

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017년 7월 27일 (27.07.2017)



(10) 국제공개번호
WO 2017/126944 A1

- (51) 국제특허분류: *C07K 16/28* (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2017/000746
- (22) 국제출원일: 2017년 1월 20일 (20.01.2017)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2016-0006851 2016년 1월 20일 (20.01.2016) KR
10-2017-0009988 2017년 1월 20일 (20.01.2017) KR
- (71) 출원인: 서울대학교산학협력단 (SNU R&DB FOUNDATION) [KR/KR]; 08826 서울시 관악구 관악로 1(신림동), Seoul (KR).
- (72) 발명자: 이현숙 (LEE, Hyunsook); 06552 서울시 서초구 방배중앙로 204, 704호 (방배동, 리첸시아), Seoul (KR). 김현중 (KIM, Hyeon-Jong); 08788 서울시 관악구 관악로 6길 98 그랑빌 207호, Seoul (KR). 권미선 (KWON, Mi-Sun); 08787 서울시 관악구 남부순환로 220길 29, 1005호 (봉천동, 코스모블루), Seoul (KR). 박

인애 (PARK, Inai); 06620 서울시 서초구 강남대로 385, 71동 205호 (서초동, 아파트건본주택), Seoul (KR).

(74) 대리인: 이우진 (LEE, Woojin) 등; 06140 서울시 강남구 논현로 94길 13 에일팩트빌딩 3층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

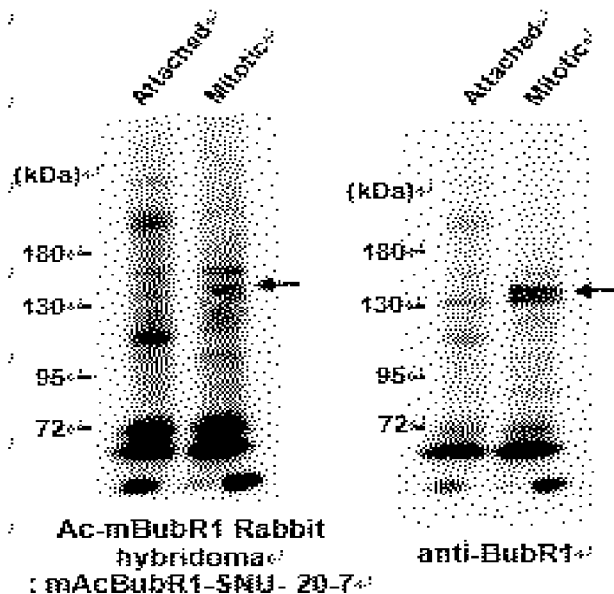
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: NOVEL SPECIFIC MONOCLONAL ANTIBODY TO ACETYLATED MOUSE BUBR1 AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 발명의 명칭: 아세틸화된 마우스 BUBR1에 대한 신규한 특이 단일클론항체 및 그 제조방법

[도5]



(57) Abstract: The present invention provides a rabbit monoclonal antibody to acetylated mouse BubR1 and a preparation method therefor and, more particularly, provides the use of the monoclonal antibody in a method for measuring the activity of cell division checkpoints on the basis of a degree of acetylation of BubR1, a method for detecting a tumor disease on the basis of aberrant cell division, a method for diagnosing cancer, a method for screening anti-cancer agents, or a method for regulating a cell division cycle.

(57) 요약서: 본 발명은 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 토끼 면역성 단일클론항체 및 그 제조방법을 제공하고, 나아가 상기의 단일클론항체를 이용하여 BubR1에 대한 아세틸화도를 척도로 세포분열체크포인트 활성도 측정, 세포분열 이상을 근간으로 하는 중앙 질환의 검출, 암 진단 및 항암제 스크리닝 방법 또는 세포분열 주기 조절 방법을 제공한다.



TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, **공개:**

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).

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: 아세틸화된 마우스 BUBR1에 대한 신규한 특이 단일클론항체 및 그 제조방법

기술분야

- [1] 본 발명은 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 토끼 면역성의 특이 단일클론항체 및 그 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 상기 특이 단일클론항체 및 상기 단일클론항체를 생산하는 하이브리도마 세포 및 이를 이용하여 상기 항체가 BubR1에 대한 아세틸화도를 척도로 세포분열체크포인트 활성화도 측정, 세포분열 이상을 근간으로 하는 질환의 검출, 암 진단 및 항암제 스크리닝 방법 또는 세포분열 주기 조절 방법 등을 제공할 수 있다.

[2]

배경기술

- [3] 세포분열에 있어 가장 중요한 것은 모세포와 동일한 유전정보를 딸세포로 정확하게 전달하는데 있다. 특히 유전정보가 복제된 후 각각의 딸세포로 이동하는 염색체 분리시기, 즉 세포분열 중기에서 후기로 전환되는 시기는 세포분열의 정점을 이루며, 딸세포로의 완전한 유전체의 전달을 위해서는 방추체 조립 체크포인트(Spindle Assembly Checkpoint, SAC)의 정상적 작동을 필요로 한다 [Taylor SS, Scott MI, Holland AJ (2004) The spindle checkpoint: a quality control mechanism which ensures accurate chromosome segregation. *Chromosome Res* 12: 599-616]. 정상적인 경우 통상 세포분열은 30분 내에 종료하지만, 한 개의 염색체라도 정상적으로 방추사에 적절하게 부착되지 않는 경우 길게는 16시간까지 세포분열이 지연된다. 이를 조절하는 것이 SAC로, 활성화된 SAC는 세포분열 후기의 진행에 필요한 후기진행 복합체(Anaphase Promoting Complex, APC/C)를 억제한다 [Yu H (2002) Regulation of APC-Cdc20 by the spindle checkpoint. *Curr Opin Cell Biol* 14: 706-714]. APC/C는 다중복합체를 이루고 있는 E3 라이게이즈로 세큐린과 사이클린 B를 파괴한다 [Yu, *ibid*]. SAC가 제대로 작동하지 않는 경우 세포는 죽거나 이수배수체를 생성하게 되는데, 이수배수체는 암세포의 중요한 특징으로 알려져 있다 [Kops GJ, Weaver BA, Cleveland DW (2005) On the road to cancer: aneuploidy and the mitotic checkpoint. *Nat Rev Cancer* 5: 773-785; Pihan G.A. et al (1999) *Cancer Biology* 9: 289-302]. 또한 SAC가 잘못될 경우 진행이 빠르고 치료가 힘든 염색체 불안정성 암(Chromosomal Instability Cancer, CIN)이 생길 수 있다[Hannahan D et al, *Cell* 100:57-70 (2000); Li R et al. *PNAS* 97: 3236- 3241(2000)]. 암세포는 무제한으로 분열하기 때문에 세포분열을 조절하는 것이 암 치료의 지름길이며, 이를 위해서는 세포분열 체크포인트에서 여러 인자들의 상호작용 및 이들 간의 조절기전 그리고 이러한 체크포인트의 활성도를 체크할 수 있는 물질의 개발을

