(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2012 년 2 월 16 일 (16.02.2012)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2012/020871 A1

(51) 국제특허분류:
C07K 19/00 (2006.01) *A61P 15/02* (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2010/005367

(22) 국제출원일: 2010 년 8 월 13 일 (13.08.2010)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **주식회사 제넥신 (GENEXINE CO., LTD.)** [KR/KR]; 서울특별시 서초구 서초동 1577-4 가산빌딩 2 층, 137-875 Seoul (KR). **주식회사 바이오드 (BIOD CO., LTD.)** [KR/KR]; 경상북도 포항시 북구 장성동 1447-2, 791-851 Gyeongsangbuk-do (KR).

(72) 발명자; 겸
(75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): **성영철 (SUNG, Young Chul)** [KR/KR]; 경상북도 포항시 남구 대잠동 현대이동홈타운 아파트 101 동 601 호, 790-758 Gyeongsangbuk-do (KR). **서상환 (SEO, Sang Hwan)** [KR/KR]; 경상북도 포항시 남구 산 31 번지 포항공과대학교 분자생명과학부 바이오테크센터, 790-784 Gyeongsangbuk-do (KR). **서유석 (SUH, You Suk)** [KR/KR]; 서울특별시 중구 황학동 롯데캐슬 베네치아 103 동 3204 호, 100-440 Seoul (KR).

(74) 대리인: **특허법인다나 (DANA PATENT LAW FIRM)**; 서울특별시 강남구 역삼동 648-1 BYC 빌딩 5 층, 135-080 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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

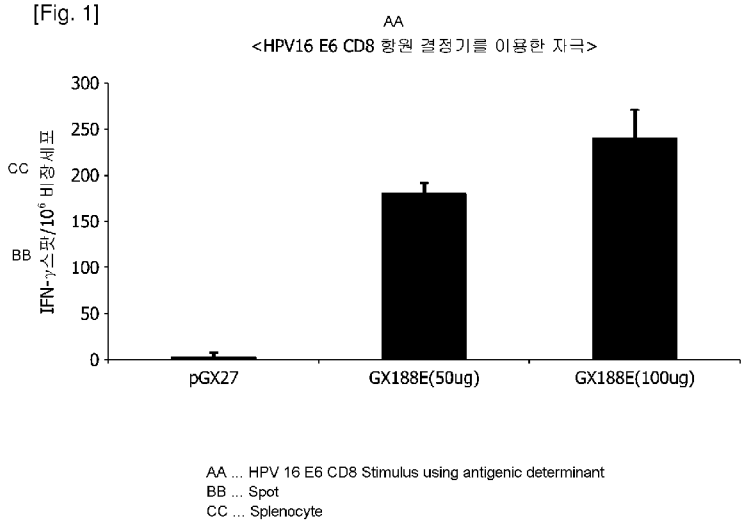
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING CERVICAL CANCER HAVING HUMAN PAPILLOMAVIRUS PLASMODIUM AND IMMUNITY ENHANCER

(54) 발명의 명칭 : 사람 파필로마바이러스 변형체 및 면역 증강제를 포함하는 자궁경부암 예방 또는 치료용 조성물

[Fig. 1]



AA ... HPV 16 E6 CD8 Stimulus using antigenic determinant
BB ... Spot
CC ... Splenocyte

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for preventing or treating cervical cancer, the composition having human papillomavirus (HPV) plasmodium and immunity enhancer, and more specifically, to a fusion protein having a fusion polypeptide recombined to transform the 3-dimensional structure of E6 and E7, which are antigens of type 16 and 18 of HPV, a signal peptide for secreting the fusion polypeptide outside the cell, and an immunity enhancer peptide inside the individual, the fusion protein which treats HPV-triggered tumors by inducing an immune reaction specific to HPV type 16 and 18 antigens.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2012/020871 A1

TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 발명은 사람 파필로마바이러스 변형체 및 면역 증강제를 포함하는 자궁경부암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는, 사람 파필로마바이러스 (human papillomavirus; HPV)의 타입 16 및 18 의 항원인 E6 및 E7 의 3 차원 구조가 변형되도록 재조합 한 융합 폴리펩타이드, 이를 세포외로 분비시키기 위한 신호 펩타이드 및 개체 내 면역 증강 펩타이드를 포함하는 융합 단백질은 HPV 타입 16 및 18 항원 특이적 면역반응을 유도하여 HPV 에 의해 유발되는 종양을 치료할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 사람 파필로마바이러스 변형체 및 면역 증강제를 포함하는 자궁경부암 예방 또는 치료용 조성물

기술분야

[1] 본 발명은 사람 파필로마바이러스 변형체 및 면역 증강제를 포함하는 자궁경부암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는, 사람 파필로마바이러스 (human papillomavirus; HPV)의 타입 16 및 18의 항원인 E6 및 E7의 3차원 구조가 변형되도록 재조합 한 융합 폴리펩타이드, 이를 세포외로 분비시키기 위한 신호 펩타이드 및 개체 내 면역 증강 펩타이드를 포함하는 융합 단백질은 HPV 타입 16 및 18 항원 특이적 면역반응을 유도하여 HPV에 의해 유발되는 종양을 치료할 수 있다.

배경기술

[2] 자궁경부암 (cervical cancer)은 사람 파필로마바이러스 (human papillomavirus; HPV) 중 타입 16과 18 등 고위험성 사람 파필로마바이러스의 감염에 의해 발생하는 질환으로 알려져 있다 (zur Hausen, H *et al. Biochem Biophys Acta* 1996, 1288; F55-F78, Mark H *et al. J Natl Cancer Inst* 1993, 85; 958-964). HPV 단백질 중에서 E6와 E7 단백질이 자궁경부암 발생에 주요한 역할을 하며, 자궁경부암 환자의 종양 조직에서 99% 발현되는 것이 확인되어 자궁경부암 치료 및 예방 백신을 제조하는 주요한 목표물질이다 (von Knebel Doeberitz *et al. Int. J. Cancer* 1992, 51; 831-834). E6의 경우 종양 억제 단백질로 알려진 p53과 결합하여 p53의 분해를 촉진시켜 세포사멸 (apoptosis) 경로로 세포주기가 진행되는 것을 방해하고, E7은 종양 억제인자 망막모세포종 단백질인 pRb 에 결합하여 이를 불활성화 시키고 분해를 촉진시켜 세포주기가 S기로 진행되도록 한다 (Cobrinik *et al., Trends Biochem Sci* 1992, 17:312-5).

[3] 그러나, 자궁경부암 치료를 위해 HPV16 E6와 E7 단백질을 동시 발현하는 핵산 염기서열 조성물을 사용한 임상실험에서 그 치료효과가 미미하였다 (Garcia F *et al. Obstet Gynecol* 2004, 103; 317-326). 이 결과는 단순히 HPV 항원 만을 투여하는 것으로는 자궁경부암을 치료 또는 억제할 정도의 항원 특이적 면역반응이 생성되지 못함을 의미한다.

