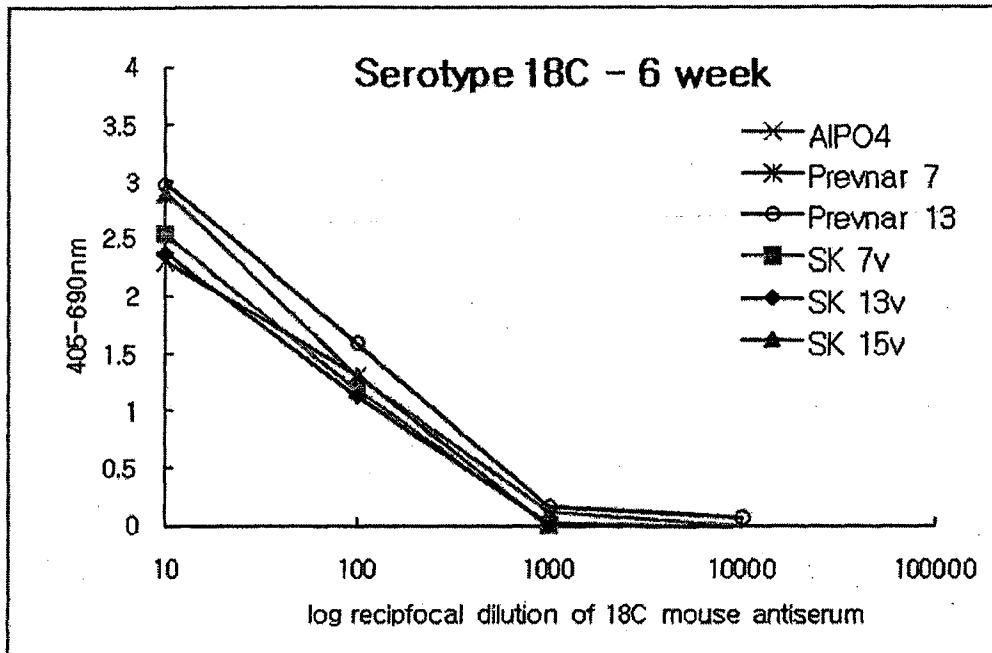
[Fig. 3]



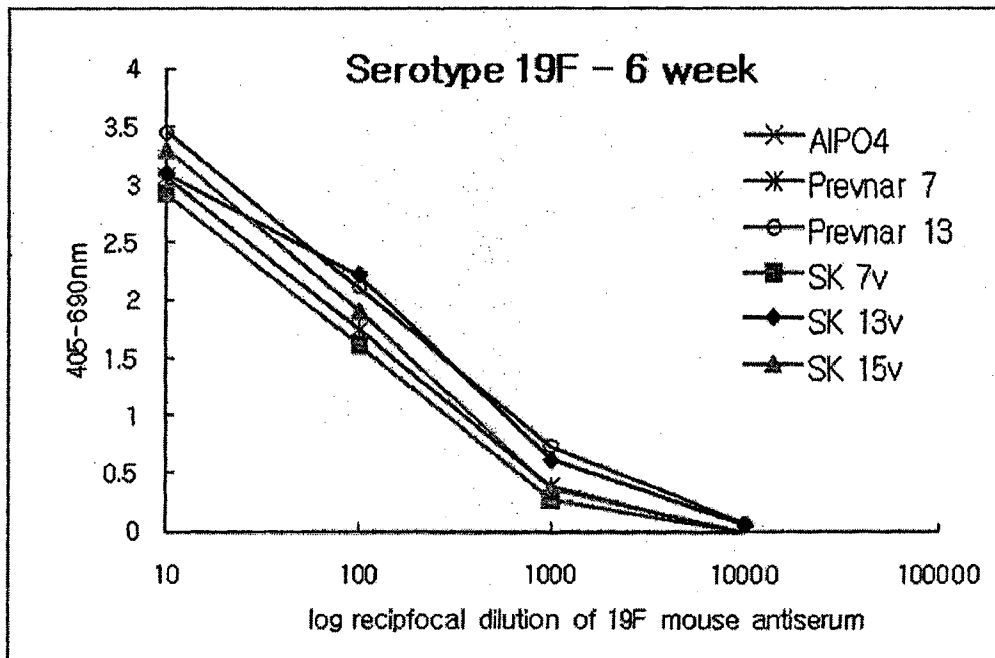
[Fig. 4]



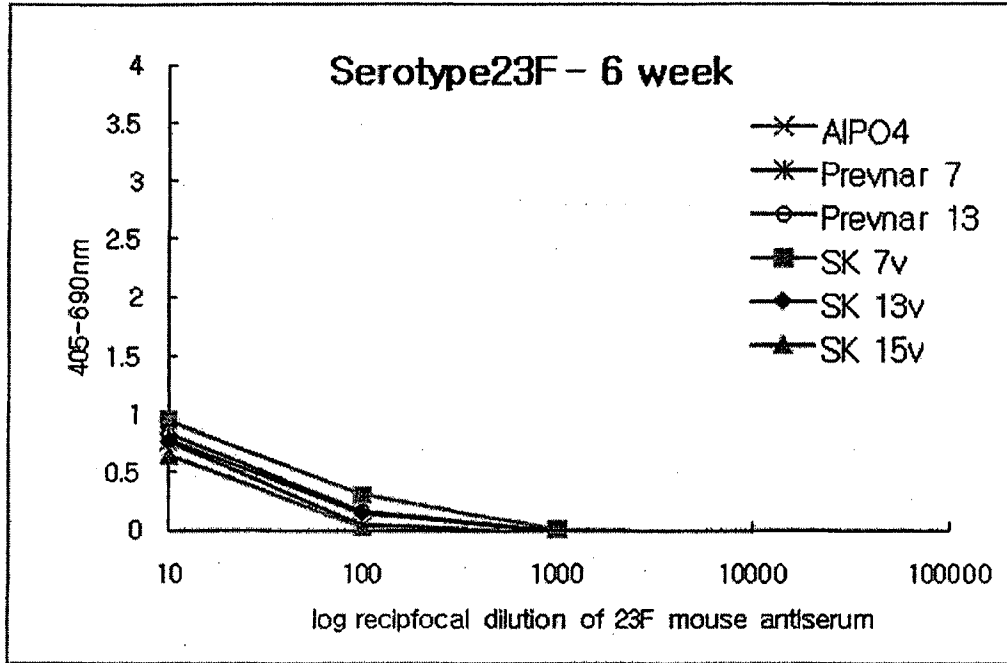
[Fig. 5]



