



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0073160
(43) 공개일자 2015년06월30일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/00 (2006.01) A61K 39/05 (2006.01)
A61K 39/08 (2006.01) A61K 39/09 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A61K 39/0018 (2013.01)
A61K 39/05 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-7004864</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2013년10월03일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2015년02월25일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2013/070647</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2014/053607
국제공개일자 2014년04월10일</p> <p>(30) 우선권주장
61/744,880 2012년10월03일 미국(US)
61/799,123 2013년03월15일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.
벨기에 리젠사르트 루 드 린스티튜트 89 (우편번호: 비-1330)</p> <p>(72) 발명자
콘토르니 마리오
이탈리아 아이-53100 시에나 비아 피오렌티나 노바티스 백신즈 앤드 다이아그노스틱스 에스.알.엘. 내
그란드 귀이도
이탈리아 아이-53100 시에나 비아 피오렌티나 노바티스 백신즈 앤드 다이아그노스틱스 에스.알.엘. 내
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
송봉식, 정삼영</p> |
|--|---|

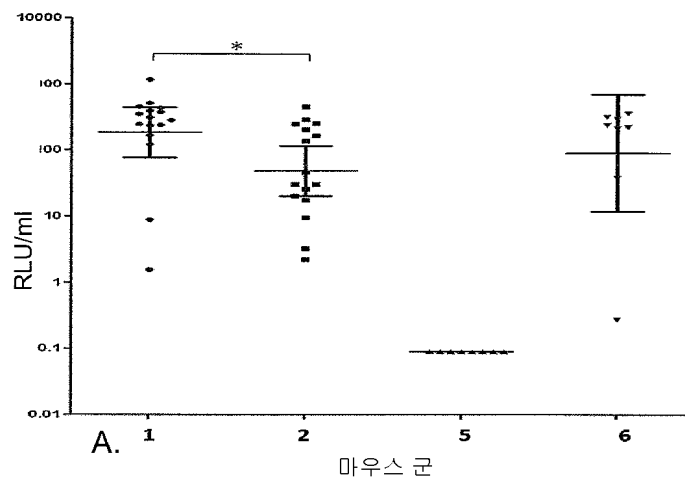
전체 청구항 수 : 총 50 항

(54) 발명의 명칭 **면역원성 조성물**

(57) 요약

본 발명은 하나 이상의 GBS 컨주게이트 및 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 과상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 면역원성 조성물을 제공하는데, 각 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 B군 스트렙토코쿠스 캡슐 당류이다. 본 발명은 또한 환자에서 면역 반응을 일으키는 방법을 제공하는데, 본 발명의 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 39/08 (2013.01)

A61K 39/092 (2013.01)

A61K 2039/55505 (2013.01)

A61K 2039/6037 (2013.01)

A61K 2039/70 (2013.01)

(72) 발명자

마리오네 도메니코

이탈리아 아이-53100 시에나 비아 피오렌티나 노바
티스 백신즈 앤드 다이아그노스틱스 에스.알.엘.
내

마가리트 와이 로스 임마쿨라다

이탈리아 아이-53100 시에나 비아 피오렌티나 노바
티스 백신즈 앤드 다이아그노스틱스 에스.알.엘.
내

명세서

청구범위

청구항 1

하나 이상의 GBS 컨주게이트 및 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 과상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 면역원성 조성물로서, 각각의 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 B군 스트렙토코쿠스 캡슐 당류인 면역원성 조성물.

청구항 2

제1 항에 있어서, GBS 컨주게이트는 i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트; ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트; 및/또는 iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트를 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 3

제1 항 또는 제2 항에 있어서, i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트 및 iv) 디프테리아 변독소를 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 4

제1 항 또는 제2 항에 있어서, i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트 및 iv) 과상풍 변독소를 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 5

제1 항 또는 제2 항에 있어서, i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, iv) 디프테리아 변독소 및 v) 과상풍 변독소를 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 6

제1 항 또는 제2 항에 있어서, i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, iv) 디프테리아 변독소, v) 과상풍 변독소 및 vi) 무세포성 백일해 항원을 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 7

제1 항 또는 제2 항에 있어서, i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, iv) 디프테리아 변독소, v) 과상풍 변독소, vi) 무세포성 백일해 항원 및 vii) 비활성화된 폴리오바이러스 항원을 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 8

제1 항 내지 제7 항 중 어느 한 항에 있어서, GBS 캡슐 당류의 총량은 $\leq 70 \mu\text{g}$ 인 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 9

제1 항 내지 제8 항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 GBS 캡슐 당류는 용량 당 0.1 내지 30 μg 의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 10

제2 항 내지 제9 항 중 어느 한 항에 있어서, 단위 용량 당 GBS 혈청형 Ia, Ib 및 III 캡슐 당류의 양은 20 μg , 20 μg 및 20 μg ; 10 μg , 10 μg 및 10 μg ; 및 5 μg , 5 μg 및 5 μg 으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 11

제2 항 내지 제10 항 중 어느 한 항에 있어서, GBS 혈청형 Ia, Ib 및 III 캡슐 당류의 질량비는 1:1:1인 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 12

제2 항 내지 제11 항 중 어느 한 항에 있어서, 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트는 약 1:1 내지 1:2의 당류:단백질 비 (w/w)를 가지며; 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트는 약 1:1 내지 1:2의 당류:단백질 비 (w/w)를 갖고; 및/또는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트는 약 3:1 내지 1:1의 당류:단백질 비 (w/w)를 갖는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 13

제2 항 내지 제12 항 중 어느 한 항에 있어서, GBS 혈청형 Ia 캡슐 당류의 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트, GBS 혈청형 Ib 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트 및/또는 GBS 혈청형 III 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트에서 담체 단백질은 디프테리아 변독소, 과상풍 변독소 또는 CRM197인 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 14

제13 항에 있어서, GBS 혈청형 Ia 캡슐 당류의 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트, GBS 혈청형 Ib 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트 및 GBS 혈청형 III 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트에서 담체 단백질은 CRM197인 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 15

제2 항 내지 제14 항 중 어느 한 항에 있어서, 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 II의 캡슐 당류인 컨주게이트; 및/또는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류인 컨주게이트를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 16

제15 항에 있어서, GBS 혈청형 II 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트 및/또는 GBS 혈청형 V 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트에서 담체 단백질은 디프테리아 변독소, 과상풍 변독소 또는 CRM197인 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 17

제16 항에 있어서, GBS 혈청형 II 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트 및/또는 GBS 혈청형 V 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트에서 담체 단백질은 CRM197인 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 18

제1 항 내지 제17 항 중 어느 한 항에 있어서, 무세포성 백일해 항원은 해독된 백일해 독소, 사상 헤마글루티닌 및 퍼타틴을 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 19

제18 항에 있어서, 비활성화된 백일해 독소, 사상 헤마글루티닌 및 퍼탁틴은 16:16:5의 비 (중량으로 측정됨)로 존재하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 20

제1 항 내지 제19 항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리오바이러스 타입 1 균주, 폴리오바이러스 타입 2 균주 및 폴리오바이러스 타입 3 균주 각각의 항원을 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 21

제20 항에 있어서, 비활성화된 폴리오바이러스 항원은 5:1:4의 타입 1:2:3 비 (D-항원 유닛으로 측정됨)로 존재하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 22

제1 항 내지 제21 항 중 어느 한 항에 있어서, 디프테리아 변독소는 4 Lf/ml 내지 8 Lf/ml, 예를 들어, 0.5ml 용량 당 4 Lf의 농도로 존재하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 23

제1 항 내지 제21 항 중 어느 한 항에 있어서, 디프테리아 변독소는 20 내지 50 Lf/ml, 예를 들어, 0.5ml 용량 당 25 Lf의 농도로 존재하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 24

제1 항 내지 제23 항 중 어느 한 항에 있어서, 과상풍 변독소는 0.5ml 용량 당 약 5 Lf의 농도로 존재하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 25

제1 항 내지 제23 항 중 어느 한 항에 있어서, 과상풍 변독소는 0.5ml 용량 당 5 내지 10 Lf의 농도로 존재하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 26

제1 항 내지 제25 항 중 어느 한 항에 있어서, 면역원성 조성물이 디프테리아 변독소 및 과상풍 변독소를 포함하고, 1보다 큰, 예를 들어, 2:1 내지 3:1 (Lf 단위로 측정됨), 예를 드령, 2.5:1인 디프테리아 변독소:과상풍 변독소 비로 존재하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 27

제1 항 내지 제25 항 중 어느 한 항에 있어서, 면역원성 조성물은 과상풍 변독소 및 디프테리아 변독소를 포함하고, 1보다 큰, 예를 들어, 1.5:1 내지 2.5:1 (Lf 단위로 측정됨), 예를 들어, 2:1인 과상풍 변독소:디프테리아 변독소 비로 존재하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 28

제1 항 내지 제27 항 중 어느 한 항에 있어서, 면역원성 조성물은 보조제를 함유하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 29

제1 항 내지 제28 항 중 어느 한 항에 있어서, 면역원성 조성물은 알루미늄 염 보조제를 함유하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 30

제1 항 내지 제29 항 중 어느 한 항에 있어서, 면역원성 조성물은 주사 가능한 액체 용액 또는 현탁액인 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 31

제1 항 내지 제29 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 동결건조되는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 32

제31 항에 있어서, 조성물은 키크제이트를 안정화하기 위해 만니톨을 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 33

제1 항 내지 제32 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 칼륨 디히드로겐 포스페이트 버퍼를 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 34

제1 항 내지 제33 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 나트륨 클로라이드를 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 35

제1 항 내지 제34 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 방부제가 없는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 36

제1 항 내지 제35 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 백신인 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 37

제1 항 내지 제36 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 인간에게 투여되기 위한 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 38

제1 항 내지 제37 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 의약품으로서 사용되기 위한 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 39

제1 항 내지 제38 항 중 어느 한 항에 따르는 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 면역 반응을 일으키는 방법.

청구항 40

하나 이상의 GBS 키크제이트를 포함하는 제1 구성요소 및 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 과상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오마바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 제2 구성요소를 혼합하는 단계를 포함하는, 제1 항 내지 제39 항 중 어느 한 항에 따르는 면역원성 조성물을 제조하는 방법.

청구항 41

제40 항에 있어서, 제1 구성요소의 GBS 키크제이트는 동결되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 42

제40 항 또는 제41 항에 있어서, 제2 구성요소는 수성 항원을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 43

제42 항에 있어서, 제1 구성요소의 동결건조된 GBS 키크제이트를 제2 구성요소의 수성 항원으로 재구성하는 추가의 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 44

제40 항 내지 제43 항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 구성요소는 보조제를 포함하지 않는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 45

제40 항 내지 제44 항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 구성요소는 보조제, 예를 들어, 알루미늄 염 보조제를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 46

하나 이상의 GBS 컨쥬게이트를 포함하는 제1 구성요소; 및 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 파상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 제2 구성요소를 포함하며, 두 개의 구성요소는 별개의 용기에 있는, 제1 항 내지 제45 항 중 어느 한 항에 따르는 면역원성 조성물 제조용 키트.

청구항 47

제46 항에 있어서, 제1 구성요소의 GBS 컨쥬게이트는 동결되는 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 48

제46 항 또는 제47 항에 있어서, 제2 구성요소는 수성 항원을 포함하는 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 49

제46 항 내지 제48 항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 구성요소는 보조제를 포함하지 않는 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 50

제46 항 내지 제49 항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 구성요소는 보조제, 예를 들어, 알루미늄 염 보조제를 포함하는 것을 특징으로 하는 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 조합 백신의 분야에 있는데, 이것은 하나 이상의 병원체의 혼합 면역원을 함유하는 백신이며, 이로 인해 백신의 투여가 하나 이상의 병원체에 대하여 대상체를 동시에 면역화할 수 있다. 특히, 본 발명은 스트렙토코쿠스 아갈락티에(*Streptococcus agalactiae*) 캡슐 당류 및 담체 단백질의 컨쥬게이트(conjugate)를 함유하는 조합 백신에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

일회 용량 내에 하나 이상의 병원성 유기체의 항원을 함유하는 백신은 "다가" 또는 "조합" 백신으로 알려져 있다. 다양한 조합 백신은 유럽과 미국에서 인간 사용에 대하여 승인되었으며, 디프테리아(diphtheria), 파상풍(tetanus) 및 백일해(pertussis)에 대해 보호하는 3가 백신 ("DTP" 백신) 및 홍역(measles), 볼거리(mumps) 및 풍진(rubella)에 대해 보호하는 3가 백신 ("MMR" 백신)을 포함한다. 조합 백신은 환자에게 감소된 수의 주사를 받는 이점을 제공하는데, 이것은 증가된 적합성의 임상적 이점으로 이어질 수 있다 (예를 들어, 참고문헌 1의 29장 참조).

[0003]

스트렙토코쿠스 아갈락티에 (B군 스트렙토코쿠스, GBS)는 25-30% 건강한 여성의 항문생식 관(anogenital tract)을 콜로니화하는 용혈성, 캡슐화된 그람 양성(Gram-positive) 미생물이다. GBS는 박테리아를 가지고 있는 모체에서 태어난 유아의 신생아 감염을 유발하며 신생아 패혈증(sepsis) 및 수막염(meningitis)의 주요 원인이다. 병원체는 또한 성인, 특히 근본적인 질환에 걸린 인간들, 및 특히 노인 질환의 중요한 원인으로서 점점 더 인식되고 있다.

[0004] 스트렙토코쿠스 아갈락티에에 대한 컨쥬게이트 백신은 참고문헌 2 내지 10과 같은 문서에서 설명되었다. GBS 혈청형 Ia, Ib, II, III, 및 V 각각에 대한 컨쥬게이트 백신은 인간에서 안전하고 면역원성인 것으로 나타났다 [11]. 참고문헌 12는 또한 다양한 GBS 컨쥬게이트-함유 백신을 개시한다.

[0005] 스트렙토코쿠스 아갈락티에 및 코리네박테리움 디프테리에(*Corynebacterium diphtheriae*), 클로스트리듐 테타니(*Clostridium tetani*), 보르데텔라 페르투스시스(*Bordetella pertussis*) 및 폴리오바이러스(*Poliovirus*) 중 하나 이상에 대해 보호하는 추가의 및 개선된 조합 백신을 제공하는 것이 본 발명의 목적이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 GBS 컨쥬게이트 및 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 파상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 조합 백신의 연구를 기반으로 한다. 발명자들은 이 조합 백신들이 특정 항체 역가를 유도한다는 것을 발견하였다. 본 발명자들은 이 조합 백신들이 다양한 항원들 사이에서 면역학적 간섭이 거의 없거나 전혀 없는 해당 항원에 특이적인 항체 역가를 유도한다는 것을 발견하였다.

[0007] 따라서, 본 발명은 하나 이상의 GBS 컨쥬게이트 및 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 파상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 면역원성 조성물을 제공하는데, 각 GBS 컨쥬게이트는 담체 단백질에 컨쥬게이트된 B군 스트렙토코쿠스 캡슐 당류이다.

[0008] 본 발명은 또한 환자에서 면역 반응을 일으키는 방법을 제공하며, 환자에게 본 발명에 따르는 면역원성 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0009] 본 발명은 또한 본 발명에 따르는 면역원성 조성물을 제조하는 공정을 제공하며, 하나 이상의 GBS 컨쥬게이트를 포함하는 제1 구성요소와 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 파상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 제2 구성요소를 혼합하는 단계를 포함한다.

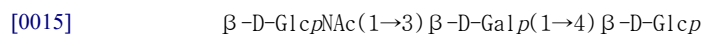
[0010] 본 발명은 또한 본 발명의 면역원성 조성물을 제조하기 위한 키트를 제공하는데, 하나 이상의 GBS 컨쥬게이트를 포함하는 제1 구성요소; 및 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 파상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 제2 구성요소를 포함하며, 두 개의 구성요소는 별도의 용기에 있다.

GBS 컨쥬게이트

캡슐 당류

[0013] 본 발명은 스트렙토코쿠스 아갈락티에의 캡슐 당류를 기반으로 한다. 캡슐 당류는 GBS의 펩티도글리칸 백본(backbone)에 공유 결합되고, B군과는 별개인데, 이것은 펩티도글리칸 백본에 부착되는 또 다른 당류이다.

[0014] GBS 캡슐 당류는 화학적으로 관련되지만, 항원과 관련하여 매우 다르다. 모든 GBS 캡슐 당류는 다음 삼당류 코어를 공유한다:



[0016] 다양한 GBS 혈청형은 이 코어가 변형되는 방법에 의해 차이가 난다. 혈청형 Ia와 III의 차이는, 예를 들어, 연속적인 삼당류 코어를 연결하는 이 코어에서의 GlcNAc (Ia) 또는 Gal (III)의 사용으로부터 발생한다. 혈청형 Ia 및 Ib 둘 다는 이 코어에서 GlcNAc에 연결된 [β -D-NeupNAc(2→3)β-D-Galp-(1→)] 이당류를 갖지만, 연결은 1→4 (Ia) 또는 1→3 (Ib)이다.

[0017] GBS-관련 질환은 주로 혈청형 Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, 및 VIII로부터 발생하며, 85% 이상이 다섯 개의 혈청형 Ia, Ib, III & V에 의해 유발된다. 본 발명은 전형적으로 이 네 개의 혈청형 중 하나 이상, 특히 혈청형 Ia, Ib & III 중 하나 이상의 당류를 사용한다. 이 네 개의 혈청형 각각의 캡슐 당류는 (a) 모든 경우에 2→3으로 갈락토스 잔기에 연결되는 말단 N-아세틸-뉴라민산 (NeuNAc) 잔기 (흔히 시알산으로 불림); 및 (b) 삼당류 코어 내 N-아세틸-글루코사민 잔기 (GlcNAc)를 포함한다. 네 개의 당류 모두는 삼당류 코어 내에서 갈락토스 잔기를 포함하지만, 혈청형 Ia, Ib, II & III는 또한 각각의 반복 유닛(repeating unit)에서 추가의 갈락토

당류인 한편, 제2 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류이고 제3 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류이다.

[0021]

같은 방법으로, 면역원성 조성물은 네 개의 GBS 컨주게이트를 포함할 수도 있다. 한 구체예에서, 제1 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 한편, 제2 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류이고, 제3 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류이고 제4 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류이다. 한 구체예에서, 제1 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 한편, 제2 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류이고, 제3 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 II의 캡슐 당류이고 제4 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류이다. 한 구체예에서, 제1 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 한편, 제2 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류이고, 제3 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류이고 제4 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류이다. 한 구체예에서, 제1 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 한편, 제2 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 II의 캡슐 당류이고, 제3 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류이고 제4 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류이다. 한 구체예에서, 제1 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 한편, 제2 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 II의 캡슐 당류이고, 제3 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류이고 제4 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류이다.

[0022]

같은 방법으로, 면역원성 조성물은 다섯 개의 GBS 컨주게이트를 포함할 수도 있다. 예를 들어, 제1 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 한편, 제2 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류이고, 제3 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류이고, 제4 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류이고 제5 GBS 컨주게이트는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 II의 캡슐 당류이다.

[0023]

전형적으로, 상기 설명된 면역원성 조성물은 특이적으로 언급된 것들 이외에 어떤 GBS 컨주게이트, 특히 특이적으로 언급된 것들 이외에 GBS 혈청형의 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트를 포함하지 않을 것이다. 하지만, 일부 구체예에서, 조성물은 다른 GBS 컨주게이트를 포함할 수도 있는데, 다른 GBS 혈청형의 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트를 포함한다. 예를 들어, 조성물은 GBS 혈청형 VI의 캡슐 당류 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 컨주게이트를 포함할 수도 있다. 또 다른 가능성으로, 조성물은 GBS 혈청형 VIII의 캡슐 당류 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 컨주게이트를 포함할 수도 있다.

[0024]

본 발명에 유용한 당류는 그것들의 원래의 형태로 있을 수도 있거나, 또는 변형되었을 수도 있다. 예를 들어, 당류는 고유한 캡슐 당류보다 더 짧을 수도 있거나, 또는 화학적으로 변형되었을 수도 있다. 특히, 본 발명에서 사용된 혈청형 V 캡슐 당류는 참고문헌 1[1] WO2006/0503413 및 14에서 설명된 바와 같이 변형될 수도 있다. 예를 들어, 참고문헌 13 및 14에서 설명된 바와 같이 실질적으로 탈시알릴화된 혈청형 V 캡슐 당류는 특히 본 발명에서 사용에 대하여 예상된다. 탈시알릴화된 GBS 혈청형 V 캡슐 당류는 약산성 조건 (예를 들어, 0.1M 황산 80°C에서 60분 동안) 하에서 정제된 GBS 혈청형 V 캡슐 당류를 처리함으로써 또는 뉴라미다제의 처리에 의해 제조될 수도 있으며, 참고문헌 13에서 설명된 바와 같다. 탈시알릴화된 GBS 혈청형 V 캡슐 당류를 제조하는 바람직한 방법은 81°C +/- 3°C에서 2시간 동안 정제된 당류에 1M 아세트산의 처리에 의한 것이다. 따라서 본 발명에 따라 사용된 당류는 자연에서 발견된 바와 같이, 실질적으로 전장 캡슐 다당류일 수도 있거나, 또는 그것은 자연의 길이보다 더 짧을 수도 있다. 전장 다당류는, 예를 들어, 약산에서 가수분해, 가열, 사이징 크로마토그래피(sizing chromatography), 등에 의해 탈폴리머화되어 본 발명과 함께 사용되는 더 짧은 단편을 제공할 수도 있다. 사슬 길이는 토끼에서 GBS 당류의 면역원성에 영향을 미치는 것으로 보고되었다 [5]. 특히, 본 발명에서 사용된 혈청형 II 및/또는 III 캡슐 당류는 참고문헌 15 및 16에서 설명된 바와 같이 탈폴리머화될 수도 있다. 이 문서들은 환원성-말단 2,5-무수-D-만노스 잔기를 가진 환원 단편으로의 약한 아미노화 분할에 의해 타입 II 및 타입 III 캡슐 당류의 부분적 탈폴리머화를 설명한다. 간략히 말하면, 캡슐 당류는 0.5N NaOH에서 용해되었고 70°C에서 약 1-4h 동안 가열되었다. 이 배양의 길이는 탈폴리머화의 정도를 제어하며, 이것은 표준 방법에 의해 (예를 들어, 참고문헌 15에서 설명된 바와 같이 HPLC에 의해) 결정될 수도 있다. 샘플은 pH로 조정하기 위해 빙초산이 추가되기 전에 얼음물에서 냉각된다. 부분적으로 N-탈아실화된 생성물은 그 다음에 4°C에서 2시간 동안 교반하면서 5% (wt/vol) NaNO₂의 첨가에 의해 탈아미노화된다. 새로 형성된 2,5-무수-D-만노스 잔기의 유

리 알데히드는 담체 단백질로의 컨쥬게이션(conjugation)에 사용될 수도 있으며, 참고문헌 [12]에서 설명된 바와 같다.

[0025] 엔도-β-갈락토시다제에 의한 혈청형 III 캡슐 당류의 탈폴리머화가 보고되었으며 [참고문헌 2 & 5-7], 과산화변독소 담체로 컨쥬게이트를 형성하기 위해 탈폴리머화된 재료의 사용을 포함한다. GBS 혈청형 III 및 VIII로부터 캡슐 다당류의 오존 분해가 또한 탈폴리머화에 사용되었다 [17]. MW ≥ 30kDa의 당류를 사용하는 것이 바람직하고, 실질적으로는 전장 캡슐 다당류가 사용될 수 있다. 혈청형 Ia에 대하여, 150-400kDa, 특히 300-350kDa의 범위의 MW를 갖는 다당류를 사용하는 것이 바람직하다. 전형적으로, 약 330kDa의 MW를 갖는 혈청형 Ia 당류가 사용된다. 혈청형 Ib에 대하여, 150-400kDa, 특히 250-300kDa의 범위의 MW를 갖는 다당류를 사용하는 것이 바람직하다. 전형적으로, 약 280kDa의 MW를 갖는 혈청형 Ib 당류가 사용된다. 혈청형 III에 대하여, 50-200kDa, 특히 100-150kDa의 범위에 있는 MW를 갖는 다당류를 사용하는 것이 바람직하다. 전형적으로, 약 140kDa의 범위의 MW를 갖는 혈청형 III 당류가 사용된다. 혈청형 V에 대하여, 50-200kDa, 특히 150-200kDa의 범위에 있는 MW를 갖는 다당류를 사용하는 것이 또한 바람직하다. 전형적으로, 약 180kDa의 MW를 갖는 혈청형 V 당류가 사용된다. 이 분자 질량은, 텍스트란 표준에 관하여, Polymer Standard Service로부터 이용 가능한 것들과 같이 겔 여과에 의해 측정될 수 있다 [18].