[4] 따라서, 자궁경부암 치료를 위해서는 E6 및 E7의 면역원성을 증강시키고, 상기 단백질 자체의 발암생성 능력을 제거하는 전략이 필수적이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[5] 본 발명의 목적은 HPV에 의해 야기되는 질환을 예방 또는 치료함에 있어서, HPV의 E6 및 E7 단백질 자체의 발암 능력을 억제하면서도 면역원성이 증강된 신규한 융합 단백질 및 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 제공하는 것이다.

[6] 본 발명의 다른 목적은 상기 융합 단백질을 발현하는 재조합 벡터, 상기 벡터를 포함하는 숙주세포 및 상기 숙주세포를 이용하여 단백질을 발현하는 방법을 제공하는 것이다.

[7] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 융합 단백질을 이용한 HPV에 의해 야기되는 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[8] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 조성물을 이용하여 HPV에 의해 야기되는 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공하는 것이다.

[9]

과제 해결 수단

[10] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

[11] 사람 파필로마바이러스 타입 16 및 18 유래의, 서열목록 서열번호 1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 E6 및 E7의 3차원 구조가 변형된 융합 폴리펩타이드;

[12] 상기 폴리펩타이드의 분비를 위한 신호 펩타이드; 및

[13] 면역 증강 펩타이드를 포함하는 융합 단백질을 제공한다.

[14]

[15] 본 발명은 또한 본 발명의 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

[16]

[17] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 재조합 벡터를 제공한다.

[18]

[19] 본 발명은 또한 본 발명의 벡터로 형질전환된 숙주세포를 제공한다.

[20]

[21] 본 발명은 또한 본 발명의 형질전환 숙주세포를 배양하여 본 발명의 융합 단백질을 발현하는 방법을 제공한다.

[22]

[23] 본 발명은 또한 본 발명의 융합 단백질, 상기 단백질을 발현하는 재조합 벡터로 형질전환된 숙주세포 및 이의 파쇄물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 개체에서 사람 파필로마바이러스에 의하여 야기되는 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[24]

[25] 본 발명은 또한 유효량의 본 발명의 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 사람 파필로마바이러스에 의하여 야기되는 질환의 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[26] 본 발명의 HPV 타입 16 및 18 유래의 E6 및 E7 단백질의 3차원 구조가 변형되도록 재조합 한 융합 단백질, 이를 세포 외로 분비하기 위한 신호

펩타이드 및 개체 내 면역 증강 펩타이드를 포함하도록 제조된 융합 단백질은 높은 HPV 타입 16 및 18 항원 특이적 면역 반응을 유도하여 HPV에 의해 유발되는 종양을 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[27] 도 1은 항암 치료모델에서 쥐 C57BL/6 에 종양세포주인 TC-1을 피하 주입한 후 본 발명의 GX-188E의 치료를 통해 나타나는 HPV16 E6 특이적 $CD8^+$ T 세포 반응을 나타낸 그래프이다.

[28] 도 2는 항암 치료모델에서 쥐 C57BL/6 에 종양세포주인 TC-1을 피하 주입한 후 본 발명의 GX-188E의 치료를 통해 나타나는 HPV16 E7 특이적 $CD8^+$ T 세포 반응을 나타낸 그래프이다.

[29] 도 3은 항암 치료모델에서 쥐 C57BL/6 에 종양세포주인 TC-1을 피하 주입한 후 본 발명의 GX-188E의 치료를 통해 나타나는 HPV18 E6 특이적 $CD8^+$ T 세포 반응을 나타낸 그래프이다.

[30] 도 4는 항암 치료모델에서 쥐 C57BL/6 에 종양세포주인 TC-1을 피하 주입한 후 본 발명의 GX-188E의 치료를 통해 나타나는 HPV18 E7 특이적 $CD8^+$ T 세포 반응을 나타낸 그래프이다.

[31] 도 5는 항암 치료모델에서 쥐 C57BL/6 에 종양세포주인 TC-1을 피하 주입한 후 본 발명의 GX-188E의 치료를 통해 나타나는 항암효과를 나타낸 그래프이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[32] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.

[33] 본 발명은

[34] 사람 파필로마바이러스 타입 16 및 18 유래의, 서열목록 서열번호 1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 E6 및 E7의 3차원 구조가 변형된 융합 폴리펩타이드;

[35] 상기 폴리펩타이드의 분비를 위한 신호 펩타이드; 및

[36] 면역 증강 펩타이드를 포함하는 융합 단백질에 관한 것이다.

[37] 본 발명의 융합 단백질은 사람 파필로마바이러스 타입 16 및 18 유래의 E6 및 E7의 3차원 구조가 변형되도록 재조합 한 융합 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 융합 폴리펩타이드는 사람 파필로마바이러스 타입 16 유래의 E6 단백질의 아미노산 1번부터 85번, E7 단백질의 아미노산 1번부터 65번, E6 단백질의 아미노산 70번부터 158번, E7 단백질의 아미노산 50번부터 98번, 사람 파필로마바이러스 타입 18 유래의 E6 단백질의 아미노산 1번부터 85번, E7 단백질의 아미노산 1번부터 65번, E6 단백질의 아미노산 70번부터 158번, E7 단백질의 아미노산 50번부터 105번이 결합된 융합 폴리펩타이드이다.

[38] 가장 구체적으로는, 융합 폴리펩타이드는 서열목록 서열번호 1에 기재된 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[39]

[40] 또한, 상기 신호 펩타이드는 약 20 내지 30개의 아미노산을 포함하는

펩타이드로서, 세포 내에서 발현된 단백질, 특히 E6과 E7 융합 폴리펩타이드를 포함하는 단백질을 세포 외로 분비시키는 펩타이드를 말한다. 또한 이를 코딩하는 핵산 서열을 "분비 신호 서열"이라 한다. 본 발명의 E6 및 E7 융합 폴리펩타이드는 바이러스에 감염된 세포의 핵 내에서 발현되는 단백질 (nucleus protein)이므로 자체적인 면역성이 약하다. 이에 분비 신호 서열에 의해 발현된 신호 펩타이드 (signal peptide)는 3차원 구조가 변형된 E6 및 E7 항원의 세포 외로의 분비를 유도함으로써 항원 특이적 체액성 면역반응 (humoral immune response) 및 세포성 면역 반응 (cellular immune response)의 증가를 가져올 수 있다.

[41] 상기 신호 펩타이드는 포유동물 등을 포함하는 고등 진핵세포에서 사용되는 신호 펩타이드를 사용할 수 있으며, 예를 들어, tPA, HSV gDs, 또는 성장 호르몬의 분비 신호 서열 등을 사용할 수 있다. 보다 바람직하게는, TPA (tissue plasminogen activation)를 사용할 수 있다. 가장 바람직하게는, 서열번호 2에 기재된 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[42]

[43] 또한, 면역 증강 펩타이드는 면역 반응에 관계하는 세포 (예를 들어, 수지상 세포 등)를 활성화시켜 면역 반응을 증가시키는 펩타이드를 말한다.