필요로 한다. 세포분열체크포인트인 SAC를 구성하는 인자 중 APC/C 에 직접 결합하여 APC/C를 억제하는데 중요한 것으로 알려진 인자가 BubR1이다 [Yu, *ibid*]. 그러나 이러한 BubR1 단백질의 정확한 APC/C 조절기작 및 이를 특이적으로 인식하는 항체에 대하여는 알려진 바가 없다.

- [4] 더욱이 현재까지 마우스 아세틸 BubR1 단백질을 검출할 수 있는 항체는 전혀 알려진 바 없다. 체내 (*in vivo*) 실험이 가능한 동물로는 마우스 모델이 대표적이나 기존의 항체로는 마우스를 이용한 항암제 스크리닝과 같은 실험을 진행하는 것이 불가능하다. 따라서 마우스 아세틸 BubR1 단백질을 인지할 수 있는 항체 개발이 절실하다.
- [5] 또한 단일클론항체는 하나의 에피토프를 인식하는 항체로서 이 때문에 교차반응성이 낮고, 무엇보다 그 에피토프의 존재를 동정하는 목적하에 반영구적인 생산이 가능하므로, 안정된 공급이 가능한 점이 큰 장점이라 할 수 있다. 또한 높은 특이성과 높은 친화성을 가지므로, 연구에 있어서 특정의 단백질을 검출하기 위한 목적 뿐만 아니라 암에 대해 치료용 항체 (항체의학) 및 진단의 도구로서도 넓게 이용되고 있다. 특히 토끼 면역성의 단일클론항체는 연구 및 진단을 위한 이상적인 단일클론항체로 이용되고 있다. 구체적으로, 토끼 면역성 항체는 일반적으로 더욱 높은 친화성 및 높은 특이성을 가진 것으로 보고되고 있다 [Rossi, S et al., *Am J Clin Pathol.*, 124 (2), 295-302 (2005); Rocha R et al., *Pathol Res Pract*, 204 (9), 655-662 (2008); Tao, G. Z. et al, *Exp Cell Res* 312, 411-422 (2006)]. 특히, 토끼는 마우스 및 다른 동물보다 면역원성이 월등히 많은 항원에 대해서 항체를 생산하는 것으로 알려져있다 [Raybould, T J et al, *Science* 240, 1788-1790 (1988); Feng, L et al, *Am J Transl Res* 3, 269-274 (2011)].
- [6] 본 발명자는 BubR1 아세틸화가 세포분열체크포인트 활성을 조절하는 분자적 스위치로 작용한다는 것을 규명하여, 세포분열체크포인트 특이적인 지표로서 BubR1 아세틸화를 사용할수 있음을 시사하였다 [Choi et al., *EMBO Journal*, 28 (14), 2077-2089 (2009)]. BubR1 acetylation site를 불활성화시킨 BubR1-K243R/+mice embryonic fibroblasts (MEFs)는 자체적으로 40% 정도의 암을 발생함을 증명하였으며, BubR1 아세틸화가 세포 분열기의 동원체-방추사 결합과 spindle assembly checkpoint의 유지 등 두가지의 가장 중요한 세포 분열기 기능을 조절한다는 것을 규명하고 발표하였다 [Park et al., *J. Cell Biol.*, 202 (2), 295-309 (2013)].
- [7] 본 발명 관련 선행기술로서 대한민국 공개특허 제 10-2011-0019495호는 인간, 머스 머스클러스, 갈러스 갈러스, 제노퍼스 라에비스 유래의 BubR1에 대한 다클론항체를 제작하는 방법에 대하여 개시하고 있다. 그러나 아세틸화된 마우스 BubR1의 토끼 면역성 단일클론항체의 제조 방법에 대하여는 상기 어느 문헌에도 개시되거나 암시된 바 없다.

[8]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [9] 따라서 본 발명의 목적은 토끼면역성의 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 신규한 하이브리도마 세포주, 상기 세포주 유래의 토끼 면역성 단일클론항체 및 그 제조방법을 제공하는데 있다.
- [10] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 단일클론항체의 용도를 제공하는데 있다.
- [11] 본 발명의 또 다른 목적은 암 진단용 키트를 제공하는데 있다.
- [12] 본 발명의 기타 목적은 명세서의 상세한 설명의 실시예의 범위 내에서 발견할 수 있다.