[0026] 당류는 자연에서 발견된 캡슐 당류에 관하여 화학적으로 변형될 수도 있다. 예를 들어, 당류는 데-O-아세틸화 (부분적으로 또는 완전히), 데-N-아세틸화 (부분적으로 또는 완전히), N-프로피온화 (부분적으로 또는 완전히), 등이 될 수도 있다. 탈아세틸화는 컨쥬게이션 전에, 중에 또는 후에 발생할 수도 있지만, 바람직하게는 컨쥬게이션 전에 발생한다. 특정 당류에 따라, 탈아세틸화는 면역원성에 영향을 미치거나 그렇지 않을 수도 있다. 다양한 혈청형에서 GBS 당류에 대한 O-아세틸의 적합성이 참고문헌 19에서 논의되고, 일부 구체예에서, 위치 7, 8 및/또는 9에서 시알산 잔기의 O-아세틸화는, 예를 들어, 보호/탈보호, 재아세틸화, 등에 의해 컨쥬게이션 전에, 중에 및 후에 유지된다. 하지만, 전형적으로 본 발명에서 사용된 GBS 당류는 실질적으로 위치 7, 8 및/또는 9에서 시알산 잔기의 O-아세틸화를 갖지 않는다. 특히, GBS 당류가 참고문헌 [12]에서 설명된 바와 같이 염기 추출에 의해 정제되었을 때, O-아세틸화는 전형적으로 손실된다 (참고문헌 19). 탈아세틸화 등의 효과는 일상적인 검정에 의해 평가될 수 있다.

[0027] 캡슐 당류는 참고문헌 3 및 20과 같은 본원의 참고문헌에서 설명된 바와 같이, 알려진 기술에 의해 정제될 수 있다. 전형적인 공정은 염기 추출, 원심분리, 여과, RNase/DNase 처리, 프로테아제 처리, 농축, 크기 배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography), 환외 여과, 음이온 교환 크로마토그래피, 및 추가의 환외 여과를 수반한다. GBS 세포에 효소 뮤타노리신의 처리가 또한 유용하며, 이것은 박테리아 세포벽을 분할하여 세포벽 구성요소를 자유롭게 한다.

[0028] 대안으로서, 참고문헌 21에서 설명된 정제 공정이 사용될 수 있다. 이것은 염기 추출, 에탄올/CaCl₂ 처리, CTAB 침전, 및 재가용화를 수반한다. 추가의 대체 공정은 참고문헌 22에서 설명된다.

[0029] 본 발명은 자연의 공급원으로부터 정제된 당류에 제한되지 않지만, 당류는 전체 또는 부분적 합성과 같은 다른 방법에 의해 얻어질 수도 있다.

[0030] 상기 설명된 면역원성 조성물은 단위 용량 당 어떤 적합한 양의 캡슐 당류(들)도 포함할 수 있다. 각각의 용량 내에서, 개개의 당류 항원의 양은 일반적으로 일반적으로 0.1-50 μg (당류의 질량으로 측정됨), 특히 1-50 μg 또는 0.5-25 μg, 더 특히 2.5-7 μg, 예를 들어, 약 1 μg, 약 2.5 μg, 약 5 μg, 약 10 μg, 약 15 μg, 약 20 μg 또는 약 25 μg일 것이다. 각각의 용량 내에서, GBS 캡슐 당류의 총량은 일반적으로 ≤ 70 μg (당류의 질량으로 측정됨), 예를 들어, ≤ 60 μg일 것이다. 특히, 총량은 ≤ 40 μg (예를 들어, ≤ 30 μg) 또는 ≤ 20 μg (예를 들어, ≤ 15 μg)일 것이다.

[0031] 이 총량들이 본 발명에서 사용에 바람직하다. 잠재적 독성을 감소시키기 위해 단위 용량 당 캡슐 당류(들)의 총량을 최소화하는 것이 유리할 것이다. 따라서, ≤ 20 μg의 총량, 예를 들어, ≤ 15 μg, ≤ 7.5 μg 또는 ≤ 1.5 μg이 바람직하다. 이 총량은 면역원성 조성물이 i) 담체 단백질에 컨쥬게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨쥬게이트; ii) 담체 단백질에 컨쥬게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨쥬게이트; 및 iii) 담체 단백질에 컨쥬게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨쥬게이트를 포함할 때 특히 효과적이다. 잠재적 독성을 감소시키기 위해 단위 용량 당 캡슐 당류(들)의 총량을 최소화하는 것이 유리할 것이다. 따라서, ≤ 20 μg의 총량, 예를 들어, ≤ 15 μg, ≤ 7.5 μg 또는 ≤ 1.5 μg이 바람직하다.

[0032] 단위 용량 당 캡슐 당류(들)의 양을 더 최소화하는 것이 가능할 수도 있다. 특히, 캡슐 당류(들)의 적합한 양은

단위 용량 당 0.1 내지 5 μ g일 수도 있다. 그러므로, 전형적으로, 각 GBS 캡슐 당류는 단위 용량 당 0.1 내지 5 μ g, 예를 들어, 0.5, 2.5 또는 5 μ g의 양으로 존재할 수도 있다. 예를 들어, 각 GBS 캡슐 당류는 단위 용량 당 0.5 내지 5 μ g, 1 내지 4 μ g, 2 내지 3 μ g, 또는 약 2.5 μ g의 양으로 존재할 수도 있다. 이 총량은 면역원성 조성물이 i) 담체 단백질에 컨쥬게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨쥬게이트; ii) 담체 단백질에 컨쥬게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨쥬게이트; 및 iii) 담체 단백질에 컨쥬게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨쥬게이트를 포함할 때 특히 효과적이다.

[0033] 상기 설명된 구체예에서, 면역원성 조성물이 하나 이상의 컨쥬게이트를 포함하면, 특정 캡슐 당류의 질량과 다른 캡슐 당류(들)의 질량의 비는 다를 수도 있다. 예를 들어, 면역원성 조성물의 GBS 혈청형 Ia, Ib 및 III 캡슐 당류를 포함하면, GBS 혈청형 Ia, Ib 및 III의 질량과 캡슐 당류의 질량비는 1:1:1이다.

[0034] 컨쥬게이션

[0035] 본 발명은 담체 단백질에 컨쥬게이션된 GBS 혈청형 Ia, Ib, II, III 및 V의 캡슐 당류인 컨쥬게이트를 사용한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "컨쥬게이트"는 단일 구조를 형성하기 위해 두 개의 부분의 공유 결합에 의해 형성된 화합물을 나타내며, 제1 부분은 항원, 특히 다당류이고, 제2 부분은 담체 단백질과 같은 면역원성 담체이다. 결합은 분자 사이의 화학적 공유 결합에 의해 또는 연결 기의 사용에 의해 만들어질 수 있는데, 비독점적으로 디아미노알칸 및 하나 이상의 아미노산을 포함하며, 이것들 중 하나는 담체에 컨쥬게이션되는 자유 술폰드릴 기, 카르복실 기, 아미노 기 또는 다른 기를 제공한다. 본 발명의 목적을 위해, 일반적으로 용어 '컨쥬게이트'는 담체 단백질에 공유 결합에 의해 연결된 박테리아 항원, 특히 박테리아 당류 또는 다당류를 나타낸다. 일반적으로, 당류의 담체에 대한 공유 결합에 의한 컨쥬게이션은 당류의 면역원성을 향상시키는데, 그것들을 T-독립적 항원에서 T-의존적 항원으로 전환하고, 따라서 면역 기억(immunological memory)에 대한 프라이밍(priming)을 허용하기 때문이다. 컨쥬게이션은 소아 백신에 특히 유용하고 [예를 들어, 참고문헌 23] 잘 알려진 기술이다 [예를 들어, 참고문헌 24 내지 32에서 재검토됨]. 따라서 본 발명의 공정은 정제된 당류를 담체 분자에 컨쥬게이션하는 추가의 단계를 포함할 수도 있다.

[0036] GBS 당류의 컨쥬게이션은 널리 보고되었고, 예를 들어, 103567에 대하여 참고문헌 2을 참고하면 된다. GBS 당류 컨쥬게이션에 대한 전형적인 선행 기술 공정은 전형적으로 정제된 당류의 과산화 변독소 (TT) 또는 CRM197과 같은 담체 단백질로의 환원적 아미노화를 수반한다 [3]. 환원적 아미노화는 담체의 아미노산 측쇄에서 아민 기 및 당류에서 알데히드 기를 수반한다. GBS 캡슐 당류가 알데히드 기를 그것의 자연적인 형태로 포함하지 않기 때문에 이것은 전형적으로 당류의 시알산 잔기 중 일부 (예를 들어, 5 내지 40%, 특히 10 내지 30%, 바람직하게는 약 20%)의 산화 (예를 들어, 페리오데이트 산화)에 의해 컨쥬게이션 전에 생성된다 [3,33]. 이 방식으로 제조된 컨쥬게이트 백신은 인간에서 GBS 혈청형 Ia, Ib, II, III, 및 V 각각에 대하여 안전하고 면역원성인 것으로 나타났다 [11]. 전형적으로, 본 발명의 면역원성 조성물에서 모든 컨쥬게이트는 이 방식으로 제조되었다. 하지만, 본 발명이 탈아미노화된 혈청형 V 캡슐 당류를 사용할 때, 알데히드 기는 이 당류에서 당류의 갈락토스 잔기 중 일부 (예를 들어, 5 내지 40%, 특히 10 내지 30%, 바람직하게는 약 20%)의 산화 (예를 들어, 페리오데이트 산화)에 의해 컨쥬게이션 전에 생성될 수도 있다 [2,33]. 대체 컨쥬게이션 공정은 이기능적 결합자와 함께 당류 (테-N-아세틸화로부터, 또는 아민의 도입 후에)에서 -NH₂ 기의 사용을 수반하며, 참고문헌 34에서 설명된 바와 같다. 일부 구체예에서, 본 발명의 면역원성 조성물에서 컨쥬게이트 중 하나 이상은 이 방식으로 제조되었다. 추가의 대체 공정은 참고문헌 15 및 16에서 설명된다. 이 공정에서, 약한 탈아미노화 분할에 의한 타입 II 또는 타입 III 캡슐 당류 탈폴리머화의 말단 2,5-무수-D-만노스 잔기의 자유 알데히드 기는 환원성 아미노화에 의한 컨쥬게이션에 사용된다. 일부 구체예에서, 본 발명의 면역원성 조성물에서 컨쥬게이트 중 하나 이상이 이 방식으로 제조되었다. 컨쥬게이트는 별개의 공정에 의해 제조되고 일회 투약량 제형으로 조합될 수도 있다.

[0037] 담체 단백질

[0038] 본 발명은 담체 분자의 사용을 수반한다. 다당류가 그것들 자체에 대하여 면역원성이지만, 다당류의 담체 단백질로의 컨쥬게이션은 면역원성을 개선하거나 향상시킬 수 있다. 그러므로, 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "담체"는 항원 (예를 들어, 다당류)에 컨쥬게이션되어 동물에게 투여될 때, 동물에서 면역 반응, 특히, 보호 면역 반응을 유발하거나 향상시키고, 항원, 예를 들어, 상기 설명된 다당류에 특이적으로 결합하는 항체의 생산을 유도하는 면역원성 물질을 나타낸다. 유용한 담체 단백질은 박테리아 독소 또는 디프테리아(diphtheria) 변성 독소 또는 과산화 변독소와 같은 변성 독소를 포함한다. 독소 또는 변성 독소의 단편, 예를 들어, 과산화 변독소의 단편 C가 또한 사용될 수 있다 [35].

[0039] 디프테리아 독소의 CRM197 돌연변이 [36-38]는 본 발명에서 사용에 특히 유용한 담체이다. 디프테리아는 코리네

박테리아 디프테리아(*Corynebacteria diphtheria*)에 의해 유발된 급성, 가끔은 치명적인 박테리아 질환이고 질환의 임상적 징후는 주로 순환하는 디프테리아 독소의 존재로 인한 것이다. 디프테리아에 대한 활성 면역화 프로그램은 일반적으로 디프테리아 독소의 포르말데히드 해독에 의해 생산된 디프테리아 변독소를 함유하는 조제물을 기반으로 하였다 (하기 참조).

[0040] 교차-반응 재료 (CRM197)는 디프테리아 독소의 유전적으로 해독된 조제물이다. CRM197은 단일 아미노산에서만 디프테리아 독소 (DT)와 다르고 그러므로 DT (CRM=교차 반응 재료)와 고도로 교차-반응성이다. 디프테리아 독소의 이 돌연변이는 포르말데히드로의 해독화를 필요로 하지 않고, 정제된 항원의 균질한 조제물은, 예를 들어, 카사미노산 및 이스트(yeast) 추출 배지에서 키워진 균주 C7 (beta197)의 배양물로부터 쉽게 얻어질 수 있다. 대안으로 CRM197은 제US5,614,382호에 따라 재조합으로 제조될 수도 있다. CRM197은 여러 캡슐 다당류 항원에 대한 담체 단백질로서 인간 사용에 대하여 허가되며 포르말데히드 처리에 의해 제조된 통상적인 디프테리아 변성 독소에 대한 잠재적 대안이다. 하기 설명된 바와 같이, 담체로서 CRM197의 사용은 이 담체가 또한 코리네박테리아 디프테리아에 대한 항체의 생산을 유도할 수 있기 때문에 유익할 수도 있다.

[0041] 다른 적합한 담체 단백질은 네이세리아 메닝기티디스(*N. meningitidis*) 외막 단백질 [39], 합성 펩티드 [40,41], 열 충격 단백질 [42,43], 백일해(pertussis) 단백질 [44,45], 시토킨 [46], 림포킨 [46], 호르몬 [46], 성장 인자 [46], 인간 혈청 알부민 (바람직하게 재조합), 다양한 병원체-유래 항원의 다중 인간 CD4⁺ T 세포 에피토프를 포함하는 인공 단백질 [47], 예를 들어, N19 [48], 헤모필루스 인플루엔자(*H. influenzae*)의 단백질 D [49,50], 폐렴 구균 표면 단백질 PspA [51], 뉴모리신 [52], 철-흡수 단백질 [53], 클로스트리듐 디피실레(*C. difficile*)의 독소 A 또는 B [54], 재조합 슈도모나스 에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 외부 단백질 (exoprotein) A (rEPA) [55], GBS 단백질 (특히 GBS67) [56], 등을 포함한다. 담체에 부착은 바람직하게, 예를 들어, 담체 단백질의 리신 잔기, 또는 아르기닌 잔기의 측쇄에서, 또는 N-말단에서, -NH₂ 기를 통한 것이다. 부착은 또한, 예를 들어, 시스테인 잔기의 측쇄에서, -SH 기를 통한 것일 수도 있다.

[0042] 예를 들어, 담체 역제의 위험을 감소시키기 위해 하나 이상의 담체 단백질을 사용하는 것이 가능하다. 따라서 상이한 담체 단백질은 상이한 GBS 혈청형에 사용될 수 있다, 예를 들어, 혈청형 Ia 당류는 CRM197에 컨주게이션될 수도 있는 한편, 혈청형 Ib 당류는 과상풍 변독소에 컨주게이션될 수도 있다. 또한 특정 당류 항원에 대하여 하나 이상의 담체 단백질을 사용하는 것이 가능하다, 예를 들어, 혈청형 III 당류는 두 개의 군으로 되어있을 수도 있으며, 일부는 CRM-197에 컨주게이션되고 다른 것들은 과상풍 변독소에 컨주게이션된다. 하지만, 일반적으로는, 모든 당류에 대하여 같은 담체 단백질을 사용하는 것이 전형적이다.

[0043] 단일 담체 단백질은 하나 이상의 당류 항원을 갖고 있을 수도 있다 [57,58]. 예를 들어, 단일 담체 단백질은 혈청형 Ia와 Ib의 당류에 컨주게이션될 수도 있다. 이 목적을 달성하기 위해, 상이한 당류는 컨주게이션 반응 전에 혼합될 수 있다. 하지만, 일반적으로는, 각 혈청군에 대하여 별개의 컨주게이트를 갖는 것이 바람직하며, 상이한 당류는 컨주게이션 후에 혼합된다. 별개의 컨주게이트는 같은 담체를 기반으로 할 수도 있다.

[0044] 1:5 (즉, 과도한 단백질) 내지 5:1 (즉, 과도한 당류)의 당류:단백질 중량비, 특히 1:5 내지 2:1의 비를 갖는 컨주게이트가 전형적으로 사용된다. 본 발명이 GBS 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트를 사용할 때, 당류:단백질 중량비는 전형적으로 약 1:1 내지 1:2, 특히 약 1:1.3이다. 유사하게, 본 발명이 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트를 사용할 때, 비는 전형적으로 약 1:1 내지 1:2, 특히 약 1:1.3이다. 본 발명이 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류를 사용할 때, 당류:단백질 중량비는 전형적으로 약 3:1 내지 1:1, 특히 약 2:1이다. 하지만, 약 1:1 내지 1:5, 특히 약 1:3.3의 당류:단백질 중량비를 갖는 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III가 또한 사용될 수도 있다. 본 발명이 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 II의 캡슐 당류인 컨주게이트를 사용할 때, 비는 전형적으로 약 2:1 내지 1:1이다. 마지막으로, 본 발명이 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류인 컨주게이트를 사용할 때, 비는 전형적으로 약 2:1 내지 1:1, 특히 약 1.1:1이다. 따라서 당류의 중량 초과가 전형적이며, 특히 당류 사슬이 더 길다.

[0045] 조성물은 소량의 자유 담체를 포함할 수도 있다 [59]. 특정 담체 단백질이 본 발명의 조성물에서 자유 및 컨주게이션된 형태 둘 다로 존재할 때, 컨주게이션되지 않은 형태는 바람직하게 전체로서 조성물에서 담체 단백질의 총량의 5% 이하이고, 더 바람직하게는 2 중량% 이하로 존재한다.

[0046] 컨주게이션 후, 자유 및 컨주게이션된 당류가 분리될 수 있다. 많은 적합한 방법이 있는데, 소수성 크로마토그래피(hydrophobic chromatography), 수직적 한외 여과(tangential ultrafiltration), 등을 포함한다. [또한 참

고문헌 60 & 61, 등을 참고하면 된다]. 바람직한 방법은 참고문헌 62에서 설명된다.

[0047] 본 발명의 조성물이 탈폴리머화된 올리고당을 포함하는 경우, 탈폴리머화가 컨주게이션보다 선행하는 것이 바람직하다.

[0048] **하나 이상의 항원**

[0049] "항원"은 화합물, 조성물, 또는 신체의 면역 반응, 특히 항체의 생산의 자극에 의한 보호 면역 반응 및/또는 T 세포 반응을 자극하는 물질이다. 상기 설명된 박테리아 다당류 컨주게이트가 항원인 한편, 일반적으로 사용되는 바와 같이, 용어 "항원"은 디프테리아 변독소(들), 파상풍 변독소(들), 백일해 변독소(들), 세포성 백일해 항원(들), 무세포성 백일해 항원(들) 및 폴리오바이러스 항원(들)을 나타내기 위해 사용될 것이며, 하기 설명된 비활성화된 폴리오바이러스 항원을 포함한다. 따라서, 용어는 주로 스트렙토코쿠스 아갈락티에에 대한 보호를 제공하는 컨주게이트된 구성요소를 코리네박테리움 디프테리아, 클로스트리듐 테타니, 보르테텔라 페르투스 및/또는 폴리오바이러스에 대하여 보호를 제공하는 구성요소(들)과 구별하기 위해 사용될 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이 용어 "하나 이상"은 하나, 둘, 셋, 넷, 다섯, 여섯, 일곱, 여덟, 아홉, 열 개 이상을 나타낸다.

[0050] 디프테리아 변독소

[0051] 디프테리아는 코리네박테리움 디프테리아, 그람-양성 비-포자생산 호기성 박테리아에 의해 유발된다. 이 유기체는 프로파지(prophage)-암호화 ADP-리보실화 외독소 ("디프테리아 독소")를 발현하는데, 이것은 더 이상 독성이 없지만 항원성을 유지하고 주사 후 특이적 항-독소 항체의 생산을 자극할 수 있는 변독소를 제공하기 위해 처리될 수 있다 (예를 들어, 포름알데히드 사용). 디프테리아 변독소는 참고문헌 63의 13장에서 더 상세히 개시된다. 바람직한 디프테리아 변독소는 포름알데히드 처리에 의해 제조된 것들이다. 디프테리아 변독소는 성장 배지 (예를 들어, 펜턴 배지(Fenton medium), 또는 링고우드(Linggoud) & 펜턴 배지)에서 코리네박테리움 디프테리아(C.diphtheriae)을 키움으로써 얻어질 수 있는데, 이것은 소 추출물이 보충된 후, 이어서 포름알데히드 처리, 한외 여과 및 침전으로 이어질 수도 있다. 변독소 처리된 재료는 그 다음에 멸균 여과 및/또는 투석을 포함하는 공정에 의해 처리될 수도 있다.

[0052] 디프테리아 변독소의 양은 국제 단위 (IU)로 표현될 수 있다. 예를 들어, NIBSC [64]는 '흡착된 디프테리아 변독소 제3 국제 표준 1999'를 공급하는데 [65,66], 이것은 앰플당 160 IU를 함유한다. IU 시스템에 대한 대안으로서, 'Lf' 단위 ("응집 단위", 경계 응집 용량", 또는 "응집의 한계")는 1 국제 단위의 항독소와 혼합될 때, 최적의 응집 혼합물을 생산하는 변독소의 양으로 정의된다 [67]. 예를 들어, NIBSC는 앰플 당 300 Lf를 함유하는 '디프테리아 변독소, 플레인(Diphtheria Toxoid, Plain)' [68], 앰플 당 900 Lf를 함유하는 '응집 테스트를 위한 디프테리아 변독소에 대한 제1 국제 참조 시약(The 1st International Reference Reagent For Diphtheria Toxoid For Flocculation Test)'을 공급한다. IU와 Lf 시스템 사이의 전환은 특정 변독소 조제물에 의존적이다.

[0053] 소 재료가 코리네박테리움 디프테리아의 배양물에서 사용되면, 그것들은 광우병 (bovine spongiform encephalopathy; BSE) 또는 다른 전염성 해면상뇌증 (TSE)으로부터 자유로운 공급원으로부터 얻어져야 한다. 본 발명의 면역원성 조성물에서 디프테리아 변독소는 전형적으로, 투여될 때, 면역 반응을 유도할 수 있는 양으로 존재한다. 이상적으로, 디프테리아 변독소는 보호 면역 반응을 유도할 수 있다. 본 발명의 면역원성 조성물에서 디프테리아 변독소의 양은 전형적으로 1-50 Lf/용량이다. 청소년 및 성인에 대한 촉진 백신은 전형적으로 4 Lf/ml 내지 8 Lf/ml, 예를 들어, 용량 당 2.5 Lf, 바람직하게 4 Lf의 디프테리아 변독소를 함유한다. 소아 백신은 전형적으로 20 내지 50 Lf/ml, 예를 들어, 0.5ml 용량 당 10 Lf 또는 25 Lf의 디프테리아 변독소를 함유한다.