[44] 상기 면역 증강 펩타이드로 CD40 리간드, Flt3 리간드(fms-like tyrosine kinase 3 ligand), 플라젤린(Flagellin), 또는 OX40 등을 사용할 수 있다. 보다 바람직하게는, Flt3 리간드를 사용할 수 있다. 상기 Flt3 리간드는 수지상 세포 (dendritic cell, DC)의 증식 (proliferation)과 성숙 (maturation)을 유도하는 인자 (factor)로서, 항원에 의한 면역반응을 증가시키고 종양 항원과 융합된 상태에서 우수한 종양 감소 효과를 나타낼 수 있다. 가장 바람직하게는, 상기 Flt3 리간드는 서열번호 3에 기재된 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[45]

[46] 본 발명은 또한 본 발명의 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다.

[47] 상기 폴리뉴클레오타이드는 본 발명의 융합 단백질을 코딩하는 것으로, 상기 E6 및 E7의 융합 폴리펩타이드는 서열번호 4에 기재된 염기서열로부터 코딩될 수 있으나, 이에 특별히 제한하지는 않는다. 또한, 상기 신호 펩타이드는 서열번호 5에 기재된 염기서열로부터 코딩될 수 있으나, 이에 특별히 제한하지는 않는다. 상기 면역 증강 펩타이드는 서열번호 6에 기재된 염기서열로부터 코딩될 수 있으나, 이에 특별히 제한하지는 않는다.

[48] 또한, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 화학적 합성법 또는 유전자 조작 기술에 의하여 제조될 수 있다. 화학적 합성법은 당업자에게 잘 알려져 있으며, 임의의 방법이 사용될 수 있다. 또한, 상업적 핵산 합성 및 제공사에 의하여 의뢰하여 구입할 수도 있다. 유전자 조작 기술에 의하여 제조하는 경우, 예를 들면, 종래에 알려진 E6 및 E7의 융합 폴리펩타이드, 신호 펩타이드 및 면역 증강

펩타이드를 코딩하는 핵산 단편을 각각 얻고, 이들 단편을 프레임에 맞게 연결함으로써 제작할 수 있다. 상기 핵산 단편을 얻는 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며, 당업자라면 적절한 제한 효소를 이용하여 용이하게 연결할 수 있다. 본 발명의 구체적 실시에서는 화학적 합성법에 의하여 제조하는 방법이 개시되어 있다.

[49]

[50] 본 발명은 또한 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 재조합 벡터에 관한 것이다.

[51] 본 발명에 있어서, "벡터"란 폴리펩타이드를 암호화하는 게놈 내로 삽입된 외부 DNA를 포함하는 유전자 작제물을 말한다. 본 발명과 관련된 벡터는 분비 신호 서열, 인간 파필로마바이러스의 3차원 구조가 변형된 E6과 E7 융합 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산 서열 및 면역 증강 펩타이드를 코딩하는 핵산 서열 등이 게놈 내로 삽입된 벡터로서, 이들 벡터는 플라스미드 벡터, 코즈미드 벡터, 박테리오파아지 벡터, 효모 벡터, 또는 아데노바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스 벡터 같은 바이러스 벡터를 예로 들 수 있다.

[52] 상기 분비 신호 서열은 세포 내에서 발현된 종양 항원을 세포 외로 분비하여 면역 세포들이 인식할 수 있도록 하는 펩타이드를 암호화하고 있는 핵산 서열로서, 예를 들면 tPA, HSV gDs, 또는 성장 호르몬의 분비 신호 서열 등이 있다. 바람직하게는 포유동물 등을 포함하는 고등 진핵세포에서 사용되는 분비 신호 서열을 사용할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 tPA (tissue plasminogen activation)를 사용할 수 있다. 가장 바람직하게는, 서열번호 5에 기재된 염기서열을 가질 수 있다. 또한 본 발명의 분비 신호 서열은 숙주세포에서 발현 빈도가 높은 코돈으로 치환하여 사용할 수 있다.

[53]

[54] 또한, 상기 면역 증강 펩타이드를 코딩하는 핵산 서열은 면역 반응 에 관계하는 세포 (예를 들어, 수지상 세포 등)를 활성화시켜 면역 반응을 증가시키는 펩타이드를 코딩하는 핵산 서열을 말한다. 상기 면역 증강 펩타이드로 CD40 리간드, Flt3 리간드, 플라젤린(Flagellin), 또는 OX40 등을 사용할 수 있다. 보다 바람직하게는, 면역 증강 펩타이드로 Flt3 리간드를 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 면역 증강 펩타이드를 코딩하는 핵산 서열은 숙주세포에서 발현 빈도가 높은 코돈으로 치환하여 사용할 수 있다.

[55]

[56] 또한, 본 발명의 재조합 벡터에 포함되는 상기 폴리뉴클레오타이드는 숙주세포에서 발현 빈도가 높은 코돈으로 치환될 수 있다. 본 발명에서 사용된 "숙주세포에서 발현 빈도가 높은 코돈으로 치환된 것" 또는 "코돈 최적화"란 숙주세포 내에서 DNA가 단백질로 전사 (transcription) 및 번역 (translation)될 때 아미노산을 지령하는 코돈 사이에 숙주에 따라 선호도가 높은 코돈이

존재하는데, 이들 선호도가 높은 코돈으로 치환함으로써 그 핵산이 암호화하는 아미노산 또는 단백질의 발현 효율을 증가시키는 것을 말한다.

[57] 여기서, "숙주세포"란 원핵 또는 진핵 세포를 포함하며, 진핵세포는 진균, 효모 등을 포함하는 하등 진핵 세포뿐만 아니라 포유동물 등을 포함하는 고등 진핵 세포를 포함한다.

[58] 본 발명의 재조합 벡터는 숙주세포에서 본 발명의 융합 단백질을 코딩하는 핵산의 발현에 적합한 형태로 상기 융합 단백질을 코딩하는 핵산을 포함할 수 있다. 즉, 본 발명의 재조합 벡터는 발현에 사용될 숙주세포에 근거하여 선택되는 하나 이상의 조절 서열을 포함하고, 이들은 발현될 핵산 서열과 작동 가능하게 연결되어 있다.

[59] "작동 가능하게 연결되어 있는"이란 목적으로 하는 뉴클레오타이드 서열 (예를 들면, 인 비트로 전사/번역 시스템에서 또는 숙주 세포에서)이 그의 발현이 이루어질 수 있도록 하는 방식으로 상기 조절서열에 연결되어 있다는 것을 의미한다.

[60] "조절 서열"이란 용어는 프로모터, 인핸서 및 다른 조절 요소(예, 폴리아데닐화 신호)를 포함하는 의미이다. 조절 서열에는 많은 숙주 세포에서 목적으로 하는 핵산이 구성적으로 발현될 수 있도록 지시하는 것 및 특정한 숙주 세포에서만 목적으로 하는 핵산이 발현될 수 있도록 지시하는 것(예, 조직특이적 조절 서열)이 포함된다. 발현벡터의 설계는 형질전환될 숙주세포의 선택 및 원하는 단백질 발현의 수준 등과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다는 것은 당업자라면 이해할 수 있다. 본 발명의 발현 벡터는 숙주 세포에 도입되어 상기 융합 단백질을 발현할 수 있다.