[13]

과제 해결 수단

- [14] 본 발명의 상기 목적은 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 타겟 펩타이드 항원을 결정하고 다클론 하이브리도마 세포를 제작하는 단계; 상기 단계에서 제작된 다클론 하이브리도마 세포들에 대하여 GST- tagged mouse BubR1 (1-514 아미노산) 제조합 단백질을 이용하여 BubR1 특이적 다클론 하이브리도마 mAcBubR1-SNU-20 세포 (한국세포주은행, 기탁번호 KCLFR-BP-00390, 2017.01.19자 기탁)를 선정하는 단계; 상기 단계에서 얻은 BubR1 특이적 다클론 하이브리도마 mAcBubR1-SNU-20 세포 중 단일클론 하이브리도마세포를 선정하고 배양한 후 및 배양액을 정제하는 단계; 상기 단계에서 얻은 정제된 배양액 내 포함된 단일클론항체 중 아세틸화된 마우스 BubR1에 특이성이 있는 단일클론항체를 확인하기 위하여 HeLa 세포의 면역침강 및 웨스턴블랏을 수행하여 단일클론 하이브리도마 세포 mAcBubR1-SNU-20-4 (한국세포주은행, 기탁번호 KCLFR-BP-00391, 2017.01.19자 기탁), 단일클론 하이브리도마 세포 mAcBubR1-SNU-20-7(한국세포주은행, 기탁번호 KCLFR-BP-00392, 2017.01.19자 기탁) 및 단일클론 하이브리도마 세포 mAcBubR1-SNU-20-9(한국세포주은행, 기탁번호 KCLFR-BP-00393, 2017.01.19자 기탁)의 배양액으로부터 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 단일클론항체를 수득하는 단계; 상기 단계에서 수득한 단일클론항체 중 endogenous 아세틸화된 마우스 BubR1에 특이성 있는 단일클론항체를 확인하기 위하여 마우스 배아섬유아세포(Mouse Embryonic Fibroblast)의 면역침강 및 웨스턴블랏을 수행하여 토끼면역 특이성이 있는 신규한 단일클론항체 mAcBubR1-SNU-20-7을 수득하는 단계를 통하여 이루어진다.

[15]

발명의 효과

- [16] 본 발명은 마우스 단일클론항체에 비해 특이성과 반응성이 뛰어난 토끼 면역성의 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 단일클론항체 및 그 제조방법을 제공하는 효과가 있을 뿐만 아니라, 상기 단일클론항체를 이용하여 BubR1에

대한 아세틸화도를 척도로 세포분열체크포인트 활성화도 측정, 세포분열 이상을 근간으로 하는 질환의 검출, 암 진단 및 항암제 스크리닝 방법 또는 세포분열 주기 조절 방법을 제공하는 뛰어난 효과가 있다.

[17]

도면의 간단한 설명

[18] 도1은 본 발명에 따른 신규한 GST-tagged mouse BubR1 (1-514 아미노산) 재조합 단백질의 모식도이다.

[19] 도2는 본 발명에 따른 마우스 아세틸화된 BubR1 다클론하이브리도마 세포 배양액의 아세틸화된 BubR1에 대한 특이성을 확인하기 위하여 243번째 잔기가 아세틸화된 라이신 잔기를 포함하는 BubR1을 특이적으로 인식하는 우수성을 보이는 웨스턴 블랏 (western blot)의 사진도이다.

[20] 도3은 본 발명에 따른 Myc-tagged mouse BubR1의 모식도이다.

[21] 도4는 본 발명에 따라 Myc-tagged mouse BubR1을 포함하는 플라스미드를 HeLa 세포에 트랜스펙션한 후 마우스 아세틸 BubR1 단백질에 특이적으로 결합하는 단일클론항체 mAcBubR1-SNU-20-4, mAcBubR1-SNU-20-7 및 mAcBubR1-SNU-20-9의 면역침강 실험 후 웨스턴블랏의 결과를 나타낸 사진도이다.

[22] 도5는 본 발명에 따라 Mouse Embryonic Fibroblast(마우스 배아섬유아세포)를 이용하여 마우스 아세틸 BubR1 단백질에 특이적으로 결합하는 단일클론항체 mAcBubR1-SNU-20-7의 면역침강 실험 후 웨스턴블랏의 결과를 나타낸 사진도이다.

[23]

발명의 실시를 위한 형태

[24] 본 발명은 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 단일클론항체 및 그 제조방법을 개시한다.

[25] 이하 본 발명을 실시예에 의해 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것에 불과하며, 본 발명의 권리범위를 한정하는 것으로 의도되지 않는다. 본 명세서에 기재되지 않은 내용은 본 발명의 기술 분야 또는 유사 분야에서 숙련된 자이면 충분히 인식하고 유추할 수 있는 것이므로 그 상세한 설명을 생략하였다. 본 발명과 관련된 기술 또는 기법들은 [Rabbit monoclonal antibodies: generating a fusion partner to produce rabbit-rabbit hybridomas. (Proc Natl Acad Sci U S A. 1995 92(20):9348-52.)], [Generation of rabbit monoclonal antibodies (Methods Mol Biol., 2014; 1131:71-9)] 및 [Generation of rabbit monoclonal antibodies (Methods Mol Biol., 2014; 1131:71-9)]에 기재된 바 *in vitro* 및 *in vivo* hybridoma 생산 및 항체수득 방법에 대하여 상세히 기술되어 있다.

[26] 본 발명에서 용어, "항체(antibody)"란 항원과 특이적으로 결합하는 분자이며, 이량체, 삼량체 및 다량체, 항체, 재조합, 가공된 및 카멜화된(camelized) 항체를

포함한다. 또한, 항체는 완전한 형태뿐만 아니라 항체 분자의 기능적인 단편의 형태일 수 있다. 본 발명에서 용어, "단일클론항체"는 실질적으로 동일한 항체 집단에서 수득한 단일 분자 조성의 항체 분자를 지칭하고, 이러한 단일클론항체는 특정 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타낸다. "하이브리도마 세포주"는 종양 세포 및 어떠한 기능을 갖는 정상 세포를 융합하여 얻은 잡종 세포주로 종양 세포가 갖는 증식성과 생체 세포의 기능을 함께 갖고 있는 세포를 얻음으로써 단일클론항체 등의 생산에 이용되는 세포주이다.