[0054] 소아 조합 백신에 대하여, 디프테리아 변독소 대 파상풍 변독소의 비율은 전형적으로 1보다 크고 (즉, 소아 백신은 보통 디프테리아 변독소의 초과량을 갖는다) 일반적으로는 2:1 내지 3:1 (Lf 단위로 측정됨), 예를 들어, 2.5:1이다. 반대로, 청소년 또는 성인 (보통 디프테리아 변독소 및 파상풍 변독소를 포함하는 적어도 하나의 소아 조합 백신을 받음)에게 투여되는 촉진 백신에 대하여, 디프테리아 변독소 대 파상풍 변독소의 비율은 전형적으로 1보다 크고 (즉, 촉진 백신은 보통 파상풍 변독소의 초과량을 갖는다) 일반적으로는 1.5:1 내지 2.5:1, 예를 들어, 2:1이다. 디프테리아 변독소는 전형적으로 컨주게이트되지 않는다.

[0055] 당업자는 "디프테리아 구성요소", 다시 말해서, 코리네박테리움 디프테리아에 대한 보호를 제공하는 면역 반응을 유도하는데 사용되는 면역원성 조성물의 일부가 CRM197, 디프테리아 변독소 또는 이것들의 조합의 형태로 제공될 수도 있다고 생각할 것이다.

- [0056] 일부 구체예에서, CRM197이 담체 단백질로서, 즉 컨쥬게이트의 일부로서 존재할 때, 본 발명의 조성물에서 컨쥬게이트되지 않은 ("자유로운") 디프테리아 변독소의 양이 감소될 수도 있다. 다른 구체예에서, CRM197이 담체 단백질로서, 즉 컨쥬게이트의 일부로서 존재할 때, 디프테리아 변독소는 존재하지 않거나 본 발명의 조성물에 없을 수도 있지만 면역원성 조성물은 여전히 코리네박테리움 디프테리아에 대한 보호를 제공하는 면역 반응을 유도할 수도 있다. 그러므로, 면역원성 조성물은 컨쥬게이트되지 않은 및 컨쥬게이트된 디프테리아 변독소 및/또는 CRM197 둘 다를 포함할 때, 디프테리아 변독소/CRM197의 총량은 4 Lf/ml 내지 8 Lf/ml의 농도에서 1-50 Lf/용량, 예를 들어, 0.5ml 용량 당 2.5 Lf 또는 0.5ml 용량 당 4 Lf, 20 내지 50 Lf/ml의 농도에서, 예를 들어, 0.5ml 용량 당 10 Lf 또는 0.5ml 용량 당 25 Lf와 동등할 수도 있다. 디프테리아 변독소가 없는 특정 구체예에서, 존재하는 CRM197의 양은 4 Lf/ml 내지 8 Lf/ml의 농도에서 1-50 Lf/용량, 예를 들어, 0.5ml 용량 당 2.5 Lf 또는 0.5ml 용량 당 4 Lf, 20 내지 50 Lf/ml의 농도에서, 예를 들어 0.5ml 용량 당 10 Lf 또는 0.5ml 용량 당 25 Lf와 동등할 수도 있다. 디프테리아 변독소는 알루미늄 히드록시드 보조제에 흡착될 수도 있다.
- [0057] 전형적으로, 디프테리아 변독소 항원을 포함하는 면역원성 조성물은 실질적으로는 어떤 수은 보존제로부터 자유롭다.
- [0058] 과상풍 변독소
- [0059] 과상풍은 클로스트리듐 테타니, 그람-양성, 포자-형성 바실루스(bacillus)에 의해 유발된다. 이 유기체는 엔도펩티다제 ("과상풍 독소")를 발현하는데, 이것은 더 이상 독성이 아니지만 항원성을 유지하고 주사 후 특정 항독소 항체의 생산을 자극할 수 있는 변독소를 제공하기 위해 처리될 수 있다. 과상풍 변독소는 참고문헌 1의 27장에서 더 상세히 개시된다. 바람직한 과상풍 변독소는 포름알데히드 처리에 의해 제조된 것들이다. 과상풍 변독소는 성장 배지 (예를 들어, 소 카세인으로부터 유래된 라탐(Latham) 배지)에서 클로스트리듐 테타니(C.tetani)를 키우고, 이어서 포름알데히드 처리, 한외 여과 및 침전에 의해 얻어질 수 있다. 재료는 멸균 여과 및/또는 투석을 포함하는 공정에 의해 처리될 수도 있다.
- [0060] 과상풍 변독소의 양은 국제 단위 (IU)로 표현될 수 있다. 예를 들어, NIBSC [70]는 '흡착된 과상풍 변독소 제3 국제 표준 2000'을 공급하는데 [71,72], 이것은 앰플 당 469 IU를 함유한다. IU 시스템에 대한 대안으로서, 'Lf' 단위는 1 국제 단위의 항독소와 혼합될 때, 최적의 응집 혼합물을 생산하는 변독소의 양으로 정의된다 [73]. 예를 들어, NIBSC는 앰플 당 1000 Lf를 함유하는 '응집 테스트를 위한 과상풍 변독소에 대한 제1 국제 참조 시약(The 1st International Reference Reagent For 과상풍 변독소 For Flocculation Test)'을 공급한다 [74]. IU와 Lf 시스템 사이의 전환은 특정 변독소 조제물에 의존적이다.
- [0061] 소 재료가 클로스트리듐 테타니의 배양물에서 사용되면, 그것들은 광우병 (BSE) 또는 다른 전염성 해면상뇌증 (TSE)으로부터 자유로운 공급원으로부터 얻어져야 한다.
- [0062] 본 발명의 면역원성 조성물에서 과상풍 변독소는 전형적으로, 투여될 때, 면역 반응을 유도할 수 있는 양으로 존재한다. 이상적으로, 과상풍 변독소는 보호 면역 반응을 유도할 수 있다. 본 발명의 면역원성 조성물에서 과상풍 변독소의 양은 전형적으로 용량 당 1-20 Lf이다. 청소년 및 성인에 대한 촉진 백신은 전형적으로 0.5ml 용량 당 과상풍 변독소 5 Lf를 함유한다. 소아 백신은 전형적으로 0.5ml 용량 당 5 내지 10 Lf의 과상풍 변독소를 함유한다.
- [0063] 과상풍 변독소는 전형적으로 컨쥬게이트되지 않는다. 하지만, 일부 구체예에서, 과상풍 변독소가 자유 (컨쥬게이트되지 않음) 및 컨쥬게이트된 형태 둘 다로 또는 주로 컨쥬게이트된 형태로 존재할 수도 있다는 것이 당업자에게 명백할 것이다, 즉, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% 이상의 과상풍 변독소가 컨쥬게이트된 형태로 존재한다. 따라서, 본 발명의 면역원성 조성물에서 과상풍 변독소의 양은 컨쥬게이트되지 않은 과상풍 변독소 단독, 컨쥬게이트된 과상풍 변독소 단독 또는 컨쥬게이트되지 않은 및 컨쥬게이트된 과상풍 변독소의 합계를 나타낼 수도 있다.
- [0064] 과상풍 변독소는 알루미늄 히드록시드 보조제에 흡착될 수도 있지만, 이것은 필수적인 것은 아니다 (예를 들어, 총 과상풍 변독소 중 0-10%의 흡착이 사용될 수 있다).
- [0065] 전형적으로, 과상풍 변독소를 포함하는 면역원성 조성물은 어떤 수은 보존제로부터 실질적으로 자유롭다.
- [0066] 백일해 변독소
- [0067] 보르테텔라 페르투스스는 백일해(whooping cough)를 유발하는 그람 음성 비-포자 형성 호기성 박테리아이다. 참고문헌 1의 21장에서 더 상세히 설명된 바와 같이, 보르테텔라 페르투스스(B. pertussis)에 대한 백신은 수년

동안 이용 가능했고, 두 개의 범주, 세포성 (wP) 및 무세포성 (aP)으로 나누어 진다. 세포성 백신은 사멸되거나 불활성화된 (예를 들어, 포르말린 처리 및/또는 열에 의해) 전체 보르데텔라 페르투스스 세포를 포함하는 반면에, 무세포성 백신은 특정 정제된 보르데텔라 페르투스스 항원을 포함하며, 원래의 박테리아로부터 정제되거나 재조합 숙주에서 발현 후 정제된다.

[0068] 세포성 백일해 항원

[0069] 본 발명은 비활성화된 보르데텔라 페르투스스 세포의 형태로 세포성 백일해 항원을 사용할 수도 있다. 세포성 백일해 항원의 조제물이 잘 기록되어 있는데 (예를 들어, 참고문헌 1의 21장 참조), 예를 들어, 그것은 보르데텔라 페르투스스의 단계 I 배양물의 열 비활성화에 의해 얻어질 수도 있다.

[0070] wP 항원의 양은 국제 단위 (IU)로 표현될 수 있다. 예를 들어, NIBSC는 '백일해 백신에 대한 제3 국제 표준'을 공급하는데 [75], 이것은 앰플 당 46 IU를 함유한다. 각 앰플은 8 리터의 M/15 소렌센 버퍼(Sorensen's buffer) pH 7.0로 희석된 박테리아 현탁액 10 리터를 함유하는 수용액 (미국 불투명도 기준에 대하여 180 불투명도 단위와 동등함)의 2.0ml 알리퀴트의 동결-건조된 잔류물을 함유한다. IU 시스템에 대한 대안으로서, 'OU' 단위 (불투명도 단위)가 또한 사용된다 (예를 들어, 4 OU는 약 1 IU일 수도 있다).

[0071] 본 발명의 면역원성 조성물에서 세포성 장기백일해 항원은, 투여될 때, 면역 반응을 유도할 수 있는 양으로 존재한다. 이상적으로, 세포성 백일해 항원은 보호 면역 반응을 유도할 수 있다. 본 발명의 면역원성 조성물에서 wP 항원의 양은 전형적으로 적어도 4 IU/용량이다.

[0072] 세포성 백일해 항원은 알루미늄 포스페이트 보조제에 흡착되거나 이것과 혼합될 수도 있다.

[0073] 무세포성 백일해 항원

[0074] 본 발명은 단일 백신에서 하나 이상의 무세포성 백일해 (aP) 항원, 예를 들어, 다음의 잘 알려져 있고 잘 특성화된 보르데텔라 페르투스스 항원 중 둘 또는 세 개를 사용할 수도 있다: (1) 해독된 백일해 독소 (백일해 변독소, 또는 'PT'); (2) 사상 헤마글루티닌 ('FHA'); (3) 퍼탁틴 ('69 킬로달톤 외막 단백질'로도 알려져 있음). 이 항원들 셋 모두가 사용되는 것이 가장 바람직하다. 이 세 개의 항원은 바람직하게 변형된 스타이너-솔테(Stainer-Scholte) 액체 배지에서 키워진 보르데텔라 페르투스스 배양물로부터의 분리에 의해 제조된다. PT 및 FHA는 발효 브로스(broth)로부터 분리될 수도 있는 반면에 (예를 들어, 히드록시아파타이트 겔에 흡착에 의해), 퍼탁틴은 열 처리 및 응집에 의해 세포로부터 추출될 수 있다 (예를 들어, 바륨 클로라이드 사용). 항원은 연속적 크로마토그래피 및/또는 침전 단계로 정제될 수 있다. PT 및 FHA는 소수성 크로마토그래피, 친화도 크로마토그래피 및 크기 배제 크로마토그래피에 의해 정제될 수 있다. 퍼탁틴은 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피 및 크기 배제 크로마토그래피에 의해 정제될 수 있다.

[0075] FHA 및 퍼탁틴은 본 발명에 따라 사용 전에 포름알데히드가 처리될 수도 있다. PT는 바람직하게 포름알데히드 및/또는 글루타르알데히드의 처리에 의해 해독된다. 이 화학적 해독 과정에 대한 대안으로서, PT는 효소 활성이 돌연변이 유발에 의해 감소된 돌연변이 PT일 수도 있지만 [76], 화학물질 처리에 의한 해독이 바람직하다.

[0076] 사용될 수 있는 추가의 무세포성 백일해 항원은 펴브리아(fimbriae) (예를 들어, 아글루티노겐 2 및 3)를 포함한다. aP 항원(들)은 흡착되지 않은 상태로 사용될 수도 있지만, 그것들은 바람직하게 사용 전에 하나 이상의 알루미늄 염 보조제(들)에 흡착된다. aP 항원은 바람직하게 알루미늄 히드록시드 보조제에 흡착된다.

[0077] 전형적으로, aP 항원을 포함하는 면역원성 조성물은 실질적으로 수은 보존제 (예를 들어, 티메로살)로부터 자유롭다.

[0078] 무세포성 백일해 항원은 전형적으로, 투여될 때, 면역 반응을 유도할 수 있는 양으로 본 발명의 면역원성 조성물에 존재한다. 이상적으로, 무세포성 백일해 항원은 보호 면역 반응을 유도할 수 있다. 무세포성 백일해 항원의 양은 전형적으로 마이크로그램으로 표현된다. 백신에서 PT의 농도는 보통 5 내지 50 µg/ml이다. 전형적인 PT 농도는 5 µg/ml, 16 µg/ml, 20 µg/ml 또는 50 µg/ml이다. 백신에서 FHA의 농도는 보통 10 내지 50 µg/ml이다. 전형적인 FHA 농도는 10 µg/ml, 16 µg/ml 또는 50 µg/ml이다. 백신에서 퍼탁틴의 농도는 보통 5 내지 16 µg/ml이다. 전형적인 퍼탁틴 농도는 5 µg/ml, 6 µg/ml 또는 16 µg/ml이다. 예를 들어, 청소년 및 성인에 대한 촉진 백신은 전형적으로 0.5ml 용량 당 2.5 내지 8 µg PT, 4 내지 8 µg FHA 및 2.5 내지 8 µg 퍼탁틴을 함유한다. 전형적으로, 촉진 백신은 0.5ml 용량 당 4 µg PT, 4 µg FHA 및 8 µg 퍼탁틴, 더 바람직하게 5 µg PT, 2.5 µg FHA 및 2.5 µg 퍼탁틴을 포함한다. 소아 백신은 보통 0.5ml 용량 당 7 µg PT, 10 µg FHA 및 10 µg 퍼탁틴을 포함한다.

- [0079] 수성 구성요소가 PT, FHA 및 퍼탁틴 각각을 포함하는 경우에, 그것들의 중량비가 다를 수도 있지만, 예를 들어, 약 16:16:5, 약 5:10:6, 약 20:20:3, 약 25:25:8, 또는 약 10:5:3 (PT:FHA:PRN)일 수도 있다.
- [0080] 비활성화된 폴리오바이러스 항원
- [0081] 소아마비(Poliomyelitis)는 세 가지 타입의 폴리오바이러스 중 하나에 의해 유발될 수 있다. 세 가지 타입은 유사하고 동일한 증상을 유발하지만, 그것들은 항원과 관련하여 매우 상이하고 한 타입에 의한 감염은 다른 것들에 의한 감염에 대하여 보호하지 않는다. 그러므로, 참고문헌 1의 24장에서 설명된 바와 같이, 본 발명의 면역원성 조성물에서 세 가지 폴리오바이러스 항원 - 폴리오바이러스 타입 1 (예를 들어, Mahoney 균주), 폴리오바이러스 타입 2 (예를 들어, MEF-1 균주), 및 폴리오바이러스 타입 3 (예를 들어, Saukett 균주)을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0082] 본 발명의 면역원성 조성물은 비활성화된 폴리오바이러스 항원을 포함할 수도 있다.
- [0083] 폴리오바이러스는 세포 배양물에서 키워질 수도 있다. 바람직한 배양물은 Vero 세포주를 사용하는데, 이것은 원숭이 신장으로부터 유래된 지속적인 세포주이다. Vero 세포는 편의상 배양된 미립담체일 수 있다. 바이러스 감염 전에 및 동안에 Vero 세포의 배양은 송아지 혈청과 같은 소-유래 재료, 및 락트알부민 가수분해물 (예를 들어, 락트알부민의 효소에 의한 분해에 의해 얻어짐)의 사용을 수반할 수도 있다. 이러한 소-유래 재료는 BSE 또는 다른 TSE로부터 자유로운 공급원으로부터 얻어져야 한다. 바람직하게, 폴리오바이러스는 동물-유래 구성요소가 없는 배지에서 배양된 세포에서 키워진다. 성장 후, 비리온(virion)은 한외 여과, 디아필트레이션(diafiltration), 및 크로마토그래피와 같은 기술을 사용하여 정제될 수도 있다. 환자에게 투여 전에, 폴리오바이러스는 비활성화되어야 하고, 이것은 바이러스가 본 발명의 면역원성 조성물에서 사용되기 전에 포름알데히드의 처리에 의해 달성될 수 있다.
- [0084] 세 가지 폴리오바이러스는 바람직하게 개별적으로 키워지고, 정제되고 비활성화되며, 본 발명에서 사용되는 혼합물을 제공하기 위해 조합된다.
- [0085] 조합된 폴리오바이러스는 알루미늄 보조제에 흡착될 수도 있다.
- [0086] 전형적으로, IPV 항원을 포함하는 면역원성 조성물은 수은 보존제 (예를 들어, 티메로살)로부터 실질적으로 자유롭다.
- [0087] IPV 항원의 양은 전형적으로 'DU' 단위 ("D-항원 단위" [77])로 표시된다. 본 발명의 면역원성 조성물에서 IPV 항원은 전형적으로, 투여될 때, 면역 반응을 유도할 수 있는 양으로 존재한다. 이상적으로, IPV 항원은 보호 면역 반응을 유도할 수 있다.
- [0088] 조합 백신은 보통 용량 당 폴리오바이러스 타입 당 1-100 DU, 예를 들어, 약 40 DU의 타입 1 폴리오바이러스, 약 8 DU의 타입 2 폴리오바이러스, 및 약 32 DU의 타입 3 폴리오바이러스를 포함하지만, 이것들보다 더 낮은 용량, 예를 들어, 타입 1에 대하여 10-20 DU, 타입 2에 대하여 2-4 DU, 및 타입 3에 대하여 8-20 DU를 사용하는 것이 가능하다 [78,79]. 바람직하게, 본 발명의 조합 백신은 '저용량'의 폴리오바이러스를 포함한다. 타입 1 폴리오바이러스에 대하여 이것은 조성물에서 바이러스의 농도가 ≤ 20 DU/ml 예를 들어, < 18 , < 16 , < 14 , < 12 , < 10 , 등이라는 것을 의미한다. 타입 2 폴리오바이러스에 대하여 이것은 조성물에서 바이러스의 농도가 ≤ 4 DU/ml 예를 들어, < 3 , < 2 , < 1 , < 0.5 , 등이라는 것을 의미한다. 타입 3 폴리오바이러스에 대하여 이것은 조성물에서 바이러스의 농도가 ≤ 16 DU/ml 예를 들어, < 14 , < 12 , < 10 , < 8 , < 6 , 등이라는 것을 의미한다. 타입 1, 2 및 3 폴리오바이러스 세 가지 모두가 존재하는 경우 세 가지 항원은 각각 5:1:4의 DU 비, 또는 어떤 다른 적합한 비, 예를 들어, Sabin 균주를 사용할 때 15:32:45의 비로 존재할 수 있다 [80]. Sabin 균주의 저용량 항원은 특히 유용하며, 타입 1은 ≤ 10 DU이고, 타입 2는 ≤ 20 DU이며, 타입 3은 ≤ 30 DU이다 (단위 용량, 전형적으로 0.5ml 당).
- [0089] IPV 구성요소가 사용되고, 폴리오바이러스가 Vero 세포에서 키워진 경우, 백신 조성물은 바람직하게 10ng/ml 미만, 바람직하게 ≤ 1 ng/ml 예를 들어, ≤ 500 pg/ml 또는 ≤ 50 pg/ml의 Vero 세포 DNA, 예를 들어, 10ng/ml 미만의 > 50 염기쌍 길이인 Vero 세포 DNA를 함유한다.
- [0090] **본 발명의 특이적 면역원성 조성물**
- [0091] 본 발명의 특별히 예상된 면역원성 조성물은 다음을 포함한다:
- [0092] ● (i) 담체 단백질에 컨쥬게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨쥬게이트, (ii) 담체 단백질에 컨쥬게이션

된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트 및 (iv) 디프테리아 변독소.

[0093] ● (i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, (ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트 및 (iv) 과상풍 변독소.

[0094] ● (i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, (ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iv) 디프테리아 변독소 및 (v) 과상풍 변독소.

[0095] ● (i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, (ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iv) 디프테리아 변독소, (v) 과상풍 변독소, (vi) 세포성 백일해 항원.

[0096] ● (i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, (ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iv) 디프테리아 변독소, (v) 과상풍 변독소, (vi) 무세포성 백일해 항원.

[0097] ● (i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, (ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iv) 디프테리아 변독소, (v) 과상풍 변독소, (vi) 해독된 백일해 독소, (vii) 사상 헤마글루티닌 및 (viii) 퍼타틴.

[0098] ● (i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, (ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iv) 디프테리아 변독소, (v) 과상풍 변독소, (vi) 무세포성 백일해 항원 및 (vii) 비활성화된 폴리오바이러스 항원.

[0099] ● (i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, (ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iv) 디프테리아 변독소, (v) 과상풍 변독소, (vi) 해독된 백일해 독소, (vii) 사상 헤마글루티닌, (viii) 퍼타틴 및 (ix) 비활성화된 폴리오바이러스 항원.

[0100] ● (i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, (ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iv) 디프테리아 변독소, (v) 과상풍 변독소, (vi) 해독된 백일해 독소, (vii) 사상 헤마글루티닌, (viii) 퍼타틴, (ix) 폴리오바이러스 타입 1 균주의 항원, (x) 폴리오바이러스 타입 2 균주의 항원 및 (xi) 폴리오바이러스 타입 3 균주의 항원.

[0101] ● (i) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트, (ii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iii) 담체 단백질에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트, (iv) 디프테리아 변독소, (v) 과상풍 변독소, (vi) 무세포성 백일해 항원, (vii) 폴리오바이러스 타입 1 균주의 항원, (viii) 폴리오바이러스 타입 2 균주의 항원 및 (ix) 폴리오바이러스 타입 3 균주.

[0102] 전형적으로, GBS 혈청형 Ia 캡슐 당류의 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트에서 담체 단백질, GBS 혈청형 Ib 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트에서 담체 단백질 및 GBS 혈청형 III 캡슐 당류를 포함하는 GBS 컨주게이트에서 담체 단백질은 CRM197이다.

