(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2022 년 3 월 31 일 (31.03.2022)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2022/065965 A1

(51) 국제특허분류:
*A61K 38/17* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
*A61K 33/243* (2019.01) *A23L 33/17* (2016.01)
*A61K 31/502* (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2021/013182

(22) 국제출원일: 2021 년 9 월 28 일 (28.09.2021)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2020-0125376 2020 년 9 월 28 일 (28.09.2020) KR

(71) 출원인: 경상국립대학교산학협력단 (**INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY**) [KR/KR]; 52828 경상남도 진주시 진주대로 501, Gyeongsangnam-do (KR). 인제대학교 산학협력단 (**INJE UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION**) [KR/KR]; 50834 경상남도 김해시 인제로 197, Gyeongsangnam-do (KR). 사회복지법인 삼성생명공익재단 (**SAMSUNG LIFE PUBLIC WELFARE FOUNDATION**) [KR/KR]; 04348 서울시 용산구 이태원로55길 48, Seoul (KR).

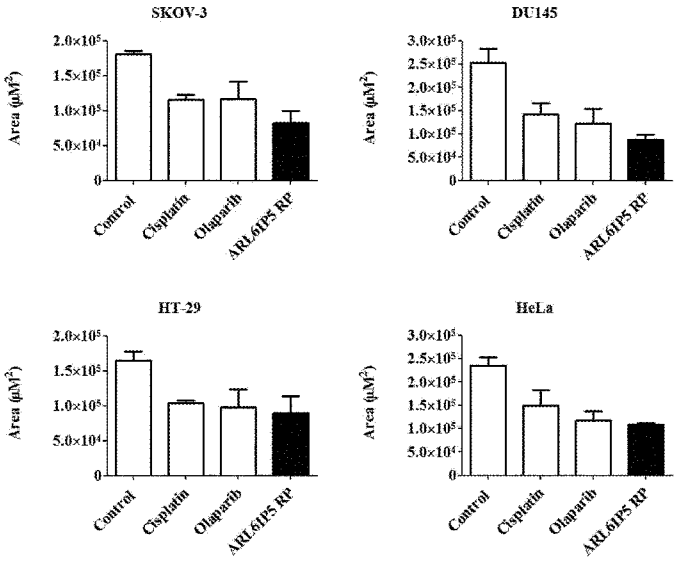
(72) 발명자: 윤현옥 (**YOON, Hyon Ok**); 54902 전라북도 전주시 덕진구 호성로 136, 206동 1101호, Jeollabuk-do (KR). 김지예 (**KIM, Ji-Ye**); 10380 경기도 고양시 일산서구 주화로 170 인제대학교 일산백병원, Gyeonggi-do (KR). 김현수 (**KIM, Hyun-Soo**); 06351 서울시 강남구 일원로 81 삼성서울병원 암병원2층 병리과, Seoul (KR).

(74) 대리인: 최규환 (**CHOI, Kyu Whan**); 35209 대전시 서구 한밭대로 745, 12층 그린국제특허법률사무소, Daejeon (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT,

(54) **Title:** COMPOSITION COMPRISING ARL6IP5 PROTEIN AS ACTIVE INGREDIENT FOR PREVENTION, ALLEVIATION, OR TREATMENT OF CANCER

(54) **발명의 명칭:** ARL6IP5 단백질을 유효성분으로 함유하는 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물




(57) **Abstract:** The present invention relates to a pharmaceutical composition comprising an ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 5 (ARL6IP5) protein or a vector carrying a polynucleotide coding for the ARL6IP5 protein as an active ingredient for prevention or treatment of cancer. ARL6IP5 according to the present invention exhibits an excellent inhibitory effect on growth of cells of ovarian cancer, colorectal cancer, prostate cancer, or uterine cervical cancer, which are difficult to cure, and as such, can be advantageously used in anti-cancer therapy.

WO 2022/065965 A1

[다음 쪽 계속]

AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, ST, 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, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**공개:**

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

**(57) 요약서:** 본 발명은 ARL6IP5(ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 5) 단백질 또는 상기 ARL6IP5 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 ARL6IP5 는 치료가 어려운 난소암, 대장암, 전립선암 또는 자궁경부암 세포에 대해서 우수한 세포 증식 억제 효과를 나타내므로 항암 치료에 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

# 명세서

# 발명의 명칭: ARL6IP5 단백질을 유효성분으로 함유하는 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

## 기술분야

[1] 본 발명은 ARL6IP5(ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 5) 단백질을 유효성분으로 함유하는 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

## 배경기술

[2] 암은 인류의 지난 수십 년간의 부단한 노력에도 불구하고 난치병 중의 하나로 여전히 남아 있다. 암은 인류의 건강을 위협하는 최대의 질병 중의 하나로서 세포가 일련의 돌연변이 과정을 거쳐, 무제한적이고, 비-조절적 방식으로 증식 및 불사화되어 발생하는 질병이다. 암과 관련된 다양한 생화학적 기전이 규명되어 그에 따른 치료제가 개발되어 오고 있으나, 아직까지 근본적인 치료방법은 제시되지 않고 있다.

[3] 이에 따라 암과 관련된 다양한 생체 내 분자의 동정 및 상기 분자를 표적으로 하는 약물의 개발에 대한 요구가 계속되고 있으며, 상기 약물 중 일부를 조합하여 암의 치료 효과를 증진하기 위한 노력 또한 계속되고 있다. 최근에 암세포생물학, 의약, 화학 등의 제반 학문의 눈부신 발전과 더불어 탁솔, 라파마이신 및 17-알릴아미노젤다나마이신(17-allylaminogeldanamycin; 17-AAG)과 같은 다수의 항암제들이 개발되었으며, 글리벡(Gleevec)과 같은 새로운 작용 기전을 가진 항암제가 개발되고 있다.

[4] 한편, 한국공개특허 제2016-0114381호에는 'CysA5W 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물'이 개시되어 있고, 한국등록특허 제1540319호에는 'cyb5R3 유전자 또는 단백질을 유효성분으로 포함하는 암 예방 및 치료용 약학적 조성물'이 개시되어 있으나, 본 발명의 ARL6IP5 단백질을 유효성분으로 함유하는 암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 대해서는 기재된 바가 없다.

## 발명의 상세한 설명

## 기술적 과제

[5] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 ARL6IP5(JWA) 재조합 단백질을 난소암, 대장암, 전립선암 및 자궁경부암 세포주에 처리한 결과, 기존 항암제인 시스플라틴 및 올라파립에 비해 ARL6IP5 재조합 단백질이 암 세포주의 증식을 현저하게 억제시키는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

## 과제 해결 수단

[6] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 ARL6IP5(ADP ribosylation factor like

GTPase 6 interacting protein 5) 단백질 또는 상기 ARL6IP5 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[7] 또한, 본 발명은 ARL6IP5 단백질을 유효성분으로 함유하는 항암보조제용 건강기능식품을 제공한다.

## 발명의 효과

[8] 본 발명의 ARL6IP5(JWA) 재조합 단백질은 치료가 어려운 난소암, 대장암, 전립선암 또는 자궁경부암 세포에 대해서 우수한 세포 증식 억제 효과를 나타내므로 항암제로 유용하게 활용될 수 있을 것이며, 기존 항암제와의 병용 투여를 통해 항암 효과 증대를 기대할 수 있을 것이다.

## 도면의 간단한 설명

[9] 도 1은 ARL6IP5 재조합 단백질의 SKOV-3 (난소암 세포주)에 대한 세포 증식 억제 효과를 분석한 결과이다.

[10] 도 2는 ARL6IP5 재조합 단백질의 SKOV-3에 대한 세포사멸 효과를 분석한 결과이다. *: $p < 0.05$, control 그룹과 비교; #: $p < 0.05$, scramble 그룹과 비교.

[11] 도 3은 ARL6IP5 재조합 단백질, 시스플라틴 및 올라파립 단독 또는 이들의 병용 처리에 따른 SKOV-3의 세포사멸률을 분석한 결과이다.

[12] 도 4는 ARL6IP5 재조합 단백질, 시스플라틴 및 올라파립 단독 또는 이들의 병용 처리에 따른 HT-29 (대장암 세포주)의 세포 증식 억제 효과를 분석한 결과이다.

[13] 도 5는 ARL6IP5 재조합 단백질, 시스플라틴 및 올라파립 단독 또는 이들의 병용 처리에 따른 HT-29의 세포사멸률을 분석한 결과이다.

[14] 도 6은 ARL6IP5 재조합 단백질, 시스플라틴 및 올라파립 단독 또는 이들의 병용 처리에 따른 DU145 (전립선암 세포주)의 세포 증식 억제 효과를 분석한 결과이다.

[15] 도 7은 ARL6IP5 재조합 단백질, 시스플라틴 및 올라파립 단독 또는 이들의 병용 처리에 따른 DU145의 세포사멸률을 분석한 결과이다.

[16] 도 8은 ARL6IP5 재조합 단백질, 시스플라틴 및 올라파립 단독 또는 이들의 병용 처리에 따른 HeLa (자궁경부암 세포주)의 세포 증식 억제 효과를 분석한 결과이다.

[17] 도 9는 ARL6IP5 재조합 단백질, 시스플라틴 및 올라파립 단독 또는 이들의 병용 처리에 따른 HeLa의 세포사멸률을 분석한 결과이다.

[18] 도 10은 3D 모델을 구축한 난소암(SKOV-3), 대장암(HT-29), 전립선암(DU145), 자궁경부암(HeLa) 세포에 시스플라틴, 올라파립, ARL6IP5 RP를 처리한 후 암세포의 형태와 크기 변화를 보여준다. control: DMSO 처리, scale bar=100 ㎛.