- [27] 본 발명에서 "조성물"이라 함은 암이 발생할 수 있는 인간 뿐 아니라 소, 말, 양, 돼지, 염소, 낙타, 영양 등의 가축의 암 예방 및 치료 조성물로 제공될 수 있다.
- [28] 본 발명에서 사용한 용어 "예방"이란 본 발명의 항체를 포함하는 조성물 투여에 의해 암의 유발이 억제되거나 지연되는 모든 행위를 의미하고, "치료"란 본 발명의 항체 투여에 의해 암의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.
- [29] 치료용 항체로 사용될 경우, 항체는 기존의 치료제와 직접 또는 링커 등을 통하여 간접적으로 커플링(예를 들어, 공유결합)되어 항체-치료제 결합체 형태로 생체내로 투입하여 암의 예방 또는 치료에 이용할 수 있다. 사용될 수 있는 치료제는 화학치료제, 면역치료제, 사이토킨, 케모킨, 항바이러스제, 생물작용제, 효소저해물질 등을 포함한다.
- [30] 본 발명에서 "항체를 포함하는 조성물"이라 함은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하고 인체 또는 수의학용으로 제형화 될 수 있다. 경구 투여용의 약제학적 조성물은 별개의 단위, 예를 들면, 캡슐제 또는 정제; 산제 또는 과립제; 시럽 또는 현탁제(수성 또는 비-수성 액상물 중; 식용 발포제 또는 휘프(whip); 또는 에멀션)로 제조될 수 있다. 비경구 투여용의 약제학적 조성물에는 산화방지제, 완충제, 정균제(bacteriostat) 및 용질(수용자의 혈액과 실질적으로 등장성인)을 함유할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 주사 용제; 및 현탁제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁제가 포함된다. 주사용 용제에 사용될 수 있는 부형제에는 예를 들어, 물, 알코올, 폴리에틸렌 글리세린 및 식물성 오일이 포함된다. 이러한 조성물은 단위-용량(1회분) 또는 다중-용량(수회분) 용기, 예를 들면, 밀봉된 앰플이알에 제시될 수 있고, 사용 직전에 멸균성 액상 담체, 예를 들면, 주사용 수의 부가만을 요구하는 동결-건조 조건 하에 저장할 수 있다. 즉석의 주사 용제 및 현탁제는 멸균성 산제, 과립제 및 정제로부터 제조할 수 있다.
- [31] 본 발명의 "키트"에는 본 발명의 항체뿐만 아니라 면역학적 분석에 사용되는 당 분야에서 일반적으로 사용되는 도구, 시약 등이 포함된다. 이러한 도구/시약으로는 적합한 담체, 검출 가능한 신호를 생성할 수 있는 표지 물질, 용해제, 세정제, 완충제, 안정화제 등이 포함하나 이로 제한되지 않는다. 표지 물질이 효소인 경우에는 효소 활성을 측정할 수 있는 기질 및 반응 정지제를 포함할 수 있다.

- [32] 본 발명에서 용어, " BubR1 단백질의 아세틸화도 검출 "은 항원-항체 결합체와 결합한 검출 라벨(detection label)의 시그널 크기를 정성 또는 정량적으로 측정하여 아세틸화된 BubR1의 존재 여부와 양을 확인하는 것을 의미한다. 이러한 검출 키트에는 본 발명의 항체뿐만 아니라 면역학적 분석에 사용되는 당 분야에서 일반적으로 사용되는 도구, 시약 등이 포함된다. 이러한 도구/시약으로는 적합한 담체, 검출 가능한 신호를 생성할 수 있는 표지 물질, 용해제, 세정제, 완충제, 안정화제 등이 포함하나 이로 제한되지 않는다. 표지 물질이 효소인 경우에는 효소 활성을 측정할 수 있는 기질 및 반응 정지제를 포함할 수 있다.
- [33] 항원-항체 결합체 형성은 조직면역 염색, 방사능 면역분접법(RIA), 효소면역 분석법(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), 웨스턴 블롯팅(Western Blotting), 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 면역확산 분석법(Immunodiffusion assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), FACS, 단백질 칩(protein chip)등이 있으며 이로 제한되지 않는다.
- [34] 항원-항체 결합체의 형성을 정성 또는 정량적으로 측정가능하게 하는 라벨에는 효소, 형광물, 리간드, 발광물, 미소입자(microparticle), 레독스 분자 및 방사선 동위원소 등이 있으며, 반드시 이로 제한되는 것은 아니다. 검출 라벨로 이용 가능한 효소에는 β -글루쿠로니다제, β -D-글루코시다제, β -D-갈락토시다제, 우레아제, 펄록시다아제, 알칼라인 포스파타아제, 아세틸콜린에스테라제, 글루코즈 옥시다제, 헥소키나제와 GDPase, RNase, 글루코즈 옥시다제와 루시퍼라제, 포스포프럭토키나제, 포스포에놀피루베이트 카복실라제, 아스파르테이트 아미노트랜스페라제, 포스포에놀피루베이트 데카복실라제, β -라타마제 등이 있으며 이로 제한되지 않는다. 형광물에는 플루오레신, 이소티오시아네이트, 로다민, 피코에리트린, 피코시아닌, 알로피코시아닌, α -프탈테히드, 플루오레스카민 등이 있으며 이로 제한되지 않는다. 리간드에는 바이오틴 유도체 등이 있으며 이로 제한되지 않는다. 발광물에는 아크리디늄 에스테르, 루시페린, 루시퍼라제 등이 있으며 이로 제한되지 않는다.
- [35] 미소입자에는 콜로이드 금, 착색된 라텍스 등이 있으며 이로 제한되지 않는다. 레독스 분자에는 페로센, 루테늄 착화합물, 바이올로젠, 퀴논, Ti 이온, Cs 이온, 디이미드, 1,4-벤조퀴논, 하이드로퀴논, K4W(CN)8, [Os(bpy)3]2+, [Ru(bpy)3]2+, [MO(CN)8]4- 등이 있으며 이로 제한되지 않는다. 방사선동위원소에는 ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{90}Y , ^{125}I , ^{131}I , ^{186}Re 등이 있으며 이에 제한되지 않는다.
- [36] 본 발명에서의 “교차반응성”이란 하나의 항원물질에서도 복수의 다수인 항원결정기가 존재하여 특정 항원결정기에 대한 항체에서도 유사한 다른 항원결정기와도 반응할 수 있는 현상이다. “표식물질”이란 목적하는 물질 또는 현상을 검지하기 위하여 표지하는 물질로, 형광물질, 방사성동위원소, 페리틴, 효소 등이 사용되며 이에 제한되지 않는다. 표식물질은 형광 현미경,

라디오오토그래피, 광학현미경 및 효소반응 등에 의하여 검출될 수 있고 이에 한정되지 않는다.