[0103] 본 발명의 추가의 예시적 면역원성 조성물은 다음을 포함한다:

[0104] (a) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트; b) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트; c) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트 및 (d) 디프테리아 변독소, 특히 포름알데히드와 함께 디프테리아 독소의 처리에 의해 제조된 디프테리아 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 디프테리아 변독소를 포함하는 조성물

[0105] (a) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트; b) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트; c) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트 및 (d) 과상

풍 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 파상풍 변독소를 포함하는 조성물

- [0106] (a) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트; b) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트; c) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트; (d) 디프테리아 변독소, 특히 포르말데히드와 함께 디프테리아 독소의 처리에 의해 제조된 디프테리아 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 디프테리아 변독소 및 (e) 파상풍 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 파상풍 변독소를 포함하는 조성물.
- [0107] (a) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트; b) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트; c) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트; (d) 디프테리아 변독소, 특히 포르말데히드와 함께 디프테리아 독소의 처리에 의해 제조된 디프테리아 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 디프테리아 변독소; (e) 파상풍 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 파상풍 변독소 및 (f) 세포성 백일해 항원 또는 무세포성 백일해 항원을 포함하는 조성물.
- [0108] (a) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트; b) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트; c) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트; (d) 디프테리아 변독소, 특히 포르말데히드와 함께 디프테리아 독소의 처리에 의해 제조된 디프테리아 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 디프테리아 변독소; (e) 파상풍 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 파상풍 변독소; (f) 해독된 백일해 독소; (g) 사상 헤마글루티닌; (h) 퍼탁틴 및 선택적으로 (i) 비활성화된 폴리오바이러스 항원을 포함하는 조성물.
- [0109] (a) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트; b) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트; c) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트; d) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 II의 캡슐 당류인 컨주게이트; 및 e) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류인 컨주게이트; (f) 디프테리아 변독소, 특히 포르말데히드와 함께 디프테리아 독소의 처리에 의해 제조된 디프테리아 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 디프테리아 변독소 및/또는 (g) 파상풍 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 파상풍 변독소; 선택적으로 (h) 세포성 백일해 항원 또는 무세포성 백일해 항원; 선택적으로 (i) 해독된 백일해 독소; 선택적으로 (j) 사상 헤마글루티닌; 선택적으로 (k) 퍼탁틴 및 선택적으로 (l) 비활성화된 폴리오바이러스 항원을 포함하는 조성물.
- [0110] (a) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ia의 캡슐 당류인 컨주게이트; b) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 Ib의 캡슐 당류인 컨주게이트; c) CRM197에 컨주게이션된 GBS 혈청형 III의 캡슐 당류인 컨주게이트; d) CRM197 또는 파상풍 변독소에 컨주게이션된 GBS 혈청형 II의 캡슐 당류인 컨주게이트; 및 e) CRM197 또는 파상풍 변독소에 컨주게이션된 GBS 혈청형 V의 캡슐 당류인 컨주게이트; (f) 디프테리아 변독소, 특히 포르말데히드와 함께 디프테리아 독소의 처리에 의해 제조된 디프테리아 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 디프테리아 변독소 및/또는 (g) 파상풍 변독소, 특히 GBS 캡슐 당류에 컨주게이션되지 않는 파상풍 변독소; 선택적으로 (h) 세포성 백일해 항원 또는 무세포성 백일해 항원; 선택적으로 (i) 해독된 백일해 독소; 선택적으로 (j) 사상 헤마글루티닌; 선택적으로 (k) 퍼탁틴 및 선택적으로 (l) 비활성화된 폴리오바이러스 항원을 포함하는 조성물.
- [0111] **약학적 방법 및 사용**
- [0112] 본 발명의 면역원성 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수도 있다. 전형적인 '약학적으로 허용 가능한 담체'는 조성물을 받는 개체에게 해로운 항체의 생산을 스스로 유발하지 않는 어떤 담체도 포함한다. 적합한 담체는 단백질, 다당류, 폴리락트산, 폴리글리콜산, 폴리머의 아미노산, 아미노산 코폴리머, 수크로스 [81], 트레할로스 [82], 락토스, 및 지질 응집체 (예를 들어, 오일 방울 또는 리포솜)과 같이 전형적으로 크고, 서서히 대사작용하는 거대분자이다. 이러한 담체는
- [0113] 당업자들에게 잘 알려져 있다. 백신은 또한 물, 식염수, 글리세롤, 등과 같은 희석제를 함유할 수도 있다. 추가적으로, 습윤제 또는 에멀전화제, pH 완충 물질, 등과 같은 보조 물질이 존재할 수도 있다. 멸균 피로젠이 없는, 포스페이트-완충된 생리학적 식염수가 전형적인 담체이다. 약학적으로 허용 가능한 부형제의 철저한 논의는 참고문헌 83에서 이용 가능하다.
- [0114] 본 발명의 조성물은 수성 형태 (즉, 용액 또는 현탁액) 또는 건조된 형태 (예를 들어, 동결건조됨)로 있을 수도 있다. 건조된 백신이 사용되면 그것은 주사 전에 액체 배지로 재구성될 것이다. 컨주게이트 백신의 동결건조는 업계에 알려져 있는데, 예를 들어, Menjugate™ 제품은 동결건조된 형태로 제공된다. 본 발명의 면역원성 조성

물이 하나 이상의 GBS 혈청형의 캡슐 당류를 포함하는 컨쥬게이트를 포함할 때, 컨쥬게이트가 별개로 제조되고, 혼합된 다음에 동결건조되는 것이 전형적이다. 이 방법으로, 본원에서 설명된 바와 같이 두 개, 세 개 또는 네 개 등의 컨쥬게이트를 포함하는 동결건조된 조성물이 제조될 수도 있다.

[0115] 동결건조 중에 컨쥬게이트를 안정화하기 위해서, 예를 들어, 안정화제로서 비-활성 구성요소는 동결-건조 전에 추가될 수 있다. 포함되는 바람직한 안정화제는 락토스, 수크로스 및 만니톨, 뿐만 아니라 이것들의 혼합물, 예를 들어, 락토스/수크로스 혼합물, 수크로스/만니톨 혼합물, 등이다. 따라서 동결건조된 재료의 수성 재구성에 의해 얻어진 최종 백신은 락토스 및/또는 수크로스를 함유할 수도 있다. 동결건조된 백신을 제조할 때 무정형 부형제 및/또는 무정형 버퍼를 사용하는 것이 바람직하다 [84].

[0116] 조성물에서, 예를 들어, 1mg/ml 내지 30mg/ml (예를 들어, 약 25mg/ml)로 당 알콜 (예를 들어, 만니톨) 및/또는 이당류 (예를 들어, 수크로스 또는 트레할로스)를 포함하는 것이 바람직할 수도 있다. 수크로스의 사용은 GBS 컨쥬게이트 백신에 대한 안정화제로서 추천되었다 (참고문헌 85). 하지만, 본 발명의 안정화제가 만니톨인 것이 전형적이다. 건조된 백신이 주사 전에 액체 배지로 재구성될 때, 잔여 만니톨의 농도는 전형적으로 약 2-20mg/ml, 예를 들어, 3.75mg/ml, 7.5mg/ml 또는 15mg/ml일 것이다.

[0117] 조성물은 바이알로 제공될 수도 있거나, 그것들은 미리 채워진 주사기로 제공될 수도 있다. 주사기는 바늘과 함께 또는 없이 공급될 수도 있다. 주사기는 조성물의 일회 용량을 포함하는 반면에, 바이알은 일회 용량 또는 다회수 용량을 포함할 수도 있다.

[0118] 본 발명의 조성물은 바람직하게 0.5ml 단위 용량으로 환자에게 투여된다. 0.5ml 용량에 대한 참조는 정규 분산, 예를 들어, 0.5ml ± 0.05ml을 포함하는 것으로 생각될 것이다. 다중 투여 상황을 위해, 다회수 투여량이 추출되어 단일 용기에 함께, 예를 들어, 10회 용량 다중 투여 용기에 대하여 5ml (또는 10% 과충전으로 5.5ml)로 포장될 것이다.

[0119] 본 발명의 수성 조성물은 또한 동결건조된 형태의 다른 백신을 재구성하는데 적합하다. 본 발명의 조성물이 이러한 즉석의 재구성에 사용되기 위한 것이면, 본 발명은 두 개의 바이알을 포함할 수도 있거나, 또는 하나의 미리 채워진 주사기 및 하나의 바이알을 포함할 수도 있는 키트를 제공하며, 주사기의 내용물은 주사 전 바이알의 내용물을 재활성화하기 위해 사용된다.

[0120] 백신은 또한 두 개의 구성요소를 함께 혼합함으로써 사용의 시간/시점에 즉석으로 제조될 수 있는 형태로 제조될 수 있다. 이러한 두 개의 구성요소 구체에는 액체/액체 혼합 및, 예를 들어, 수성 재료와 동결건조된 재료의 혼합에 의한 액체/고체 혼합을 포함한다.

[0121] 따라서, 본 발명에 유용한 키트는 하나 이상의 GBS 컨쥬게이트를 포함하는 제1 구성요소; 및 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 파상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 제2 구성요소를 포함하는데, 두 개의 구성요소는 별도의 용기 (예를 들어, 바이알 및/또는 주사기)에 있다. 제1 구성요소에서 GBS 컨쥬게이트는 동결건조될 수도 있다. 일부 구체예에서, 제1 구성요소는 보조제를 포함하지 않는다. 제2 구성요소는 수성 항원을 포함할 수도 있다. 일부 구체예에서, 제2 구성요소는 보조제, 예를 들어, 알루미늄 염 보조제를 포함한다.

[0122] 본 발명에 유용한 또 다른 키트는 항원이 없는 제1 구성요소를 포함할 수도 있으며, 이로 인해 최종 면역원성 조성물에서 모든 항원의 구성요소는 제2 구성요소로부터 유래된다. 예를 들어, 키트는 (i) 하나 이상의 GBS 컨쥬게이트 및 (ii) a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 파상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 수성 항원을 포함하는 제1 구성요소; 및 수성 보조제를 포함하는 제2 구성요소를 포함할 수도 있다. 본 발명의 면역원성 조성물은 제1 구성요소 및 제2 구성요소를 혼합함으로써 제조될 수 있다.

[0123] 본 발명은 또한 본 발명의 면역원성 조성물을 제조하는 공정을 제공하며, 하나 이상의 GBS 컨쥬게이트를 포함하는 제1 구성요소 및 a) 세포성 또는 무세포성 백일해 항원, b) 파상풍 변독소, c) 디프테리아 변독소 및 d) 비활성화된 폴리오바이러스 항원으로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 제2 구성요소를 혼합하는 단계를 포함한다. 제1 구성요소에서 GBS 컨쥬게이트는 동결건조될 수도 있다. 제2 구성요소는 수성 항원을 포함할 수도 있다. 공정은 제1 구성요소의 동결건조된 GBS 컨쥬게이트를 제2 구성요소의 수성 항원으로 재구성하는 추가의 단계를 포함할 수도 있다. 제1 구성요소는 보조제를 포함하지 않을 수도 있다. 제2 구성요소는 보조제, 예를 들어, 알루미늄 염 보조제를 포함할 수도 있다.

[0124] 본 발명의 조성물은 단위 용량 형태 또는 다회수 용량 형태로 포장될 수도 있다. 다회수 용량 형태에 대하여,

바이알은 미리 채워진 주사기가 바람직하다. 효과적인 투약 부피는 일상적으로 확립될 수 있지만, 조성물의 전형적인 인간 용량은, 예를 들어, 근육 내 주사를 위해 0.5ml의 부피를 갖는다.

- [0125] 조성물의 pH는 바람직하게 6 내지 8, 바람직하게 약 7이다. 안정한 pH는 버퍼의 사용에 의해 유지될 수도 있다. 환자에게 투여된 수성 조성물은 5.0 내지 7.5, 및 최적의 안정성을 위해 더 전형적으로는 5.0 내지 6.0의 pH를 가질 수 있다; 디프테리아 변독소 및/또는 파상풍 변독소가 존재하면, pH는 이상적으로 6.0 내지 7.0이다.
- [0126] 본 발명의 면역원성 조성물은 전형적으로 칼륨 디히드로겐 포스페이트 버퍼를 포함한다. 칼륨 디히드로겐 포스페이트 버퍼는 약 1-10mM, 예를 들어, 1.25mM, 2.5mM 또는 5.0mM 칼륨 디히드로겐 포스페이트를 포함할 수도 있다. 조성물이 알루미늄 히드록시드 염을 포함하면, 히스티딘 버퍼를 사용하는 것이 바람직하다 [86]. 조성물은 멸균 및/또는 피로겐이 없을 수도 있다. 본 발명의 조성물은 인간에 관하여 등장성일 수도 있다.
- [0127] 본 발명의 조성물은 면역원성이고, 더 바람직하게는 백신 조성물이다. 본 발명에 따르는 백신은 예방적 (즉, 감염을 예방하기 위해) 또는 치료적 (즉, 감염을 치료하기 위해)일 수도 있지만, 전형적으로 예방적일 것이다. 예방적 백신은 질환으로부터 완벽한 보호를 보장하지 않는데 환자가 항체를 발달시키더라도, 면역 시스템이 감염을 몰아낼 수 있기 전에 시간적 격차 또는 지연이 있을 수도 있기 때문이다. 그러므로, 및 의심할 여지를 없애기 위해, 용어 예방적 백신은 또한, 예를 들어, 이러한 감염의 심각도 또는 기간을 감소시킴으로써 미래의 감염의 효과를 개선하는 백신을 나타낼 수도 있다.
- [0128] 용어 "감염에 대한 보호" 및/또는 "보호적 면역력을 제공한다"는 대상체의 면역 시스템이 면역 반응을 촉발하고 감염을 물리치기 위해 프라이밍되었다 (예를 들어, 백신 접종에 의해)는 것을 의미한다. 특히, 촉발된 면역 반응은 박테리아의 상이한 균주와 같이 많은 병원체에 대한 감염을 물리칠 수 있다. 따라서 백신 접종된 대상체가 감염될 수도 있지만, 대조군 대상체보다 감염을 더 잘 물리칠 수 있다. 백신으로서 사용된 면역원성 조성물은, 필요에 따라, 항원(들)의 면역학적 유효량, 뿐만 아니라 어떤 다른 구성요소도 포함한다. '면역학적 유효량'은, 일회 용량으로 또는 일련의 일부로서, 개체에 상기 양의 투여가 치료 또는 예방에 효과적이라는 것을 의미한다. 보통, 원하는 결과는 병원체에 대하여 대상체를 보호할 수 있거나 이에 기여할 수 있는 항원 (예를 들어, 병원체)-특이적 면역 반응의 생산이다. 이 양은 치료되는 개체의 건강 및 육체적인 상태, 나이, 치료되는 개인의 분류군 (예를 들어, 비-인간 영장류, 영장류, 등), 항체를 합성하는 개체 면역 시스템의 능력, 원하는 보호의 정도, 백신의 제형화, 치료하는 의사의 의학적 상황에 대한 평가, 및 다른 관련된 인자에 따라 다르다. 양은 일상적인 시험을 통해 결정될 수 있는 비교적 넓은 범위에 속할 것으로 예상된다.
- [0129] 본 발명의 조성물은 다양한 형태로 제조될 수도 있다. 예를 들어, 조성물은 액체 용액 또는 현탁액으로서, 주사 가능 물질로 제조될 수도 있다. 조성물은, 예를 들어, 흡입제로서, 폐 투여를 위해 제조될 수도 있으며, 미세한 분말 또는 스프레이를 사용한다. 조성물은 좌약 또는 페서리(pessary)로서 제조될 수도 있다. 조성물은, 예를 들어, 스프레이, 방울, 겔 또는 분말로써 비강, 귀 또는 안구 투여를 위해 제조될 수도 있다 [예를 들어, 참고 문헌 87 & 88]. 페럼 구균 당류 [89,90], Hib 당류 [91], MenC 당류 [92], 및 Hib 및 MenC 당류 컨주게이트의 혼합물 [93]의 비강 투여의 성공이 보고되었다.
- [0130] 본 발명의 조성물은, 특히 다회수 용량 포맷으로 포장될 때, 항균제를 포함할 수도 있다.
- [0131] 본 발명의 조성물은 세제, 예를 들어, Tween 80과 같은 Tween (폴리소르베이트)을 포함할 수도 있다. 세제는 일반적으로 낮은 수준, 예를 들어, ≤ 0.01%로 존재한다.
- [0132] 본 발명의 조성물은 긴장성을 제공하기 위해 나트륨 염 (예를 들어, 나트륨 클로라이드)을 포함할 수도 있다. 10 ± 2mg/ml NaCl의 농도가 전형적이다. 일부 구체예에서, 4-10mg/ml NaCl의 농도, 예를 들어, 9.0, 7.0, 6.75 또는 4.5mg/ml이 사용될 수도 있다.
- [0133] 조성물은 일반적으로 200mOsm/kg 내지 400mOsm/kg, 바람직하게 240-360mOsm/kg의 삼투질 농도(osmolality)를 가질 것이며, 더 바람직하게는 280-320mOsm/kg의 범위 내에 있을 것이다. 삼투질 농도는 백신 접종에 의해 유발된 통증에 영향을 미치지 않는 것으로 보고되었지만, 그럼에도 불구하고 이 범위에서 삼투질 농도를 유지하는 것이 바람직하다.
- [0134] 본 발명의 조성물은 일반적으로 버퍼를 포함할 것이다. 포스페이트 버퍼가 전형적이다.
- [0135] 본 발명의 조성물은 다른 면역조절제와 함께 투여될 수도 있다. 특히, 조성물은 하나 이상의 보조제를 포함할 수도 있다. 이러한 보조제는 다음을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다:

- [0136] *A. 미네랄-함유 조성물*
- [0137] 본 발명에서 보조제로서 사용에 적합한 미네랄 함유 조성물은 알루미늄 염 및 칼슘 염 (또는 이것의 혼합물)과 같은 미네랄 염을 포함한다. 칼슘 염은 칼슘 포스페이트 (예를 들어, 참고문헌 95에 개시된 "CAP" 입자)를 포함한다. 알루미늄 염은 히드록시드, 포스페이트, 술페이트, 등을 포함하며, 염은 어떤 적합한 형태 (예를 들어, 겔, 결정, 무정형, 등)를 취한다. 이 염들의 흡착이 바람직하다. 미네랄 함유 조성물은 또한 금속 염의 입자로서 제형화될 수도 있다 [96].
- [0138] 알루미늄 히드록시드 및 알루미늄 포스페이트로서 알려져 있는 보조제가 사용될 수도 있다. 이 이름들은 통상적이지만, 존재하는 실제의 화합물의 정확한 설명이 없기 때문에, 단지 편의상으로만 사용된다 (예를 들어, 참고문헌 97의 9장 참조). 본 발명은 보조제로서 일반적으로 사용되는 "히드록시드" 또는 "포스페이트" 보조제 중 어떤 것도 사용할 수 있다. "알루미늄 히드록시드"로서 알려져 있는 보조제는 전형적으로 알루미늄 옥시히드록시드 염인데, 이것은 보통 적어도 부분적으로는 결정형이다. "알루미늄 포스페이트"로서 알려져 있는 보조제는 전형적으로 알루미늄 히드록시포스페이트이며, 종종 소량의 술페이트 (즉, 알루미늄 히드록시포스페이트 술페이트)를 또한 함유한다. 그것들은 침전에 의해 얻어질 수도 있고, 침전 중에 반응 조건 및 농도는 염에서 히드록실에 대한 포스페이트 치환의 정도에 영향을 미친다.
- [0139] 섬유상 형태 (예를 들어, 투과 전자 현미경에서 보이는 바와 같음)가 알루미늄 히드록시드 보조제에 대하여 전형적이다. 알루미늄 히드록시드 보조제의 pI는 전형적으로 약 11이다, 즉, 보조제 자체는 생리학적 pH에서 양의 표면 전하를 갖는다. pH 7.4에서 mg Al⁺⁺⁺ 당 1.8-2.6mg 단백질의 흡착 능력이 알루미늄 포스페이트 보조제에 대하여 보고되었다.
- [0140] 알루미늄 포스페이트 보조제는 일반적으로 0.3 내지 1.2, 바람직하게 0.8 내지 1.2, 및 더 바람직하게 0.95 ± 0.1의 PO₄/Al 분자비를 갖는다. 알루미늄 포스페이트는, 특히 히드록시포스페이트 염에 대하여, 일반적으로 무정형일 것이다. 전형적인 보조제는 0.84 내지 0.92의 PO₄/Al 몰비를 갖는 무정형 알루미늄 히드록시포스페이트이며, 0.6mg Al³⁺/ml로 포함된다. 알루미늄 포스페이트는 일반적으로 미립자 (예를 들어, 투과 전자 현미경 사진에서 보이는 평판-유사 형태)일 것이다. 입자의 전형적인 지름은 어떤 항원에 흡착 후에 0.5-20 μm (예를 들어, 약 5-10 μm)의 범위에 있다. pH 7.4에서 mg Al⁺⁺⁺ 당 0.7-1.5mg 단백질의 흡착 능력이 알루미늄 포스페이트 보조제에 대하여 보고되었다.
- [0141] 알루미늄 포스페이트의 영 전위점 (PZC)은 히드록실에 대한 포스페이트 치환의 정도에 역으로 관련되고, 이 치환의 정도는 침전에 의해 염을 제조하는데 사용된 반응 조건 및 반응물의 농도에 따라 다를 수도 있다. PZC는 또한 용액에서 자유 포스페이트 이온의 농도를 변화시킴으로써 (더 많은 포스페이트 = 더 산성인 PZC) 또는 히스티딘 버퍼와 같은 버퍼를 추가함으로써 (PZC를 더 염기성으로 만든다) 달라진다. 본 발명에 따라 사용된 알루미늄 포스페이트는 일반적으로 4.0 내지 7.0, 더 바람직하게 5.0 내지 6.5 예를 들어, 약 5.7의 PZC를 가질 것이다.
- [0142] 본 발명의 조성물을 제조하기 위해 사용된 알루미늄 염의 현탁액은 버퍼 (예를 들어, 포스페이트 또는 히스티딘 또는 트리스 버퍼)를 함유할 수도 있지만, 이것이 항상 필수적인 것은 아니다. 현탁액은 바람직하게 멸균되고 피로겐이 없다. 현탁액은, 예를 들어, 1.0 내지 20mM, 바람직하게 5 내지 15mM, 및 더 바람직하게 약 10mM의 농도로 존재하는 자유 수성 포스페이트 이온을 포함할 수도 있다. 현탁액은 또한 나트륨 클로라이드를 포함할 수도 있다.
- [0143] 본 발명은 알루미늄 히드록시드 및 알루미늄 포스페이트 둘 다의 혼합물을 사용할 수 있다. 이 경우에 히드록시드보다 더 많은 알루미늄 포스페이트가 있을 수도 있는데 중량비는, 예를 들어, 적어도 2:1 예를 들어, ≥ 5:1, ≥ 6:1, ≥ 7:1, ≥ 8:1, ≥ 9:1, 등이다.
- [0144] 환자에게 투여되는 조성물에서 Al⁺⁺⁺의 농도는 바람직하게는 10mg/ml 이하, 예를 들어, ≤ 5mg/ml, ≤ 4mg/ml, ≤ 3mg/ml, ≤ 2mg/ml, ≤ 1mg/ml, 등이다. 바람직한 범위는 0.3 내지 1mg/ml이다. 최대 0.85mg/용량이 바람직하다.
- [0145] 전형적인 보조제 알루미늄 포스페이트 보조제는 0.84 내지 0.92의 PO₄/Al 몰비를 갖는 무정형 알루미늄 히드록시포스페이트이며, 0.6mg Al³⁺/ml로 포함된다. 저용량의 알루미늄 포스페이트로의 흡착이 사용될 수도 있는데,

예를 들어, 용량 당 컨주게이트 당 50 내지 100 $\mu\text{g Al}^{3+}$ 이다.