[19] 도 11은 3D 모델을 구축한 난소암(SKOV-3), 대장암(HT-29), 전립선암(DU145), 자궁경부암(HeLa) 세포에 시스플라틴, 올라파립, ARL6IP5 RP를 처리한 후

형성된 암세포주의 크기 변화를 측정한 결과이다. control: DMSO 처리.

[20] 도 12는 3D 모델을 구축한 난소암(SKOV-3), 대장암(HT-29), 전립선암(DU145), 자궁경부암(HeLa) 세포에 시스플라틴, 올라파립, ARL6IP5 RP를 처리한 후 세포생존률을 분석한 결과이다. control: DMSO 처리.

## 발명의 실시를 위한 최선의 형태

[21] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 ARL6IP5(ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 5) 단백질 또는 상기 ARL6IP5 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[22] ARL6IP5은 PRA1(Prenylated rab acceptor) 패밀리 단백질로서 인간에서 *ARL6IP5* 유전자에 의해 코딩되는 단백질로, ARL6IP5 단백질을 암 세포에 처리하면 암 세포의 세포증식이 억제되는 효과가 있으며, 기존 항암제인 시스플라틴(cisplatin) 및 올라파립(olaparib)에 비해 암 세포의 증식 억제 효과가 우수한 것으로 확인되었다.

[23] 본 발명에 따른 ARL6IP5 단백질의 범위는 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 갖는 단백질 및 이의의 기능적 동등물을 포함한다. "기능적 동등물"이란 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열과 적어도 70% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더 바람직하게는 90% 이상, 더욱 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 것으로, 서열번호 1로 표시되는 단백질과 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 단백질을 말한다. "실질적으로 동질의 생리활성"이란 암 예방 또는 치료에 대한 활성을 의미한다.

[24] 본 발명의 암 예방 또는 치료용 약학 조성물에서, 상기 암은 난소암, 대장암, 전립선암, 자궁경부암, 후두암, 폐암, 췌장암, 간암, 위암, 설암, 피부암, 뇌종양, 자궁암, 유방암, 신장암, 담낭암, 구강암, 결장암, 간암 및 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있고, 바람직하게는 난소암, 대장암, 전립선암 또는 자궁경부암일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[25] 본 발명의 암 예방 또는 치료용 약학 조성물에서, 상기 ARL6IP5 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터는 재조합 바이러스 벡터, 플라스미드 벡터, 코스미드 벡터 또는 박테리오파아지 벡터일 수 있으며, 바람직하게는 플라스미드 벡터인 것이지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 재조합 바이러스는 아데노바이러스, 아데노 부속 바이러스(adeno-associated virus), 레트로바이러스, 헤르페스 심플렉스 바이러스 및 렌티바이러스로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[26] 본 발명의 ARL6IP5 단백질을 포함하는 약학 조성물은 상기 유효성분 이외에 시스플라틴 및 올라파립 중 하나 이상을 추가로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[27] 본 발명의 ARL6IP5 단백질을 포함하는 약학 조성물은 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.

[28] 본 발명에 따른 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 외용제, 좌제 및 주사제의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 포함한 다양한 화합물 혹은 혼합물을 들 수 있다.

[29] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[30] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[31] 또한, 본 발명에 따른 약학 조성물의 약학적 투여 형태는 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 조합으로 사용될 수 있다. 상기 타 약학적 활성 화합물은 이에 한정되는 것은 아니나, 시스플라틴(cisplatin), 올라파립(olaparib), 독소루비신(doxorubicin), 에토포사이드(etoposide), 파클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(doxetaxel), 불소피리미딘(fluoropyrimidine), 옥살리플라틴(oxalplatin), 캄토테칸(campthotecan), 벨로테칸(Belotecan), 포도필록톡신(podophyllotoxin), 황산빈블라스틴(vinblastine sulfate), 사이클로포스파마이드(cyclophosphamide), 악티노마이신(actinomycin), 빈크리스틴 황산염(vincristine sulfate), 메토트렉세이트(methotrexate), 베바시주맙(bevacuzum ab), 탈리도마이드(thalidomide), 엘로티닙(eriotinib), 게피티닙(gefitinib), 캠토세신(camptothecin), 타목시펜(Tamoxifen), 아나스테로졸(Anasterozole), 글리벡(Gleevec), 5-플루오로우라실(5-FU), 플록슈리딘(Floxuridine), 류프로리드(Leuprolide), 플로타미드(Flutamide), 졸레드로네이트(Zoledronate), 빈크리스틴(Vincristine), 젬시타빈(Gemcitabine), 스트렙토조토신(Streptozocin), 카보플라틴(Carboplatin), 토포테칸(Topotecan), 이리노테칸(Irinotecan), 비노렐빈(Vinorelbine), 히도록시우레아(hydroxyurea), 발루비신(Valrubicin), 메클로레타민(Meclorethamine), 클로람부실(Chlorambucil), 부술판(Busulfan), 독시플루리딘(Doxifluridine), 빈블라스틴(Vinblastin), 마이토마이신(Mitomycin), 프레드니손(Prednisone), 테스토스테론(Testosterone), 미토산트론(Mitoxantron), 살리실레이트(salicylates), 나프로센(naproxen),

페노프로펜(fenoprofen), 인도메타신(indomethacin), 페닐부타존(phenyltazone), 메클로에타민(mechlorethamine), 덱사메타손(dexamethasone), 프레드니솔론(prednisolone), 셀레콕시브(celecoxib), 발데콕시브(valdecoxib), 니메슐리드(nimesulide), 코르티손(cortisone) 및 코르티코스테로이드(corticosteroid)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.

[32] 본 발명의 상기 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 따라서 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다.

[33] 본 발명은 또한, ARL6IP5(ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 5) 단백질을 유효성분으로 함유하는 항암보조제용 건강기능식품을 제공한다.

[34] 본 발명의 일 구현 예에 따른 항암보조제용 건강기능식품에서, 상기 ARL6IP5 단백질은 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 것일 수 있으며, 구체적인 범위는 전술한 것과 같다.

[35] 또한, 본 발명의 일 구현 예에 따른 항암보조제용 건강기능식품에서, 상기 암은 난소암, 대장암, 전립선암, 자궁경부암, 후두암, 폐암, 췌장암, 간암, 위암, 설암, 피부암, 뇌종양, 자궁암, 유방암, 신장암, 담낭암, 구강암, 결장암, 간암 및 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있고, 바람직하게는 난소암, 대장암, 전립선암 또는 자궁경부암일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[36] 본 발명의 일 구현 예에 따른 항암보조제용 건강기능식품에서, 상기 건강기능성 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 ARL6IP5 단백질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 음료수, 차, 드링크제 및 비타민 복합제 등이 있으며, 환제, 분말, 과립, 침제, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있고, 통상적인 의미에서의 건강기능성식품을 모두 포함한다.

[37] 상기 ARL6IP5 단백질 외에 본 발명의 건강기능성식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.

[38]

[39] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[40]

[41] **재료 및 방법**

[42] **1. ARL6IP5 과발현 세포주 제작**

[43] ARL6IP5 cDNA ORF clone은 GenScript(#oHu24499, 벡터-pcDNA3.1+/C-(K)DYK, USA)로부터 구입하였다. 24-웰 플레이트에 웰 당 $0.5\times10^5$ 세포의 농도로 SKOV-3 세포를 분주하고 웰 면적의 80% 세포분포도를 나타낼 때 Lipofectamine 2000 시약 (#11668019, Invitrogent-Thermo Fisher Scientific, USA)으로 제조사의 지침에 따라 ARL6IP5 벡터를 형질전환시켰다. 간단하게, 1 ㎍의 pcDNA3.1/ALL6IP5 플라스미드를 함유하는 50 ㎕ 무혈청 배지를 제조하고 3 ㎕ Lipofectamine 2000을 50 ㎕ 무혈청 배지에 별도로 희석시켰다. 그 후, 두 용액을 혼합하고 잘 섞은 후, 5분 동안 배양하여 융합물을 형성시켰다. 이어서, 50 ㎕의 융합물을 각 웰에 첨가하고, 플레이트를 손으로 부드럽게 흔들어 처리 용액이 웰에 잘 분산되도록 하였다. 이어서, 세포를 48시간 동안 배양하고, 처리 용액을 정상 배양 배지로 교체하여 12시간 추가 배양하였다. 이후 세포를 회수하여, 웨스턴 블롯 분석을 통해 ARL6IP5 발현을 확인 하였다.

[44]

[45] **2. ARL6IP5 재조합 단백질의 암 세포에 대한 세포 사멸능 분석**

[46] ARL6IP5 재조합 단백질의 세포 사멸 효과를 확인하기 위해, 다양한 암 세포를 이용하여 ARL6IP5 재조합 단백질 처리에 따른 세포 증식률을 분석하였다. 구체적으로, 난소암 세포주(SKOV-3), 전립선암 세포주(DU145, ATCC® HTB-81™), 대장암 세포주(HT-29, ATCC® HTB-38™) 및 자궁경부암 세포주(HeLa, ATCC® CCL-2™)를 96-웰 플레이트에 웰당 $1\times10^4$ 세포의 농도로 분주하여 24시간 동안 배양한 후, 배양한 세포에 인간 ARL6IP5 재조합 단백질(ARL6IP5 RP, #ARLIP5-9863H, Creative BioMart, USA), 시스플라틴(cis-Dichlorodiammine platinum(II), #P4394, Sigma Aldrich, USA) 및 올라파립(AZD2281, #A10111-10mM-D, Adooq Bioscience, USA)을 각기 다른 농도로 처리하고 추가로 72시간 동안 배양하였다. 그 후, EZ-cytox 세포생존 분석 키트(#DLS-1906, DoGenBioCo., Ltd.)를 사용하여 세포 증식률을 측정하였다. 각 실험은 처리구당 3반복 수행되었다.