[37]

[38] 이하 본 발명을 실시예에 의해 보다 상세하게 설명한다.

[39]

[40] [실시예1] 본 발명 타겟 펩티드 항원의 결정 및 다클론 하이브리도마 세포의 제작

[41]

[42] 본 발명의 아세틸화된 마우스 BubR1의 항체는 하기의 표1의 정보와 서열을 이용하여 제조되었다. 효율적인 항체의 제조를 위하여 라이신(K) 잔기가 중간에 위치하도록 좌우의 서열을 선택하여 하기 항체 제작 타겟 펩타이드 별첨 서열번호 1을 선정하였다 (표1).

[43] 표 1

[표1]

mouse BubR1 accession number	Q9Z1S0
마우스 BubR1 243번째 라이신(K) 잔기 주변 서열	PISRVGGALKAPGQSR
항체 제작 타겟 펩타이드 서열번호 1	cGGAL(acK)APGQS

[44] (C: Cysteine; G:Glycine; A:Alanine; L:Leucine; K:Lysine; A: Alanine ; P:Proline; G: Glycine; Q:Glutamine; S:Serine; K: 아세틸레이션 부위)

[45]

[46] 상기 항체 제작 타겟 펩타이드 서열번호 1을 토끼에 주사한 후 항원에 대한 항체를 생산하는 세포를 생성시키고, 토끼의 비장으로부터 얻은 항체생산세포 (Lymphocyte, B 세포)를 골수종세포 (myeloma, 240E-W2, Abcam®)와 융합시켰다. 상기 융합세포는 ELISA 실험을 통해 면역활성이 있는 multiple cell types 또는 multiclones 상태의 다클론 하이브리도마세포를 획득하였다.

[47]

[48] [실시예2] 본 발명 GST- tagged mouse BubR1 (1-514 아미노산) 재조합 단백질의 제작 및 이를 이용한 BubR1 특이적 다클론 하이브리도마 mAcBubR1-SNU-20 세포의 선정

[49]

[50] 상기 실시예 1에서 획득한 다클론 하이브리도마세포들 중 in vitro acetylation 실험을 통하여 아세틸화된 마우스 BubR1만을 특이적으로 인식하는 다클론 하이브리도마세포를 선정하기 위하여, 도 1에 도시된 GST- tagged mouse BubR1 (1-514 아미노산) 재조합 단백질을 제작하였다.

[51]

[52] 상기 GST- tagged mouse BubR1 (1-514 아미노산) 재조합 단백질을

Acetyl-CoA를 첨가한 후 두 그룹으로 나누어, 두 그룹 중 한 그룹은 GST-P/CAF HAT domain을 더하고 한 그룹은 배제한 후, 모두 30°C에서 1시간 동안 반응시켜 각 ‘GST- tagged mouse BubR1 (1-514 아미노산) 재조합 단백질을 아세틸화한 그룹(AC)’과 ‘GST- tagged mouse BubR1 (1-514 아미노산) 재조합 단백질을 아세틸화하지 않은 그룹(NAC)’을 제조하였다. 상기 두 그룹에 다클론 하이브리도마세포 배양액을 1:3의 비율로 5% 탈지분유가 들어있는 블로킹 용액에 넣어 전기영동 후 웨스턴블랏을 실시하였다.

[53] 웨스턴블랏 실시 결과 실시예1에서 수득한 다클론 하이브리도마 중 mAcBubR1-SNU-20 세포가 243번째 잔기가 아세틸화된 라이신 잔기를 포함하는 BubR1을 특이적으로 인식하는 항체로서의 우수성을 보이는 다클론 하이브리도마 세포로서 선정되었다 (도 2).

[54] 본 실시예에 따라 생산된 다클론 하이브리도마 세포는 mAcBubR1-SNU-20이라 명명하고 부다페스트 조약상 국제기탁기관 한국세포주은행(서울특별시 종로구 대학로 101)에 기탁번호 KCLFR-BP-00390로 2017.01.19자 기탁 완료되었다.

[55]

[56] [실시예 3] BubR1 특이적 다클론 하이브리도마 mAcBubR1-SNU-20 세포 중 단일클론 하이브리도마세포의 선정 및 배양액의 정제

[57]

[58] 상기 실시예2에서 선정된 다클론 하이브리도마 mAcBubR1-SNU-20세포 중 단일클론 하이브리도마세포(single line 또는 subclone)들을 추가 선정한 후,

[59] 추가 선정된 단일클론 하이브리도마세포들은 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 10% FBS (fetal bovine serum), 1% 페니실린 및 스트렙토마이신이 포함된 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. 배양액에 포함된 각 단일클론항체들은 더 나아가 하기 실시예 4 및 실시예 5와 같이 각 HeLa 세포 또는 마우스 배아섬유아세포를 통한 면역침강과 웨스턴블랏 실험을 이용하여 아세틸화된 마우스 BubR1을 특이적으로 인식하는 단일클론항체로 선별 및 확인하였다.