[61] 또한, 본 발명의 벡터는 예를 들면, 표준 재조합 DNA 기술에 의하여 제조될 수 있으며, 표준 재조합 DNA 기술에는 예를 들면, 평활말단 및 접착말단 라이게이션, 적절한 말단을 제공하기 위한 제한 효소 처리, 부적합한 결합을 방지하기 위하여 알칼리 포스파타제 처리에 의한 인산기 제거 및 T4 DNA 라이게이즈에 의한 효소적 연결 등이 포함된다. 화학적 합성 또는 유전자 재조합 기술에 의하여 얻어진 신호 펩타이드를 코딩하는 DNA, 사람 파필로마바이러스 E6 및 E7의 융합 폴리펩타이드를 코딩하는 DNA 및 면역 증강 펩타이드를 코딩하는 DNA를 적절한 조절 서열이 포함되어 있는 벡터에 재조합 함으로써 본 발명의 벡터가 제조될 수 있다. 상기 조절 서열이 포함되어 있는 벡터는 상업적으로 구입 또는 제조할 수 있으며, 본 발명에서는 DNA 백신 제조용 벡터인 pGX27을 제조하여 사용하였다.

[62]

[63] 하나의 양태로서, 본 발명의 재조합 벡터는 본 발명의 융합 단백질을 생산하기 위한 세포를 제조하는 용도, 유전자 치료에 있어서 유전자 전달을 위한 벡터 또는 그 자체로서 개체 내에 투여되는 약제학적 활성 성분으로서 사용될 수 있다.

[64]

[65] 본 발명은 또한 본 발명의 벡터로 형질전환된 숙주세포에 관한 것이다.

[66] 상기 숙주세포의 종류는 전술한 바와 같다.

[67] 형질전환은 핵산을 유기체, 세포, 조직 또는 기관에 도입하는 공지의 방법을 사용할 수 있으며, 당업자 수준에서 이해될 수 있는 범위 내에서 숙주세포에 따라 적합한 사용가능한 기술을 선택하여 수행할 수 있다. 이런 방법에는 전기충격유전자전달법(electroporation), 원형질 융합, 인산 칼슘($CaPO_4$) 침전, 염화 칼슘($CaCl_2$) 침전, 실리콘 카바이드 섬유 이용한 교반, 아그로박테리아 매개된 형질전환, PEG, 덱스트란 설페이트, 리포펙타민 등이 포함되나 이로 제한되지 않는다.

[68]

[69] 본 발명은 또한 본 발명의 형질전환된 숙주세포를 배양하여 본 발명의 융합 단백질을 발현하는 방법에 관한 것이다.

[70] 본 발명의 융합 단백질은 형질전환 숙주세포를 적절한 배지에서 배양하거나, 또는 상기 형질전환 숙주세포를 임의의 동물에 도입한 후 생체내에서 배양함으로써 용이하게 발현 및 대량 생산할 수 있다.

[71]

[72] 본 발명은 또한 본 발명의 융합 단백질, 상기 단백질을 발현하는 재조합 벡터로 형질전환된 숙주세포 및 이의 파쇄물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 개체에서 사람 파필로마바이러스에 의하여 야기되는 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[73] 본 발명에서 "개체"는 인간, 원숭이. 생쥐, 돼지, 소 및 토끼 등의 포유동물을 포함하나, 이들 예에 한정되는 것은 아니다.

[74] 또한, 상기 바이러스에 의하여 유발되는 질환은 자궁경부암, 곤지롬, 사마귀 등이 포함될 수 있다.

[75]

[76] 또한, 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다. 상기 담체에는 유당, 포도당, 자당, 소르비톨, 마니톨, 전분, 검 아카시아, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미세결정 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이드 및 미네랄 오일 등이 포함된다. 상기 조성물에는 또한, 윤활제, 웨팅제, 풍미제, 유화제 및 방부제 등이 더 포함될 수 있다.

[77] 본 발명의 조성물은 예를 들면, 정맥내, 근육내, 경구, 경피(transdermal), 점막, 코안(intranasal), 기관내(intratracheal) 또는 피하 투여와 같은, 임의의 수단에 의하여 개체로 직접적으로 투여될 수 있으나, 이들 방법에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 조성물은 인 비트로에서 배양된 세포에 투여되고, 상기 배양된 세포를 체내에 투여함으로써 간접적으로 개체 내에 투여될 수 있다. 본

발명의 조성물은 전신적으로 또는 국부적으로 투여될 수 있다.

[78] 본 발명의 조성물은 과립제, 산제, 액제, 정제, 캅셀제, 또는 건조시럽제 등의 경구용 제제 또는 주사제 등의 비경구용 제형으로 제제화할 수 있으나, 이러한 제형에 한정되는것은 아니다. 바람직하게는 본 발명의 조성물은 액제 또는 주사제의 형태일 수 있다.

[79] 활성 성분으로서 본 발명의 융합 단백질, 또는 재조합 발현 벡터의 효과적인 양은 약 0.05 내지 500mg/kg 체중, 바람직하게는 0.5 내지 50mg/kg 체중일 수 있으며, 단일 투여량 및 배분된 투여량으로 고려될 수 있다. 그러나, 투여되는 활성 성분의 양은 치료될 조건, 환자의 나이 및 체중, 증상의 경중과 같은 다양한 인자를 고려하여 결정하여야 하기 때문에 상기한 범위에 한정되는 것은 아니다.

[80]

[81] 본 발명은 또한 유효량의 본 발명의 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 사람 파필로마바이러스에 의하여 야기되는 질환의 예방 또는 치료하는 방법에 관한 것이다.

[82] 본 발명의 약제학적 조성물, 그의 효능, 투여방법 및 투여량 등에 관한 내용은 상기한 바와 같다.

[83] 본 발명의 방법에 있어서, 개체는 인간, 원숭이, 생쥐, 돼지, 소 및 토끼 등의 포유동물을 포함하나, 이들 예에 한정되는 것은 아니다.

[84] 또한, 상기 바이러스에 의하여 유발되는 질환은 자궁경부암, 곤지롬, 사마귀 등을 포함할 수 있다.

[85]

[86] 이하, 본 발명에 따르는 실시예 및 본 발명에 따르지 않는 비교예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제시된 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

발명의 실시를 위한 형태

[87] <실시예 1> GX-188E DNA의 구성

[88] 본 발명의 실시예에서 사용된 약어는 다음과 같이 정의한다. 최적화된 핵산서열, "tPa" 또는 "t"는 조직 플라스미노겐 활성제 (tissue plasminogen activator)의 분비 신호 서열(secretory signal sequence), "F" 또는 "Flt3L"는 fms-like tyrosine kinase 3 ligand를 의미한다.