[47] 또한, ARL6IP5 재조합 단백질 처리에 따른 세포사멸을 측정하기 위해 Hoechst 33342 염색을 수행하였다. 구체적으로, 세포($2\times10^5$ 세포/웰)를 6-웰 플레이트에 이식하여 배양기에 밤새 배양하였다. 배양된 세포에 시스플라틴(20 μM), 올라파립(25 μM) 및 ARL6IP5 재조합 단백질(2.5 ㎍/㎖)을 각각 또는 병용 처리하고 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 6-웰 플레이트에 배양된 세포를 PBS로 1회 세척한 다음, 15분 동안 5 ㎍/㎖의 Hoechst 33342를 처리하였다. 마지막으로, 세포를 PBS로 2회 세척하고 역형광 현미경(Axioskop 2 plus microscope, Carl Zeiss, Germany)으로 관찰하였다. 세포사멸 핵은 중첩되지 않은 5개 영역에서 산출되었으며, 산출된 총 핵 수의 백분율로 표현되었다.

[48]

[49] **3. 3D 세포 모델 구축**

[50] 3-1. 단일 세포 현탁액 준비:

[51] 각각의 암 세포를 트립신을 처리하여 단일 세포로 분리될 때까지 37℃에 배양하였다. 배지 2 ㎖을 첨가하여 트립신 활성을 중단시키고 5 ㎖ 피펫을 사용하여 세포액을 현탁시켰다. 세포를 15 ㎖ 튜브로 옮겨 2,000 rpm에서 4분 동안 원심분리시켰다. 상층액을 버리고 배지 1 ㎖로 펠릿을 세척하였다. 세포를 배지 2 ㎖에 재현탁시키고 세포 수를 계수하여 $2\times10^6$ 세포/㎖로 준비하였다.

[52]

[53] 3-2. 매달린 방울모양 형성:

[54] 60 mm 조직 배양 접시에서 뚜껑을 제거하고 접시 바닥에 PBS 5 ㎖을 놓는다. 이는 수화 챔버 역할을 한다. 뚜껑을 뒤집고 피펫을 사용하여 뚜껑 바닥에 세포 현탁액 20 ㎕를 한 방울씩 떨어뜨렸다. 이 때, 각 방울끼리 서로 닿지 않도록 적정한 거리를 두고 접시당 최소 20 방울을 떨어 뜨려 놓는다. 뚜껑을 PBS로 채워진 바닥 챔버에 덮고 37℃, 5% $CO_2$, 95% 습도 조건에서 배양하고 매일 방울 모양을 모니터링하였다. 세포 시트 또는 응집체가 형성될 때까지 배양하였다. 입체 현미경을 사용하여 응집체 형성을 평가하였다.

[55]

[56] **4. 3D 세포 모델을 이용한 세포 생존율 분석**

[57] 전술한 방법을 통해 세포 시트가 형성되면, 배지를 포함한 1% 폴리-2-하이드록실에틸메타크릴레이트(poly-2-hydroxylethyl methacrylate, poly-HEMA) 코팅 플레이트로 세포 시트를 옮기고 DMSO(대조군), 시스플라틴, 올라파립, ARL6IP5 재조합 단백질(ARL6IP5 RP)을 각각 처리하여 37℃, 5% $CO_2$, 95% 습도 조건에서 배양하였다. 세포생존률은 EZ-cytox 세포생존 분석 키트를 사용하여 약물처리 72시간 후에 측정하였다. 3D 배양실험은 7일째 되는 날 inverted contrast microscopy로 관찰하여 촬영하였다.

[58]

[59] **실시예 1. ARL6IP5 과발현 세포의 세포 증식률 분석**

[60] ARL6IP5의 암 세포 증식 억제에 미치는 영향을 알아보기 위해, ARL6IP5를 과발현하는 SKOV-3 세포주를 제작한 후 생장률을 비교해 보았다. 그 결과, 도 1에 개시된 것과 같이 ARL6IP5를 과발현하는 SKOV-3 세포주(ARL6IP5++)는 일반 SKOV-3 세포주(control)에 비해 세포 증식이 감소되었음을 확인할 수 있었다. 또한, SKOV-3 세포주에 ARL6IP5의 발현을 저해시키기 위해 siRNA를 처리한 결과(siRNA_ARL6IP5), 일반 SKOV-3 세포주(control)에 비해 세포 증식이 증가됨을 알 수 있었다.

[61] 또한, ARL6IP5를 과발현하는 SKOV-3 세포주에 항암제 시스플라틴(cisplatin)을 처리한 결과, SKOV-3 세포주(control), ARL6IP5의 발현을 저해시키기 위해 siRNA를 처리한 SKOV-3 세포주(siRNA_ARL6IP5) 및 siRNA 처리 대조구 SKOV-3(scramble)에 비해 ARL6IP5를 과발현하는 SKOV-3 세포주(ARL6IP5++)에서 세포 사멸률이 가장 높은 것을 알 수 있었다(도 2).

이상의 결과를 통해, ARL6IP5가 암 세포의 증식을 억제하는 효과가 있고, 항암제에 대한 암 세포의 민감도를 증가시킴을 알 수 있었다.

[62]

[63] **실시예 2. 다양한 암 세포에 대한 ARL6IP5의 항암 효과 분석**

[64] 난소암(SKOV-3), 대장암(HT-29), 전립선암(DU145), 자궁경부암(HeLa) 세포에 대한 ARL6IP5의 항암 효과를 확인하기 위해서, 각각의 세포주에 ARL6IP5 재조합 단백질(ARL6IP5 RP), 시스플라틴 및 올리파립을 단독 혹은 병용 처리하여 세포 사멸률을 분석하였다. 상기 시스플라틴, 올라파립 및 ARL6IP5 RP의 처리 농도는 각각의 세포주에서 해당 약물의 50% 억제 농도를 측정하여 처리하였다(표 1).

[65] [표1]

항암제 및 ARL6IP5 RP 처리 농도

| 세포주 | 시스플라틴 (μM) | 올라파립 (μM) | ARL6IP5 RP (㎍/㎖) |
|---|---|---|---|
| SKOV-3 | 20 | 25 | 2.5 |
| HT-29 | 22 | 24 | 3.5 |
| DU145 | 9 | 12 | 2 |
| HeLa | 10 | 14 | 1.5 |

[66] 그 결과, 난소암(도 3), 대장암(도 4 및 도 5), 전립선암(도 6 및 도 7) 및 자궁경부암(도 8 및 도 9) 세포 모두에 대해서 기존 항암제인 시스플라틴 및 올라파립에 비해 ARL6IP5 RP가 우수한 세포 사멸능을 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

[67]

[68] **실시예 3. 3D 세포 모델을 이용한 ARL6IP5의 항암 효과 분석**

[69] 본 발명자는 *in vivo* 환경과 유사한 세포 조건을 만들기 위해, 3D 세포 모델을 구축하였다. 그 후, 3D 세포 모델을 이용하여 ARL6IP5의 항암 효과를 분석하였다.

[70] 3D 모델을 구축한 난소암(SKOV-3), 대장암(HT-29), 전립선암(DU145), 자궁경부암(HeLa) 세포에 DMSO(대조군), 시스플라틴, 올라파립, ARL6IP5 RP를 각각 처리하고, 각 암 세포의 모양과 크기를 비교하였다. 항암제와 ARL6IP5 RP 처리 농도는 표 3과 같다. 그 결과, 모든 암에서 시스플라틴, 올라파립 및 ARL6IP5 RP 처리군에서 대조군 대비 3D 세포의 크기가 줄어들었음을 확인할 수 있다(도 10).

[71] 또한, 각 암세포의 크기를 Image J를 사용해 측정하여 그래프로 비교한 결과에서도, 모든 암에서 시스플라틴, 올라파립 및 ARL6IP5 RP 처리군에서 대조군 대비 암 세포의 크기가 감소되었음을 알 수 있었다(도 11). 특히, 난소암(SKOV-3) 및 전립선암(DU145)에서 ARL6IP5 RP 처리군이 기존 항암제인

시스플라틴 및 올라파립 처리군에 비해 암 세포의 크기가 더욱 작은 것을 알 수 있었다.

[72] 또한, 세포생존률을 측정한 결과, 시스플라틴, 올라파립 및 ARL6IP5 RP 처리군에서 대조군 대비 세포생존률이 낮은 것으로 확인되었다(도 12). 특히, 올라파립과 ARL6IP5 RP 처리군이 모든 암 세포에서 세포생존률이 낮았고, ARL6IP5 RP 처리군은 난소암(SKOV-3) 및 자궁경부암(HeLa)에서 세포생존률이 가장 낮게 확인되었다.