[60]

[61] [실시예 4] HeLa 세포의 면역침강 및 웨스턴블랏을 이용한 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 단일클론항체의 특이성 확인

[62]

[63] Myc-tagged mouse BubR1 (도 3)이 트랜스펙션된 HeLa 세포에 대하여 노코다졸(nocodazol, 200ng/ml)을 처리한 후, 싱크로나이즈(synchronize) 시키고 세포배양용기를 부드럽게 쳐서 중기의 세포를 떼어내었다 (mitotic shake off). 상기 중기의 세포를 수집하고 이로부터 수득한 세포추출물을 사용하여 항-9E10 항체로 면역침강 실험을 수행한 후, 실시예3의 아세틸화된 마우스 BubR1 단일클론항체를 1:5의 비율로 웨스턴블랏을 수행한 결과, 이들 중 mAcBubR1-SNU-20-4, mAcBubR1-SNU-20-7 및 mAcBubR1-SNU-20-9가 특이적으로 결합을 하여 단일클론항체로써 사용 가능성이 확인되었다 (도 4).

[64] 본 실시예에 따라 생산된 단일클론 하이브리도마 세포는 mAcBubR1-SNU-20-4, mAcBubR1-SNU-20-7 및 mAcBubR1-SNU-20-9이라 명명하고 부다페스트 조약상 국제기탁기관 한국세포주은행 (서울특별시 종로구 대학로 101)에 각각 기탁번호 KCLFR-BP-00391, KCLFR-BP-00392 및 KCLFR-BP-00393로 2017.01.19자 기탁 완료하였다.

[65]

[66] [실시예 5] 마우스 배아섬유아세포(Mouse Embryonic Fibroblast)의 면역침강 및 웨스턴블랏을 이용한 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 단일클론항체의 특이성 확인

[67]

[68] Endogenous mouse acetylated BubR1을 인식하는 항체를 확인하기 위하여 마우스 배아섬유아세포에 노코다졸 (nocodazole, 400ng/ml)을 처리한 후 중기의 세포를 떼어내었다 (mitotic shake off). 상기의 세포를 수집하고 이로부터 수득한 세포추출물을 사용하여 항-BubR1의 항체로 면역침강 실험을 수행한 후, 실시예 4의 아세틸화된 마우스 BubR1 단일클론항체들을 1:5의 비율로 웨스턴블랏을 수행한 결과, 이들 중 mAcBubR1-SNU-20-7이 특이적으로 결합을 하여 단일클론항체로써 사용 가능성이 확인되었다 (도 5).

[69]

산업상 이용가능성

[70] 이상 실시예를 통하여 설명한 바와 같이, 본 발명은 마우스 단일클론항체에 비해 특이성과 반응성이 뛰어난 토끼 면역성의 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 단일클론항체 및 그 제조방법을 제공하는 효과가 있으므로 상기의 단일클론항체를 이용하여 BubR1에 대한 아세틸화도를 척도로 세포분열체크포인트 활성화 측정, 세포분열 이상을 근간으로 하는 중앙 질환의 검출, 암 진단 및 항암제 스크리닝 방법 또는 세포분열 주기 조절을 연구를 수행할 수 있어 암 진단 나아가 암 예방 및 치료 산업상 매우 유용한 발명인 것이다.

[71]

서열목록 Free Text

[72] <110> Seoul National University R&DB Foundation

[73]

[74] <120> A Novel Specific Monoclonal Antibody for acetylated mouse BubR1
[75] and preparation method of the same

[76]

[77] <130> P5953

[78]

[79] <150> KR 10-2016-0006851

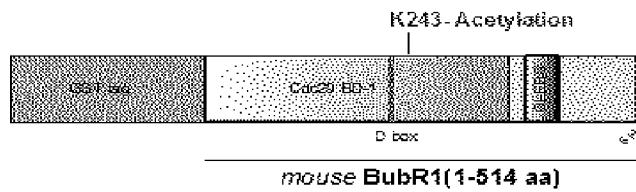
[80] <151> 2016-01-20
[81]
[82] <160> 1
[83]
[84] <170> KopatentIn 2.0
[85]
[86] <210> 1
[87] <211> 11
[88] <212> PRT
[89] <213> Artificial Sequence
[90]
[91] <220>
[92] <223> 1
[93]
[94]
[95] <400> 1
[96] Cys Gly Gly Ala Leu Lys Ala Pro Gly Gln Ser
[97] 1 5 10

청구범위

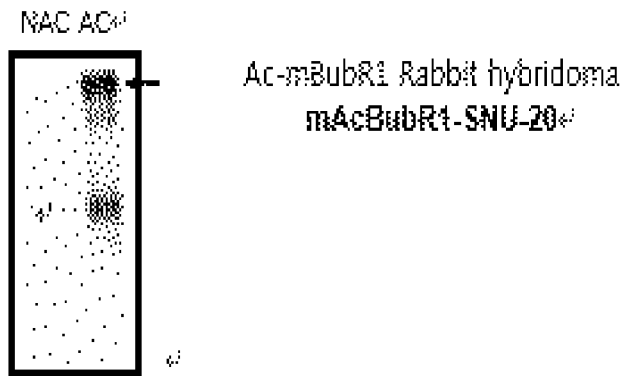
- [청구항 1] 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 타겟 펩타이드 항원을 결정하고 다클론 하이브리도마 세포를 제작하는 단계; 상기 단계에서 제작된 다클론 하이브리도마 세포들에 대하여 GST-tagged mouse BubR1 (1-514 아미노산) 제조합 단백질을 이용하여 BubR1 특이적 다클론 하이브리도마 mAcBubR1-SNU-20 세포 (KCLFR-BP-00390)를 선정하는 단계; 상기 단계에서 선정된 BubR1 특이적 다클론 하이브리도마 mAcBubR1-SNU-20 세포 중 단일클론 하이브리도마세포를 선정하고 배양한 후 배양액을 정제하는 단계; 상기 단계에서 얻은 정제된 배양액 내 포함된 단일클론항체 중 아세틸화된 마우스 BubR1에 특이성이 있는 단일클론항체를 확인하기 위하여 HeLa 세포의 면역침강 및 웨스턴블랏을 수행하여 단일클론 하이브리도마 세포 mAcBubR1-SNU-20-4 (KCLFR-BP-00391), mAcBubR1-SNU-20-7 (KCLFR-BP-00392) 및 mAcBubR1-SNU-20-9 (KCLFR-BP-00393)의 배양액으로부터 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 단일클론항체를 수득하는 단계; 상기 단계에서 수득한 단일클론항체 중 endogenous 아세틸화된 마우스 BubR1에 특이성 있는 단일클론항체를 확인하기 위하여 마우스 배아섬유아세포(Mouse Embryonic Fibroblast)의 면역침강 및 웨스턴블랏을 수행하여 토끼 면역 특이성이 있는 신규한 단일클론항체 mAcBubR1-SNU-20-7을 수득하는 단계로 이루어지는 것이 특징인 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 단일클론항체의 제조 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 단일클론항체 제조용 타겟 펩타이드 항원은 마우스 BubR1의 라이신 잔기가 아세틸화된 서열번호 1 (cGGAL(acK)APGQS)로 이루어진 중쇄가변영역을 포함하는 것이 특징인 단일클론항체의 제조 방법.
- [청구항 3] 제1항 또는 제2항의 방법에 따라 제조된 토끼 면역성의 아세틸화된 마우스 BubR1에 대한 단일클론항체.
- [청구항 4] 제3항에 있어서 상기 단일클론항체는 BubR1 특이적 다클론 하이브리도마세포주 mAcBubR1-SNU-20 (KCLFR-BP-00390) 유래의 항체.
- [청구항 5] 제3항에 있어서, 상기 단일클론항체는 토끼 면역성의 하이브리도마 세포주 mAcBubR1-SNU 20-4 (KCLFR-BP-00391), mAcBubR1-SNU 20-7 (KCLFR-BP-00392), mAcBubR1-SNU 20-9 (KCLFR-BP-00393) 중 어느 하나 유래의 항체.
- [청구항 6] 제5항의 단일클론항체는 아세틸화되지 않는 BubR1 단백질 및 상기 라이신 잔기가 알지닌으로 치환된 BubR1 단백질에 대하여 교차반응성을 나타내지 않는 항체.