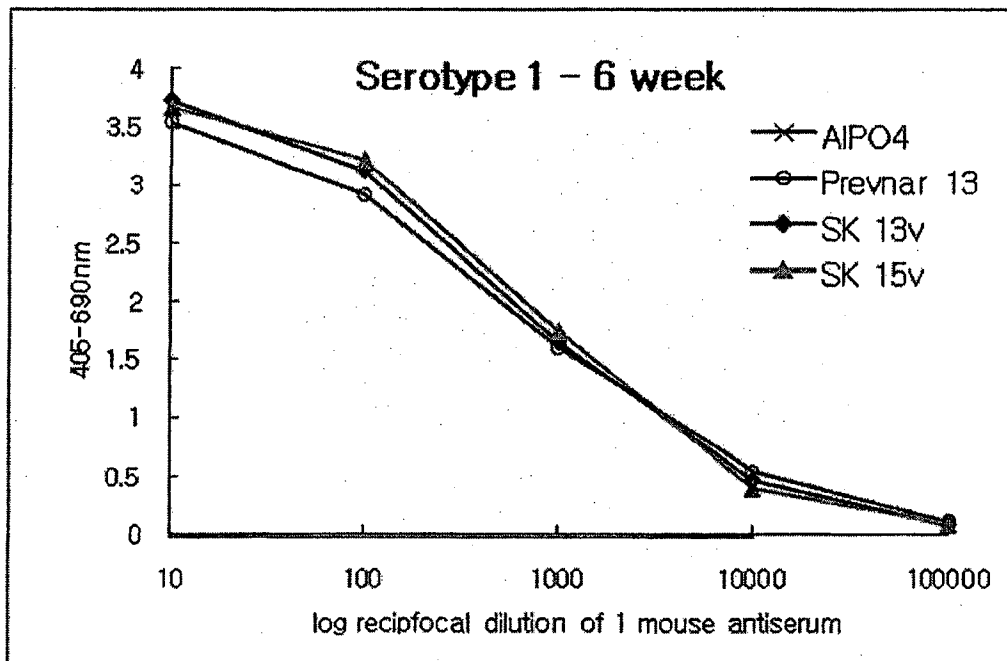
[Fig. 6]



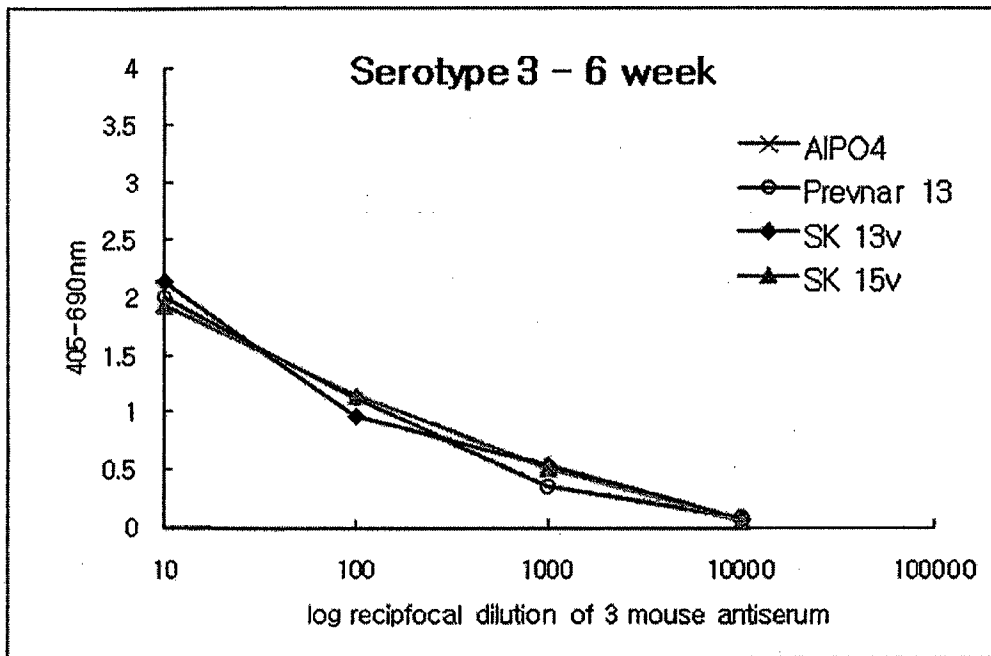
[Fig. 7]



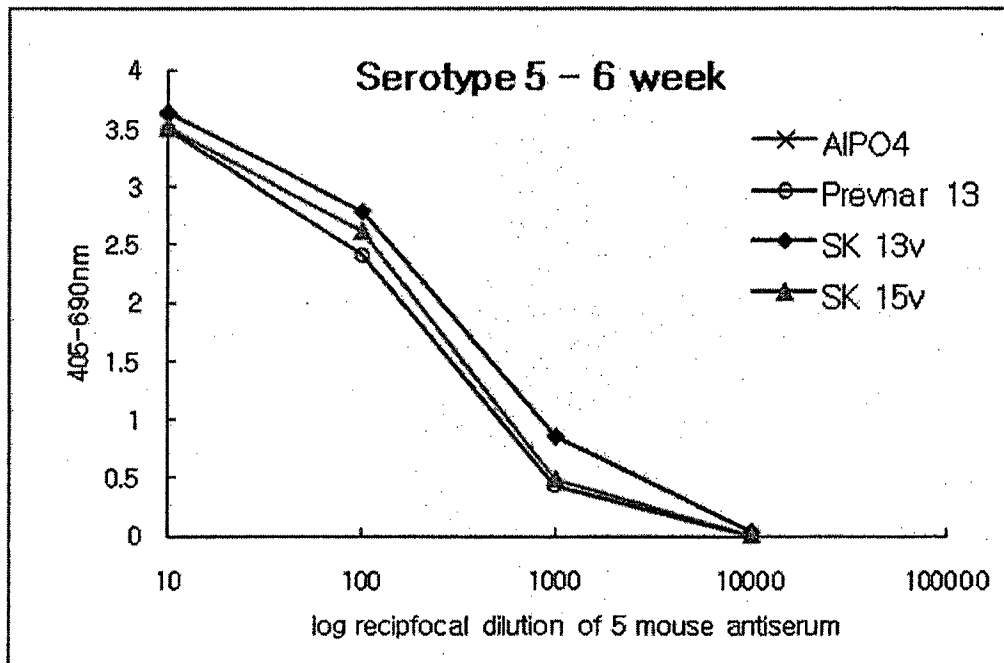
[Fig. 8]



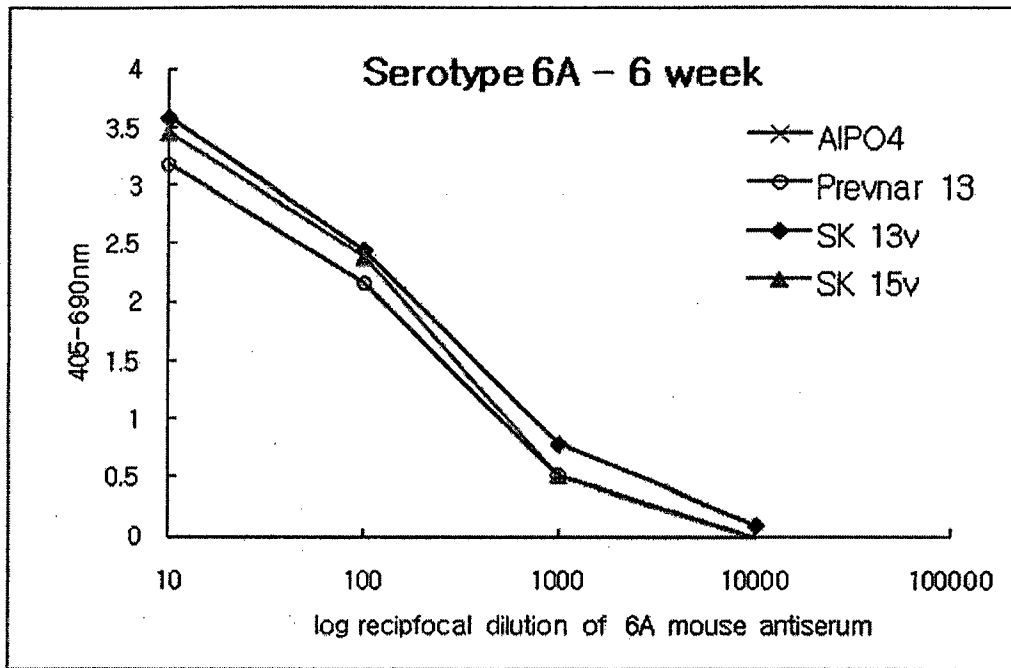
[Fig. 9]