[89] 서열번호 5의 핵산 서열을 가지는 코돈 최적화된 tPa 분비 신호 서열과 서열번호 6의 핵산서열을 가지는 코돈 최적화된 Flt3L는 연결된 형태로 화학적으로 합성하였다. 벡터에 삽입하기 용이하게 하기 위해 말단에 *Kpn*I (5'), *Nhe*I(3') 사이트를 첨가하였다. DNA 백신 제조용 벡터인 pGX10 (대한민국 공개특허 제2003-0047667호)을 *Kpn* I 과 *Nhe*I 제한효소로 처리한 후 합성한 tPa-Flt3L를 리가아제로 연결하여 pGX10/tF를 제작하였다.

[90] HPV16 E6의 1번 아미노산부터 85번 아미노산을 암호화하는 코돈 최적화된

핵산서열, HPV16 E7의 1번 아미노산부터 65번 아미노산을 암호화하는 코돈 최적화된 핵산서열, HPV16 E6 70번 아미노산부터 158번 아미노산을 암호화하는 코돈 최적화된 핵산서열, HPV16 E7 50번 아미노산부터 98번 아미노산을 암호화하는 코돈 최적화된 핵산서열, HPV18 E6의 1번 아미노산부터 85번 아미노산을 암호화하는 코돈 최적화된 핵산서열, HPV18 E7의 1번 아미노산부터 65번 아미노산을 암호화하는 코돈 최적화된 핵산서열, HPV18 E6 70번 아미노산부터 158번 아미노산을 암호화하는 코돈 최적화된 핵산서열, HPV18 E7 50번 아미노산부터 105번 아미노산을 암호화하는 코돈 최적화된 핵산서열을 연결된 형태로 화학적으로 합성하였다 (이하, 16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C: 서열번호 4). 벡터에 삽입하기 용이하게 하기 위해 말단에 NheI(5'), XbaI(3') 사이트를 첨가하였다. pGX10/tF를 *Nhe*I과 *Xba*I 효소로 처리한 후 합성한 16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C를 리가아제로 연결하여 pGX10/tF16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C를 제작하였다. pGX10/tF16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C을 *Kpn*I 과 *Xba*I 효소 (enzyme)로 처리하여 tF16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C를 분리하고 pGX10을 *Kpn*I 과 *Xba*I 효소로 처리한 후 리가아제로 연결하여 pGX27/tF16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C (이하, "GX-188E"라 함)를 제조하였다.

[91]

[92] <실시예 2> GX-188E의 자궁경부암 치료 효과 확인

[93] GX-188E의 자궁경부암 치료 효과를 확인하기 위해 쥐 C57BL/6에 TC-1 종양세포 5×10^5 cells을 피하주사하고 3일째, 8일째 되는 날 50 ㎍ 및 100 ㎍의 양으로 근육 주사한 후 일렉트로포레이션 (electroporation)을 실시하였다. 종양세포를 주사한 날로부터 27일째 되는 날까지 종양세포의 부피변화를 관찰하고 36일째 되는 날 쥐의 비장을 꺼내어 5 ㎍/mL의 anti-mouse IFN-g 항체 (BD Pharmigen, Sandiego, CA) 50 ㎕로 코팅된 플레이트에 1×10^6 cells을 IL-2와 HPV16 E6 CD8 T 세포 항원결정기 (epitope) ($E6_{48-57}$; EVYDFAFRDL, Peptron, Korea) 또는 HPV18 E7 CD8 T 세포 항원결정기 ($E7_{49-57}$; RAHYNIVTF, Peptron, Korea) 또는 HPV18 E6 펩타이드 풀(peptide pool) 또는 HPV18 E7 펩타이드 풀(peptide pool)을 함께 넣고 37℃ 5% CO_2 배양기 (Froma, Minnesota, USA)에서 24시간 배양하였다. 플레이트를 PBST로 세척 후 비오틴이 달려있는 IFN-g 탐지 항체 (BD Pharmigen, Sandiego, CA) 2 ㎍/mL을 50 ㎕씩 넣고 약 3시간 정도 상온에서 배양하였다. 이후 PBST로 세척하고 streptavidin-AKP(alkaline phosphate)을 1:2000으로 희석하여 50 ㎕씩 넣고 상온에서 1시간 배양하였다. PBST로 세척 후 10 mL의 알칼리성 인산염 완충액 (alkaline phosphate buffer)당 66 ㎕의 NBT (Promega, Madison, WT)와 33 ㎕의 BCIP (Promega, Madison, WT)를

첨가하여 50 ㎕씩 넣고 반응시켰다. 반응에 의한 색이 잘 나타나도록 37℃ 배양기에서 약 30분간 넣어둔 후 멸균된 물 (distilled water, D.W.)로 세척하고 생성된 점의 개수를 판독기로 읽었다.

[94] HPV16 E6 CD8 T 세포 항원결정기 (epitope), HPV16 E7 CD8 T 세포 항원결정기 (epitope), HPV18 E6 펩타이드 풀, HPV18 E7 펩타이드 풀을 사용하여 HPV16 E6, E7 및 HPV18 E6, E7에 대한 특이적인 T 세포 면역반응을 ELISPOT으로 측정한 결과 GX-188E는 높은 항원 특이적 면역반응을 유도하였으며, HPV16 과 HPV18 의 E6 및 E7에 대한 특이적 면역반응을 동시에 유도하는 것을 확인할 수 있었다 (도 1, 도 2, 도 3, 및 도 4 참조).

[95] GX-188E로 TC-1 종양세포에 대한 면역치료를 한 쥐에서는 대조군인 pGX27을 주입한 쥐에 비하여 현격한 종양 부피의 감소를 확인할 수 있었다(도 5 참조).

산업상 이용가능성

[96] 본 발명의 융합 단백질은 HPV에 의해 유발되는 종양 치료제로 사용할 수 있다.

청구범위

[청구항 1] 사람 파필로마바이러스 타입 16 및 18 유래의, 서열목록 서열번호 1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 E6 및 E7의 3차원 구조가 변형된 융합 폴리펩타이드;
상기 폴리펩타이드의 분비를 위한 신호 펩타이드; 및
면역 증강 펩타이드를 포함하는 융합 단백질.

[청구항 2] 제1항에 있어서,
신호 펩타이드는 tPa, HSV gDs 및 성장 호르몬 분비 신호 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 융합 단백질.

[청구항 3] 제1항에 있어서,
신호 펩타이드는 서열번호 2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 융합 단백질.

[청구항 4] 제1항에 있어서,
면역 증강 펩타이드가 CD40 리간드, Flt3 리간드(fms-like tyrosine kinase 3 ligand), 플라젤린(Flagellin) 및 OX40로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 융합 단백질.

[청구항 5] 제1항에 있어서,
면역 증강 펩타이드는 서열번호 3에 기재된 아미노산 서열을 갖는 융합 단백질.

[청구항 6] 제1항의 융합 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드.

[청구항 7] 제6항에 있어서,
사람 파필로마바이러스 E6 및 E7의 융합 폴리펩타이드를 코딩하는 서열번호 4에 기재된 염기서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드.

[청구항 8] 제6항에 있어서,
신호 펩타이드를 코딩하는 서열번호 5에 기재된 염기서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드.