- [청구항 7] 제5항의 단일클론항체는 표식물질이 추가로 더 포함된 항체.
- [청구항 8] 제5항의 단일클론항체를 포함하는 조성물.
- [청구항 9] 제8항의 조성물은 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 10] 제8항의 조성물이 포함된 암 진단용 키트.
- [청구항 11] 제5항의 단일클론항체를 이용하여 BubR1 단백질의 아세틸화도를 결정하는 단계를 포함하는 BubR1 단백질의 아세틸화도 검출 방법.
- [청구항 12] 제5항의 단일클론항체를 포함하는, 시료에서 BubR1 단백질의 아세틸화도 검출용 키트.
- [청구항 13] 제5항의 단일클론항체를 생산하는 다클론 하이브리도마 세포주 mAcBubR1-SNU-20 (KCLFR-BP-00390).
- [청구항 14] 제5항의 단일클론항체를 생산하는 단일클론 하이브리도마 세포주 mAcBubR1-SNU 20-4 (KCLFR-BP-00391), mAcBubR1-SNU 20-7 (KCLFR-BP-00392), mAcBubR1-SNU 20-9 (KCLFR-BP-00393).

[도1]

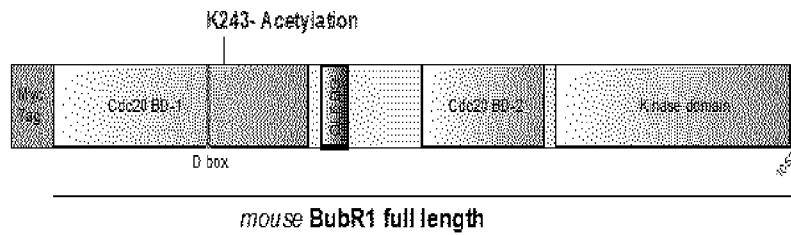


[도2]

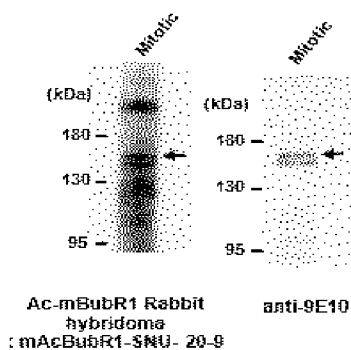
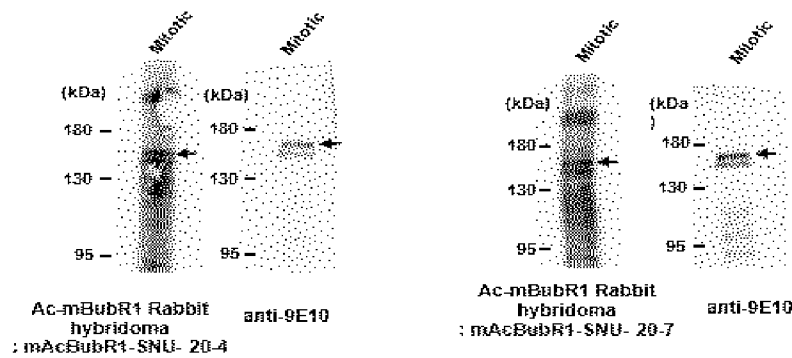


(NAC: NonAcetylated/ AC: Acetylated)

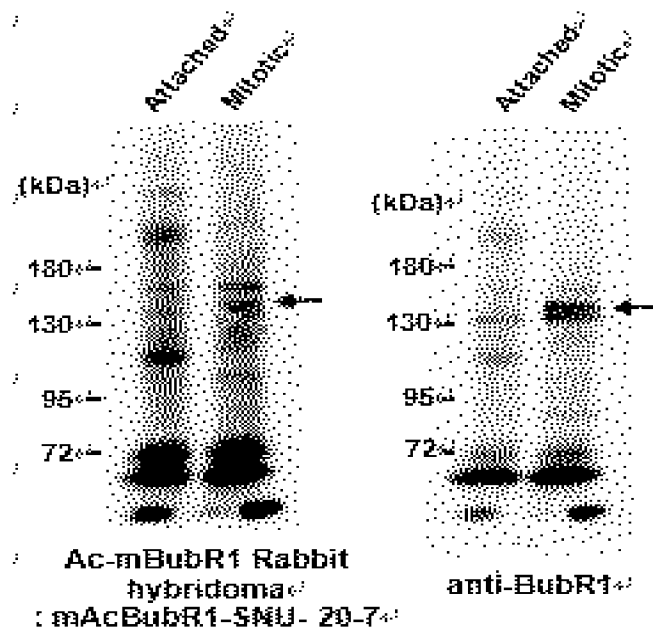
[도3]