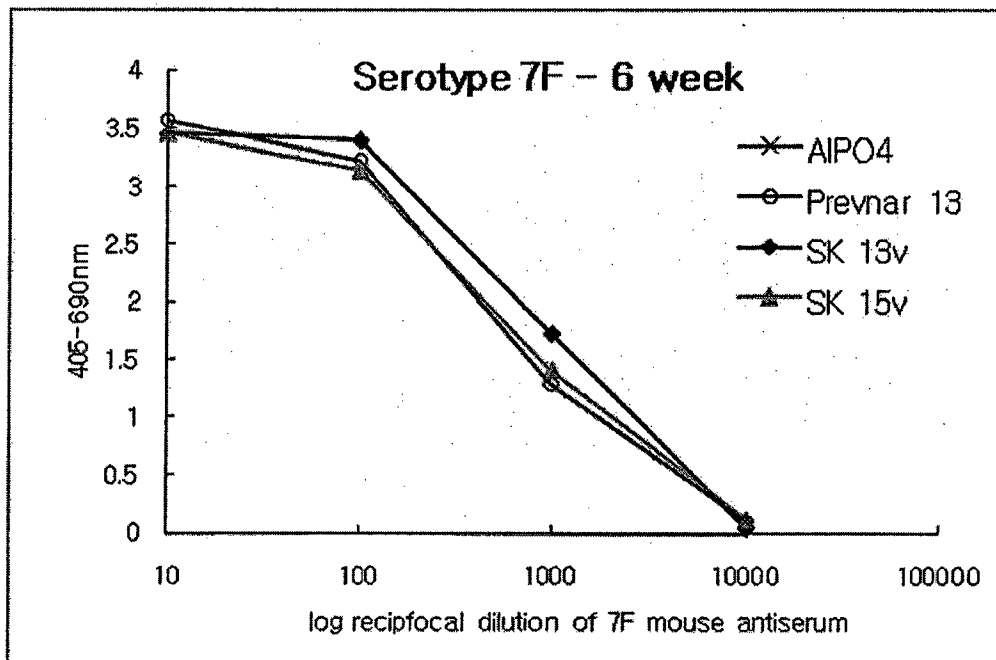
[Fig. 10]



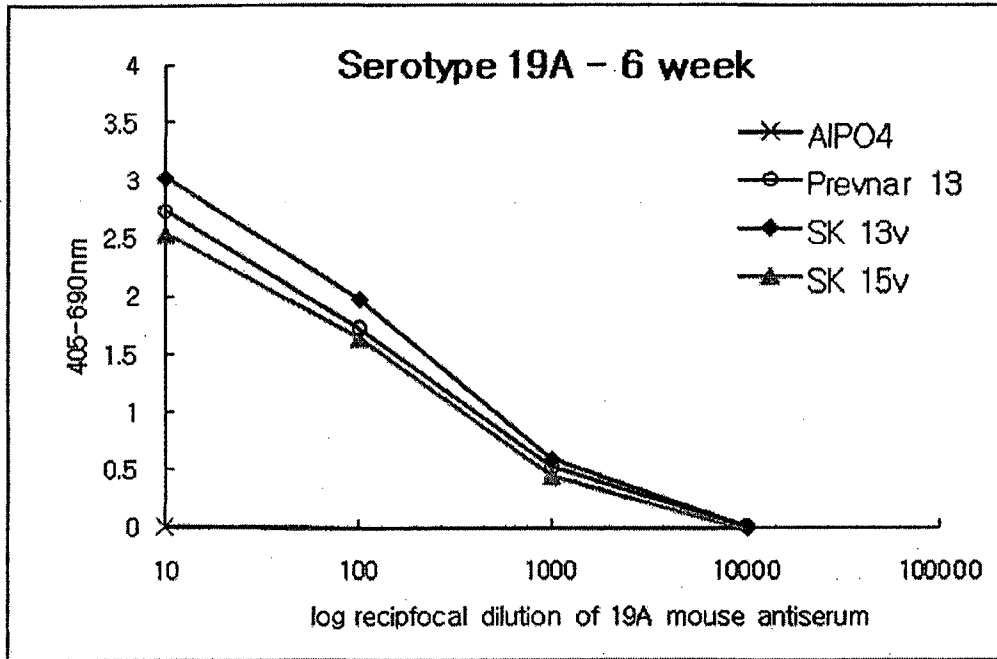
[Fig. 11]



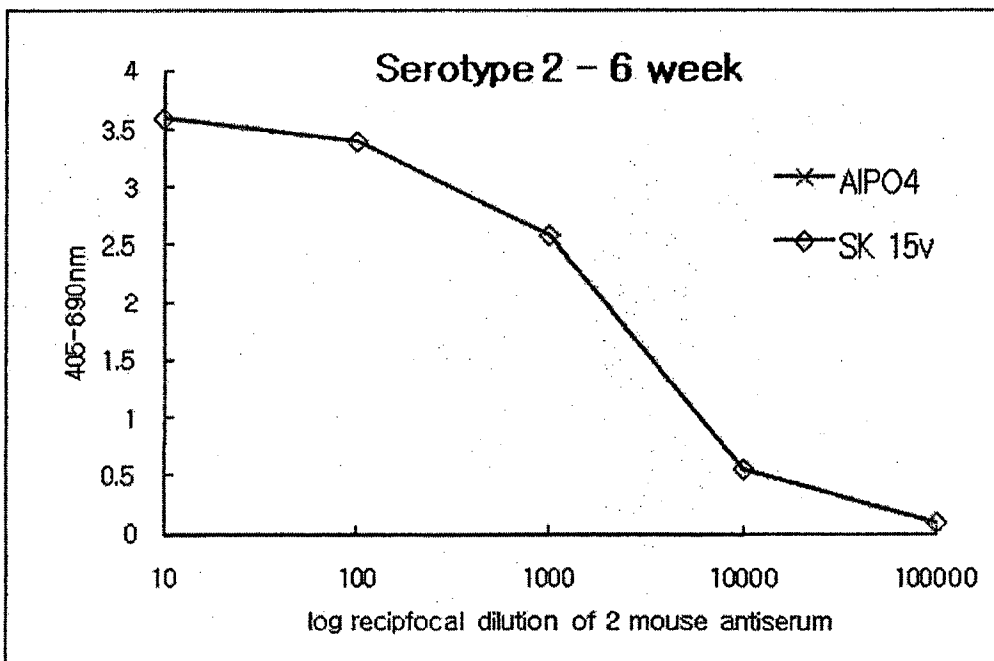
[Fig. 12]