# 청구범위

[청구항 1] ARL6IP5(ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 5) 단백질 또는 상기 ARL6IP5 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 암은 난소암, 대장암, 전립선암, 자궁경부암, 후두암, 폐암, 췌장암, 간암, 위암, 설암, 피부암, 뇌종양, 자궁암, 유방암, 신장암, 담낭암, 구강암, 결장암, 간암 및 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 ARL6IP5 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터는 재조합 바이러스 벡터, 플라스미드 벡터, 코스미드 벡터 또는 박테리오파아지 벡터인 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 재조합 바이러스는 아데노바이러스, 아데노 부속 바이러스(adeno-associated virus), 레트로바이러스, 헤르페스 심플렉스 바이러스 및 렌티바이러스로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

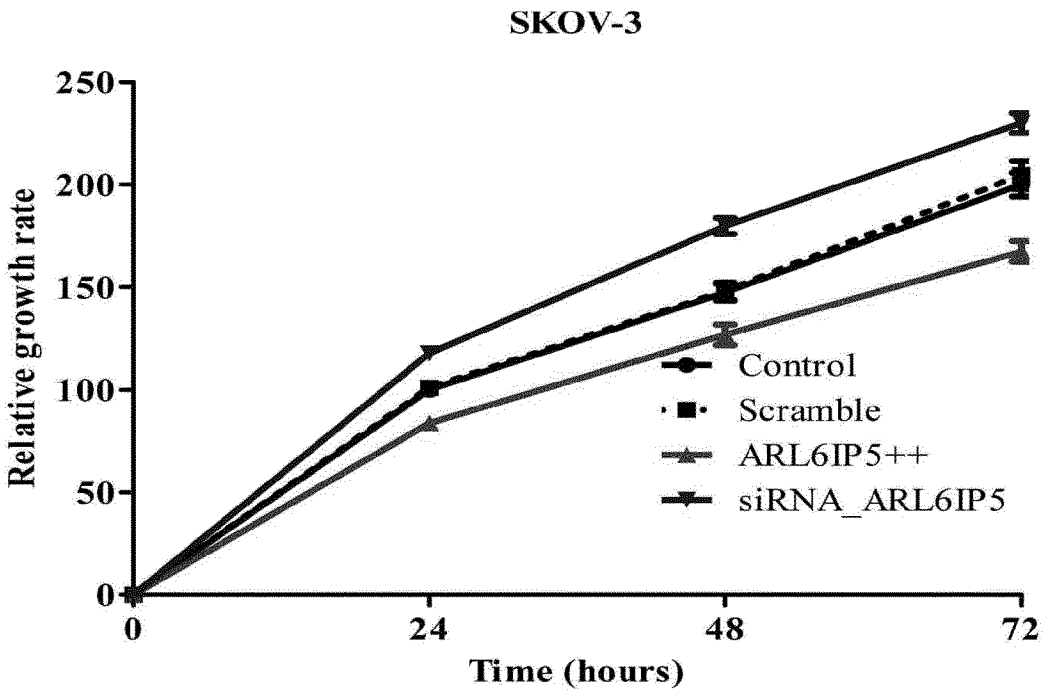
[청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 유효성분 이외에 시스플라틴 및 올라파립 중 하나 이상을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

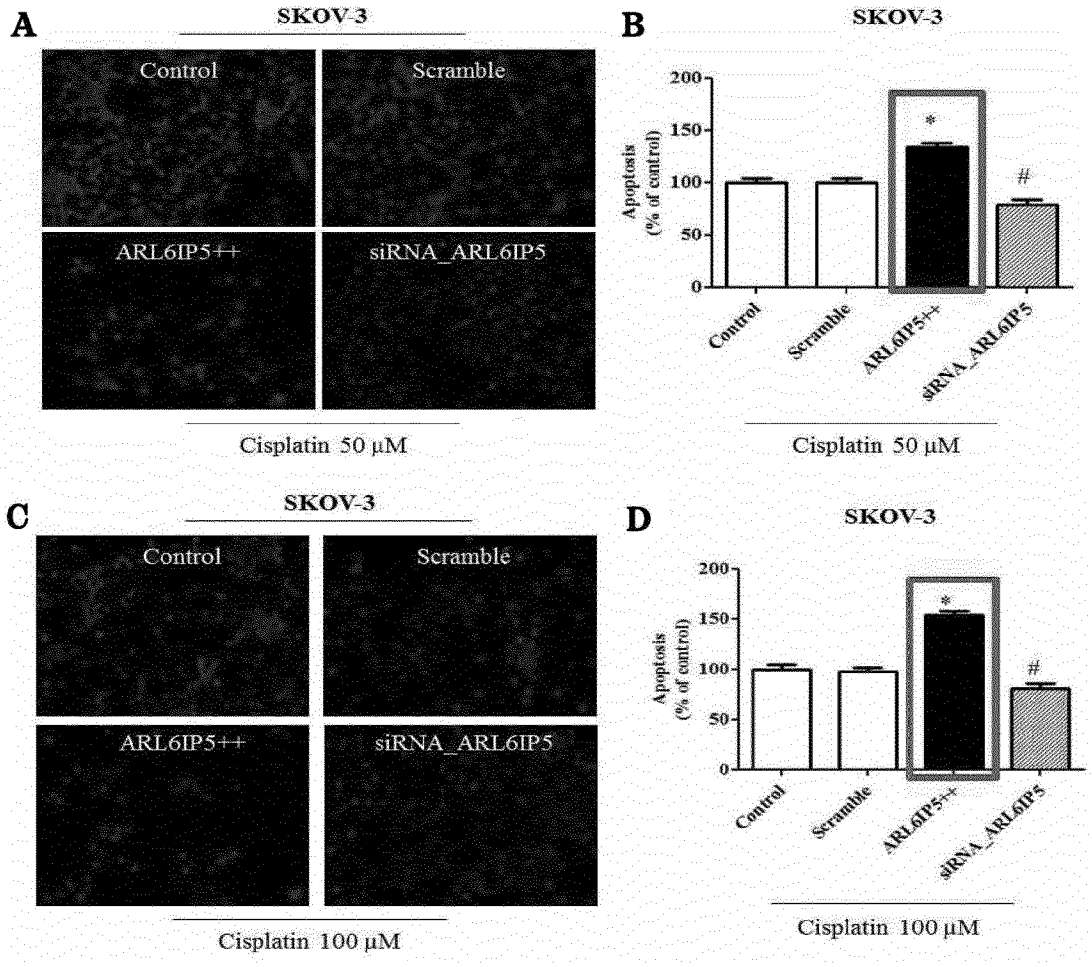
[청구항 7] ARL6IP5(ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 5) 단백질을 유효성분으로 함유하는 항암보조제용 건강기능식품.

[청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 암은 난소암, 대장암, 전립선암, 자궁경부암, 후두암, 폐암, 췌장암, 간암, 위암, 설암, 피부암, 뇌종양, 자궁암, 유방암, 신장암, 담낭암, 구강암, 결장암, 간암 및 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 항암보조제용 건강기능식품.

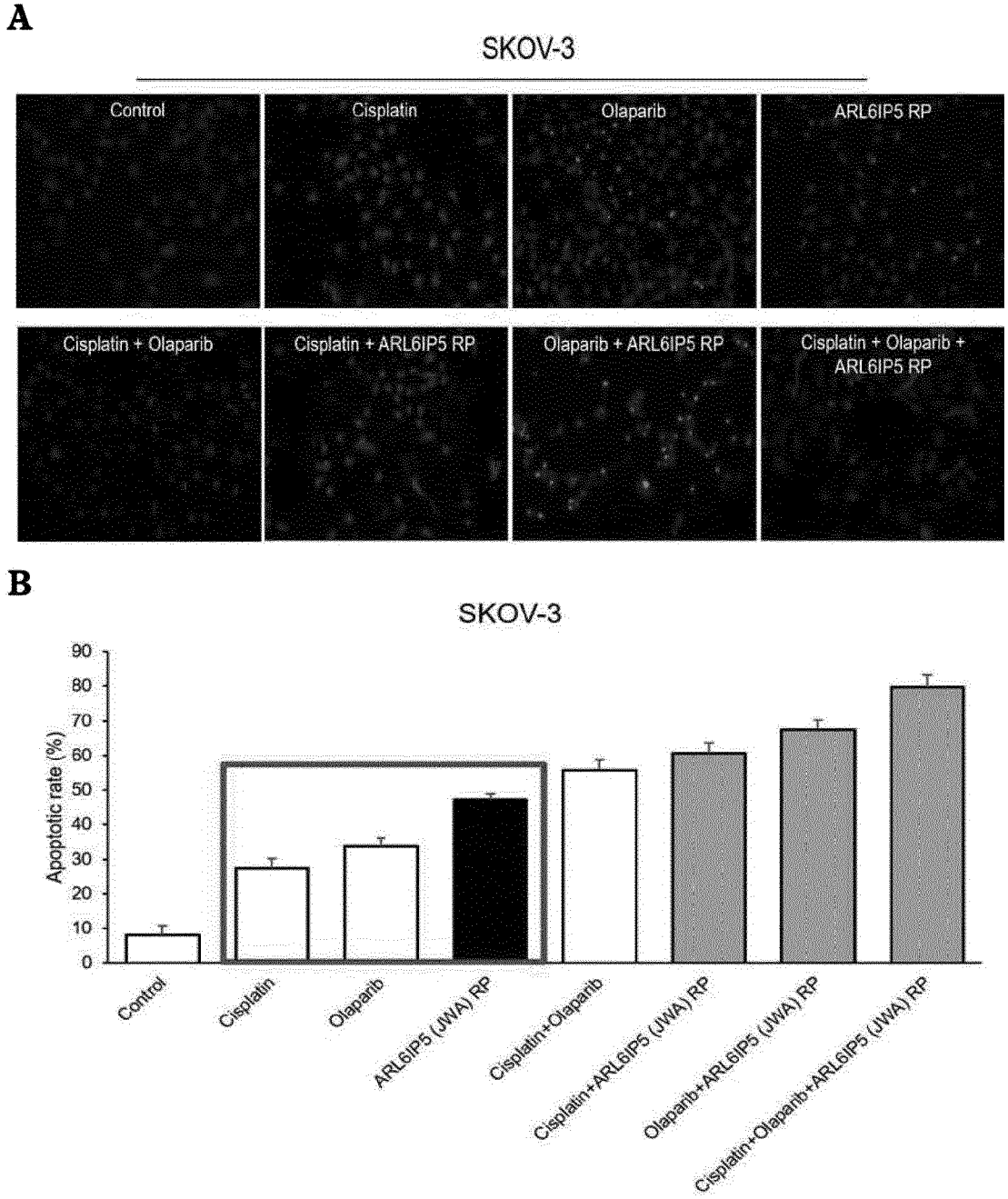
[도1]