[도4]



[도5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/000746

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 16/28(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K 16/28; A61K 39/395; C07K 16/18; C07K 16/30; G01N 33/574; G01N 33/68

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: BubR1, acetylation, antibody, rabbit immune specificity

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2011-0019495 A (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) 28 February 2011 See paragraphs [0049]-[0076].	1-14
A	LEE, "How Chromosome Mis-segregation Leads to Cancer: Lessons from BubR1 Mouse Models", <i>Molecules and Cells</i> , 26 September 2014 (Online), vol. 37, no. 10, pages 713-718 See abstract.	1-14
A	US 2008-0102477 A1 (LEE et al.) 01 May 2008 See abstract; and claims 1-4.	1-14
A	PARK et al., "Loss of BubR1 Acetylation Causes Defects in Spindle Assembly Checkpoint Signaling and Promotes Tumor Formation", <i>The Journal of Cell Biology</i> , 22 July 2013, vol. 202, no. 2, pages 295-309 See abstract.	1-14
A	CHOI et al., "BubR1 Acetylation at Prometaphase is Required for Modulating APC/C Activity and Timing of Mitosis", <i>The EMBO Journal</i> , 2009, vol. 28, no. 14, pages 2077-2089 See abstract.	1-14



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

"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

20 APRIL 2017 (20.04.2017)

Date of mailing of the international search report

20 APRIL 2017 (20.04.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

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

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

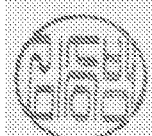
Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/000746

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2011-0019495 A	28/02/2011	NONE	
US 2008-0102477 A1	01/05/2008	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C07K 16/28(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i																				
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C07K 16/28; A61K 39/395; C07K 16/18; C07K 16/30; G01N 33/574; G01N 33/68 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: BubR1, 아세틸화, 항체, 토끼 면역 특이성																				
C. 관련 문헌 <table border="1"> <thead> <tr> <th>카테고리*</th> <th>인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th>관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-2011-0019495 A (서울대학교산학협력단) 2011.02.28 단락 [0049]-[0076] 참조.</td> <td>1-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>LEE, 'How Chromosome Mis-segregation Leads to Cancer: Lessons from BubR1 Mouse Models', Molecules and Cells, 2014.09.26 (online), 37권, 10호, 페이지 713-718 요약 참조.</td> <td>1-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2008-0102477 A1 (LEE 등) 2008.05.01 요약; 및 청구항 1-4 참조.</td> <td>1-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>PARK 등, 'Loss of BubR1 Acetylation Causes Defects in Spindle Assembly Checkpoint Signaling and Promotes Tumor Formation', The Journal of Cell Biology, 2013.07.22, 202권, 2호, 페이지 295-309 요약 참조.</td> <td>1-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CHOI 등, 'BubR1 Acetylation at Prometaphase is Required for Modulating APC/C Activity and Timing of Mitosis', The EMBO journal, 2009, 28권, 14호, 페이지 2077-2089 요약 참조.</td> <td>1-14</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	A	KR 10-2011-0019495 A (서울대학교산학협력단) 2011.02.28 단락 [0049]-[0076] 참조.	1-14	A	LEE, 'How Chromosome Mis-segregation Leads to Cancer: Lessons from BubR1 Mouse Models', Molecules and Cells, 2014.09.26 (online), 37권, 10호, 페이지 713-718 요약 참조.	1-14	A	US 2008-0102477 A1 (LEE 등) 2008.05.01 요약; 및 청구항 1-4 참조.	1-14	A	PARK 등, 'Loss of BubR1 Acetylation Causes Defects in Spindle Assembly Checkpoint Signaling and Promotes Tumor Formation', The Journal of Cell Biology, 2013.07.22, 202권, 2호, 페이지 295-309 요약 참조.	1-14	A	CHOI 등, 'BubR1 Acetylation at Prometaphase is Required for Modulating APC/C Activity and Timing of Mitosis', The EMBO journal, 2009, 28권, 14호, 페이지 2077-2089 요약 참조.	1-14
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항																		
A	KR 10-2011-0019495 A (서울대학교산학협력단) 2011.02.28 단락 [0049]-[0076] 참조.	1-14																		
A	LEE, 'How Chromosome Mis-segregation Leads to Cancer: Lessons from BubR1 Mouse Models', Molecules and Cells, 2014.09.26 (online), 37권, 10호, 페이지 713-718 요약 참조.	1-14																		
A	US 2008-0102477 A1 (LEE 등) 2008.05.01 요약; 및 청구항 1-4 참조.	1-14																		
A	PARK 등, 'Loss of BubR1 Acetylation Causes Defects in Spindle Assembly Checkpoint Signaling and Promotes Tumor Formation', The Journal of Cell Biology, 2013.07.22, 202권, 2호, 페이지 295-309 요약 참조.	1-14																		
A	CHOI 등, 'BubR1 Acetylation at Prometaphase is Required for Modulating APC/C Activity and Timing of Mitosis', The EMBO journal, 2009, 28권, 14호, 페이지 2077-2089 요약 참조.	1-14																		
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.																				
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신구성 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 2017년 04월 20일 (20.04.2017)		국제조사보고서 발송일 2017년 04월 20일 (20.04.2017)																		
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 김승범 전화번호 +82-42-481-3371 																		

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호

PCT/KR2017/000746

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2011-0019495 A	2011/02/28	없음	
US 2008-0102477 A1	2008/05/01	없음	