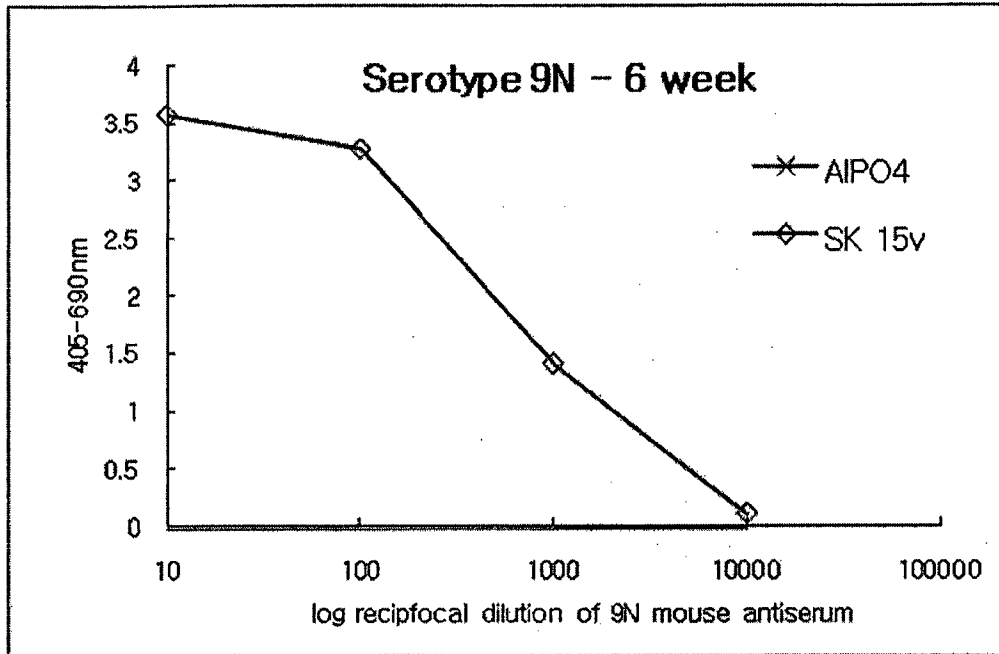
[Fig. 13]



[Fig. 14]



[Fig. 15]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/005392

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 47/48(2006.01)i, A61K 31/70(2006.01)i, A61K 38/00(2006.01)i, A61P 31/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 47/48; C07K 15/14; A61K 39/385; A61P 31/04; C07K 14/00; A61K 39/38; A61K 39/00; A61K 39/09; A61K 31/70; A61K 38/00; A61P 31/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

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

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: Streptococcus pneumoniae(Streptococcus pneumoniae), polysaccharide-protein conjugates, capsular polysaccharide(capsular polysaccharide), immunity, vaccine, serotype 2, serotype 9N, 15-valent, PCV-15

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 101590224 A (GUANGZHOU JINGDA MEDICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY CO., LTD.) 02 December 2009 See abstract and claim 1.	1-8
A	US 2010-0316666 A1 (HAUSDORFF, W. P. et al.) 16 December 2010 See abstract, claim 17, paragraphs [0006]-[0008].	1-8
A	WO 2011-151760 A2 (WYETH LLC) 08 December 2011 See abstract, claim 1, paragraph [0004].	1-8
A	US 2003-0147922 A1 (CAPIAU, C. et al.) 07 August 2003 See abstract, claims 1-19.	1-8
A	US 5153312 A (PORRO, M.) 06 October 1992 See abstract, claims 1, 11, 16-17, and 21-22.	1-8
A	US 2004-0202668 A1 (BOUTRIAU, D. et al.) 14 October 2004 See abstract, claims 1-2, 14, 28 and 31.	1-8

 Further documents are listed in the continuation of Box C.
 See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 SEPTEMBER 2013 (30.09.2013)

Date of mailing of the international search report

30 SEPTEMBER 2013 (30.09.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/005392

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
CN 101590224 A	02/12/2009	NONE	
US 2010-0316666 A1	16/12/2010	AT 545431 T	15/03/2012
		AU 2006-235013 A1	19/10/2006
		AU 2006-235013 B2	03/11/2011
		AU 2007-337101 A1	03/07/2008
		AU 2007-337214 A1	03/07/2008
		AU 2007-353769 A1	27/11/2008
		AU 2007-353769 B2	10/01/2013
		CA 2604363 A1	19/10/2006
		CA 2673477 A1	27/11/2008
		CA 2673543 A1	03/07/2008
		CA 2673558 A1	03/07/2008
		CN 101180079 A	14/05/2008
		CN 101180079 B	18/07/2012
		CN 101600459 A	09/12/2009
		CN 101610785 A	23/12/2009
		CN 101610788 A	23/12/2009
		CN 102716480 A	10/10/2012
		DK 2094298 T3	26/03/2012
		EP 1868645 A1	26/12/2007
		EP 1868645 B1	07/03/2012
		EP 2094298 A2	02/09/2009
		EP 2094298 B1	15/02/2012
		EP 2094304 A1	02/09/2009
		EP 2099494 A2	16/09/2009
		EP 2417983 A1	15/02/2012
		EP 2417983 B1	26/06/2013
		EP 2425851 A1	07/03/2012
		EP 2425852 A1	07/03/2012
		EP 2425853 A1	07/03/2012
		EP 2425854 A1	07/03/2012
		EP 2425855 A1	07/03/2012
		EP 2425856 A1	07/03/2012
		ES 2379834 T3	04/05/2012
		IL 199350 A	30/05/2013
		IL 222793 D	31/12/2012
		JP 04472770 B2	02/06/2010
		JP 05173920 B2	03/04/2013
		JP 2008-535838 A	04/09/2008
		JP 2009-161567 A	23/07/2009
		JP 2010-513549 A	30/04/2010
		JP 2010-513550 A	30/04/2010
		JP 2010-513559 A	30/04/2010
		JP 2013-006881 A	10/01/2013
		KR 10-1298053 B1	20/08/2013
		KR 10-2009-0094163 A	03/09/2009
		KR 10-2009-0094164 A	03/09/2009
		KR 10-2009-0096731 A	14/09/2009