SKOV-3
Relative growth rate
250
200
150
100
50
0
0
24
48
72
Time (hours)
Control
Scramble
ARL6IP5++
siRNA_ARL6IP5

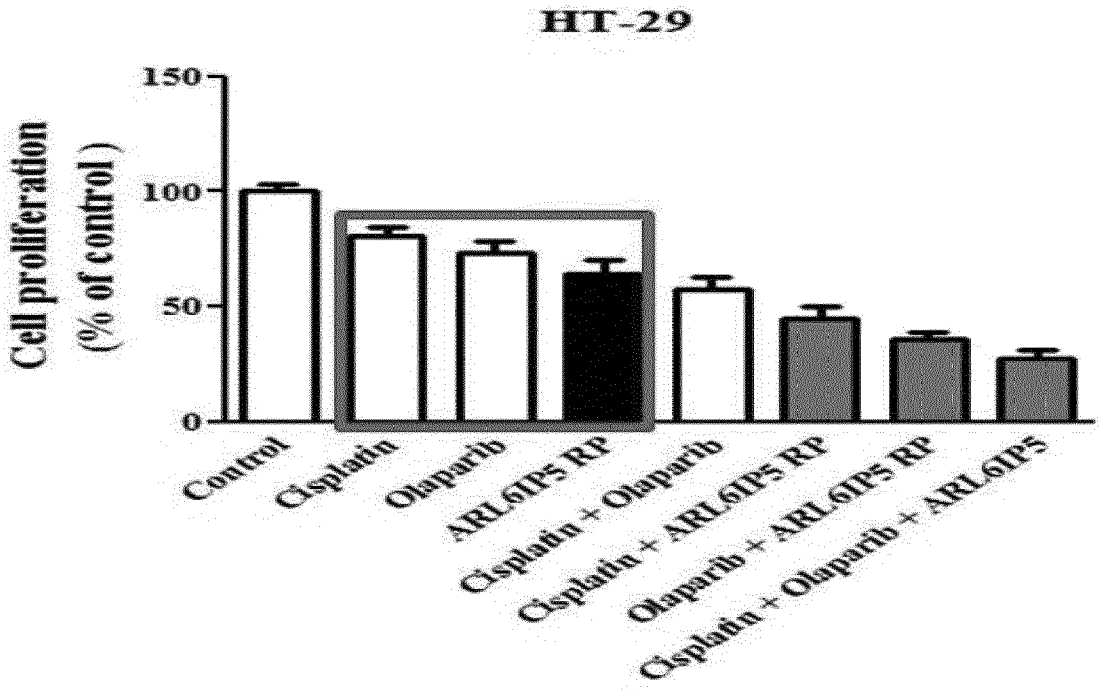
[도2]


A
SKOV-3
Control
Scramble
ARL6IP5++
siRNA_ARL6IP5
Cisplatin 50 μM
B
SKOV-3
Apoptosis (% of control)
200
150
100
50
0
*
#
Control
Scramble
ARL6IP5++
siRNA_ARL6IP5
Cisplatin 50 μM
C
SKOV-3
Control
Scramble
ARL6IP5++
siRNA_ARL6IP5
Cisplatin 100 μM
D
SKOV-3
Apoptosis (% of control)
200
150
100
50
0
*
#
Control
Scramble
ARL6IP5++
siRNA_ARL6IP5
Cisplatin 100 μM

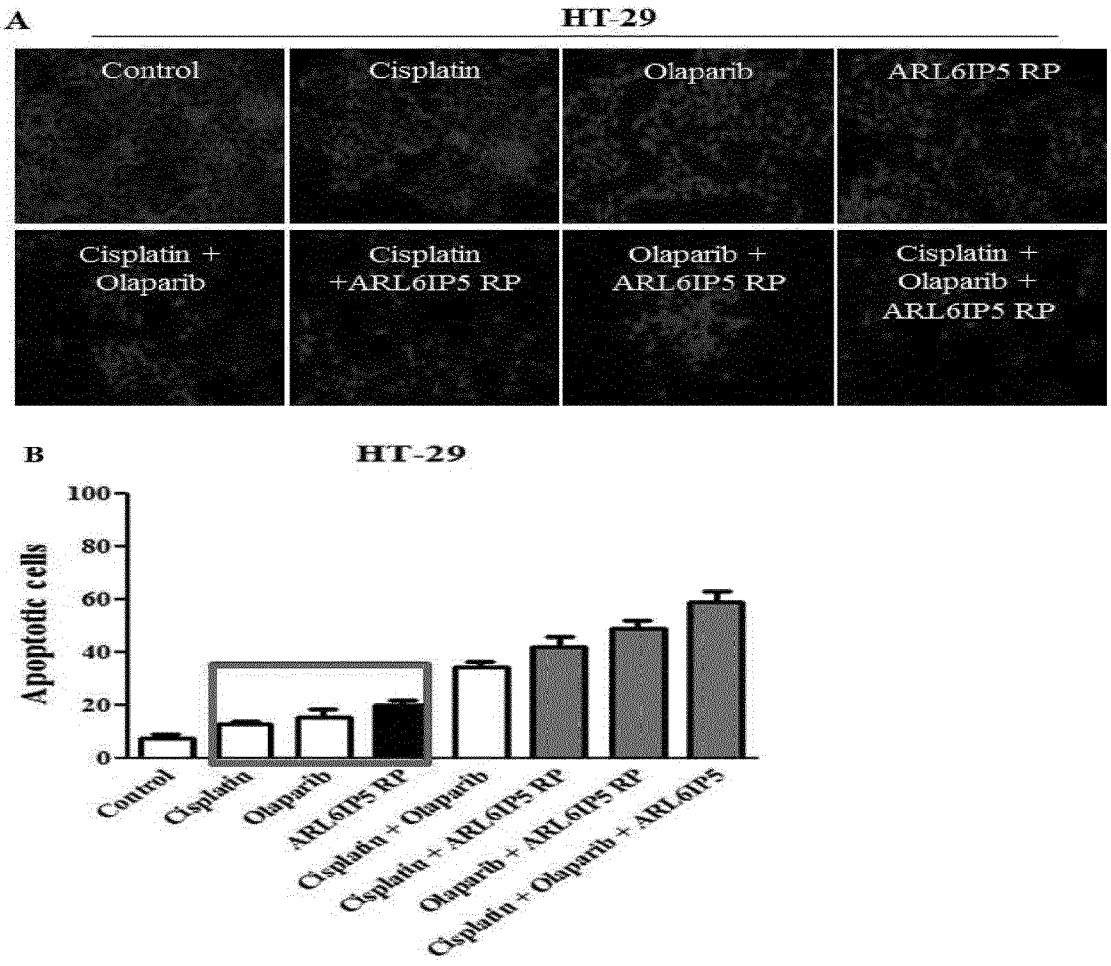
[도3]


A
SKOV-3
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin + ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5 RP
B
SKOV-3
Apoptotic rate (%)
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 (JWA) RP
Cisplatin+Olaparib
Cisplatin+ARL6IP5 (JWA) RP
Olaparib+ARL6IP5 (JWA) RP
Cisplatin+Olaparib+ARL6IP5 (JWA) RP

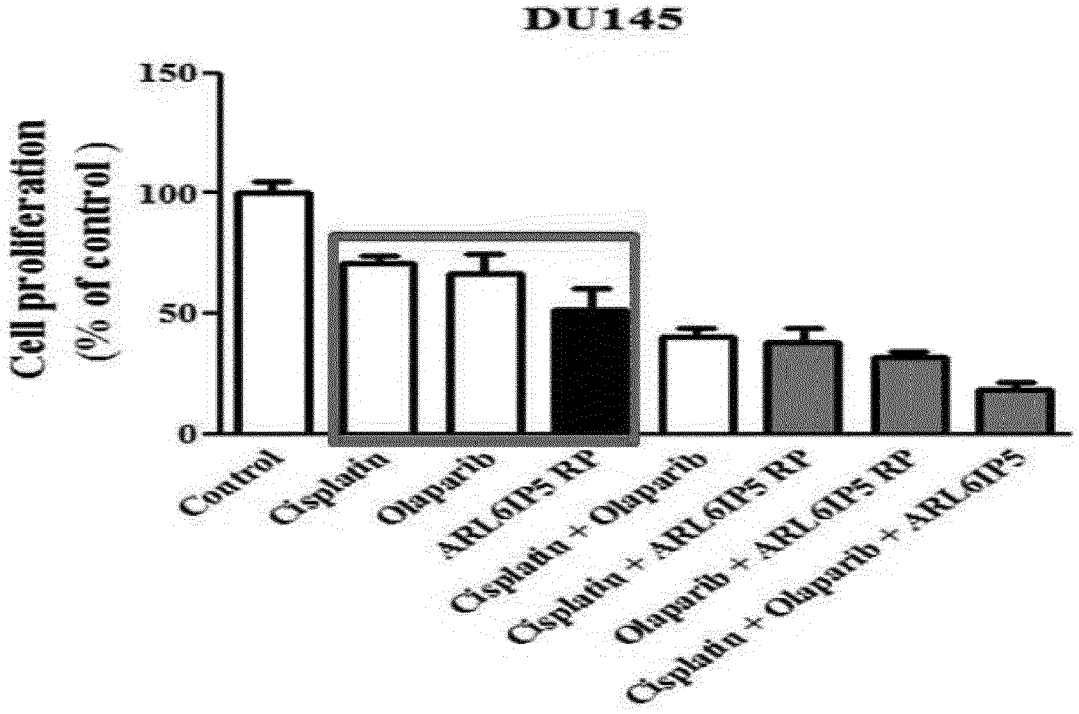
[도4]