[청구항 9] 제6항에 있어서,
면역 증강 펩타이드를 코딩하는 서열번호 6에 기재된 염기서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드.

[청구항 10] 제6항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 재조합 벡터.

[청구항 11] 제10항의 재조합 벡터로 형질전환된 숙주세포.

[청구항 12] 제11항의 숙주세포를 배양하여 제1항의 융합 단백질을 발현하는 방법.

[청구항 13] 제1항의 융합 단백질, 상기 단백질을 발현하는 재조합 벡터로 형질전환된 숙주세포 및 이의 파쇄물로 이루어진 군으로부터

선택된 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 개체에서 사람 파필로마바이러스에 의하여 야기되는 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

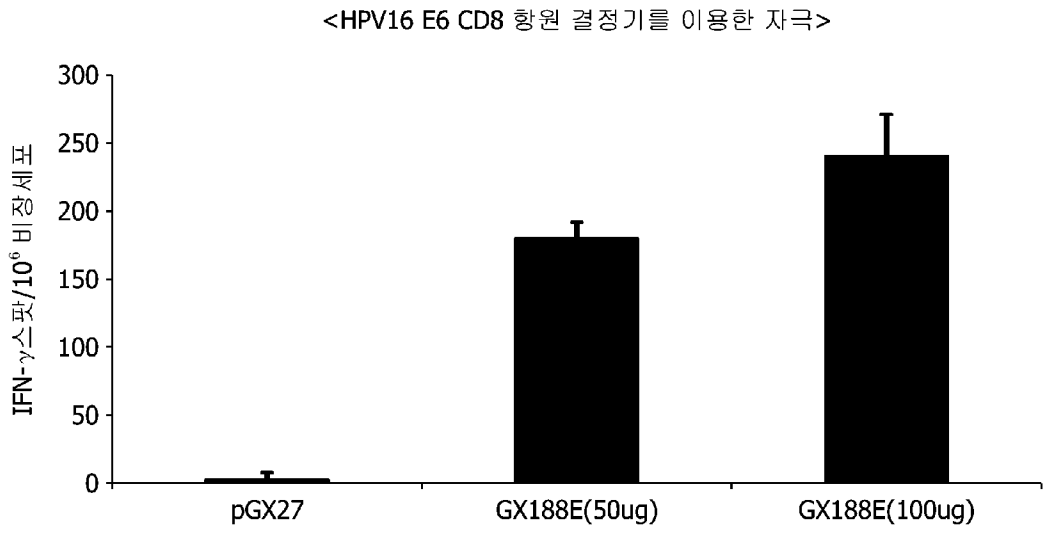
[청구항 14] 제13항에 있어서,
질환이 자궁경부암인 조성물.

[청구항 15] 제13항에 있어서,
약제학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함하는 조성물.

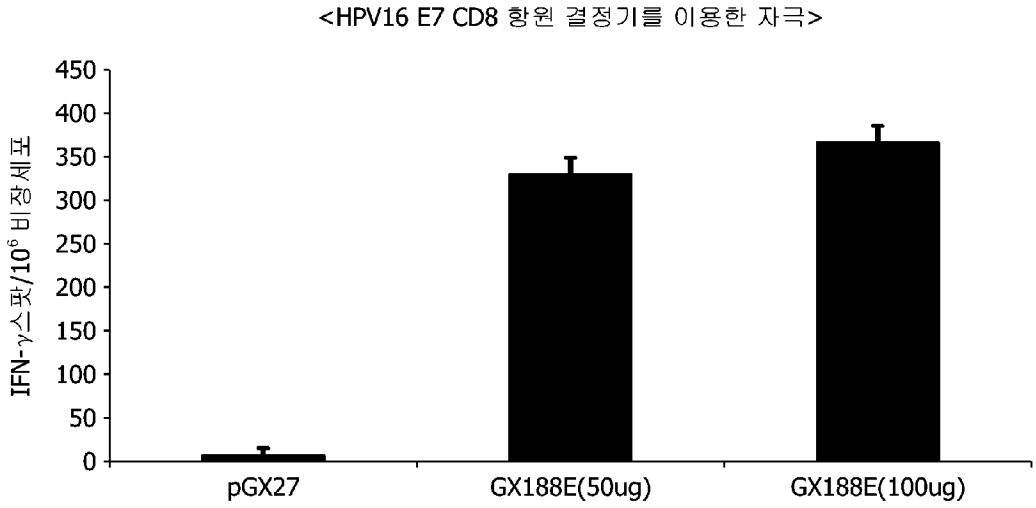
[청구항 16] 유효량의 제13항에 따른 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 사람 파필로마바이러스에 의하여 야기되는 질환의 예방 또는 치료하는 방법.

[청구항 17] 제16항에 있어서,
질환이 자궁경부암인 방법.

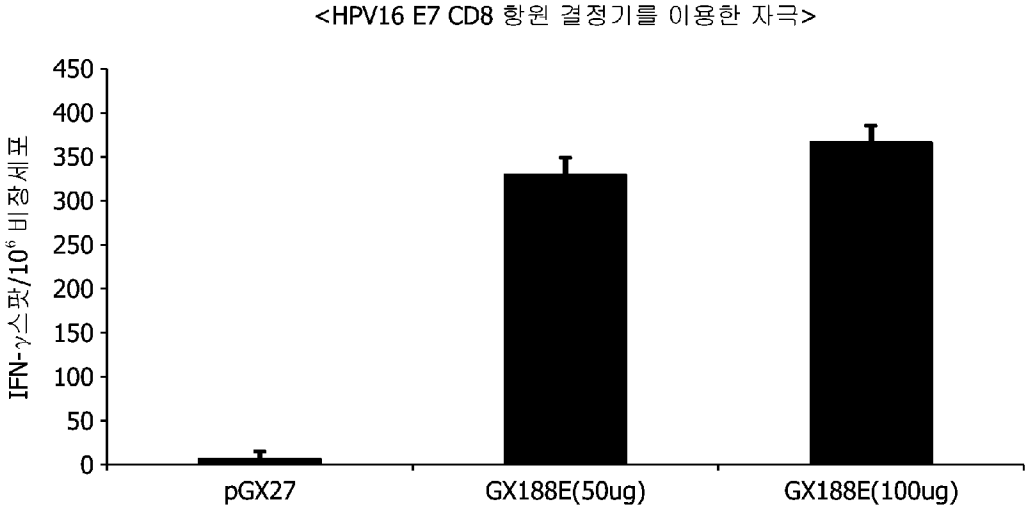
[Fig. 1]