- [0146] *B. 사포닌 제형 [참고문헌 97의 22장]*
- [0147] 사포닌 제형은 또한 본 발명에서 보조제로서 사용될 수도 있다. 사포닌은 광범위한 식물 종의 껍질, 잎, 줄기, 뿌리 및 심지어 꽃에서도 발견되는 스테롤 글리코시드 및 트리테페노이드 글리코시드의 이종기원 균이다. 켈라이아 사포나리아 몰리나 나무(*Quillaia saponaria* Molina tree)의 껍질로부터 분리된 사포닌은 보조제로서 널리 연구되었다. 사포닌은 또한 스밀락스 오르나타(*Smilax ornata*) (사르사프릴라(*sarsapilla*)), 김소필라 파니쿨라타(*Gypsophilla paniculata*) (브리데스 베일(*brides veil*)), 및 사포나리아 오피시아날리스(*Saponaria officianalis*) (석회페랭이꽃(*soap root*))로부터 상업적으로 얻을 수 있다. 사포닌 보조제 제형은 QS21과 같은 정제된 제형, 뿐만 아니라 ISCOM과 같은 지질 제형을 포함한다.
- [0148] 사포닌 조성물은 HPLC 및 RP-HPLC를 사용하여 정제되었다. 이 기술들을 사용하는 특이적 정제된 분획이 확인되었으며, QS7, QS17, QS18, QS21, QH-A, QH-B 및 QH-C를 포함한다. 바람직하게, 사포닌은 QS21이다. QS21의 생산 방법은 참고문헌 98에서 개시된다. 사포닌 제형은 또한 콜레스테롤과 같은 스테롤을 포함할 수도 있다 [99].
- [0149] 사포닌과 콜레스테롤의 조합은 면역 자극 복합체 (ISCOM)로 불리는 독특한 입자를 형성하기 위해 사용될 수 있다 [참고문헌 97의 23장]. ISCOM은 전형적으로 포스파티딜에탄올아민 또는 포스파티딜콜린과 같은 인지질을 또한 포함한다. 어떤 알려져 있는 사포닌도 ISCOM에서 사용될 수 있다. 바람직하게, ISCOM은 QuilA, QHA 및 QHC 중 하나 이상을 포함한다. ISCOM은 참고문헌 99-101에서 더 설명된다. 선택적으로, ISCOM은 추가의 세제(들)가 전혀 없다 [102].
- [0150] 사포닌 기반 보조제의 개발의 재검토는 참고문헌 103 & 104에서 발견될 수 있다.
- [0151] *C. 비로솜 및 바이러스-유사 입자*
- [0152] 비로솜 및 바이러스-유사 입자 (VLP)는 본 발명에서 보조제로서 사용될 수 있다. 이 구조들은 일반적으로 인지질과 선택적으로 조합되거나 이것으로 제형화된 바이러스의 하나 이상의 단백질을 함유한다. 그것들은 일반적으로 비-병원성, 비-복제 가능하며 일반적으로 원래의 바이러스 계통 중 어떤 것도 함유하지 않는다. 바이러스 단백질은 재조합에 의해 생산되거나 전체 바이러스로부터 분리될 수도 있다. 비로솜 또는 VLP에서 사용에 적합한 바이러스 단백질들은 인플루엔자 바이러스 (예를 들어, HA 또는 NA), B형 간염 바이러스(*Hepatitis B virus*) (예를 들어, 코어(*core*) 또는 캡시드(*capsid*) 단백질), E형 간염 바이러스(*Hepatitis E virus*), 홍역 바이러스(*measles virus*), 신드비스 바이러스(*Sindbis virus*), 로타바이러스(*Rotavirus*), 구제역 바이러스(*Foot-and-Mouth Disease virus*), 레트로바이러스(*Retrovirus*), 노르워크 바이러스(*Norwalk virus*), 인간 파필로마 바이러스(*Papilloma virus*), HIV, RNA-과지, Q β -과지 (예를 들어, 코팅 단백질), GA-과지, fr-과지, AP205 과지, 및 Ty (예를 들어, 레트로트랜스포손(*retrotransposon*) Ty 단백질 p1)로부터 유래된 단백질을 포함한다. VLP는 참고문헌 105-110에서 더 논의된다. 비로솜은 예를 들어, 참고문헌 111에서 더 논의된다.
- [0153] *D. 박테리아 또는 미생물 유도체*
- [0154] 본 발명에서 사용에 적합한 보조제는 박테리아 또는 미생물 유도체, 예를 들어, 면역 자극 올리고뉴클레오티드 및 ADP-리보실화 독소 및 이것의 해독된 유도체를 포함한다.
- [0155] 본 발명에서 보조제로서 사용에 적합한 면역 자극 올리고뉴클레오티드는 CpG 모티프(*motif*)를 함유하는 뉴클레오티드 서열 (구아노신에 결합된 포스페이트에 의해 연결된 메틸화되지 않은 시토신을 함유하는 디뉴클레오티드 서열)을 포함한다. 회귀성 또는 poly(dG) 서열을 함유하는 이중-가닥 RNA 및 올리고뉴클레오티드는 또한 면역 자극인 것으로 나타났다.
- [0156] CpG's는 뉴클레오티드 변형/유사체, 예를 들어, 포스포로티오에이트 변형을 포함할 수 있고 이중-가닥 또는 단일-가닥일 수 있다. 참고문헌 112, 113 및 114는 가능한 유사체 치환, 예를 들어, 구아노신의 2'-테옥시-7-데아자구아노신으로 대체를 개시한다. CpG 올리고뉴클레오티드의 보조 효과는 참고문헌 115-120에서 더 논의된다.
- [0157] CpG 서열은 TLR9, 예를 들어, 모티프 GTCGTT 또는 TTCGTT와 관련된 것일 수도 있다 [121]. CpG 서열은 Th1 면역 반응, 예를 들어, CpG-A ODN을 유발하는데 특이적일 수도 있거나, 또는 B 세포 반응, 예를 들어, CpG-B ODN에 더 특이적일 수도 있다. CpG-A 및 CpG-B ODN은 참고문헌 122-124에서 논의된다. 바람직하게, CpG는 CpG-A ODN이다.
- [0158] 바람직하게, CpG 올리고뉴클레오티드는 5' 끝이 수용체 인식에 접근할 수 있도록 구성된다. 선택적으로, 두 개

의 CpG 올리고뉴클레오티드 서열은 그것들의 3'에서 부착되어 "이뮤노머(immunomer)"를 형성할 수도 있다. 예를 들어, 121 & 125-127을 참고하면 된다.

[0159] 박테리아 ADP-리보실화 독소 및 이것의 해독된 유도체는 본 발명에서 보조제로서 사용될 수도 있다. 바람직하게, 단백질은 에스체리키아 콜리(E.coli) (에스체리키아 콜리 열 불안정 장독소 "LT"), 콜레라(cholera) ("CT"), 또는 백일해 ("PT")로부터 유래된다. 점막 보조제로서 해독된 ADP-리보실화 독소의 사용은 참고문헌 128에서 설명되고 비경구 보조제로서는 참고문헌 129에서 설명된다. 독소 또는 변성 독소는 바람직하게 완전독소(holotoxin)의 형태이며, A 및 B 서브유닛 둘 다를 포함한다. 바람직하게, A 서브유닛은 해독 돌연변이를 함유한다; 바람직하게 B 서브유닛은 돌연변이되지 않는다. 바람직하게, 보조제는 LT-K63, LT-R72, 및 LT-G192와 같이 해독된 LT 돌연변이이다. 보조제로서, ADP-리보실화 독소 및 이것의 해독된 유도체, 특히 LT-K63 및 LT-R72의 사용은 참고문헌 130-137에서 발견될 수 있다. 아미노산 치환에 대한 수치적 참조는 바람직하게 참고문헌 138에서 제시된 ADP-리보실화 독소의 A 및 B 서브유닛 정렬을 기반으로 하며, 특별히 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0160] E. 인간 면역조절기

[0161] 본 발명에서 보조제로서 사용에 적합한 인간 면역조절기는 시토킨, 예를 들어, 인터류킨 (예를 들어, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12 [139], 등) [140], 인터페론 (예를 들어, 인터페론- γ), 대식세포 콜로니 자극 인자(macrophage colony stimulating factor), 및 종양 괴사 인자(tumor necrosis factor)를 포함한다.

[0162] F. 생체 접착제(Bioadhesive) 및 점막 접착제(Mucoadhesive)

[0163] 생체 접착제 및 점막 접착제는 또한 본 발명에서 보조제로서 사용될 수도 있다. 적합한 생체 접착제는 에스테르화된 히알루론산 미소구체 [141] 또는 폴리(아크릴산), 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 다당류 및 카르복시 메틸셀룰로스의 교차-결합된 유도체와 같은 점막 접착제를 포함한다. 키토산 및 이것의 유도체가 또한 본 발명에서 보조제로서 사용될 수도 있다 [142].

[0164] G. 미세입자

[0165] 미세입자는 또한 본 발명에서 보조제로서 사용될 수도 있다. 폴리(락티드-코-글리콜리드)와 함께, 생분해성 및 비-독성 (예를 들어, 폴리(α -히드록시산), 폴리히드록시부티르산, 폴리오르토에스테르, 폴리안히드라이드, 폴리카프로락톤, 등)인 재료로 형성된 미세입자 (즉, 지름이 ~100nm 내지 ~150 μ m, 더 바람직하게 지름이 ~200nm 내지 ~30 μ m, 및 가장 바람직하게는 지름이 ~500nm 내지 ~10 μ m인 입자)가 바람직하고, 음전하를 띤 표면 (예를 들어, SDS로) 또는 양전하를 띤 표면 (예를 들어, 양이온 세제, 예를 들어, CTAB로)을 갖도록 선택적으로 처리된다.

[0166] H. 리포솜 (참고문헌 97의 13 & 14장)

[0167] 보조제로서 사용에 적합한 리포솜 제형의 예는 참고문헌 143-145에서 설명된다.

[0168] I. 폴리옥시에틸렌 에테르 및 폴리옥시에틸렌 에스테르 제형

[0169] 본 발명에서 사용에 적합한 보조제는 폴리옥시에틸렌 에테르 및 폴리옥시에틸렌 에스테르를 포함한다 [146]. 이러한 제형은 옥톡시놀과 조합된 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르 계면활성제 [147], 뿐만 아니라 옥톡시놀과 같은 적어도 하나의 추가적인 비-이온성 계면활성제와 조합된 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르 또는 에스테르 계면활성제를 더 포함한다 [148]. 바람직한 폴리옥시에틸렌 에테르는 다음 군들로부터 선택된다: 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르 (라우레쓰(laureth) 9), 폴리옥시에틸렌-9-스테로일 에테르, 폴리옥시에틸렌-8-스테로일 에테르, 폴리옥시에틸렌-4-라우릴 에테르, 폴리옥시에틸렌-35-라우릴 에테르, 및 폴리옥시에틸렌-23-라우릴 에테르.

[0170] J. 폴리포스파젠 (PCPP)

[0171] PCPP 제형은, 예를 들어, 참고문헌 149 및 150에서 설명된다.

[0172] K. 뮤라밀 펩티드

[0173] 본 발명에서 보조제로서 사용에 적합한 뮤라밀 펩티드의 예는 N-아세틸-뮤라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민 (thr-MDP), N-아세틸-노르뮤라밀-L-알라닐-D-이소글루타민 (nor-MDP), 및 N-아세틸뮤라밀-L-알라닐-D-이소글루타미닐-L-알라닌-2-(1'-2'-디팔미토일-sn-글리세로-3-히드록시포스포릴옥시)-에틸아민 MTP-PE)를 포함한다.

[0174] L. 이미다조퀴놀론 화합물

- [0175] 본 발명에서 보조제로서 사용에 적합한 이미다조퀴놀론 화합물의 예는 이미콰모드(Imiquamod) 및 그것의 상동체 (예를 들어, "레스퀴모드(Resiquimod) 3M")를 포함하며, 참고문헌 151 및 152에서 더 설명된다.
- [0176] M. 티오세미카르바존 화합물.
- [0177] 티오세미카르바존 화합물의 예, 뿐만 아니라 본 발명에서 보조제로서 사용에 적합한 모든 화합물을 제형화하고, 제조하고, 스크리닝하는 방법은 참고문헌 153에서 설명된 것들을 포함한다. 티오세미카르바존은 시토킨, 예를 들어, TNF- α 의 생산을 위한 인간 말초 혈액 단핵 세포의 자극에 있어서 특히 효과적이다.
- [0178] N. 트립탄트린 화합물.
- [0179] 트립탄트린 화합물의 예, 뿐만 아니라 본 발명에서 보조제로서 사용에 적합한 모든 화합물을 제형화하고, 제조하고, 스크리닝하는 방법은 참고문헌 154에서 설명된 것들을 포함한다. 트립탄트린 화합물은 시토킨, 예를 들어, TNF- α 의 생산을 위한 인간 말초 혈액 단핵 세포의 자극에 있어서 특히 효과적이다.
- [0180] 본 발명은 상기 확인된 보조제 중 하나 이상의 양태의 조합을 포함할 수도 있다.
- [0181] 면역자극제로서 작용하는 다른 물질은 참고문헌 97의 7장에서 개시된다.
- [0182] 알루미늄 염 보조제의 사용이 특히 바람직하며, 항원은 일반적으로 이러한 염에 흡착된다. 본 발명의 조성물에서 일부 항원이 알루미늄 히드록시드에 흡착하지만 알루미늄 포스페이트에 관련된 다른 항원을 갖는 것이 가능하다. 하지만, 일반적으로는, 단일 염, 예를 들어, 히드록시드 또는 포스페이트만을 사용하는 것이 바람직하지만, 둘 다는 아니다. 모든 컨주게이트가 흡착되어야 하는 것은 아니다, 즉, 일부 또는 모두가 용액에서 유리될 수 있다.
- [0183] **치료 방법**
- [0184] 본 발명은 또한 포유동물에서 면역 반응을 일으키는 방법을 제공하며, 포유동물에 본 발명의 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 면역 반응은 바람직하게 보호적이고 바람직하게 항체를 수반한다. 방법은 촉진 반응을 일으킬 수도 있다. 본 발명의 조성물은 바람직하게 0.5ml 용량으로 환자에게 투여된다 (상기 논의된 바와 같음).
- [0185] 포유동물은 바람직하게는 인간이다. 백신이 예방적 사용을 위한 것이면, 인간은 바람직하게는 어린이 (예를 들어, 영유아, 특히 신생아) 또는 청소년이다; 백신이 치료적 사용을 위한 것이면, 인간은 바람직하게는 성인이다. 어린이를 위해 의도된 백신은, 예를 들어, 안전성, 투약량, 면역원성, 등을 평가하기 위해 성인에게도 투여될 수 있다. 치료되는 인간의 바람직한 등급은 임신 가능 연령의 여성 (예를 들어, 청소년 이상)이다. 또 다른 바람직한 등급은 임신한 여성이다. 고령의 환자 (예를 들어, 50살, 60살, 70살, 80살 또는 90살 이상, 특히 65살 이상인 환자들), 특히 GBS 감염의 위험이 증가될 수도 있는 양로원에 사는 환자들 ([155]) 치료되는 인간의 또 다른 바람직한 등급이다.
- [0186] 일부 구체예에서, 환자는 디프테리아 변독소 또는 이것의 유도체로 미리 면역화되었다. 다른 구체예에서, 환자는 파상풍 변독소 또는 이것의 유도체로 미리 면역화되었다.
- [0187] 본 발명은 또한 의약품으로 사용되는 본 발명의 조성물을 제공한다. 의약품은 바람직하게 포유동물에서 면역 반응을 일으킬 수 있고 (즉, 그것은 면역원성 조성물이다) 더 바람직하게는 백신이다.
- [0188] 본 발명은 또한 포유동물에서 면역 반응을 일으키는 의약품의 제조에 있어서 본 발명의 조성물의 사용을 제공한다.
- [0189] 이 사용 및 방법은 바람직하게는 스트렙토코쿠스 아갈락티에 및 코리네박테리움 디프테리에, 클로스트리듐 테타니, 보르데텔라 페르투스시스 및 폴리오바이러스에 의해 유발된 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 것이다. 스트렙토코쿠스 아갈락티에(S.agalactiae)에 의해 유발된 질환은 신생아 패혈증(neonatal sepsis) 또는 균혈증(bacteremia), 신생아 폐렴(neonatal pneumonia), 신생아 뇌막염(neonatal meningitis), 자궁내막염(endometritis), 골수염(osteomyelitis), 화농성 관절염(septic arthritis), 등일 수 있다. 코리네박테리움 디프테리에(C.diphtheria)는 디프테리아를 유발할 수 있고; 클로스트리듐 테타니는 파상풍을 유발할 수 있고; 보르데텔라 페르투스시스는 백일해를 유발할 수 있고; 폴리오바이러스는 소아마비(polio)를 유발할 수 있다.
- [0190] 질환이 예방되는 대상체는 본 발명의 면역원성 조성물을 받는 대상체와 같지 않을 수도 있다. 예를 들어, 면역원성 조성물은 자손을 보호하기 위해서 여성에게 투여될 수도 있다 (임신 전에 또는 중에) (소위 '모체 면역화'

[156-158]). 임신한 여성의 면역화는 수동적 모체 면역을 통해 유아에게 항체-매개 면역력을 제공한다. 수동 면역은 모체 항체가 태반을 통해 태아에게 이동될 때 자연적으로 발생한다. 수동 면역은 유아에게 특히 중요한데 그들이 어떤 능동적 획득 면역도 없이 태어나기 때문이다. 임신한 여성에게 본 발명의 조성물의 투여는 여성의 면역력을 향상시키고, 항체는 태반을 통해 신생아에게 전달되며, 유아에게 수동적 모체 면역을 부여한다. 하지만, 유아의 수동 면역은 단지 일시적이고 태어난 처음 몇 주, 또는 몇 달 후에 감소하기 시작한다. 수동 면역이 단지 일시적이기 때문에, 수동 면역이 줄어들기 전에, 유아의 능동 면역을 유발하기 위해, 유아가 본 발명의 조성물의 투여를 받는 것이 중요할 수도 있다. 태어난 후 유아에게 두 번째 면역원성 조성물의 투여는 유아의 능동 면역을 유발하고, 임신 중에 모체로부터 전달된 면역력을 연장한다.

[0191] 본원에서 사용된 바와 같이, 유아는 1살 이하 (예를 들어, 1일령, 1주령, 2주령, 3주령, 4주령, 2개월령, 3개월령, 4개월령, 5개월령, 6개월령, 7개월령, 8개월령, 9개월령, 10개월령, 11개월령 이하, 12개월령 이하)의 개체이다.

[0192] 임신한 여성은 임신 중 어떤 기간에도 본 발명의 조성물이 투여될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 임신 1삼분기, 2삼분기 또는 3삼분기 동안 여성에게 투여될 수도 있다. 일부 구체예에서, 조성물은 임신 마지막 6-12주 (예를 들어, 임신 28주, 임신 29주, 임신 30주, 임신 31주, 임신 32주, 임신 33주, 임신 34주, 임신 35주, 임신 36주, 임신 37주, 임신 38주, 임신 39주) 동안 여성에게 투여된다. 특히, 본 발명의 조성물은 유아의 전달 전 적어도 4주에 임신한 여성에게 투여된다. 일부 구체예에서, 1회-투여 요법은 임신 32주 내지 36주에 임신한 여성에게 투여된다. 다른 구체예에서, 2회-투여 요법이 임신한 여성에게 투여되는데, 제1 용량은 대략 임신 32주에 투여되고 제2 용량은 대략 임신 36주에 투여된다.

[0193] 유아는 태어난 첫 해 중 어떤 기간에, 및 필요하면 그 후에 조성물이 투여될 수도 있다. 일반적으로 조성물은 태어난 첫 해 중에 한 번, 두 번, 세 번, 네 번 또는 그 이상 유아에게 투여될 것이다. 예를 들어, 본 발명의 조성물은 태어났을 때, 2주령, 4주령, 6주령, 2개월령, 3개월령, 4개월령, 6개월령, 9개월령, 및 12개월령으로부터 선택된 하나 이상의 시간에 유아에게 투여될 수도 있다. 특히, 본 발명의 조성물은 모체 항체가 비-보호역가로 감소하기 전 시간에 유아에게 투여된다. 이후의 투여는 어떤 원하는 일정에 일어날 수 있다.

[0194] 한 구체예에서, 스트렙토코쿠스 아갈락티에 및 코리네박테리움 디프테리아, 클로스트리듐 테타니, 보르데텔라 페르투스 및 폴리오바이러스 중 하나 이상에 의해 유발된 질환에 대하여 유아를 보호하는 방법이 제공되는데, (a) 상기 유아의 임신 중에 암컷에게 본 발명의 조성물을 투여하는 단계; 및 (b) 임신에서 태어난 유아에게 본 발명의 조성물을 선택적으로 투여하는 단계를 포함한다.

[0195] 따라서, 스트렙토코쿠스 아갈락티에에 의해 유발된 질환 및 디프테리아, 과상풍, 백일해 및 소아마비 중 하나 이상에 대하여 유아를 보호하는 방법이 제공되는데, (a) 상기 유아의 임신 중에 암컷에게 본 발명의 조성물을 투여하는 단계; 및 (b) 임신에서 태어난 유아에게 본 발명의 조성물을 선택적으로 투여하는 단계를 포함한다.

[0196] 본 발명의 바람직한 조성물은 인간 대상체의 허용 가능한 퍼센트에 대하여 각각의 항원 구성요소에 대한 혈청 방어 기준보다 우수한 환자에서 항체 역가를 부여할 수 있다. 숙주가 항원에 대하여 혈청전환되는 것으로 고려되는 상기 관련 항체를 갖는 항원이 잘 알려져 있고, 이러한 역가는 WHO와 같은 기구에 의해 공표된다. 바람직하게는, 대상체의 통계적으로 유의한 샘플 중 80% 이상, 더 바람직하게 90% 이상, 더 바람직하게 93% 이상 및 가장 바람직하게 96-100%가 혈청전환된다.

[0197] 본 발명의 조성물은 일반적으로 환자에게 직접 투여될 것이다. 직접적인 전달은 비경구 주사에 의해 (예를 들어, 피하, 복강 내, 정맥 내, 근육 내로, 또는 조직의 사이 공간으로), 또는 직장, 구강, 질, 국부적, 경피성, 비강 내, 안구, 귀, 폐 또는 다른 점막 투여에 의해 달성될 수도 있다. 허벅지 또는 상부 팔에 근육 내 투여가 바람직하다. 주사는 바늘 (예를 들어, 피하 주사침)을 통한 것일 수도 있지만, 대안으로 바늘이 없는 주사가 사용될 수도 있다. 전형적인 근육 내 용량은 0.5ml이다.

[0198] 본 발명은 전신 및/또는 점막 면역력을 유도하기 위해 사용될 수도 있다.

[0199] 본 발명의 면역원성 조성물은 일회 또는 다회수 용량으로 투여될 수도 있다. 일회 용량의 투여가 본 발명에서 바람직하다. 대안으로, 추가의 일회 단위 용량에 이은 제1 단위 용량이 효과적일 수도 있다. 전형적으로, 제2 (또는 제3, 제4, 제5 등) 단위 용량은 제1 단위 용량과 동일하다. 전형적으로, 본 발명의 면역원성 조성물은 세 번의 단위 용량으로 투여된다. 전형적으로, 본 발명의 면역원성 조성물은 근육 내로, 예를 들어, 허벅지 또는 상부 팔에 근육 내 투여에 의해 투여될 것이다.

[0200] 다회수 용량은 주요 면역화 일정 및/또는 촉진 면역화 일정에서 사용될 수도 있다. 주요 용량 일정은 촉진 용량

일정으로 이어질 수도 있다. 프라이밍 용량 사이 (예를 들어, 4-16주), 및 프라이밍과 촉진 사이의 적합한 시기가 일상적으로 결정될 수 있다.

[0201] 완전한 효능을 갖기 위해서, 전형적인 주요 면역화 일정 (특히, 아이들에 대한)은 일회 이상의 용량을 투여하는 단계를 수반한다. 예를 들어, 투여는 0 & 6개월 (시간 0이 첫 번째 투여이다); 0, 1, 2 & 6개월; 제0 일, 제21 일에 되고 그 다음에 제3 용량은 6 & 12개월; 2, 4 & 6개월; 3, 4 & 5개월; 6, 10 & 14주; 2, 3 & 4개월; 또는 0, 1, 2, 6 & 12개월 사이에 될 수도 있다. 소아 조성물은 또한, 태어난 두 번째 해에, 예를 들어, 아동들에 대한 촉진 용량으로서 사용될 수 있다.

[0202] 조성물은 또한, 태어난 두 번째 해에, 예를 들어, 아동들에 대한 촉진 용량으로서 사용될 수 있다. 본 발명의 청소년 촉진 백신 조성물은 일회 용량으로 10살 이상의 사람에게 투여된다. 본 발명의 면역원성 조성물은 디프테리아 및 과상풍 둘 다에 대하여 및 바람직하게는 백일해에 대해서도 이전에 백신 접종된 환자에게 촉진 백신으로서 투여될 수 있다. 이 환자들은 이전 백신에 대하여 면역학적 기억 반응을 가짐으로써 일반인과 구별될 수 있다. 환자들은 본 발명의 백신을 받기 전 적어도 5년에 가장 최근의 디프테리아 및/또는 과상풍 백신을 받을 수도 있다. 백신을 받은 환자들은 4 내지 65살, 예를 들어, 11-64살, 10-18살, 등의 나이일 수도 있다.

[0203] 투여의 어떤 적합한 경로도 사용될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 근육 내, 복강 내, 피하, 경피, 또는 피내로 투여될 수도 있다. 원하면, 조성물은 구강 내, 비강 내, 질 내, 및 직장 내와 같은 점막 내 경로를 통해 투여될 수 있다. 임신한 여성 및 유아에게 투여는 같은 경로 또는 상이한 경로를 통한 것일 수도 있다. 본 발명의 조성물은 팔 또는 다리의 근육 내 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0204] 본 발명에 의해 생산된 백신은 별개의 백신과 같은 시간에, 예를 들어, PREVNAR™와 같은 폐렴 구균 컨주게이트 백신과 같은 시간, 인플루엔자 백신과 같은 시간, 로타바이러스 백신과 같은 시간, MMR 백신과 같은 시간, 등에 환자에게 투여될 수도 있다.