HT-29
Cell proliferation (% of control)
150
100
50
0
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin + ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5

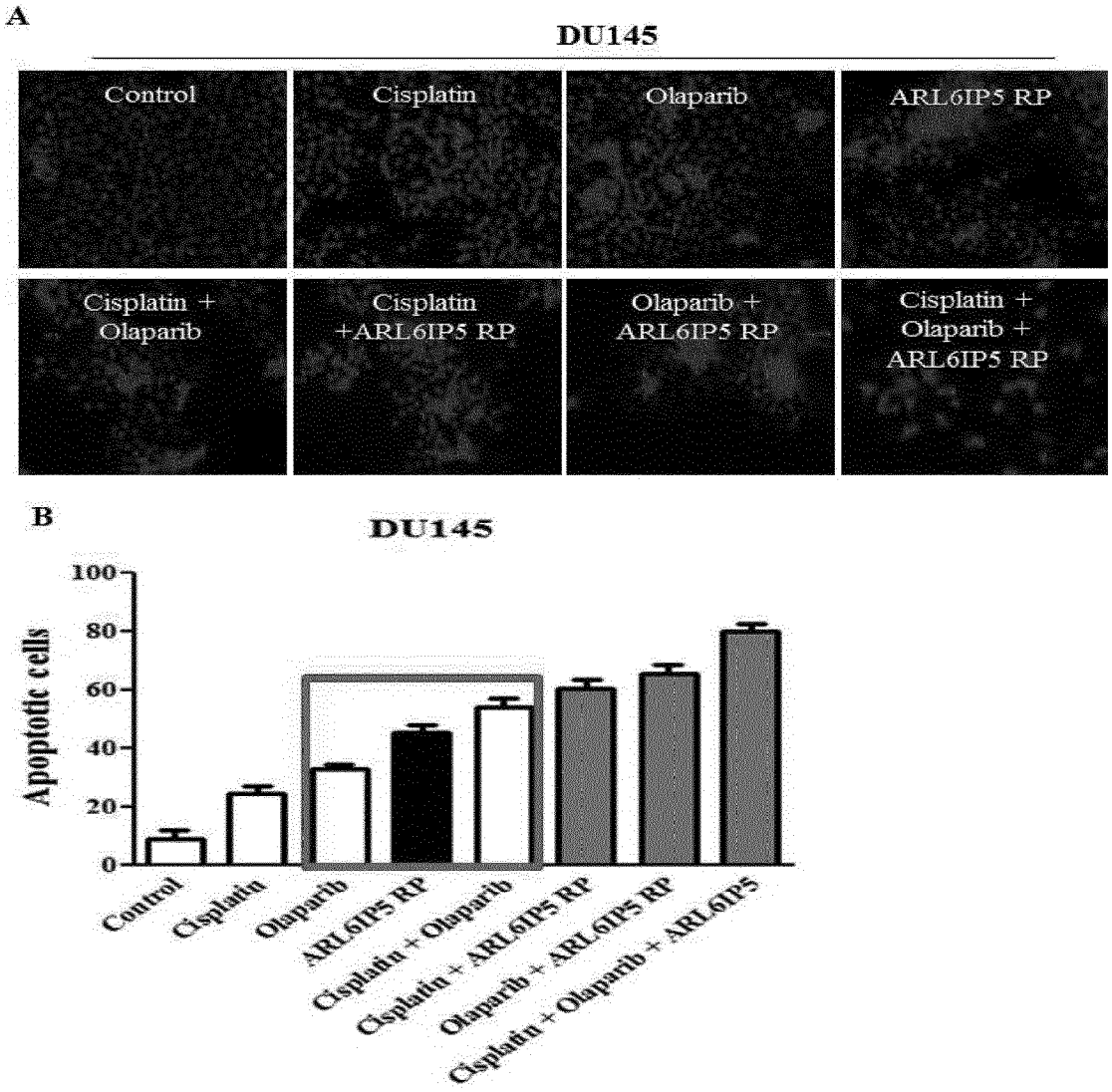
[도5]


A
HT-29
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin +ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5 RP
B
HT-29
Apoptotic cells
100
80
60
40
20
0
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin + ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5

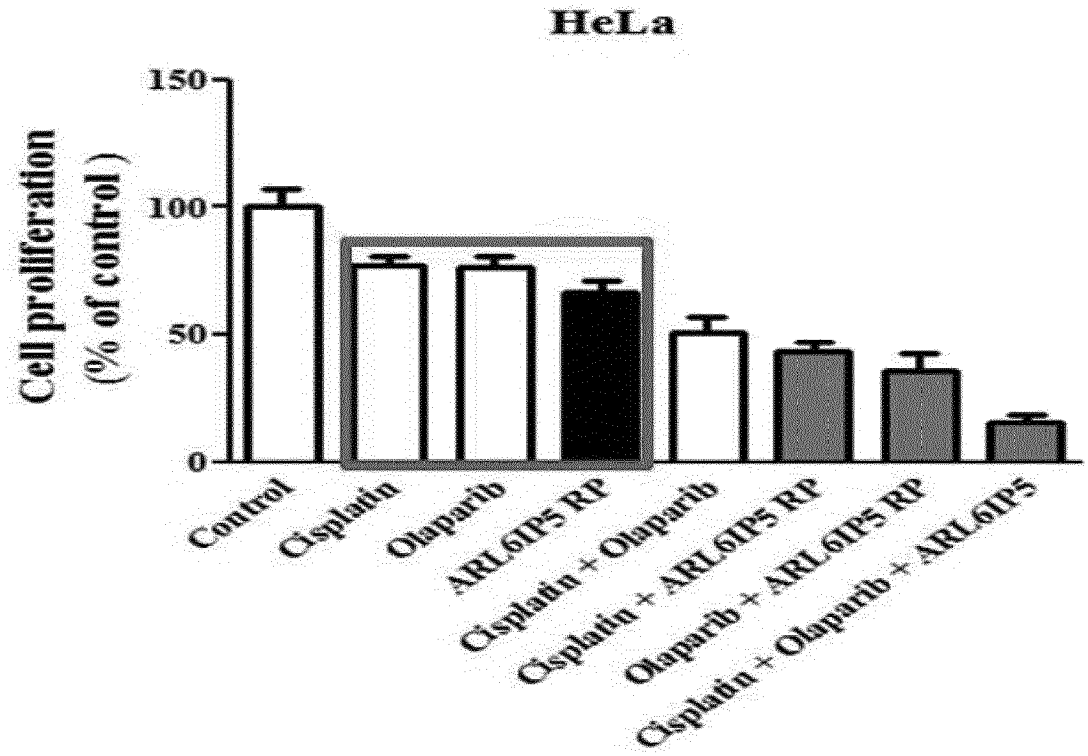
[도6]


DU145
Cell proliferation (% of control)
150
100
50
0
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin + ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5