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/005392

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		MX 2009006705 A	30/06/2009
		RU 2009125216 A	27/01/2011
		SI 2094298 T1	30/04/2012
		US 2006-0228380 A1	12/10/2006
		US 2007-0184071 A1	09/08/2007
		US 2007-0184072 A1	09/08/2007
		US 2007-0231340 A1	04/10/2007
		US 2009-0130137 A1	21/05/2009
		US 2009-0234108 A1	17/09/2009
		US 2011-0071279 A1	24/03/2011
		US 7709001 B2	04/05/2010
		US 7955605 B2	07/06/2011
		WO 2006-110381 A1	19/10/2006
		WO 2008-079653 A1	03/07/2008
		WO 2008-079732 A2	03/07/2008
		WO 2008-079732 A3	24/12/2008
		WO 2008-143709 A2	27/11/2008
		WO 2008-143709 A3	08/01/2009
WO 2011-151760 A2	08/12/2011	AU 2011-262346 A1	06/12/2012
		CA 2799747 A1	08/12/2011
		CN 102933229 A	13/02/2013
		EP 2575870 A2	10/04/2013
		IL 223206 D	03/02/2013
		JP 2011-256168 A	22/12/2011
		KR 10-2013-0041064 A	24/04/2013
		MX 2012013664 A	24/01/2013
		US 2013-0072881 A1	21/03/2013
		WO 2011-151760 A3	01/03/2012
US 2003-0147922 A1	07/08/2003	AR 022963 A1	04/09/2002
		AR 022964 A1	04/09/2002
		AT 346608 T	15/12/2006
		AT 387214 T	15/03/2008
		AT 459373 T	15/03/2010
		AU 2000-32919 B2	25/07/2002
		AU 2000-34307 B2	01/08/2002
		AU 2000-38136 B2	25/07/2002
		AU 2000-45525 A1	02/11/2000
		AU 2000-45525 B2	10/07/2003
		AU 2000-55233 A1	02/11/2000
		AU 2000-55233 B2	07/11/2002
		AU 3291900 A	09/10/2000
		AU 3430700 A	09/10/2000
		AU 3813600 A	09/10/2000
		AU 750762 B2	25/07/2002
		AU 750788 B2	25/07/2002
		AU 750913 B2	01/08/2002
		BR 0009154 A	26/12/2001
		BR 0009163 A	26/12/2001

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/005392

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		BR 0009166 A	26/12/2001
		CA 2365296 A1	28/09/2000
		CA 2365579 A1	26/10/2000
		CA 2366152 A1	28/09/2000
		CA 2366314 A1	28/09/2000
		CA 2366314 C	10/01/2012
		CA 2370708 A1	26/10/2000
		CN 100339130 C	26/09/2007
		CN 101130071 A	27/02/2008
		CN 101130071 B	21/03/2012
		CN 1191852 C	09/03/2005
		CN 1192797 C	16/03/2005
		CN 1192798 C	16/03/2005
		CN 1351501 A	29/05/2002
		CN 1351503 A	29/05/2002
		CN 1355710 A	26/06/2002
		CN 1391481 A	15/01/2003
		CZ 20013378 A3	13/03/2002
		CZ 20013379 A3	13/03/2002
		CZ 20013380 A3	13/03/2002
		CZ 301445 B6	03/03/2010
		CZ 303653 B6	30/01/2013
		DE 60032120 D1	11/01/2007
		DE 60032120 T2	20/09/2007
		DE 60038166 D1	10/04/2008
		DE 60038166 T2	12/03/2009
		DE 60043930 D1	15/04/2010
		DK 1162999 T3	26/03/2007
		DK 1163000 T3	28/04/2008
		EP 1162998 A2	19/12/2001
		EP 1162998 B1	03/03/2010
		EP 1162999 A2	19/12/2001
		EP 1162999 B1	29/11/2006
		EP 1163000 A2	19/12/2001
		EP 1163000 B1	27/02/2008
		EP 1171158 A2	16/01/2002
		EP 1171159 A2	16/01/2002
		EP 1171159 B1	14/05/2008
		EP 1776962 A1	25/04/2007
		EP 1880735 A2	23/01/2008
		EP 1880735 A3	12/03/2008
		EP 1927366 A1	04/06/2008
		EP 2277535 A2	26/01/2011
		EP 2277535 A3	09/03/2011
		ES 2275499 T3	16/06/2007
		ES 2300255 T3	16/06/2008
		ES 2339737 T3	25/05/2010
		HK 1043728 A1	22/06/2007
		HK 1043731 A1	23/01/2009
		HU 0200367 A2	29/05/2002

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/005392

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		HU 0200373 A2	29/06/2002
		HU 0200664 A2	29/06/2002
		HU 228499 B1	28/03/2013
		IL 145043 A	17/06/2007
		IL 145044 A	08/03/2007
		IL 145045 D	30/06/2002
		JP 04846906 B2	28/12/2011
		JP 2002-539273 A	19/11/2002
		JP 2002-540074 A	26/11/2002
		JP 2002-540075 A	26/11/2002
		JP 2002-542204 A	10/12/2002
		JP 2011-057713 A	24/03/2011
		KR 10-0632835 B1	16/10/2006
		KR 10-0642044 B1	10/11/2006
		KR 10-0798212 B1	24/01/2008
		KR 10-2002-0000785 A	05/01/2002
		LU 91652 A9	13/10/2010
		MX PA01009452 A	06/08/2002
		NL 300415 I1	01/12/2009
		NO 20014322 A	14/11/2001
		NO 20014323 A	14/11/2001
		NO 20014325 A	14/11/2001
		NO 330532 B1	09/05/2011
		NO 330736 B1	27/06/2011
		NZ 513840 A	27/02/2004
		NZ 513841 A	28/09/2001
		NZ 513842 A	28/05/2004
		PL 203917 B1	30/11/2009
		PL 204890 B1	26/02/2010
		PL 355178 A1	05/04/2004
		PL 355180 A1	05/04/2004
		PL 355264 A1	05/04/2004
		PT 1162999 E	28/02/2007
		PT 1163000 E	20/03/2008
		SI 1162999 T1	30/04/2007
		SI 1163000 T1	30/06/2008
		TR 200102735 T2	22/04/2002
		TR 200102736 T2	22/04/2002
		TR 200102739 T2	21/12/2001
		TW 234463 A	21/06/2005
		TW 235064 A	01/07/2005
		TW 281403 A	21/05/2007
		TW 286938 A	21/09/2007
		US 2004-0228879 A1	18/11/2004
		US 2005-0031646 A1	10/02/2005
		US 2006-0002961 A1	05/01/2006
		US 2006-0093626 A1	04/05/2006
		US 2010-0119544 A1	13/05/2010
		US 2010-0291138 A1	18/11/2010
		US 2011-0217329 A1	08/09/2011