[0205] 본 발명의 조성물이 알루미늄-기반 보조제를 포함하는 경우, 구성요소의 침전이 저장 중에 일어날 수도 있다. 그러므로 조성물은 환자에게 투여 전에 흔들어야 된다. 흔들어진 조성물은 백탁 현탁액일 것이다.

[0206] **일반**

[0207] 용어 "포함하는(comprising)"은 "포함하는(including)", 뿐만 아니라 "구성되는(consisting)"을 포함하는데, 예를 들어, X를 "포함하는" 조성물은 X로 독점적으로 구성될 수도 있거나 추가적인 어떤 것, 예를 들어, X + Y를 포함할 수도 있다.

[0208] 용어 "~로 구성되는"은 "~로만 구성되는"을 의미한다. "X로 구성된" 조성물은 어떤 다른 구성요소를 포함하지 않을 수도 있다. "본질적으로 X로 구성되는" 조성물은 어떤 다른 활성 구성요소를 포함하지 않을 수도 있다. 용어 "본질적으로 ~로 구성되는"은 추가적인 성분, 단계 및/또는 일부가 청구된 조성물, 방법 또는 구조의 기본적인 및 새로운 특성을 실질적으로 변화시키지 않을 때만 조성물, 방법 또는 구조가 추가적인 성분, 단계 및/또는 일부를 포함할 수도 있다는 것을 의미한다.

[0209] 수치값 x에 관하여 용어 "약"은, 예를 들어, $x \pm 10\%$ 를 의미한다.

[0210] 단어 "실질적으로"는 "완전히"를 제외하지 않는다, 예를 들어, Y로부터 "실질적으로 자유로운" 조성물은 Y로부터 완전히 자유로울 수도 있다. 필요하다면, 단어 "실질적으로"는 본 발명의 정의로부터 제외될 수도 있다.

[0211] 당 고리는 개방형 및 폐쇄형으로 존재할 수 있으며, 폐쇄형은 본원에서 구조식으로 나타나는 한편, 개방형 또한 본 발명에 포함되는 것으로 인정될 것이다. 유사하게, 당은 피라노스 및 푸라노스 형태로 존재할 수 있으며, 피라노스 형태가 본원에서 구조식으로 나타나는 한편, 푸라노스 형태 또한 포함된다. 당의 상이한 아노머 형태가 또한 포함된다.

[0212] 달리 진술되지 않으면, 둘 이상의 구성요소를 혼합하는 단계는 혼합의 어떤 특정 순서가 필요하지 않다. 따라서 구성요소는 어떤 순서로도 혼합될 수 있다. 세 개의 구성요소가 있는 경우 두 개의 구성요소가 서로 결합될 수 있고, 그 다음에 조합은 제3 구성요소, 등과 결합될 수도 있다.

[0213] 항체는 일반적으로 그것들의 표적에 특이적일 것이다. 따라서 그것들은 소 혈청 알부민과 같이 무관한 대조군 단백질보다 표적에 대하여 더 높은 친화도를 가질 것이다.

[0214] 수치값 x에 관하여 용어 "약"은, 예를 들어, $x \pm 10\%$ 를 의미한다.

- [0215] 구성요소가 "흡착"되는 것으로 설명되는 경우에, 상기 항원의 적어도 50% (중량), 예를 들어, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% 이상이 흡착되는 것이 바람직하다. 구성요소가 전체적으로 흡착되면 원심분리 후 조성물의 상층액에서는 아무 것도 검출되어서는 안된다.
- [0216] 달리 진술되지 않으면, 둘 이상의 구성요소를 혼합하는 단계를 포함하는 공정에는 혼합의 어떤 특정 순서가 필요하지 않다. 따라서 구성요소는 어떤 순서로도 혼합될 수 있다. 세 개의 구성요소가 있는 경우 두 개의 구성요소가 서로 결합될 수 있고, 그 다음에 조합은 제3 구성요소, 등과 결합될 수도 있다.
- [0217] 컨주게이트의 양은 일반적으로 담체의 선택으로 인한 변화를 막기 위해서 당류의 질량 (즉, 전체가 진술된 용량보다 더 많은 때문에 컨주게이트 (담체 + 당류)의 용량)에 관하여 제공된다.
- [0218] 본 발명과 함께 이용된 인-함유 기는 주위 환경의 pH, 예를 들어, 그것들이 용해되는 용제의 pH에 따라 여러 가지의 양자화된 및 비양자화된 형태로 존재할 수도 있다. 그러므로, 특정 형태가 본원에서 예시되지만, 달리 언급되지 않으면, 이 예시들이 단지 대표적인 것이며 특이적 양자화된 또는 비양자화된 형태에 제한하지 않기 위한 것이다. 예를 들어, 포스페이트 기의 경우에, 이것은 $-OP(O)(OH)_2$ 로서 예시되었지만 정의는 산성 조건에서 존재할 수도 있는 양자화된 형태 $-[OP(O)(OH_2)(OH)]^+$ 및 $-[OP(O)(OH_2)_2]^{2+}$ 및 염기성 조건에서 존재할 수도 있는 비양자화된 형태 $-[OP(O)(OH)(O)]^-$ 및 $[OP(O)(O)_2]^{2-}$ 를 포함한다. 본 발명은 이러한 모든 형태를 포함한다.
- [0219] 화합물이 조성물의 일부로서 신체에 투여되는 경우 화합물은 대안으로 적합한 프로드러그(prodrug)에 의해 대체될 수도 있다.
- [0220] 동물 (및 특히 소) 재료가 세포의 배양에 사용되는 경우, 그것들은 전염성 해면상뇌증 (TSE), 및 특히 광우병 (BSE)으로부터 자유로운 공급원으로부터 얻어져야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0221] 도 1은 표 1에서 설명된 마우스 군에서 (A) GBS Ia, (B) GBS Ib 및 (C) GBS III에 대한 IgG 역가를 나타낸다. 혈청은 군 5 및 6의 모든 마우스에 대하여 풀링(pooled)되었다. GMT 역가는 중심 막대로 표시된다. 상부 및 하부 막대는 95% 신뢰 구간을 표시한다.
- 도 2는 표 1에서 설명된 마우스 군에서 (A) 디프테리아 변독소, (B) 파상풍 변독소, (C) 백일해 변독소, (D) 백일해 FHA 및 (E) 백일해 69K에 대한 IgG 역가를 나타낸다. 통계적 유의성은 * ($p < 0.05$)로 표시된다. GMT 역가는 중심 막대로 표시된다. 상부 및 하부 막대는 95% 신뢰 구간을 표시한다.
- 도 3은 표 1에서 설명된 마우스 군에서 (A) GBS Ia, (B) GBS Ib 및 (C) GBS III의 OPK 역가를 나타낸다. 혈청은 각 실험 (실험은 두 번 반복됨)에 대하여 각 군 (군 5 및 6 제외)의 모든 마우스로부터 풀링되었다. 두 실험의 혈청은 군 5 및 6 각각에 대하여 풀링되었다. GMT 역가는 중심 막대로 표시된다.
- 도 4는 표 3에서 설명된 마우스 군에서 (A) GBS Ia, (B) GBS Ib 및 (C) GBS III에 대한 IgG 역가를 나타낸다. 통계적 유의성은 * ($p < 0.05$)로 표시된다. GMT 역가는 중심 막대로 표시된다. 상부 및 하부 막대는 95% 신뢰 구간을 표시한다.
- 도 5는 표 3에서 설명된 마우스 군에서 (A) 디프테리아 변독소, (B) 파상풍 변독소, (C) 백일해 변독소, (D) 백일해 FHA 및 (E) 백일해 69K에 대한 IgG 역가를 나타낸다. 통계적 유의성은 ** ($p < 0.01$) 및 * ($p < 0.05$)로 표시된다. GMT 역가는 중심 막대로 표시된다. 상부 및 하부 막대는 95% 신뢰 구간을 표시한다.
- 도 6은 표 3에서 설명된 마우스 군에서 (A) GBS Ia, (B) GBS Ib 및 (C) GBS III에 대한 OPK 역가를 나타낸다. 혈청은 각 실험에 대하여 각 군의 모든 마우스로부터 풀링되었다. GMT 역가는 중심 막대로 표시된다.
- 도 7은 도 5에서 설명된 마우스 군에서 (A) GBS Ia, (B) GBS Ib 및 (C) GBS III에 대한 IgG 역가를 나타낸다. 혈청은 군 5, 6 및 7에 대하여 풀링되었다. 통계적 유의성은 ** ($p < 0.01$)로 표시된다. GMT 역가는 중심 막대로 표시된다. 상부 및 하부 막대는 95% 신뢰 구간을 표시한다.
- 도 8은 표 5에서 설명된 마우스 군에서 (A) 파상풍 변독소 및 (B) 디프테리아 변독소에 대한 IgG 역가를 나타낸다. 통계적 유의성은 * ($p < 0.05$)로 표시된다. GMT 역가는 중심 막대로 표시된다. 상부 및 하부 막대는 95% 신뢰 구간을 표시한다.

도 9는 표 5에서 설명된 마우스 군에서 (A) GBS Ia, (B) GBS Ib 및 (C) GBS III에 대한 OPK 역가를 나타낸다. 혈청은 각 실험에 대하여 각 군의 모든 마우스로부터 풀링된다. GMT 역가는 중심 막대로 표시된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0222]

재료 및 방법

[0223]

백신

[0224]

다음 실험에서 사용된 GBS 3가 백신은 세 개의 주요 혈청형 Ia, Ib 및 III로부터 유래된 캡슐 다당류로 구성되는데, 각각은 CRM197에 컨쥬게이션된다. Tdap(H4) 백신은 알루미늄 히드록시드로 보조되고 과상풍 변독소, 디프테리아 변독소 및 무세포성 백일해 항원 (PT, FHA 및 69K)을 함유한다.

[0225]

Tdap(H4)-IPV 백신은 알루미늄 히드록시드로 보조되고 과상풍 변독소, 디프테리아 변독소, 무세포성 백일해 항원 (PT, FHA 및 69K) 및 소아마비 항원 (IPV1, IPV2 및 IPV3)을 함유한다.

[0226]

상업적으로 이용 가능한 과상풍 및 과상풍/디프테리아 액체 백신을 사용하였다.

[0227]

ELISA

[0228]

면역화된 마우스의 혈청에서 GBS 다당류 Ia, Ib 및 III에 대한 IgG 역가를 참고문헌 1에서 설명된 바와 같이 ELISA로 측정하였다. 일반적으로, ELISA IgG Ab 및 OPK 역가 사이에는 양호한 상관관계가 있다.

[0229]

옵소닌에 의한 식세포 사멸 (phagocytic killing; OPK) 검정

[0230]

백신의 효능을 평가하기 위한 실험 가능한 접근법은 GBS의 경우에 혈청 항체의 옵소닌화(opsonizing) 활성인 보호의 대용물을 사용하는 것이다. 옵소닌에 의한 식균 작용(opsonophagocytosis) 사멸 검정은 보체의 존재시 작용기 세포에 의한 사멸을 위해 GBS를 옵소닌화하는 혈청 항체의 능력을 측정한다. 일반적으로, ELISA IgG Ab와 OPK 역가 사이에 양호한 연관성이 있다. GBS II 및 GBS V에 의한 보호 및 OPA 수준은 GBS Ia, Ib 및 III에 의한 것과 비슷한 것으로 볼 수 있다. 옵소닌에 의한 식세포 사멸 검정은 보체의 존재시 작용기 세포에 의한 사멸을 위해 GBS를 옵소닌화하는 혈청 항체의 능력을 측정한다. GBS 다당류 Ia, Ib 및 III에 대하여 면역화된 마우스에서 유도된 항체의 기능적 활성을 측정하기 위한 OPK 검정을 American Type Culture Collection (ATCC, CCL-240)에서 얻은 HL-60, 전골수구성 백혈병(pro-myelocytic leukemia) 세포주를 사용하여 수행하였다. 균주 GBS 515, GBS H36b 및 GBS COH1을 사용하여 혈청형 Ia, Ib 및 III 분리체의 사멸을 각각 측정하였다. 음성 대조군 반응을 열 비활성화된 보체의 존재시 또는 항체 또는 작용기 세포의 부재시 또는 면역 전 또는 플라세보 (placebo) 혈청을 사용하여 수행하였다. 반응물을 트립티카제 대두 한천 플레이트에 플레이팅하였고 박테리아 수를 결정하였다. 사멸의 퍼센트를 (T0에서 평균 CFU - T60에서 평균 CFU)/(T0에서 평균 CFU)로 계산하였다. OPK 역가를 박테리아 의 50% 사멸로 이어지는 상호간의 혈청 희석으로 표현하였다. OPK 검정을 참고문헌 2에서 설명된 사멸-기반 옵소닌에 의한 식균 작용 검정 (kOPA) 프로토콜에 따라 수행하였다.

[0231]

루미넥스-기반 멀티플렉스 검정(Luminex-based multiplex assay)

[0232]

과상풍, 디프테리아 및 백일해 항원의 IgG 정량에 대한 루미넥스-기반 멀티플렉스 검정을 사용하였다. 디프테리아 변독소 (DT), 과상풍 변독소 (TT), 백일해 변독소 (PT), 백일해 FHA 및 백일해 69K 항원을 각각 공유 결합에 의해 미소구체 (Luminex Corporation, Austin, TX)에 컨쥬게이션하였다. 마우스 혈청 샘플을 각 항원에 특이적인 항체 역가를 평가하기 위해 분석하였다. 실험을 두 번 수행하였고 2배수의 값을 평균을 냈다. 참조 혈청을 Tdap 항원s + Alum으로 면역화된 CD1 마우스의 혈청을 풀링함으로써 제조하였다.

[0233]

연구 1: Tdap 및 Tdap-IPV에서 재구성된 GBS

[0234]

본 연구는 (i) 과상풍, 디프테리아 및 무세포성 백일해 항원을 함유하는 Alum 보조된 액체 백신 (Tdap) 및 (ii) 과상풍, 디프테리아, 무세포성 백일해 및 소아마비 항원 (Tdap-IPV)을 함유하는 Alum 보조된 액체 백신으로 재구성된 동결건조된 GBS 3가 백신 (CRM197에 컨쥬게이션된 Ia, Ib, III 다당류)의 면역원성을 조사하였다.

[0235]

면역화 프로토콜이 표 1에서 보고되며 두 번 반복하였다. 각 실험에서, 8마리 CD1 암컷 마우스의 6개 군을 표 1에서 나타난 백신의 2회 용량으로 제0 일 및 제21일에 복강 내로 면역화하였고, 제0 일 및 제35 일에 채혈하였다.

[0236]

표 1. 연구 1에 대한 면역화 프로토콜

군 N°	백신 타입	백신 조성	부피 부트	항원 용량	보조제 용량	N° 마우스
1	GBS + Tdap(H4)	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml T 10 Lf/ml D 8 Lf/ml PT 8 µg/ml FHA 8 µg/ml 69K 16 µg/ml Alum 2 mg/ml	복강 내 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg T 2 Lf D 1.6 Lf PT 1.6 µg FHA 1.6 µg 69K 3.2 µg	Alum 400 µg	8
2	GBS + Tdap(H4)-IPV	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml T 10 Lf/ml D 8 Lf/ml PT 8 µg/ml FHA 8 µg/ml 69K 16 µg/ml IPV1 80 dU/ml IPV2 16 dU/ml IPV3 64 dU/ml Alum 2 mg/ml	복강 내 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg T 2 Lf D 1.6 Lf PT 1.6 µg FHA 1.6 µg 69K 3.2 µg IPV1 16 dU IPV2 3.2 dU IPV3 12.8 dU	Alum 400 µg	8
3	GBS 단독	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml Alum 2 mg/ml	복강 내 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg	Alum 400 µg	8
4	GBS 단독	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml Alum 2 mg/ml	복강 내 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg	Alum 400 µg	8
5	항원 없음	Alum 2 mg/ml	복강 내 200 µl	-	Alum 400 µg	8
6	Tdap(H4)-IPV	T 10 Lf/ml D 8 Lf/ml PT 8 µg/ml FHA 8 µg/ml 69K 16 µg/ml IPV1 80 dU/ml IPV2 16 dU/ml IPV3 64 dU/ml Alum 2 mg/ml	복강 내 200 µl	T 2 Lf D 1.6 Lf PT 1.6 µg FHA 1.6 µg 69K 3.2 µg IPV1 16 dU IPV2 3.2 dU IPV3 12.8 dU	Alum 400 µg	8

[0237]

[0238]

면역화된 마우스의 혈청을 ELISA로 각 GBS 혈청형 특이적 항원 (타입 Ia, Ib, 및 III)에 대한 IgG 항체의 존재에 대하여 분석하였다. 과상풍 변독소 (TT), 디프테리아 변독소 (DT) 및 무세포성 백일해 항원 (PT, FHA 및 69K)에 대한 항체를 루미넥스 검정으로 정량하였다. GBS 항원에 대한 항체의 기능적 활성을 옥소닌에 의한 식세포 사멸 (OPK) 검정으로 평가하였다.

[0239]

도 1 및 2는 연구 1에서 테스트된 마우스의 여섯 군의 다양한 항원에 대한 IgG 역가를 나타낸다 (두 번의 실험의 8 + 8 마우스로부터 병합된 결과). GMT 역가는 하기 표 2에서 표시된다.

[0240]

표 2: 연구 1에서 테스트된 마우스에서 2번의 면역화 후 GMT 혈청 IgG 역가

	군 1	군 2	군 3	군 4	군 5	군 6
GBS Ia	112	97	87	82	13	13
GBS Ib	561	97	229	185	13	13
GBS III	683	537	625	762	13	13
DT	187.55	48.94	N/A	N/A	<LLOQ	89.95
TT	560.67	268.97	N/A	N/A	<LLOQ	626.72
PT	280.43	121.10	N/A	N/A	2.10	232.60
FHA	789.00	450.81	N/A	N/A	<LLOQ	749.95
69K	789.0	450.8	N/A	N/A	<LLOQ	88.6

[0241]

[0242]

< LLOQ = 정량의 하한선 이하

[0243]

전반적으로, 모든 백신 제형은 대조군과 비슷한 면역원성을 제공하였고, 유의한 면역학적 간섭이 관찰되지 않았다. GBS Ia, Ib 및 III에 대한 제2 면역화 후 IgG 역가에 대하여, 혈청형 중 어떤 것에 대한 백신 군 사이에서 IgG 반응의 유의한 차이가 만-휘트니(Mann-Whitney) U 테스트로 검출되지 않았으며, 간섭의 부재를 나타낸다.

DT, TT, PT, FHA 및 69K에 대한 제2 면역화 후 IgG 역가에 대하여, GBS + TdaP는 GBS + TdaP + IPV보다 2배 더 높은 GMT 역가를 유도하였으며 (만-휘트니 U 테스트에 의해 $P < 0.05$), 모든 TdaP 항원에 대한 IPV의 작은 부정적인 효과를 제안한다. 추가적으로, TT, 백신 TdaP + IPV는 TdaP + IPV + GBS보다 2배 더 높은 역가를 획득하였으며 (U 테스트, $P < 0.026$), IPV의 존재시 TT에 대한 GBS의 작은 부정적 효과를 제안한다.

[0244] 도 3은 연구 1에서 테스트된 동물의 여섯 군의 GBS Ia, Ib 및 III에 대한 OPK 역가를 나타낸다. 나타난 바와 같이, 백신 제형 중 어떤 것에 대해서도 GBS Ia, Ib 또는 III에 대한 OPK 역가의 큰 차이 (검정 및 생물학적 가변성의 범위에서)가 검출되지 않았다.

[0245] **연구 2: TdaP에서 재구성된 GBS**

[0246] 이 연구는 파상풍, 디프테리아 및 무세포성 백일해 항원 (TdaP)을 함유하는 Alum 보조된 액체 백신으로 재구성된 동결건조된 GBS 3가 백신 (CRM197에 컨쥬게이션된 Ia, Ib, III 다당류)의 상이한 양의 면역원성을 조사하였다.

[0247] 16마리의 CD1 암컷 마우스의 8개 군을, 백신의 3회 용량으로, 제0 일, 제21 일 및 제35 일에 피하로 면역화하였고, 제0 일, 제35 일 (포스트(post)-2) 및 제49 일 (포스트-3)에 채혈하였다. 면역화 프로토콜은 표 3에서 보고된다.

[0248] 표 3: 연구 2에 대한 면역화 프로토콜.

군 N°	백신 타입	백신 조성	부피 루트	항원 용량	보조제 용량	N° 마우스
1	GBS + TdaP(H2)	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml T 10 Lf/ml D 4 Lf/ml PT 8 µg/ml FHA 8 µg/ml 69K 16 µg/ml Alum 2 mg/ml	피하 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg T 2 Lf D 0.8 Lf PT 1.6 µg FHA 1.6 µg 69K 3.2 µg	Alum 400 µg	8
2	TdaP(H2)	T 10 Lf/ml D 4 Lf/ml PT 8 µg/ml FHA 8 µg/ml 69K 16 µg/ml Alum 2 mg/ml	피하 200 µl	T 2 Lf D 0.8 Lf PT 1.6 µg FHA 1.6 µg 69K 3.2 µg	Alum 400 µg	8
3	GBS + TdaP(L2)	PSIb-CRM 0.25 µg PSIII-CRM 5 µg/ml T 10 Lf/ml D 4 Lf/ml PT 2 µg/ml FHA 2 µg/ml 69K 4 µg/ml Alum 2 mg/ml	피하 200 µl	PSIII-CRM 0.25 µg T 2 Lf D 0.8 Lf PT 0.4 µg FHA 0.4 µg 69K 0.8 µg	Alum 400 µg	8
4	TdaP(L2)	T 10 Lf/ml D 4 Lf/ml PT 2 µg/ml FHA 2 µg/ml 69K 4 µg/ml Alum 2 mg/ml	피하 200 µl	T 2 Lf D 0.8 Lf PT 0.4 µg FHA 0.4 µg 69K 0.8 µg	Alum 400 µg	8
5	GBS (H)	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml Alum 2 mg/ml	피하 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg	Alum 400 µg	8
6	GBS (L)	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml	피하 200 µl	PSIa-CRM 0.25 µg PSIb-CRM 0.25 µg PSIII-CRM 0.25 µg	Alum 400 µg	8
7	항원 없음 (1)	Alum 2 mg/ml	피하 200 µl	-	Alum 400 µg	8
8	항원 없음 (2)	Alum 2 mg/ml	피하 200 µl	-	Alum 400 µg	8

[0249] 도 4 및 5는 연구 2에서 테스트된 마우스의 군에 대하여 3번의 면역화 후 모든 군에 대한 다양한 항원에 대한 IgG 역가를 나타낸다. GMT 역가는 하기 표 4에서 표시된다.

[0251] 표 4: 연구 2에서 테스트된 마우스에서 3번의 면역화 후 GMT 혈청 IgG 역가.

	군 1	군 2	군 3	군 4	군 5	군 6	군 7	군 8
GBS Ia	155.5	12.5	237.0	N/A	598.6	418.3	20.4	12.5
GBS Ib	107.5	15.1	90.6	N/A	250.4	271.7	15.7	12.5
GBS III	588.2	12.5	677.7	N/A	958.9	946.4	23.1	12.5
DT	141.3	164.3	164.5	228.2	N/A	N/A	N/A	0.1
TT	333.6	382.1	457.2	509.6	N/A	N/A	N/A	0.1
PT	191.4	187.1	149.9	128.1	N/A	N/A	N/A	0.2
FHA	423.8	544.6	476.1	314.9	N/A	N/A	N/A	0.1
69K	374.7	435.4	328.2	337.9	N/A	N/A	N/A	0.1

[0252]

[0253]

GBS Ia, Ib 및 III에 대한 제3 면역화 후 IgG 역가에 대하여, 첫 번째 관찰은 군 7의 두 마리의 마우스가 아마도 실수로 백신을 받았다는 것이다 (세 개의 항원 모두에 대하여 높은 IgG 역가, 이전에 유사한 플라세보 군에서는 관찰된 적 없음). 두 번째로는, Tdap로 재구성된 군 (2-4배 GMT, 일부의 경우에 $P < 0.05$)에서 세 개의 GBS 항원 모두에 대하여 Tdap가 없는 GBS 백신에 비해 더 낮은 IgG 역가의 성향이 관찰되었다. 모든 혈청형에 대한 포스트-2 IgG 역가에 대하여 같은 성향이 관찰되었다.

