



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0102009
(43) 공개일자 2017년09월06일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 39/09</i> (2006.01) <i>A61K 39/00</i> (2006.01)
 <i>A61K 39/385</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 39/092</i> (2013.01)
 <i>A61K 39/385</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-7022316</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2016년01월05일
 심사청구일자 2017년08월10일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2017년08월10일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/IB2016/050036</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2016/113644
 국제공개일자 2016년07월21일</p> <p>(30) 우선권주장
 62/103,630 2015년01월15일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 화이자 인코포레이티드
 미국 뉴욕주 10017 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235</p> <p>(72) 발명자
 쿠퍼, 데이비드
 미국 10950 뉴욕주 먼로 웹 팜 로드 9</p> <p>젠슨, 카트린 우테
 미국 10065 뉴욕주 뉴욕 에이퍼티. 11썸 이. 식스 티피프스 스트리트 160</p> <p>프라이드, 마이클 윌리엄
 미국 10301 뉴욕주 스탠포드 아일랜드 유닛 8에이 베이 스트리트 랜딩 80</p> <p>(74) 대리인
 양영준, 김영</p> |
|---|---|

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **폐렴구균 백신에서 사용하기 위한 면역원성 조성물**

(57) 요약

본 발명의 목적은 접합체의 수를 제한하면서 에스. 뉴모니아에에 대해, 특히 에스. 뉴모니아에 혈청군 9에 대해 보호하는 면역원성 조성물을 제공하는 것이다. 따라서, 본 발명은 폐렴구균 백신에서 사용하기 위한 및 상기 면역원성 조성물을 사용하여 폐렴구균 감염에 대해 인간 대상체, 특히 영아 및 노인을 백신접종하기 위한 신규 면역원성 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 2039/55544 (2013.01)

A61K 2039/58 (2013.01)

A61K 2039/70 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

에스. 뉴모니아에(*S. pneumoniae*) 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V로부터의 적어도 1종의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물이 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는 것인 면역원성 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 4, 6B, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 5, 6A, 7F 및 19A로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, ELISA 검정에 의해 결정 시 적어도 0.35 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 폴리사카라이드와 결합할 수 있는 IgG 항체를 인간에서 도출할 수 있는 면역원성 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 시험관내 옥소닌식세포성 검정 (OPA)에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L을 사멸시킬 수 있는 기능적 항체를 인간에서 도출할 수 있는 면역원성 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 시험관내 옥소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 50%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있는 면역원성 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 에스. 뉴모니아에 감염을 예방하는데 사용하기 위한 면역원성 조성물.

청구항 10

면역학적 유효량의 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L과 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법.

청구항 11

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 키트.

청구항 13

- 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물을 제조하는 단계;
 - 정보 리플렛을 인쇄하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계;
 - 상기 면역원성 조성물 및 상기 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하는 단계
- 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법.

청구항 14

면역학적 유효량의 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 대한 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 15

대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 에스. 뉴모니아에 의한 감염을 예방하기 위한 의약의 제조를 위한 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물의 용도.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 폐렴구균 백신에서 사용하기 위한 신규 면역원성 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 면역원성 조성물은 전형적으로 접합된 피막 사카라이드 항원 (당접합체)을 포함하며, 여기서 사카라이드는 스트렙토코쿠스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*)의 혈청형으로부터 유래된다. 본 발명의 목적은 에스. 뉴모니아에 혈청군 9에 대해 보호하는 면역원성 조성물을 제공하는 것이다.