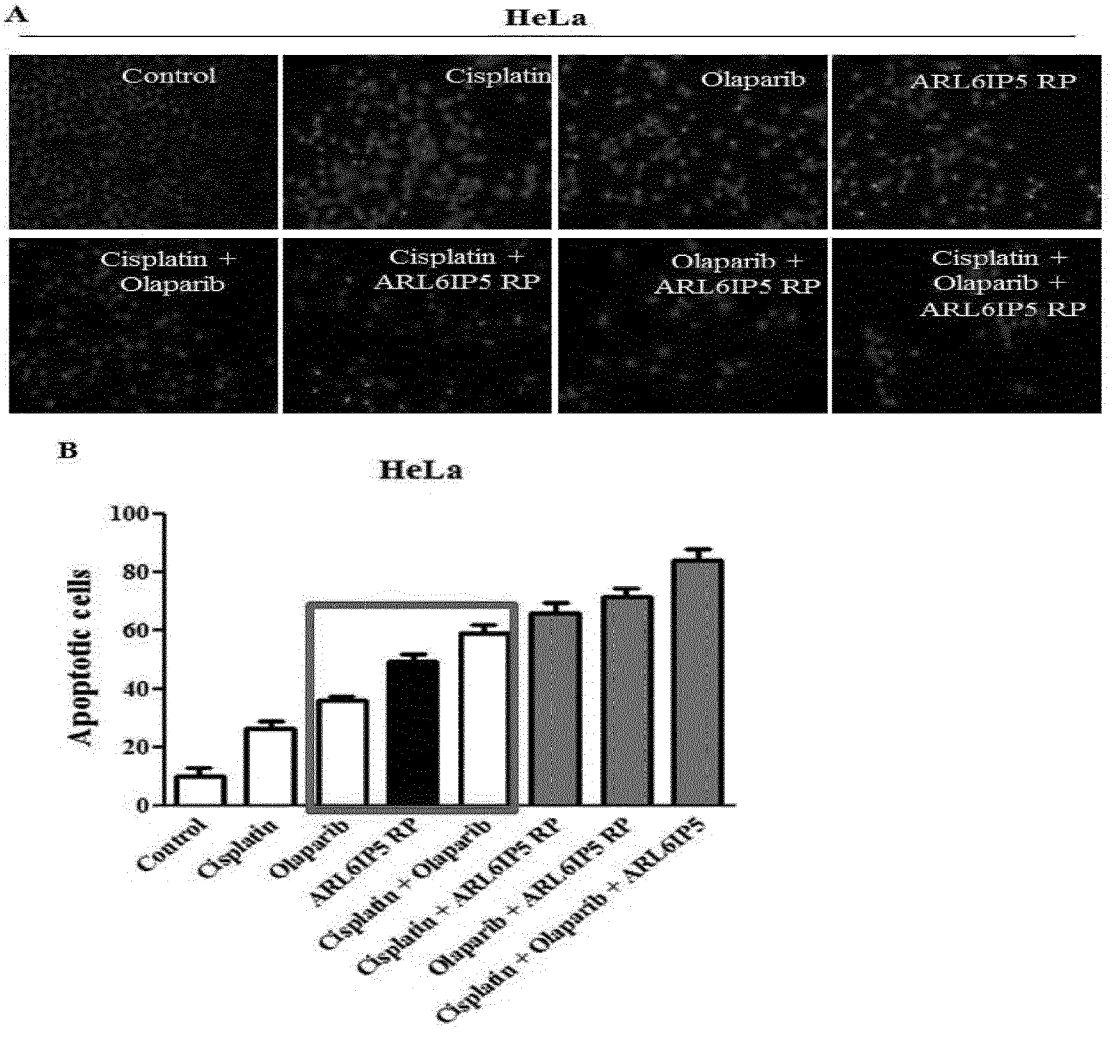
[도7]


A
DU145
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin +ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5 RP
B
DU145
Apoptotic cells
100
80
60
40
20
0
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin + ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5

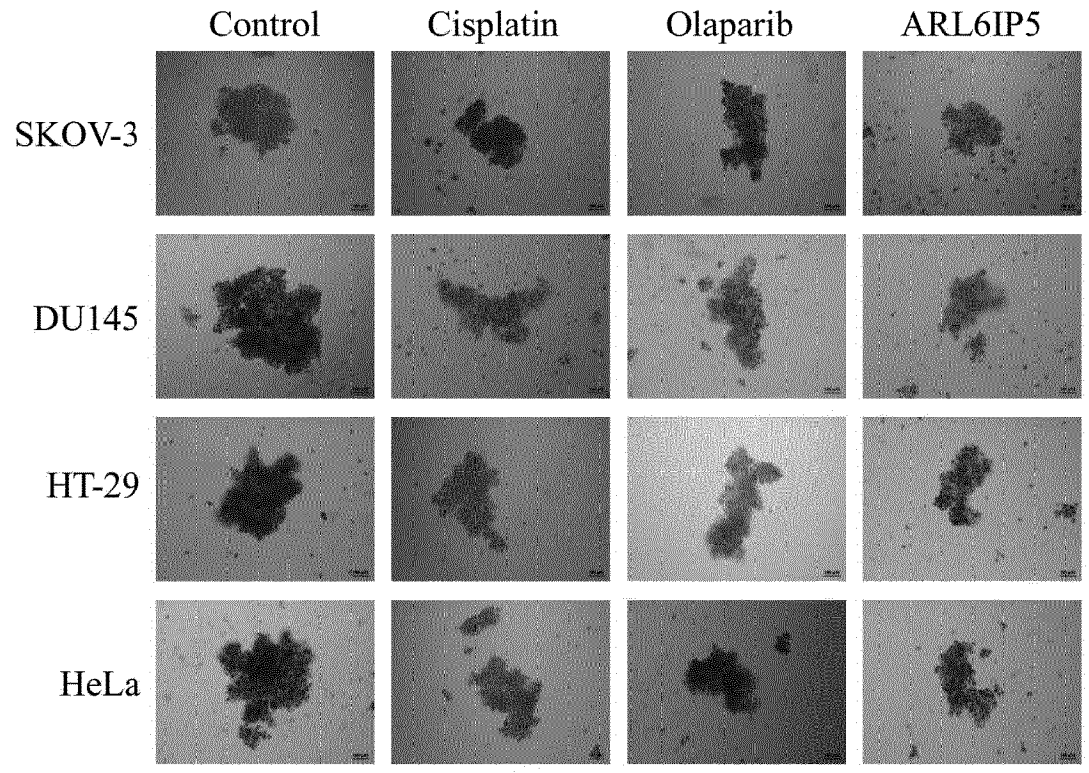
[도8]


HeLa
Cell proliferation (% of control)
150
100
50
0
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin + ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5

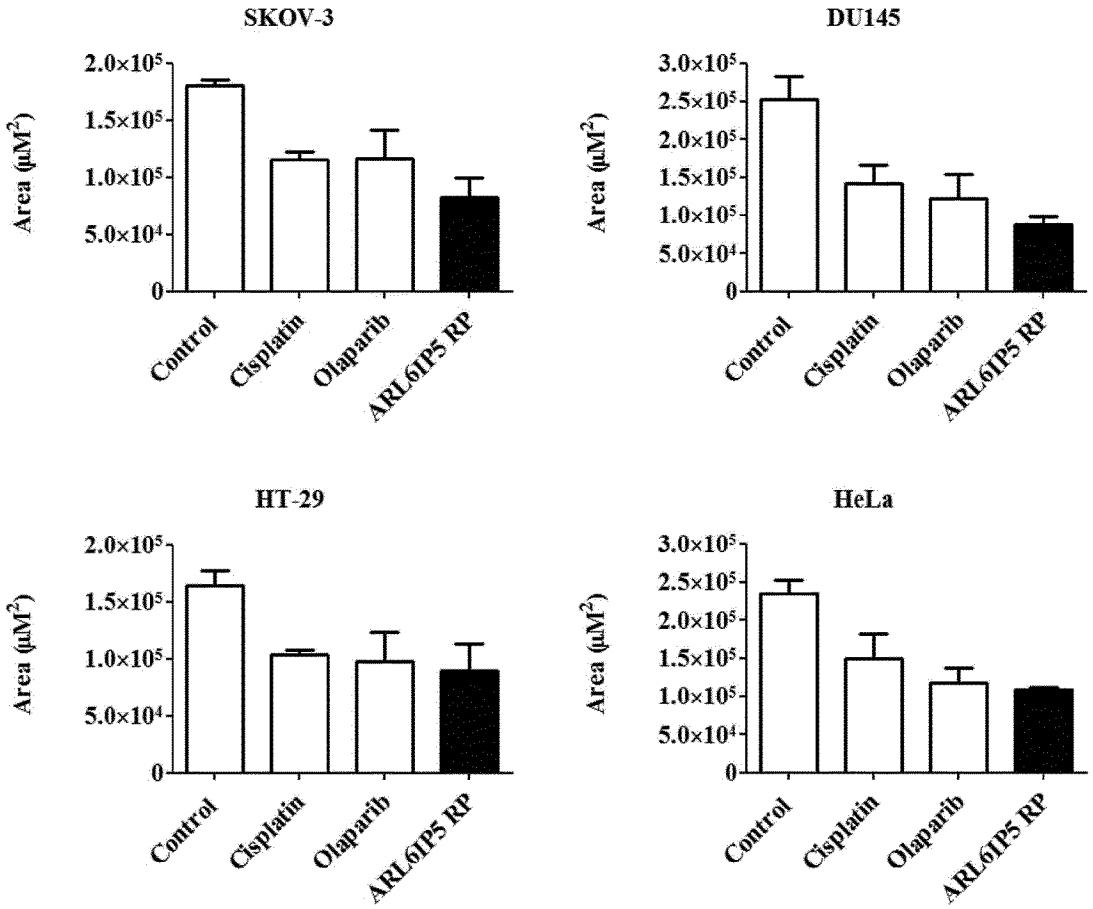
[도9]


A
HeLa
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin + ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5 RP
B
HeLa
Apoptotic cells
100
80
60
40
20
0
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib
Cisplatin + ARL6IP5 RP
Olaparib + ARL6IP5 RP
Cisplatin + Olaparib + ARL6IP5