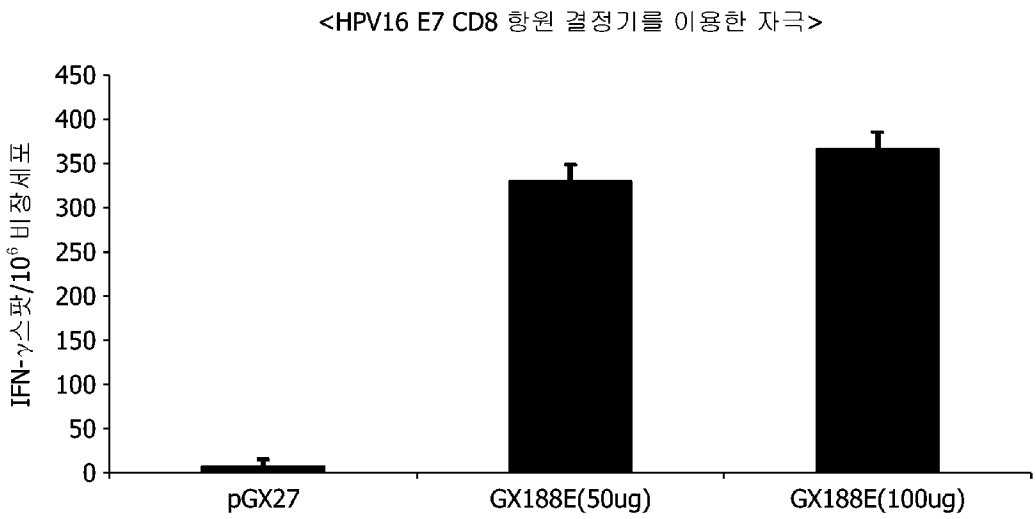
[Fig. 2]



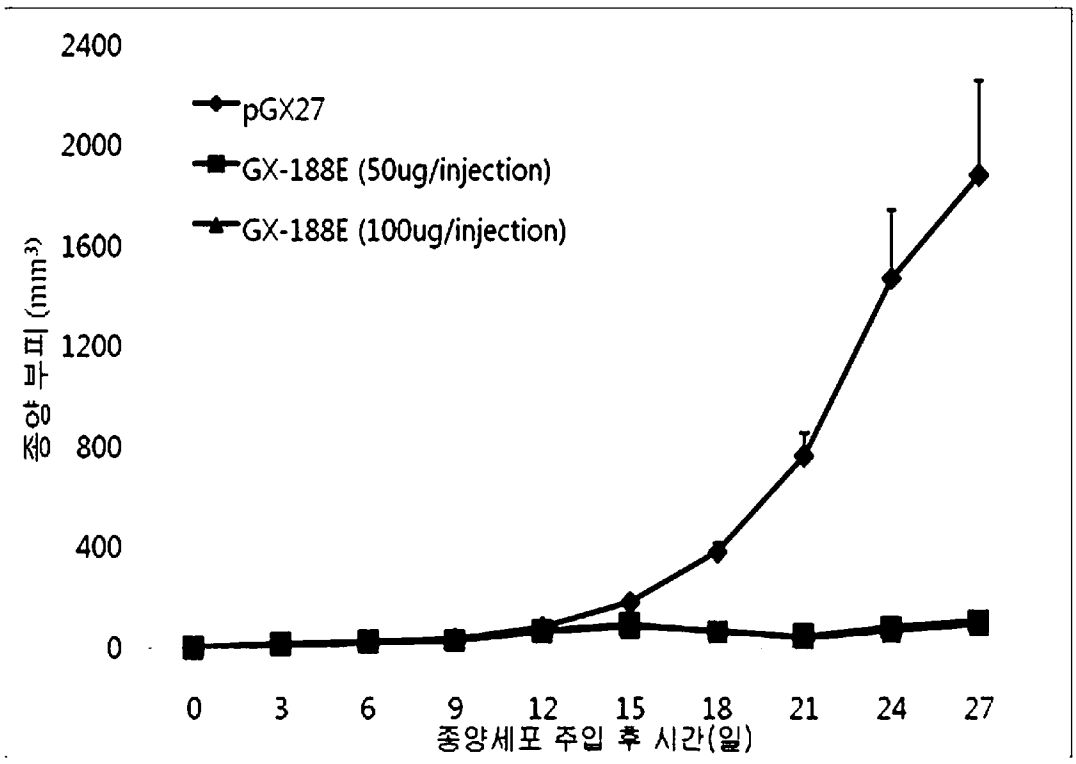
[Fig. 3]



[Fig. 4]


<HPV16 E7 CD8 항원 결정기를 이용한 자극>
IFN-γ스팟/10^6 비장세포
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
pGX27
GX188E(50ug)
GX188E(100ug)

[Fig. 5]


2400
2000
1600
1200
800
400
0
종양 부피 (mm³)
pGX27
GX-188E (50ug/injection)
GX-188E (100ug/injection)
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27
종양세포 주입 후 시간(일)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2010/005367

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 19/00(2006.01)i, C12N 15/62(2006.01)i, C12N 15/63(2006.01)i, A61P 15/02(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K 19/00; C12N 15/37; C07K 14/025; C07K 7/06; C12N 15/62; C07K 14/005

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: papillomavirus, uterine cancer, type 16, type 18, HPV, type 16, type 18, fusion protein, immunoprotein

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2005-0053732 A (WYETH HOLDINGS CORPORATION) 08 June 2005 See abstract, the claims, pages 3, 5, 6, 10, 11	1-15
A	WO 96-19496 A1 (CSL LIMITED et al.) 27 June 1996 See abstract, the claims, pages 5-8	1-15
A	EP 1757615 A1 (HEALTHBANKS BIOTECH CO., LTD.) 28 February 2007 See the claims, pages 10, 11	1-15
A	EP 1243655 A1 (DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES FENTLICHEN RECHTS) 25 September 2002 See abstract, the claims, pages 4, 5	1-15
A	KR 10-1998-0009278 A (CHEIL JEDANG CORPORATION et al.) 30 April 1998 See the entire document	1-15
A	GeneBank: ACI43214.1 14 January 2009 See the entire document	1

☐ 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	Date of mailing of the international search report
16 JUNE 2011 (16.06.2011)	**17 JUNE 2011 (17.06.2011)**
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2010/005367

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing filed or furnished:

   a. (means)

   ☐ on paper

   ☒ in electronic form

   b. (time)

   ☐ in the international application as filed

   ☒ together with the international application in electronic form

   ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2010/005367

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **16, 17**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 16 and 17 relate to a method for treatment or prevention of human diseases and the like by administering a composition of the present application, and thus relate to a subject matter for which the International Searching Authority is not required to search under PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International application No.
PCT/KR2010/005367