[0254]

DT, TT, PT, FHA 및 69K 각각에 대한 제3 면역화 후 IgG 역가에 대하여, 어떤 군들 사이에서 IgG 반응의 유의한 차이가 만-휘트니 테스트로 검출되지 않았으며, 간섭의 완벽한 부재를 나타낸다. DT 및 TT에 대한 용량 반응이 관찰되지 않는 한편, 더 높은 용량에 대해서는 더 낮은 용량의 백일해 PT, FHA 및 69K 항원과 비교하여 약간 더 높은 역가가 관찰되었다.

[0255]

군 5 및 6에서 GBS Ia, Ib 및 III에 대한 IgG 역가가, GBS 1 μg (높음, L) 및 0.25 μg (낮음, L) 백신 용량에 대하여 반응하는 경우에, 비교될 때, GBS Ia 및 Ib에 대한 개개의 반응의 가변성이 GBS III에 대한 것보다 더 높았다. 저용량과 고용량 사이에서 어떤 혈청형에 대해서도 유의한 차이가 관찰되지 않는 한편, 모든 혈청형에 대하여 포스트-2에 비해 포스트-3에서 더 적은 수의 비-반응자 및 유의하게 더 높은 반응이 관찰되었다 (만-휘트니 U 테스트).

[0256]

도 6은 연구 2에서 테스트된 마우스의 7개 군의 GBS Ia, Ib 및 III에 대한 OPK 역가를 나타낸다. GBS 단독과 비교하여 Tdap와 함께 제형화된 GBS 백신에서 약간 더 낮은 역가의 성향이 있다.

[0257]

연구 3: 파상풍 및 파상풍/디프테리아 액체 백신에서 재구성된 GBS

[0258]

이 연구는 (i) 파상풍 항원 또는 (ii) 파상풍 및 디프테리아 항원을 함유하는 Alum 보조된 액체 백신으로 재구성된 동결건조된 GBS 3가 백신 (CRM197에 컨주게이션된 Ia, Ib, III 다당류)의 면역원성을 조사하였다.

[0259]

면역화 프로토콜은 표 5에서 보고되며 두 번 반복하였다.

[0260]

각 프로토콜에서, 8마리의 CD1 암컷 마우스의 7개 군을 표 5에서 나타난 백신의 2회 용량으로 제0 일 및 제21 일에 피하로 면역화하였으며, 제0 일 및 제35 일에 채혈하였다.

[0261] 표 5: 연구 3에 대한 면역화 프로토콜.

군 N°	백신 타입	백신 조성	부피 루트	항원 용량	보조제 용량	N° 마우스
1	GBS + T	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml T 40 UI/ml Alum 3 mg/ml	피하 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg T 8 UI	Alum 600 µg	8
2	GBS + TD	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml T 40 UI/ml D 4 UI/ml Alum 3 mg/ml	피하 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg T 8 UI D 0.8 UI	Alum 600 µg	8
3	GBS 단독 (1)	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml Alum 3 mg/ml	피하 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg	Alum 600 µg	8
4	GBS 단독 (2)	PSIa-CRM 5 µg/ml PSIb-CRM 5 µg/ml PSIII-CRM 5 µg/ml Alum 3 mg/ml	피하 200 µl	PSIa-CRM 1 µg PSIb-CRM 1 µg PSIII-CRM 1 µg	Alum 600 µg	8
5	항원 없음	Alum 3 mg/ml	피하 200 µl	-	Alum 600 µg	8
6	T 단독	T 40 UI/ml Alum 3 mg/ml	피하 200 µl	T 8 UI	Alum 600 µg	8
7	TD 단독	T 40 UI/ml D 4 UI/ml Alum 3 mg/ml	피하 200 µl	T 8 UI D 0.8 UI	Alum 600 µg	8

[0262]

[0263] 도 7 및 8은 연구 3에서 테스트된 마우스의 모든 군에 대하여 다양한 항원에 대한 IgG 역가를 나타낸다 (두 번의 실험의 8 + 8 마우스로부터 병합된 결과). GMT 역가는 하기 표 6에서 나타난다.

[0264] 표 6: 연구 3에서 테스트된 마우스에서 2번의 면역화 후 GMT 혈청 IgG 역가.

	군 1	군 2	군 3	군 4	군 5	군 6	군 7
GBS Ia	65	162	458	235	13	13	13
GBS Ib	217	402	550	417	13	13	13
GBS III	854	1018	1186	924	13	13	13
TT	742.00	882.70	N/A	N/A	6.60	1295.00	1038.00
DT	7.49	111.6	N/A	N/A	<LLOQ	<LLOQ	28.52

[0265]

[0266] < LLOQ = 정량의 하한선 이하

[0267] ELISA로 측정된 GBS Ia, Ib 및 III에 대한 IgG 역가에 대하여, 만-휘트니 테스트는 혈청형 Ia를 제외하고, 백신 군 사이에서 어떤 유의한 차이도 나타내지 않았으며, GBS 단독으로 구성된 백신 (군 3)이 GBS 플러스 파상풍 변독소를 함유하는 것보다 유의하게 더 높은 역가를 획득하였다. OPK 검정에서, 어떤 백신 제형에 대해서도 GBS Ia, Ib 또는 III에 대한 OPK 역가의 큰 차이 (검정 및 생물학적 가변성의 범위에서)가 검출되지 않았다.

[0268] TT에 대한 IgG 역가는 TT 단독에 비해 GBS 백신 및 TT를 함유하는 군에서 유의하게 더 낮지만 (P=0.03), GMT 역가의 차이는 2배 미만이었다. DT에 대한 IgG 반응에 관하여, 그것들은 GBS 백신을 함유한 군에서 더 높았으며, CRM197의 효과에 의해 예상된 바와 같다 (해독된 DT).

[0269] 도 9는 연구 3에서 테스트된 모든 군의 마우스 혈청에서 GBS Ia, Ib 및 III에 대한 OPK 역가를 나타낸다. 나타난 바와 같이, OPK 검정에서, 어떤 백신 제형에 대해서도 GBS Ia, Ib 또는 III에 대한 OPK 역가의 큰 차이 (검정 및 생물학적 가변성의 범위에서)가 검출되지 않았다.

[0270] 결론

[0271] 다음 관찰은 조사된 백신 제형의 면역원성에 관하여 이루어졌다:

- [0272] ● 조사된 제형 모두로 면역화된 마우스에서, GBS 3가, 디프테리아, 파상풍 및 백일해 백신은 해당 항원에 대한 특이적 항체 역가를 유도하였다.
- [0273] ● GBS 및 파상풍/디프테리아/백일해/소아마비 백신 조합 사이의 면역학적 간섭을 연구 1 (2회 백신 용량으로 복강 내 면역화) 및 2 (2 및 3회 백신 용량으로 피하 면역화)에서 조사하였다. 간섭은 연구 1에서는 관찰되지 않았으며, IgG 및 기능적 항체는, 단독으로 또는 조합된 그것들의 사용과 상관없이, GBS, 디프테리아, 파상풍 및 백일해 항원에 반응한다. 연구 2에서, 발명자들은 Tdap에서 재구성된 세 개의 GBS 항원 모두에 대하여 GBS 단독에 비해 더 낮은 IgG 역가가 성향을 관찰하였지만, GMT 역가의 차이는 4배보다 더 높지 않았다.
- [0274] ● GBS 및 파상풍 또는 파상풍/디프테리아 백신 사이의 면역학적 간섭을 연구 3에서 조사하였다. 만-휘트니 테스트는 혈청형 1a를 제외한 어떤 백신 군 사이에서도 GBS 반응의 유의한 차이를 나타내지 않았으며, GBS 단독에 의해 구성된 백신은 GBS 플러스 파상풍 변독소를 함유하는 것보다 유의하게 더 높은 역가를 획득하였다. 같은 연구는 TT에 대한 GBS 백신의 약간의 간섭을 나타냈다 (GBS 백신을 함유하는 군에서, TT에 대한 IgG 역가의 차이에 대하여 TT 단독과 비교하여 2배 GMT 차이, P=0.03,). DT에 대한 IgG 반응에 관하여, 그것들은 GBS 백신을 함유하는 군에서 더 높았으며, CRM197의 효과에 의해 예상된 바와 같다 (해독된 DT).
- [0275] 결론적으로, 어떤 조사된 백신 사이에서도 강한 간섭의 증거는 없었다.
- [0276] 본 발명은 예의 방법으로만 설명되었고 변형은 이루어질 수도 있지만 본 발명의 범위 및 사상 내에 남아있는 것으로 생각될 것이다.
- [0277] **참고문헌**
- [0278] [1] *Vaccines*. (eds. Plotkin & Orenstein). 4th edition, 2004, ISBN: 0-7216-9688-0.
- [0279] [2] Paoletti *et al.* (1990) *J Biol Chem* 265:18278-83.
- [0280] [3] Wessels *et al.* (1990) *J Clin Invest* 86:1428-33.
- [0281] [4] Paoletti *et al.* (1992) *Infect Immun* 60:4009-14.
- [0282] [5] Paoletti *et al.* (1992) *J Clin Invest* 89:203-9.
- [0283] [6] Wessels *et al.* (1987) *Proc Natl Acad Sci USA* 84:9170-4.
- [0284] [7] Wang *et al.* (2003) *Vaccine* 21:1112-7.
- [0285] [8] Wessels *et al.* (1993) *Infect Immun* 61:4760-6
- [0286] [9] Wessels *et al.* (1995) *J Infect Dis* 171:879-84.
- [0287] [10] Baker *et al.* (2004) *J Infect Dis* 189:1103-12.
- [0288] [11] Paoletti & Kasper (2003) *Expert Opin Biol Ther* 3:975-84.
- [0289] [12] 제W02012/035519호.
- [0290] [13] 제W02006/050341호.
- [0291] [14] Guttormsen *et al.* (2008) *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105(15):5903-8. Epub 2008 Mar 31.
- [0292] [15] 제W096/40795호.
- [0293] [16] Michon *et al.* (2006) *Clin Vaccine Immunol*. 2006 Aug;13(8):936-43.
- [0294] [17] 미국 특허 제6027733 & 6274144호.
- [0295] [18] www.polymer.de
- [0296] [19] Lewis *et al.* (2004) *PNAS USA* 101:11123-8.
- [0297] [20] Wessels *et al.* (1989) *Infect Immun* 57:1089-94.
- [0298] [21] 제W02006/082527호.
- [0299] [22] 2007년 12월 20일에 출원된, "FERMENTATION PROCESSES FOR CULTIVATING STREPTOCOCCI AND PURIFICATION

PROCESSES FOR OBTAINING CPS THEREFROM"이라는 제목의 미국 특허 출원 제US 61/008,941호 및 국제 특허 출원 제WO 2009/081276호.

- [0300] [23] Ramsay *et al.* (2001) *Lancet* 357(9251):195-196.
- [0301] [24] Lindberg (1999) *Vaccine* 17 Suppl 2:S28-36.
- [0302] [25] Buttery & Moxon (2000) *J R Coll Physicians Lond* 34:163-68.
- [0303] [26] Ahmad & Chapnick (1999) *Infect Dis Clin North Am* 13:113-33, vii.
- [0304] [27] Goldblatt (1998) *J. Med. Microbiol.* 47:563-7.
- [0305] [28] 유럽 특허 제0477508호.
- [0306] [29] 미국 특허 제5,306,492호.
- [0307] [30] 제W098/42721호.
- [0308] [31] Dick *et al.* in *Conjugate Vaccines* (eds. Cruse *et al.*) Karger, Basel, 1989, 10:48-114.
- [0309] [32] Hermanson *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego (1996) ISBN: 0123423368.
- [0310] [33] 미국 특허 제4356170호.
- [0311] [34] 제W02006/082530호.
- [0312] [35] 제W02005/000346호.
- [0313] [36] Anonymous (Jan 2002) *Research Disclosure*, 453077.
- [0314] [37] Anderson (1983) *Infect Immun* 39(1):233-238.
- [0315] [38] Anderson *et al.* (1985) *J Clin Invest* 76(1):52-59.
- [0316] [39] 제EP-A-0372501호.
- [0317] [40] 제EP-A-0378881호.
- [0318] [41] 제EP-A-0427347호.
- [0319] [42] 제W093/17712호.
- [0320] [43] 제W094/03208호.
- [0321] [44] 제W098/58668호.
- [0322] [45] 제EP-A-0471177호.
- [0323] [46] 제W091/01146호.
- [0324] [47] Falugi *et al.* (2001) *Eur J Immunol* 31:3816-24.
- [0325] [48] Baraldo *et al.* (2004) *Infect Immun* 72:4884-87.
- [0326] [49] 제EP-A-0594610호.
- [0327] [50] 제W000/56360호.
- [0328] [51] 제W002/091998호.
- [0329] [52] Kuo *et al.* (1995) *Infect Immun* 63:2706-13.
- [0330] [53] 제W001/72337호.
- [0331] [54] 제W000/61761호.
- [0332] [55] 제W000/33882호.
- [0333] [56] 제W02004/041157호.

- [0334] [57] 제W099/42130호.
- [0335] [58] 제W02004/011027호.
- [0336] [59] 제W096/40242호.
- [0337] [60] Lei *et al.* (2000) *Dev Biol (Basel)* 103:259-264.
- [0338] [61] 제W000/38711호; 미국 특허 제6,146,902호.
- [0339] [62] 국제 특허 출원 제PCT/IB2008/02690호, WO 2009/010877로 공개된, GB-0713880.3 (NOVARTIS AG)의 우선권을 주장하는 "CONJUGATE PURIFICATION".
- [0340] [63] *Vaccines*. (eds. Plotkin & Orenstein). 4th edition, 2004, ISBN: 0-7216-9688-0.
- [0341] [64] *National Institute for Biological Standards and Control*; Potters Bar, UK. www.nibsc.ac.uk
- [0342] [65] Sesardic *et al.* (2001) *Biologicals* 29:107-22.
- [0343] [66] NIBSC 코드: 98/560.
- [0344] [67] WHO의 면역화 시리즈에 대한 면역학적 기초(*The immunological basis for immunization series*)의 모듈 1 (Galazka).
- [0345] [68] NIBSC 코드: 69/017.
- [0346] [69] NIBSC 코드: DIFT.
- [0347] [70] *National Institute for Biological Standards and Control*; Potters Bar, UK. www.nibsc.ac.uk
- [0348] [71] Sesardic *et al.* (2002) *Biologicals* 30:49-68.
- [0349] [72] NIBSC 코드: 98/552.
- [0350] [73] WHO의 면역화 시리즈에 대한 면역학적 기초의 모듈 1 (Galazka).
- [0351] [74] NIBSC 코드: TEFT.
- [0352] [75] NIBSC 코드: 66/303.
- [0353] [76] Rappuoli *et al.* (1991) *TIBTECH* 9:232-238.
- [0354] [77] WHO의 면역화 시리즈에 대한 면역학적 기초의 모듈 6 (Robertson)
- [0355] [78] 제W02008/028956호.
- [0356] [79] 제W02008/028957호.
- [0357] [80] Liao *et al.* (2012) *J Infect Dis.* 205:237-43
- [0358] [81] Paoletti *et al.* (2001) *Vaccine* 19:2118-2126.
- [0359] [82] 제W000/56365호.
- [0360] [83] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th edition, ISBN: 0683306472.
- [0361] [84] 제W001/41800호.
- [0362] [85] Paoletti (2001) *Vaccine* 19(15-16):2118-26.
- [0363] [86] 제W003/009869호.
- [0364] [87] Almeida & Alpar (1996) *J. Drug Targeting* 3:455-467.
- [0365] [88] Agarwal & Mishra (1999) *Indian J Exp Biol* 37:6-16.
- [0366] [89] 제W000/53221호.
- [0367] [90] Jakobsen *et al.* (2002) *Infect Immun* 70:1443-1452.

- [0368] [91] Bergquist *et al.* (1998) *APMIS* 106:800-806.
- [0369] [92] Baudner *et al.* (2002) *Infect Immun* 70:4785-4790.
- [0370] [93] Ugozzoli *et al.* (2002) *J Infect Dis* 186:1358-1361.
- [0371] [94] Nony *et al.* (2001) *Vaccine* 27:3645-51.
- [0372] [95] 미국 특허 제6355271호.
- [0373] [96] 제W000/23105호.
- [0374] [97] *Vaccine Design*. (1995) eds. Powell & Newman. ISBN: 030644867X. Plenum.
- [0375] [98] 미국 특허 제5,057,540호.
- [0376] [99] 제W096/33739호.
- [0377] [100] 제EP-A-0109942호.
- [0378] [101] 제W096/11711호.
- [0379] [102] 제W000/07621호.
- [0380] [103] Barr *et al.* (1998) *Advanced Drug Delivery Reviews* 32:247-271.
- [0381] [104] Sjolanderet *et al.* (1998) *Advanced Drug Delivery Reviews* 32:321-338.
- [0382] [105] Niikura *et al.* (2002) *Virology* 293:273-280.
- [0383] [106] Lenz *et al.* (2001) *J Immunol* 166:5346-5355.
- [0384] [107] Pinto *et al.* (2003) *J Infect Dis* 188:327-338.
- [0385] [108] Gerber *et al.* (2001) *Virology* 75:4752-4760.
- [0386] [109] 제W003/024480호.
- [0387] [110] 제W003/024481호.
- [0388] [111] Gluck *et al.* (2002) *Vaccine* 20:B10-B16.
- [0389] [112] Kandimalla *et al.* (2003) *Nucleic Acids Research* 31:2393-2400.
- [0390] [113] 제W002/26757호.
- [0391] [114] 제W099/62923호.
- [0392] [115] Krieg (2003) *Nature Medicine* 9:831-835.
- [0393] [116] McCluskie *et al.* (2002) *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 32:179-185.
- [0394] [117] 제W098/40100호.
- [0395] [118] 미국 특허 제6,207,646호.
- [0396] [119] 미국 특허 제6,239,116호.
- [0397] [120] 미국 특허 제6,429,199호.
- [0398] [121] Kandimalla *et al.* (2003) *Biochemical Society Transactions* 31 (part 3):654-658.
- [0399] [122] Blackwell *et al.* (2003) *J Immunol* 170:4061-4068.
- [0400] [123] Krieg (2002) *Trends Immunol* 23:64-65.
- [0401] [124] 제W001/95935호.
- [0402] [125] Kandimalla *et al.* (2003) *BBRC* 306:948-953.
- [0403] [126] Bhagat *et al.* (2003) *BBRC* 300:853-861.

[0404] [127] 제W003/035836호.

[0405] [128] 제W095/17211호.

[0406] [129] 제W098/42375호.

[0407] [130] Beignon *et al.* (2002) *Infect Immun* 70:3012-3019.

[0408] [131] Pizza *et al.* (2001) *Vaccine* 19:2534-2541.

[0409] [132] Pizza *et al.* (2000) *Int J Med Microbiol* 290:455-461.

[0410] [133] Scharton-Kersten *et al.* (2000) *Infect Immun* 68:5306-5313.

[0411] [134] Ryan *et al.* (1999) *Infect Immun* 67:6270-6280.

[0412] [135] Partidos *et al.* (1999) *Immunol Lett* 67:209-216.

[0413] [136] Peppoloni *et al.* (2003) *Expert Rev Vaccines* 2:285-293.

[0414] [137] Pine *et al.* (2002) *J Control Release* 85:263-270.

[0415] [138] Domenighini *et al.* (1995) *Mol Microbiol* 15:1165-1167.

[0416] [139] 제W099/40936호.

[0417] [140] 제W099/44636호.

[0418] [141] Singh *et al*] (2001) *J Cont Release* 70:267-276.

[0419] [142] 제W099/27960호.

[0420] [143] 미국 특허 제6,090,406호.

[0421] [144] 미국 특허 제5,916,588호.

[0422] [145] 제EP-A-0626169호.

[0423] [146] 제W099/52549호.

[0424] [147] 제W001/21207호.

[0425] [148] 제W001/21152호.

[0426] [149] Andrianov *et al.* (1998) *Biomaterials* 19:109-115.

[0427] [150] Payne *et al.* (1998) *Adv Drug Delivery Review* 31:185-196.

[0428] [151] Stanley (2002) *Clin Exp Dermatol* 27:571-577.

[0429] [152] Jones (2003) *Curr Opin Investig Drugs* 4:214-218.

[0430] [153] 제W004/60308호.

[0431] [154] 제W004/64759호.

[0432] [155] Hennings *et al.* (2001) *J Infect Dis.* 183(7):1138-42. Epub 2001 Mar 1.

[0433] [156] Glezen & Alpers (1999) *Clin. Infect. Dis.* 28:219-224

[0434] [157] Madoff *et al.* (1994) *J Clin Invest* 94:286-92.

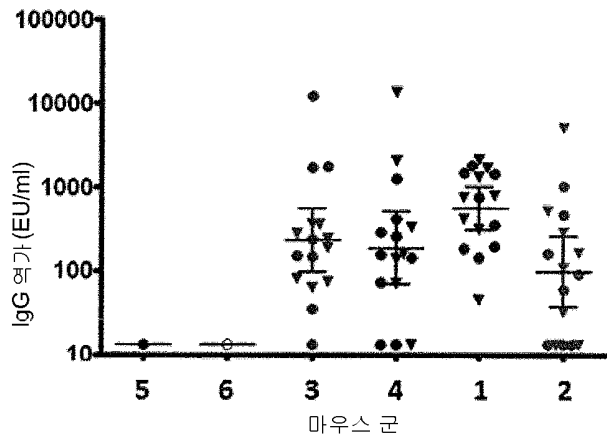
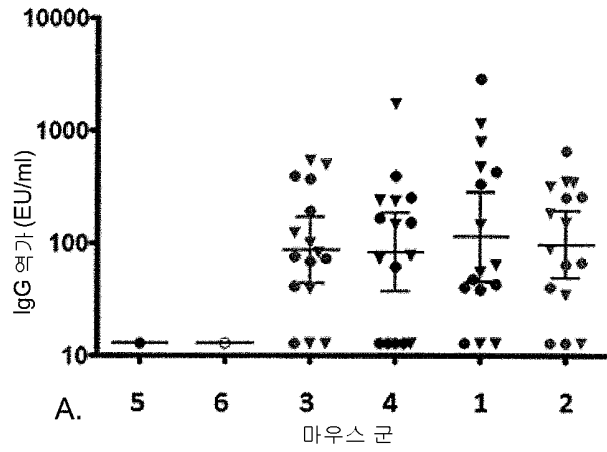
[0435] [158] Paoletti *et al.* (1994) *Infect Immun* 62:3236-43.