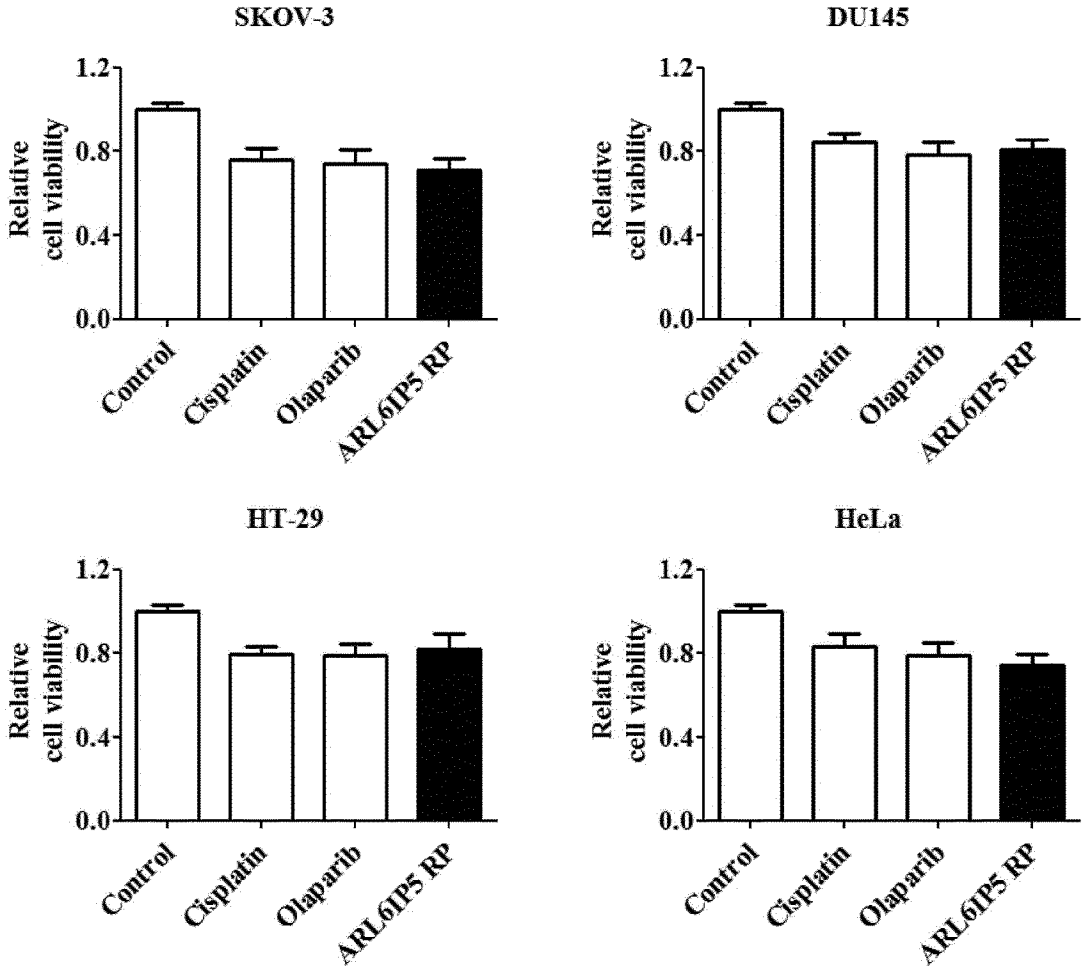
[도10]


Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5
SKOV-3
DU145
HT-29
HeLa

[도11]


SKOV-3
DU145
HT-29
HeLa
Area (μM²)
2.0×10⁵
1.5×10⁵
1.0×10⁵
5.0×10⁴
0
3.0×10⁵
2.5×10⁵
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP

[도12]


SKOV-3
DU145
HT-29
HeLa
Relative cell viability
1.2
0.8
0.4
0.0
Control
Cisplatin
Olaparib
ARL6IP5 RP

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
**PCT/KR2021/013182**

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

**A61K 38/17**(2006.01)i; **A61K 33/243**(2019.01)i; **A61K 31/502**(2006.01)i; **A61P 35/00**(2006.01)i; **A23L 33/17**(2016.01)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 38/17(2006.01); A61K 33/243(2019.01); A61K 38/08(2006.01); A61K 38/10(2006.01); A61P 35/00(2006.01); C07D 267/22(2006.01); C07D 277/82(2006.01)

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: ARL6IP5(ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 5), 항암(anti-cancer)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | CN 103239710 B (NANJING MEDICAL UNIVERSITY) 24 September 2014 (2014-09-24)<br>See abstract; paragraphs [0004]-[0005], [0008] and [0066]; and claims 3-4. | 1-8 |
| A | CN 110437176 A (ZHOU, Jianwei) 12 November 2019 (2019-11-12)<br>See entire document. | 1-8 |
| A | XU, W et al. JWA reverses cisplatin resistance via the CK2—XRCC1 pathway in human gastric cancer cells. Cell Death and Disease. 2014, vol. 5, e1551.<br>See entire document. | 1-8 |
| A | WO 2012-061754 A2 (THE BROAD INSTITUTE, INC. et al.) 10 May 2012 (2012-05-10)<br>See entire document. | 1-8 |
| PX | KR 10-2285771 B1 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY et al.) 05 August 2021 (2021-08-05)<br>See abstract; paragraphs [0009], [0011] and [0027]-[0028]; and claims 1, 3 and 5. | 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"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 | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| **30 December 2021** | **31 December 2021** |

| Name and mailing address of the ISA/KR | Authorized officer |
|---|---|
| **Korean Intellectual Property Office**<br>**Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208** | |
| Facsimile No. **+82-42-481-8578** | Telephone No. |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
**Information on patent family members**

International application No.
**PCT/KR2021/013182**

| Patent document cited in search report | | | Publication date (day/month/year) | Patent family member(s) | | | Publication date (day/month/year) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CN | 103239710 | B | 24 September 2014 | CN | 103239710 | A | 14 August 2013 |
| | | | | EP | 2998312 | A1 | 23 March 2016 |
| | | | | EP | 2998312 | A4 | 31 August 2016 |
| | | | | EP | 2998312 | B1 | 29 November 2017 |
| | | | | JP | 2016-520071 | A | 11 July 2016 |
| | | | | JP | 6298960 | B2 | 28 March 2018 |
| | | | | US | 2016-0068570 | A1 | 10 March 2016 |
| | | | | US | 9745345 | B2 | 29 August 2017 |
| | | | | WO | 2014-183491 | A1 | 20 November 2014 |
| CN | 110437176 | A | 12 November 2019 | CN | 110437176 | B | 03 August 2021 |
| | | | | CN | 113402479 | A | 17 September 2021 |
| | | | | US | 2021-0047313 | A1 | 18 February 2021 |
| | | | | WO | 2021-027045 | A1 | 18 February 2021 |
| WO | 2012-061754 | A2 | 10 May 2012 | US | 2013-0317043 | A1 | 28 November 2013 |
| | | | | US | 8741905 | B2 | 03 June 2014 |
| | | | | WO | 2012-061754 | A3 | 02 August 2012 |
| KR | 10-2285771 | B1 | 05 August 2021 | None | | | |

# 국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
**PCT/KR2021/013182**

**A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))**

**A61K 38/17**(2006.01)i; **A61K 33/243**(2019.01)i; **A61K 31/502**(2006.01)i; **A61P 35/00**(2006.01)i; **A23L 33/17**(2016.01)i

**B. 조사된 분야**

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 38/17(2006.01); A61K 33/243(2019.01); A61K 38/08(2006.01); A61K 38/10(2006.01); A61P 35/00(2006.01); C07D 267/22(2006.01); C07D 277/82(2006.01)

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: ARL6IP5(ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 5), 항암(anti-cancer)

**C. 관련 문헌**

| 카테고리* | 인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재 | 관련 청구항 |
|---|---|---|
| X | CN 103239710 B (NANJING MEDICAL UNIVERSITY) 2014.09.24<br>요약; 단락 [0004]-[0005], [0008], [0066]; 및 청구항 3-4 참조. | 1-8 |
| A | CN 110437176 A (ZHOU, JIANWEI) 2019.11.12<br>전체 문헌 참조. | 1-8 |
| A | XU, W 등, "JWA reverses cisplatin resistance via the CK2—XRCC1 pathway in human gastric cancer cells." Cell Death and Disease, 2014, 5권, e1551<br>전체 문헌 참조. | 1-8 |
| A | WO 2012-061754 A2 (THE BROAD INSTITUTE, INC. 등) 2012.05.10<br>전체 문헌 참조. | 1-8 |
| PX | KR 10-2285771 B1 (경상국립대학교산학협력단 등) 2021.08.05<br>요약; 단락 [0009], [0011], [0027]-[0028]; 및 청구항 1, 3, 5 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
"D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 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 | 국제조사보고서 발송일 |
|---|---|
| **2021년12월30일(30.12.2021)** | **2021년12월31일(31.12.2021)** |


ISA/KR의 명칭 및 우편주소

**대한민국 특허청**
**(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)**

팩스 번호 **+82-42-481-8578**

심사관

**한인호**

전화번호 **+82-42-481-3362**

# 국 제 조 사 보 고 서
## 대응특허에 관한 정보

국제출원번호
**PCT/KR2021/013182**

| 국제조사보고서에서 인용된 특허문헌 | 공개일 | 대응특허문헌 | 공개일 |
|---|---|---|---|
| CN 103239710 B | 2014/09/24 | CN 103239710 A | 2013/08/14 |
| | | EP 2998312 A1 | 2016/03/23 |
| | | EP 2998312 A4 | 2016/08/31 |
| | | EP 2998312 B1 | 2017/11/29 |
| | | JP 2016-520071 A | 2016/07/11 |
| | | JP 6298960 B2 | 2018/03/28 |
| | | US 2016-0068570 A1 | 2016/03/10 |
| | | US 9745345 B2 | 2017/08/29 |
| | | WO 2014-183491 A1 | 2014/11/20 |
| CN 110437176 A | 2019/11/12 | CN 110437176 B | 2021/08/03 |
| | | CN 113402479 A | 2021/09/17 |
| | | US 2021-0047313 A1 | 2021/02/18 |
| | | WO 2021-027045 A1 | 2021/02/18 |
| WO 2012-061754 A2 | 2012/05/10 | US 2013-0317043 A1 | 2013/11/28 |
| | | US 8741905 B2 | 2014/06/03 |
| | | WO 2012-061754 A3 | 2012/08/02 |
| KR 10-2285771 B1 | 2021/08/05 | 없음 | |