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/005392

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		WO 00-56358 A2	28/09/2000
		WO 00-56358 A3	04/01/2001
		WO 00-56359 A2	28/09/2000
		WO 00-56359 A3	01/02/2001
		WO 00-56360 A2	28/09/2000
		WO 00-56360 A3	25/01/2001
		WO 00-62801 A2	26/10/2000
		WO 00-62801 A3	11/01/2001
		WO 00-62802 A2	26/10/2000
		WO 00-62802 A3	11/01/2001
US 05153312 A	06/10/1992	CA 2052323 A1	29/03/1992
		CA 2052323 C	17/04/2001
		CN 1034054 C	19/02/1997
		CN 1060294 A	15/04/1992
		EP 0477508 A1	01/04/1992
		EP 0477508 B1	12/07/1995
		JP 03027452 B2	04/04/2000
		JP 06-340550 A	13/12/1994
		KR 10-0217317 B1	01/10/1999
		US 05306492 A	26/04/1994
US 2004-0202668 A1	14/10/2004	AR 040922 A1	27/04/2005
		AT 553775 T	15/05/2012
		AT 553776 T	15/05/2012
		AU 2001-281895 B2	28/04/2005
		AU 2001-81895 A1	08/01/2002
		BR 0208595 A	21/02/2006
		CA 2412497 A1	03/01/2002
		CA 2412497 C	02/10/2012
		CA 2442865 A1	17/10/2002
		CA 2442865 C	11/09/2012
		CA 2727715 A1	17/10/2002
		CA 2727715 C	28/05/2013
		CA 2783274 A1	03/01/2002
		CA 2810326 A1	17/10/2002
		CN 101112618 A	30/01/2008
		CN 101112618 B	08/08/2012
		CN 101112619 A	30/01/2008
		CN 101112619 B	18/05/2011
		CN 101708333 A	19/05/2010
		CN 1547485 A	17/11/2004
		CN 1547485 C	06/09/2006
		CZ 20032698 A3	15/12/2004
		DK 1390066 T3	16/07/2012
		DK 1946771 T3	03/09/2012
		DK 1946772 T3	16/07/2012
		EP 1296715 A2	02/04/2003
		EP 1296715 B1	23/11/2011
		EP 1390066 A2	25/02/2004

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/005392

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		EP 1390066 B1	18/04/2012
		EP 1946769 A2	23/07/2008
		EP 1946769 A3	30/07/2008
		EP 1946769 B1	30/05/2012
		EP 1946771 A1	23/07/2008
		EP 1946771 B1	27/06/2012
		EP 1946772 A1	23/07/2008
		EP 1946772 B1	18/04/2012
		EP 2277541 A1	26/01/2011
		EP 2279748 A1	02/02/2011
		EP 2311488 A2	20/04/2011
		EP 2311488 A3	31/08/2011
		ES 2384041 T3	28/06/2012
		ES 2384065 T3	29/06/2012
		ES 2388690 T3	17/10/2012
		GB 0108364 D	23/05/2001
		HK 1062891 A1	28/09/2012
		HK 1114779 A1	28/09/2012
		HK 1114781 A1	16/11/2012
		HU 0303996 A2	01/03/2004
		HU 0303996 A3	28/03/2011
		IL 158066 D	28/03/2004
		JP 04870895 B2	08/02/2012
		JP 05095595 B2	12/12/2012
		JP 2004-501873 A	22/01/2004
		JP 2005-508849 A	07/04/2005
		JP 2009-102355 A	14/05/2009
		JP 2010-163453 A	29/07/2010
		JP 2012-051943 A	15/03/2012
		KR 10-0837917 B1	13/06/2008
		KR 10-0870280 B1	25/11/2008
		KR 10-0898845 B1	21/05/2009
		KR 10-1045412 B1	30/06/2011
		KR 10-1292708 B1	02/08/2013
		KR 10-2007-0091698 A	11/09/2007
		KR 10-2008-0048094 A	30/05/2008
		KR 10-2009-0026371 A	12/03/2009
		KR 10-2009-0120017 A	23/11/2009
		KR 10-2011-0036641 A	07/04/2011
		KR 10-2012-0005519 A	16/01/2012
		KR 10-2012-0005534 A	16/01/2012
		MX PA03008961 A	12/02/2004
		MY 129263 A	30/03/2007
		NO 20034410 A	25/11/2003
		NZ 551621 A	31/07/2008
		NZ 568317 A	29/01/2010
		NZ 581373 A	30/06/2011
		PL 211909 B1	31/07/2012
		PL 211910 B1	31/07/2012
		PL 211911 B1	31/07/2012

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/005392

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		PL 211912 B1	31/07/2012
		PL 211958 B1	31/07/2012
		PL 374106 A1	19/09/2005
		PL 393582 A1	09/05/2011
		PL 393583 A1	09/05/2011
		PL 393585 A1	09/05/2011
		PL 393618 A1	09/05/2011
		PT 1390066 E	27/06/2012
		PT 1946771 E	27/08/2012
		PT 1946772 E	09/07/2012
		SI 1390066 T1	31/08/2012
		SI 1946771 T1	30/10/2012
		SI 1946772 T1	31/08/2012
		UA 76952 C2	15/07/2003
		US 2003-180316 A1	25/09/2003
		US 2008-0069835 A1	20/03/2008
		US 2011-212124 A1	01/09/2011
		US 2012-0207780 A1	16/08/2012
		WO 02-00249 A2	03/01/2002
		WO 02-00249 A3	13/06/2002
		WO 02-080965 A2	17/10/2002
		WO 02-080965 A3	04/12/2003
		ZA 200307640 A	23/05/2005

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
A61K 47/48(2006.01)i, A61K 31/70(2006.01)i, A61K 38/00(2006.01)i, A61P 31/00(2006.01)i

B. 조사된 분야
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
A61K 47/48; C07K 15/14; A61K 39/385; A61P 31/04; C07K 14/00; A61K 39/38; A61K 39/00; A61K 39/09; A61K 31/70; A61K 38/00; A61P 31/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*), 다당류-단백질 접합체, 협막 다당류(capsular polysaccharide), 면역, 백신, serotype 2, serotype 9N, 15-valent, PCV-15

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	CN 101590224 A (GUANGZHOU JINGDA MEDICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY CO., LTD.) 2009.12.02 요약 및 청구항 1 참조.	1-8
A	US 2010-0316666 A1 (HAUSDORFF, W. P. 외 3명) 2010.12.16 요약, 청구항 17, 단락 [0006]-[0008] 참조.	1-8
A	WO 2011-151760 A2 (WYETH LLC) 2011.12.08 요약, 청구항 1, 단락 [0004] 참조.	1-8
A	US 2003-0147922 A1 (CAPIAU, C. 외 5명) 2003.08.07 요약, 청구항 1-19 참조.	1-8
A	US 5153312 A (PORRO, M.) 1992.10.06 요약, 청구항 1, 11, 16-17, 21-22 참조.	1-8
A	US 2004-0202668 A1 (BOUTRIAU, D. 외 4명) 2004.10.14 요약, 청구항 1-2, 14, 28, 31 참조.	1-8

추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:
 “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌
 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌
 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌
 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌
 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
 “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
 “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일: 2013년 09월 30일 (30.09.2013)
국제조사보고서 발송일: 2013년 09월 30일 (30.09.2013)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소: 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140
 심사관: 최승희
 전화번호 +82-42-481-8740