[0436] [159] 영국 특허 출원 번호 제1121301.4호

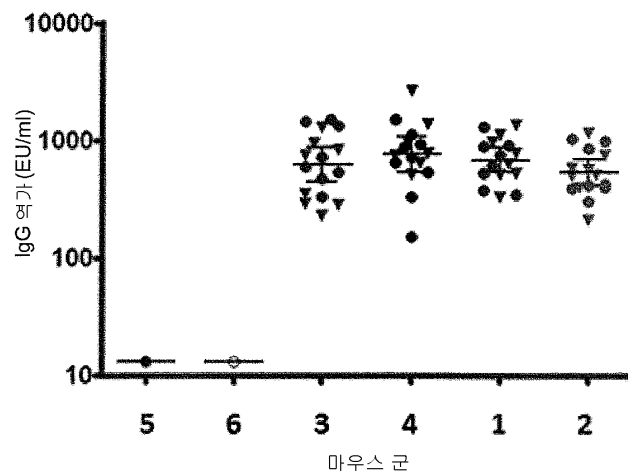
[0437] [160] Fabbrini *et al.* (2012) *J Immun Methods* 378:11-19

도면

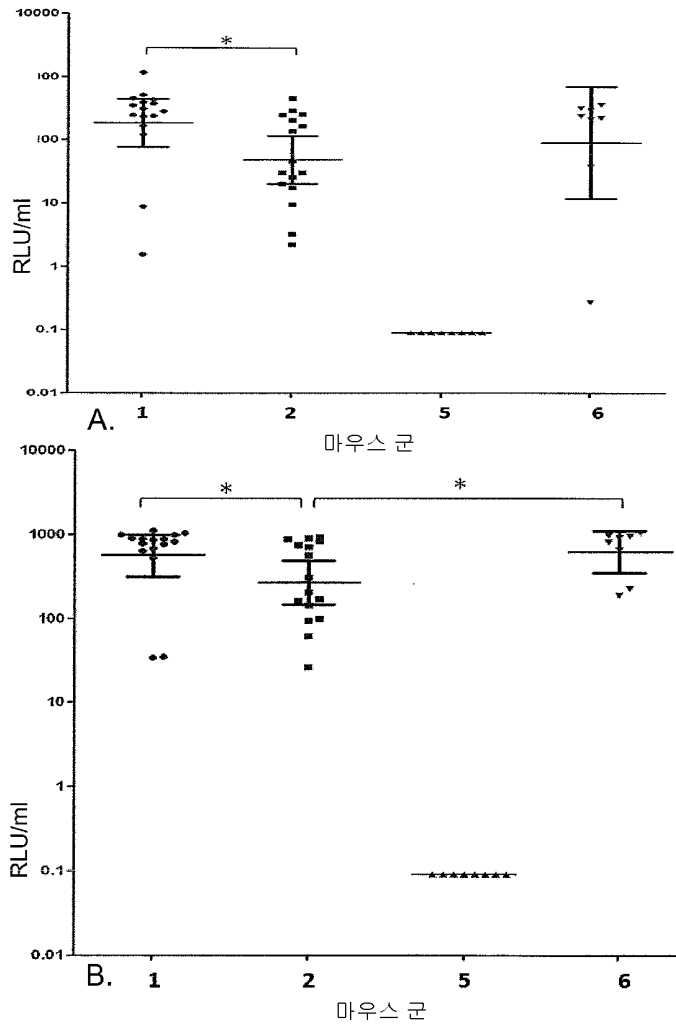
도면1a



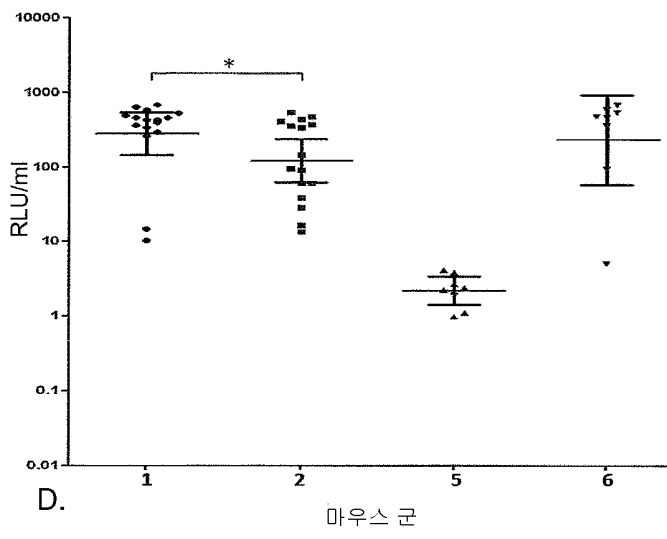
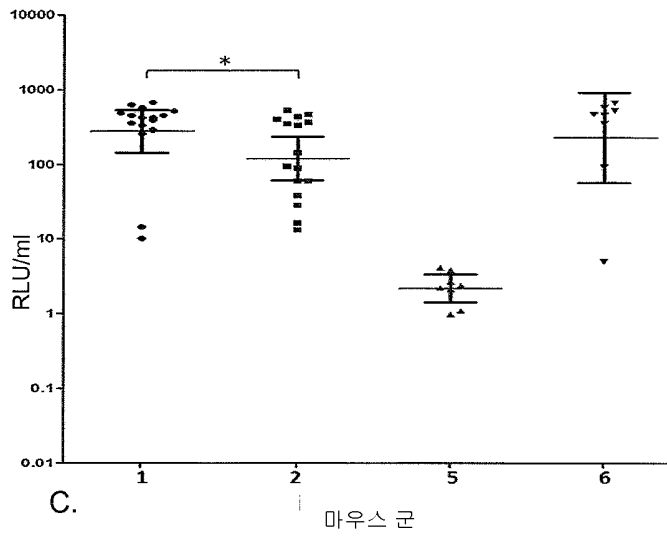
도면1b



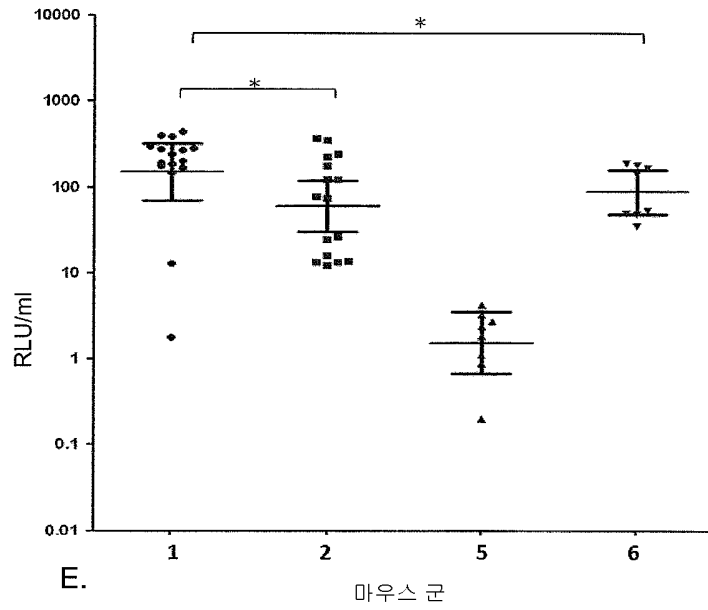
도면2a



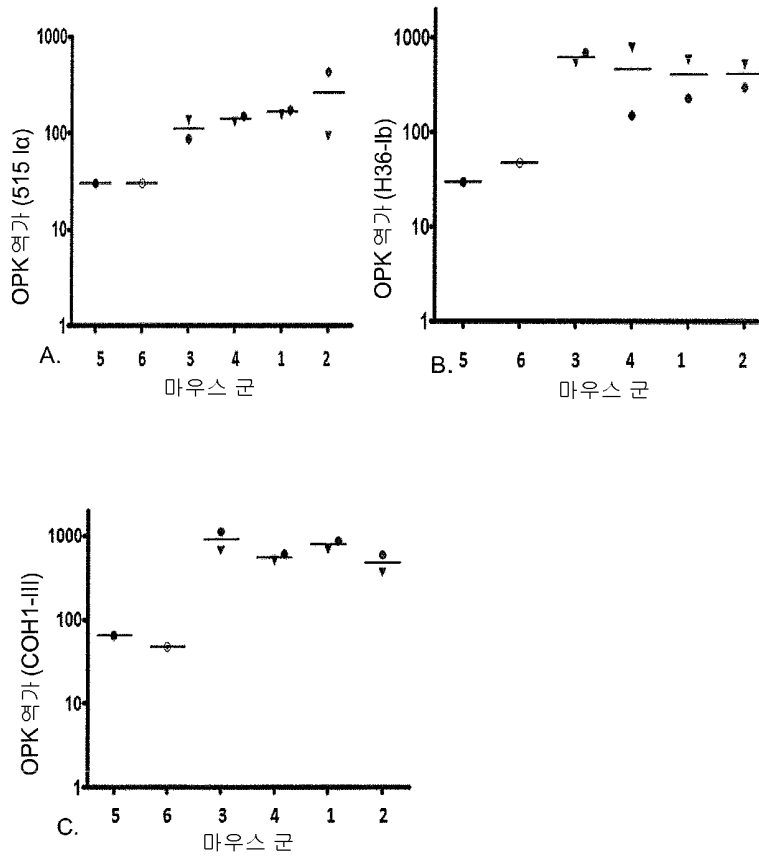
도면2b



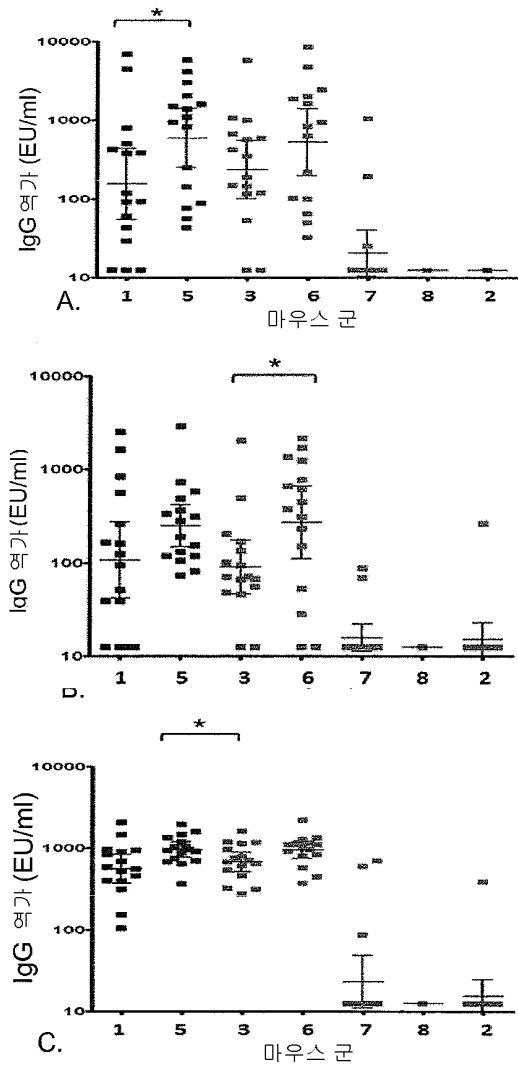
도면2c



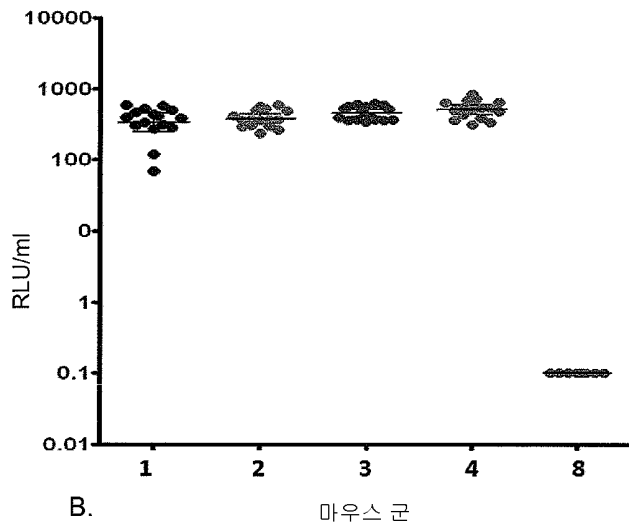
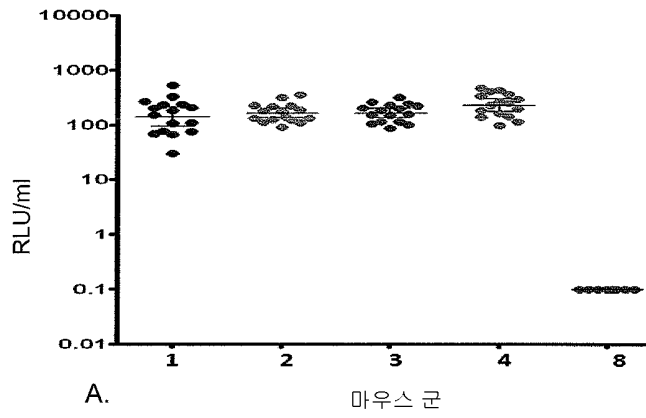
도면3



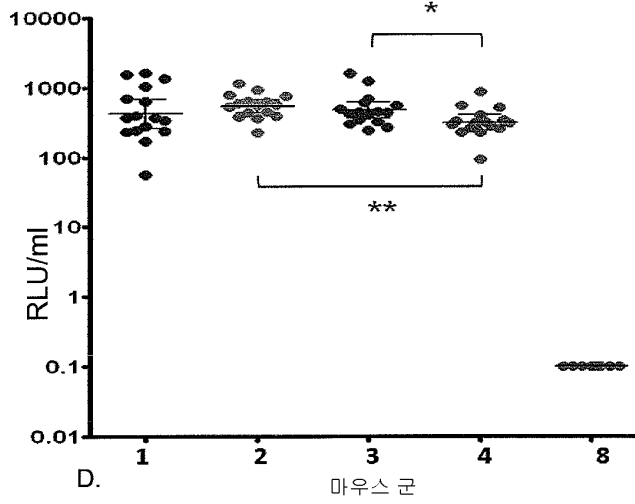
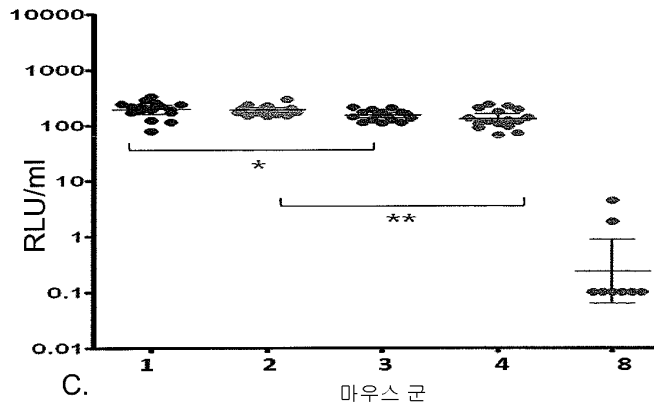
도면4



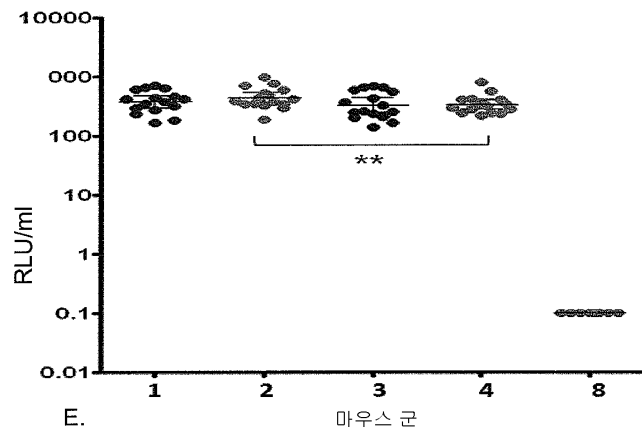
도면5a



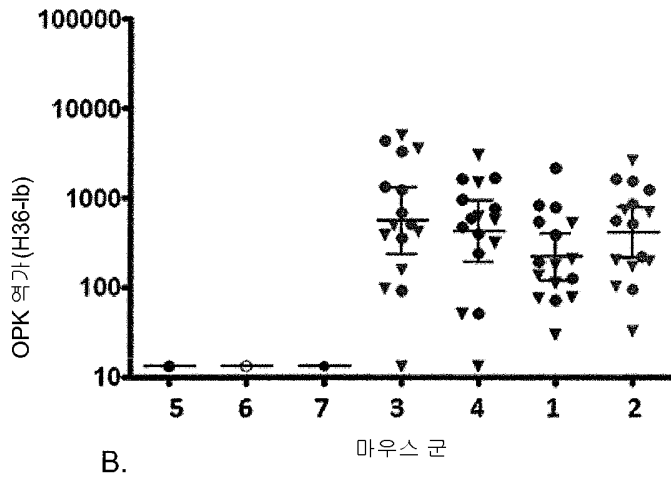
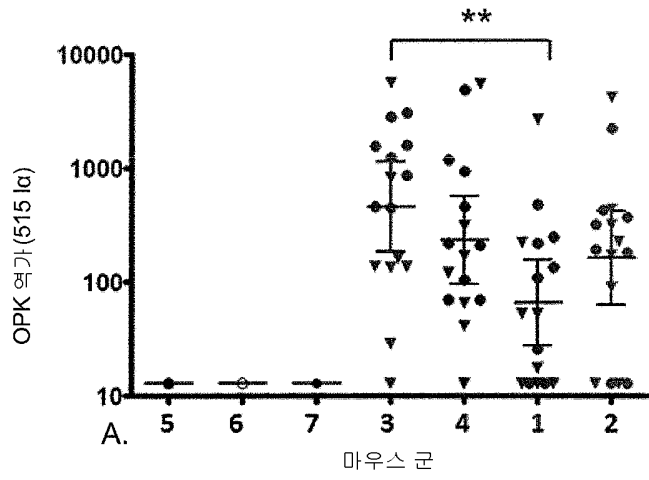
도면5b



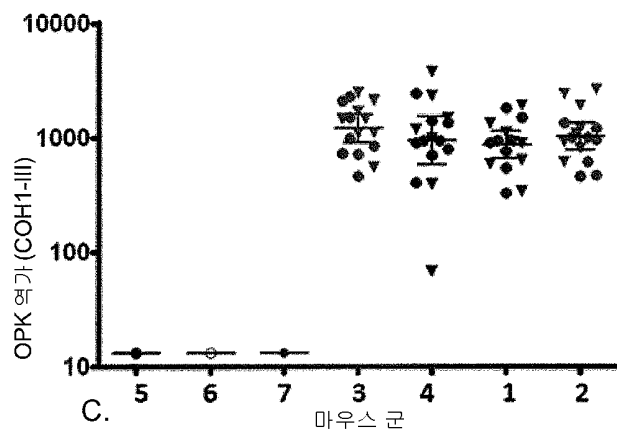
도면5c



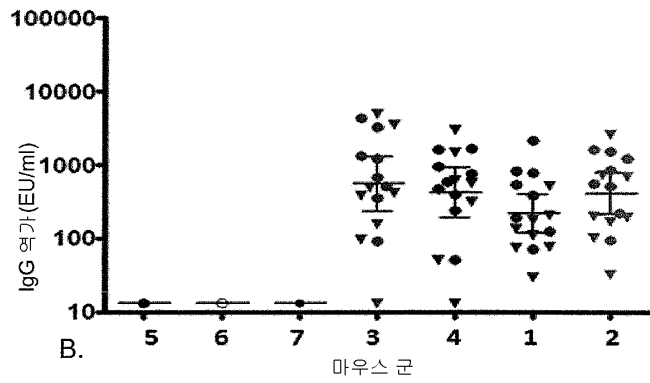
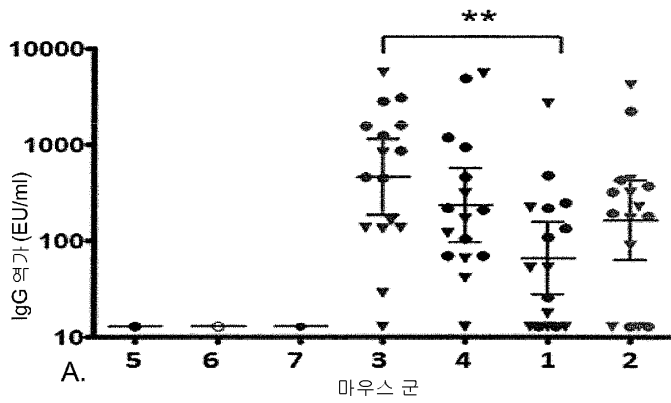
도면6a



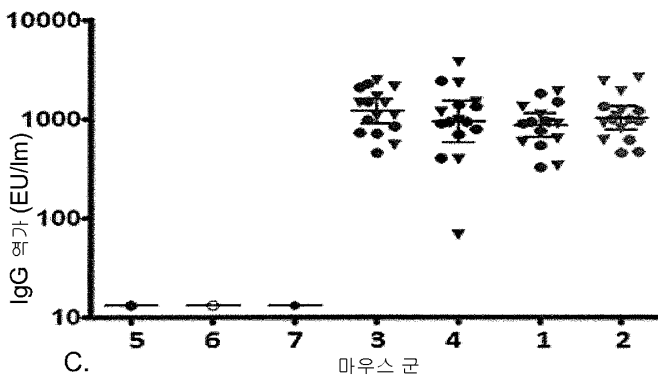
도면6b



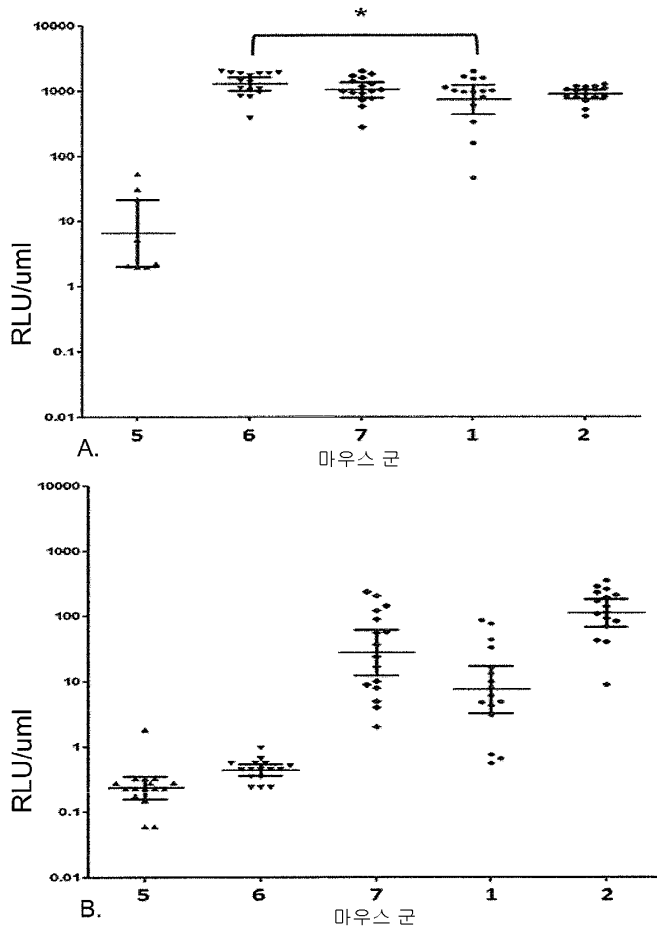
도면7a



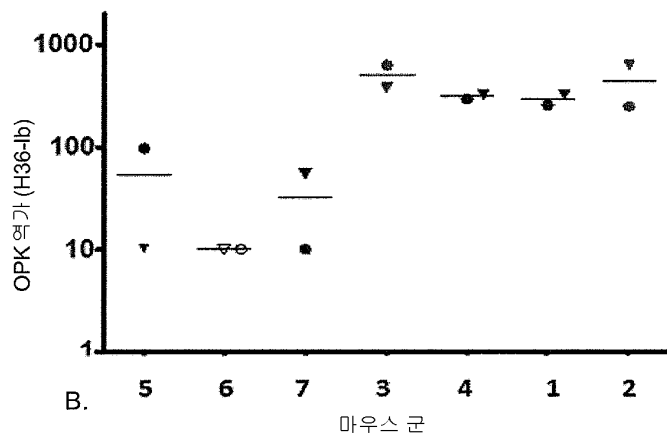
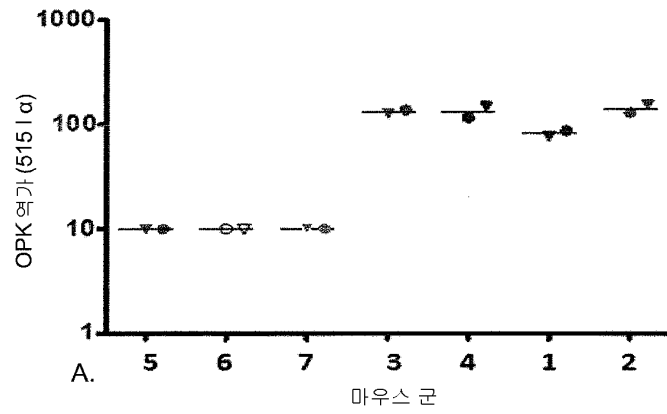
도면7b



도면8



도면9a



도면9b