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2005-0053732 A	08.06.2005	AU 2003-282731 A1	23.04.2004
		AU 2003-282731 B2	08.01.2009
		CA 2499837 A1	15.04.2004
		CN 1720060 A	11.01.2006
		CN 1720060 C0	11.01.2006
		EP 1553966 A2	20.07.2005
		EP 1553966 A4	16.04.2008
		JP 2006-501825 A	19.01.2006
		JP 2010-279386 A	16.12.2010
		US 2006-0014926 A1	19.01.2006
		US 2007-0275003 A1	29.11.2007
		US 7223408 B2	29.05.2007
		US 7378099 B2	27.05.2008
		WO 2004-030636 A2	15.04.2004
		WO 2004-030636 A3	15.04.2004
WO 96-19496 A1	27.06.1996	AT 326479 T	15.06.2006
		AU 4322996 A	10.07.1996
		AU 693627 B2	02.07.1998
		AU PN01-5794 D0	19.01.1995
		CA 2207741 A1	27.06.1996
		CA 2207741 C	22.04.2003
		CA 2419289 A1	27.06.1996
		DE 69534995 D1	22.06.2006
		DE 69534995 T2	11.01.2007
		EP 0796273 A1	24.09.1997
		EP 0796273 A4	28.11.2001
		EP 0796273 B1	17.05.2006
		JP 10-510989 A	27.10.1998
		JP 10-510989 T	27.10.1998
		NZ 297946 A	28.01.2000
		US 6004557 A	21.12.1999
		US 6303128 B1	16.10.2001
		US 6306397 B1	23.10.2001
		WO 96-19496 A1	27.06.1996
		ZA 9510832 A	04.07.1996
EP 1757615 A1	28.02.2007	NONE	
EP 1243655 A1	25.09.2002	AT 354662 T	15.03.2007
		AU 2002-312774 A1	21.10.2002
		AU 2002-312774 A8	21.10.2002
		DE 60126737 D1	05.04.2007
		DE 60126737 T2	08.11.2007
		EP 1243655 B1	21.02.2007
		ES 2284559 T3	16.11.2007
		JP 2004-531253 A	14.10.2004
		JP 2004-531253 T	14.10.2004
		MX PA03008559A	07.03.2005

International application No.
PCT/KR2010/005367

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		US 2004-0171806 A1	02.09.2004
		US 2007-0190074 A1	16.08.2007
		US 2007-0196339 A1	23.08.2007
		US 7201908 B2	10.04.2007
		US 7700114 B2	20.04.2010
		WO 02-081709 A2	17.10.2002
		WO 02-081709 A3	17.10.2002
KR 10-1998-0009278 A	30.04.1998	NONE	

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2010/005367

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류**(IPC)**)

C07K 19/00(2006.01)i, C12N 15/62(2006.01)i, C12N 15/63(2006.01)i, A61P 15/02(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
C07K 19/00; C12N 15/37; C07K 14/025; C07K 7/06; C12N 15/62; C07K 14/005

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:파필로마바이러스, 자궁암, 16형, 18형, HPV, type 16, type 18, fusion protein, immunoprotein

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2005-0053732 A (와이어쓰 홀딩스 코포레이션) 2005.06.08 요약서, 청구항, 페이지 3,5,6,10,11 참조	1-15
A	WO 96-19496 A1 (CSL LIMITED 외 5명) 1996.06.27 요약서, 청구항, 페이지 5-8 참조	1-15
A	EP 1757615 A1 (HEALTHBANKS BIOTECH CO., LTD.) 2007.02.28 청구항, 페이지 10,11 참조	1-15
A	EP 1243655 A1 (DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES FENTLICHEN RECHTS) 2002.09.25 요약서, 청구항, 페이지 4,5 참조	1-15
A	KR 10-1998-0009278 A (제일제당주식회사 외 1명) 1998.04.30 전문 참조	1-15
A	GeneBank: ACI43214.1 2009.01.14 전문 참조	1

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2011년 06월 16일 (16.06.2011)	**2011년 06월 17일 (17.06.2011)**

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
정부대전청사
팩스 번호 82-42-472-7140

심사관
조정한
전화번호 82-42-481-5589

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2010/005367

제**1**기재란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 **1.c**의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.

   a. 출원시 또는 추후 제출된 서열목록
   - ☐ 서면
   - ☒ 전자적 형태

   b. 제출시기
   - ☐ 출원시 국제출원에 포함
   - ☒ 전자적 형태로 국제출원과 함께 제출
   - ☐ 조사를 위해 본 기관에 추후 제출

2. ☐ 추가로 서열목록에 대하여 하나 이상의 버전이나 사본이 제출된 경우, 후속 버전 또는 추가된 사본에 기재되어 있는 정보가 출원시의 정보와 동일하거나 또는 출원시의 개시범위를 벗어나지 않는다는 진술서가 제출되었습니다.

3. 추가 의견:

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2010/005367

제**2**기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 **2**의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 16, 17
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
본 출원은 청구항 제16항 및 제17항은 본원 발명의 조성물을 투여하여 사람의 질병 등을 치료 또는 예방하는 방법으로서 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.

2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,

3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제**3**기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 **3**의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.

2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.

3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.

4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에 관한 기재

☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.

☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.

☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2010/005367

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2005-0053732 A	2005.06.08	AU 2003-282731 A1	2004.04.23
		AU 2003-282731 B2	2009.01.08
		CA 2499837 A1	2004.04.15
		CN 1720060 A	2006.01.11
		CN 1720060 C0	2006.01.11
		EP 1553966 A2	2005.07.20
		EP 1553966 A4	2008.04.16
		JP 2006-501825 A	2006.01.19
		JP 2010-279386 A	2010.12.16
		US 2006-0014926 A1	2006.01.19
		US 2007-0275003 A1	2007.11.29
		US 7223408 B2	2007.05.29
		US 7378099 B2	2008.05.27
		WO 2004-030636 A2	2004.04.15
		WO 2004-030636 A3	2004.04.15
WO 96-19496 A1	1996.06.27	AT 326479 T	2006.06.15
		AU 4322996 A	1996.07.10
		AU 693627 B2	1998.07.02
		AU PN01-5794 D0	1995.01.19
		CA 2207741 A1	1996.06.27
		CA 2207741 C	2003.04.22
		CA 2419289 A1	1996.06.27
		DE 69534995 D1	2006.06.22
		DE 69534995 T2	2007.01.11
		EP 0796273 A1	1997.09.24
		EP 0796273 A4	2001.11.28
		EP 0796273 B1	2006.05.17
		JP 10-510989 A	1998.10.27
		JP 10-510989 T	1998.10.27
		NZ 297946 A	2000.01.28
		US 6004557 A	1999.12.21
		US 6303128 B1	2001.10.16
		US 6306397 B1	2001.10.23
		WO 96-19496 A1	1996.06.27
		ZA 9510832 A	1996.07.04
EP 1757615 A1	2007.02.28	없음	
EP 1243655 A1	2002.09.25	AT 354662 T	2007.03.15
		AU 2002-312774 A1	2002.10.21
		AU 2002-312774 A8	2002.10.21
		DE 60126737 D1	2007.04.05
		DE 60126737 T2	2007.11.08
		EP 1243655 B1	2007.02.21
		ES 2284559 T3	2007.11.16
		JP 2004-531253 A	2004.10.14
		JP 2004-531253 T	2004.10.14
		MX PA03008559A	2005.03.07

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2010/005367

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		US 2004-0171806 A1	2004.09.02
		US 2007-0190074 A1	2007.08.16
		US 2007-0196339 A1	2007.08.23
		US 7201908 B2	2007.04.10
		US 7700114 B2	2010.04.20
		WO 02-081709 A2	2002.10.17
		WO 02-081709 A3	2002.10.17
KR 10-1998-0009278 A	1998.04.30	없음	