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
CN 101590224 A	2009/12/02	없음	
US 2010-0316666 A1	2010/12/16	AT 545431 T	2012/03/15
		AU 2006-235013 A1	2006/10/19
		AU 2006-235013 B2	2011/11/03
		AU 2007-337101 A1	2008/07/03
		AU 2007-337214 A1	2008/07/03
		AU 2007-353769 A1	2008/11/27
		AU 2007-353769 B2	2013/01/10
		CA 2604363 A1	2006/10/19
		CA 2673477 A1	2008/11/27
		CA 2673543 A1	2008/07/03
		CA 2673558 A1	2008/07/03
		CN 101180079 A	2008/05/14
		CN 101180079 B	2012/07/18
		CN 101600459 A	2009/12/09
		CN 101610785 A	2009/12/23
		CN 101610788 A	2009/12/23
		CN 102716480 A	2012/10/10
		DK 2094298 T3	2012/03/26
		EP 1868645 A1	2007/12/26
		EP 1868645 B1	2012/03/07
		EP 2094298 A2	2009/09/02
		EP 2094298 B1	2012/02/15
		EP 2094304 A1	2009/09/02
		EP 2099494 A2	2009/09/16
		EP 2417983 A1	2012/02/15
		EP 2417983 B1	2013/06/26
		EP 2425851 A1	2012/03/07
		EP 2425852 A1	2012/03/07
		EP 2425853 A1	2012/03/07
		EP 2425854 A1	2012/03/07
		EP 2425855 A1	2012/03/07
		EP 2425856 A1	2012/03/07
		ES 2379834 T3	2012/05/04
		IL 199350 A	2013/05/30
		IL 222793 D	2012/12/31
		JP 04472770 B2	2010/06/02
		JP 05173920 B2	2013/04/03
		JP 2008-535838 A	2008/09/04
		JP 2009-161567 A	2009/07/23
		JP 2010-513549 A	2010/04/30
		JP 2010-513550 A	2010/04/30
		JP 2010-513559 A	2010/04/30
		JP 2013-006881 A	2013/01/10
		KR 10-1298053 B1	2013/08/20
		KR 10-2009-0094163 A	2009/09/03
		KR 10-2009-0094164 A	2009/09/03
		KR 10-2009-0096731 A	2009/09/14

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		MX 2009006705 A	2009/06/30
		RU 2009125216 A	2011/01/27
		SI 2094298 T1	2012/04/30
		US 2006-0228380 A1	2006/10/12
		US 2007-0184071 A1	2007/08/09
		US 2007-0184072 A1	2007/08/09
		US 2007-0231340 A1	2007/10/04
		US 2009-0130137 A1	2009/05/21
		US 2009-0234108 A1	2009/09/17
		US 2011-0071279 A1	2011/03/24
		US 7709001 B2	2010/05/04
		US 7955605 B2	2011/06/07
		WO 2006-110381 A1	2006/10/19
		WO 2008-079653 A1	2008/07/03
		WO 2008-079732 A2	2008/07/03
		WO 2008-079732 A3	2008/12/24
		WO 2008-143709 A2	2008/11/27
		WO 2008-143709 A3	2009/01/08
WO 2011-151760 A2	2011/12/08	AU 2011-262346 A1	2012/12/06
		CA 2799747 A1	2011/12/08
		CN 102933229 A	2013/02/13
		EP 2575870 A2	2013/04/10
		IL 223206 D	2013/02/03
		JP 2011-256168 A	2011/12/22
		KR 10-2013-0041064 A	2013/04/24
		MX 2012013664 A	2013/01/24
		US 2013-0072881 A1	2013/03/21
		WO 2011-151760 A3	2012/03/01
US 2003-0147922 A1	2003/08/07	AR 022963 A1	2002/09/04
		AR 022964 A1	2002/09/04
		AT 346608 T	2006/12/15
		AT 387214 T	2008/03/15
		AT 459373 T	2010/03/15
		AU 2000-32919 B2	2002/07/25
		AU 2000-34307 B2	2002/08/01
		AU 2000-38136 B2	2002/07/25
		AU 2000-45525 A1	2000/11/02
		AU 2000-45525 B2	2003/07/10
		AU 2000-55233 A1	2000/11/02
		AU 2000-55233 B2	2002/11/07
		AU 3291900 A	2000/10/09
		AU 3430700 A	2000/10/09
		AU 3813600 A	2000/10/09
		AU 750762 B2	2002/07/25
		AU 750788 B2	2002/07/25
		AU 750913 B2	2002/08/01
		BR 0009154 A	2001/12/26
		BR 0009163 A	2001/12/26

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		BR 0009166 A	2001/12/26
		CA 2365296 A1	2000/09/28
		CA 2365579 A1	2000/10/26
		CA 2366152 A1	2000/09/28
		CA 2366314 A1	2000/09/28
		CA 2366314 C	2012/01/10
		CA 2370708 A1	2000/10/26
		CN 100339130 C	2007/09/26
		CN 101130071 A	2008/02/27
		CN 101130071 B	2012/03/21
		CN 1191852 C	2005/03/09
		CN 1192797 C	2005/03/16
		CN 1192798 C	2005/03/16
		CN 1351501 A	2002/05/29
		CN 1351503 A	2002/05/29
		CN 1355710 A	2002/06/26
		CN 1391481 A	2003/01/15
		CZ 20013378 A3	2002/03/13
		CZ 20013379 A3	2002/03/13
		CZ 20013380 A3	2002/03/13
		CZ 301445 B6	2010/03/03
		CZ 303653 B6	2013/01/30
		DE 60032120 D1	2007/01/11
		DE 60032120 T2	2007/09/20
		DE 60038166 D1	2008/04/10
		DE 60038166 T2	2009/03/12
		DE 60043930 D1	2010/04/15
		DK 1162999 T3	2007/03/26
		DK 1163000 T3	2008/04/28
		EP 1162998 A2	2001/12/19
		EP 1162998 B1	2010/03/03
		EP 1162999 A2	2001/12/19
		EP 1162999 B1	2006/11/29
		EP 1163000 A2	2001/12/19
		EP 1163000 B1	2008/02/27
		EP 1171158 A2	2002/01/16
		EP 1171159 A2	2002/01/16
		EP 1171159 B1	2008/05/14
		EP 1776962 A1	2007/04/25
		EP 1880735 A2	2008/01/23
		EP 1880735 A3	2008/03/12
		EP 1927366 A1	2008/06/04
		EP 2277535 A2	2011/01/26
		EP 2277535 A3	2011/03/09
		ES 2275499 T3	2007/06/16
		ES 2300255 T3	2008/06/16
		ES 2339737 T3	2010/05/25
		HK 1043728 A1	2007/06/22
		HK 1043731 A1	2009/01/23
		HU 0200367 A2	2002/05/29

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		HU 0200373 A2	2002/06/29
		HU 0200664 A2	2002/06/29
		HU 228499 B1	2013/03/28
		IL 145043 A	2007/06/17
		IL 145044 A	2007/03/08
		IL 145045 D	2002/06/30
		JP 04846906 B2	2011/12/28
		JP 2002-539273 A	2002/11/19
		JP 2002-540074 A	2002/11/26
		JP 2002-540075 A	2002/11/26
		JP 2002-542204 A	2002/12/10
		JP 2011-057713 A	2011/03/24
		KR 10-0632835 B1	2006/10/16
		KR 10-0642044 B1	2006/11/10
		KR 10-0798212 B1	2008/01/24
		KR 10-2002-0000785 A	2002/01/05
		LU 91652 A9	2010/10/13
		MX PA01009452 A	2002/08/06
		NL 300415 I1	2009/12/01
		NO 20014322 A	2001/11/14
		NO 20014323 A	2001/11/14
		NO 20014325 A	2001/11/14
		NO 330532 B1	2011/05/09
		NO 330736 B1	2011/06/27
		NZ 513840 A	2004/02/27
		NZ 513841 A	2001/09/28
		NZ 513842 A	2004/05/28
		PL 203917 B1	2009/11/30
		PL 204890 B1	2010/02/26
		PL 355178 A1	2004/04/05
		PL 355180 A1	2004/04/05
		PL 355264 A1	2004/04/05
		PT 1162999 E	2007/02/28
		PT 1163000 E	2008/03/20
		SI 1162999 T1	2007/04/30
		SI 1163000 T1	2008/06/30
		TR 200102735 T2	2002/04/22
		TR 200102736 T2	2002/04/22
		TR 200102739 T2	2001/12/21
		TW 234463 A	2005/06/21
		TW 235064 A	2005/07/01
		TW 281403 A	2007/05/21
		TW 286938 A	2007/09/21
		US 2004-0228879 A1	2004/11/18
		US 2005-0031646 A1	2005/02/10
		US 2006-0002961 A1	2006/01/05
		US 2006-0093626 A1	2006/05/04
		US 2010-0119544 A1	2010/05/13
		US 2010-0291138 A1	2010/11/18
		US 2011-0217329 A1	2011/09/08

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		WO 00-56358 A2	2000/09/28
		WO 00-56358 A3	2001/01/04
		WO 00-56359 A2	2000/09/28
		WO 00-56359 A3	2001/02/01
		WO 00-56360 A2	2000/09/28
		WO 00-56360 A3	2001/01/25
		WO 00-62801 A2	2000/10/26
		WO 00-62801 A3	2001/01/11
		WO 00-62802 A2	2000/10/26
		WO 00-62802 A3	2001/01/11
US 05153312 A	1992/10/06	CA 2052323 A1	1992/03/29
		CA 2052323 C	2001/04/17
		CN 1034054 C	1997/02/19
		CN 1060294 A	1992/04/15
		EP 0477508 A1	1992/04/01
		EP 0477508 B1	1995/07/12
		JP 03027452 B2	2000/04/04
		JP 06-340550 A	1994/12/13
		KR 10-0217317 B1	1999/10/01
		US 05306492 A	1994/04/26
US 2004-0202668 A1	2004/10/14	AR 040922 A1	2005/04/27
		AT 553775 T	2012/05/15
		AT 553776 T	2012/05/15
		AU 2001-281895 B2	2005/04/28
		AU 2001-81895 A1	2002/01/08
		BR 0208595 A	2006/02/21
		CA 2412497 A1	2002/01/03
		CA 2412497 C	2012/10/02
		CA 2442865 A1	2002/10/17
		CA 2442865 C	2012/09/11
		CA 2727715 A1	2002/10/17
		CA 2727715 C	2013/05/28
		CA 2783274 A1	2002/01/03
		CA 2810326 A1	2002/10/17
		CN 101112618 A	2008/01/30
		CN 101112618 B	2012/08/08
		CN 101112619 A	2008/01/30
		CN 101112619 B	2011/05/18
		CN 101708333 A	2010/05/19
		CN 1547485 A	2004/11/17
		CN 1547485 C	2006/09/06
		CZ 20032698 A3	2004/12/15
		DK 1390066 T3	2012/07/16
		DK 1946771 T3	2012/09/03
		DK 1946772 T3	2012/07/16
		EP 1296715 A2	2003/04/02
		EP 1296715 B1	2011/11/23
		EP 1390066 A2	2004/02/25

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		EP 1390066 B1	2012/04/18
		EP 1946769 A2	2008/07/23
		EP 1946769 A3	2008/07/30
		EP 1946769 B1	2012/05/30
		EP 1946771 A1	2008/07/23
		EP 1946771 B1	2012/06/27
		EP 1946772 A1	2008/07/23
		EP 1946772 B1	2012/04/18
		EP 2277541 A1	2011/01/26
		EP 2279748 A1	2011/02/02
		EP 2311488 A2	2011/04/20
		EP 2311488 A3	2011/08/31
		ES 2384041 T3	2012/06/28
		ES 2384065 T3	2012/06/29
		ES 2388690 T3	2012/10/17
		GB 0108364 D	2001/05/23
		HK 1062891 A1	2012/09/28
		HK 1114779 A1	2012/09/28
		HK 1114781 A1	2012/11/16
		HU 0303996 A2	2004/03/01
		HU 0303996 A3	2011/03/28
		IL 158066 D	2004/03/28
		JP 04870895 B2	2012/02/08
		JP 05095595 B2	2012/12/12
		JP 2004-501873 A	2004/01/22
		JP 2005-508849 A	2005/04/07
		JP 2009-102355 A	2009/05/14
		JP 2010-163453 A	2010/07/29
		JP 2012-051943 A	2012/03/15
		KR 10-0837917 B1	2008/06/13
		KR 10-0870280 B1	2008/11/25
		KR 10-0898845 B1	2009/05/21
		KR 10-1045412 B1	2011/06/30
		KR 10-1292708 B1	2013/08/02
		KR 10-2007-0091698 A	2007/09/11
		KR 10-2008-0048094 A	2008/05/30
		KR 10-2009-0026371 A	2009/03/12
		KR 10-2009-0120017 A	2009/11/23
		KR 10-2011-0036641 A	2011/04/07
		KR 10-2012-0005519 A	2012/01/16
		KR 10-2012-0005534 A	2012/01/16
		MX PA03008961 A	2004/02/12
		MY 129263 A	2007/03/30
		NO 20034410 A	2003/11/25
		NZ 551621 A	2008/07/31
		NZ 568317 A	2010/01/29
		NZ 581373 A	2011/06/30
		PL 211909 B1	2012/07/31
		PL 211910 B1	2012/07/31
		PL 211911 B1	2012/07/31

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		PL 211912 B1	2012/07/31
		PL 211958 B1	2012/07/31
		PL 374106 A1	2005/09/19
		PL 393582 A1	2011/05/09
		PL 393583 A1	2011/05/09
		PL 393585 A1	2011/05/09
		PL 393618 A1	2011/05/09
		PT 1390066 E	2012/06/27
		PT 1946771 E	2012/08/27
		PT 1946772 E	2012/07/09
		SI 1390066 T1	2012/08/31
		SI 1946771 T1	2012/10/30
		SI 1946772 T1	2012/08/31
		UA 76952 C2	2003/07/15
		US 2003-180316 A1	2003/09/25
		US 2008-0069835 A1	2008/03/20
		US 2011-212124 A1	2011/09/01
		US 2012-0207780 A1	2012/08/16
		WO 02-00249 A2	2002/01/03
		WO 02-00249 A3	2002/06/13
		WO 02-080965 A2	2002/10/17
		WO 02-080965 A3	2003/12/04
		ZA 200307640 A	2005/05/23