배경 기술

- [0002] 폐렴구균에 의해 초래되는 감염은 전세계적으로 이환율 및 사망률의 주요 원인이다. 폐렴, 열성 균혈증 및 수막염은 침습성 폐렴구균 질환의 가장 흔한 징후인 반면에, 기도 내에서의 박테리아 확산으로 인해 중이 감염, 부비동염 또는 재발성 기관지염이 발병할 수 있다. 침습성 질환에 비해, 비-침습성 징후는 보통 덜 심각하지만, 상당히 더 흔하다.
- [0003] 폐렴구균 질환의 병인체인 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 (폐렴구균)는 폴리사카라이드 피막으로 둘러싸인 그람-양성 피막화 구균이다. 이 피막의 조성에서의 차이는 약 91가지 피막 유형간의 혈청학적 구별을 허용하고, 그 중 일부가 종종 폐렴구균 질환과 연관되어 있고, 다른 것들은 드물다. 침습성 폐렴구균 감염에는 폐렴, 수막염 및 열성 균혈증이 포함되고; 흔한 비-침습성 징후 중에는 중이염, 부비동염 및 기관지염이 있다.
- [0004] 폐렴구균 접합체 백신 (PCV)은 에스. 뉴모니아에 (폐렴구균)에 의해 초래되는 질환에 대한 보호를 위해 사용되는 폐렴구균 백신이다. 현재 세계 시장에서 입수가능한 3종의 PCV 백신이 있다: 프리브나(PREVNAR)® (일부 국가에서는 프리베나(Prevenar)로 지칭됨) (7가 백신), 신플로릭스(SYNFLORIX)® (10가 백신) 및 프리브나 13® (13가 백신).
- [0005] 프리브나 13®의 13가 외에도 질환을 초래하는 특이적 혈청형이 지역, 인구에 따라 다르며, 항생제 내성의 획득, 폐렴구균 백신 도입 및 미지의 원인의 추세 변동으로 인해 시간이 지남에 따라 변할 수 있다.
- [0006] 단일 다가 주사에 접합체를 조합함으로써 인해 상이한 구성성분들 사이에 경쟁이 일어날 수 있고 임의의 개별 접합체의 면역원성에 불리한 영향을 미칠 수 있기 때문에, 면역원성 조성물에 접합체를 추가하는 것은 간단한 절차가 아니다.
- [0007] 이러한 간섭 현상은 다가 백신에 포함될 수 있는 접합체의 수를 제한할 수 있다. 따라서, 매우 수많은 혈청형에 대한 보호가 상당한 가치가 있음에도 불구하고 조성물 중 접합체의 수를 제한하면서 이를 달성하기는 매우

어려울 수 있다.

- [0008] 본 발명의 목적은 접합체의 수를 제한하면서 에스. 뉴모니아에 대해, 특히 에스. 뉴모니아에 혈청군 9에 대해 적절히 보호하는 면역원성 조성물을 제공하는 것이다.
- [0009] 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 혈청군 9는 4가지 상이한 유형 9V, 9A, 9L 및 9N으로 이루어지고, 이들 각각은 그 자체의 유형-특이적 피막 폴리사카라이드를 생성한다 (Richards, J.C and M.B. Perry, 1988, In A.M. Wu (ed.), The molecular immunology complex carbohydrates. Plenum, New York, pp. 593-594).
- [0010] 본 발명의 목적은 접합체의 수를 제한하면서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V, 9A, 9L 및 9N에 대해 적절히 보호하는 면역원성 조성물을 제공하는 것이다.

발명의 내용

- [0011] 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V로부터의 적어도 1종의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다. 바람직하게는, 상기 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는다.
- [0012] 한 측면에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화하기 위한 의약의 제조를 위한 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V로부터의 적어도 1종의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다. 바람직하게는, 상기 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는다.
- [0013] 한 측면에서, 상기 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 4, 6B, 14, 18C, 19F 및/또는 23F로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0014] 한 측면에서, 상기 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 5 및/또는 7F로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0015] 한 측면에서, 상기 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A 및/또는 19A로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0016] 한 측면에서, 상기 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 3, 15B, 22F, 33F, 12F, 10A, 11A 및/또는 8로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0017] 추가의 측면에서, 상기 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 15C, 17F 및/또는 20으로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0018] 추가의 측면에서, 면역원성 조성물은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24-가 페렴구균 접합체 조성물이다.
- [0019] 추가의 측면에서, 면역원성 조성물의 당접합체는 CRM₁₉₇에 개별적으로 접합된다.
- [0020] 한 측면에서, 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및/또는 23F로부터의 당접합체는 PD에 개별적으로 접합되고, 존재하는 경우 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체는 TT에 접합되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19F로부터의 당접합체는 DT에 접합된다.
- [0021] 한 측면에서, 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 또는 환원성 아민화 화학에 의해 제조된다.
- [0022] 면역원성 조성물은 다른 병원균으로부터의 항원 및/또는 적어도 1종의 아주반트, 예컨대 인산알루미늄, 황산알루미늄 또는 수산화알루미늄을 추가로 포함할 수 있다.
- [0023] 한 측면에서, 면역원성 조성물은 ELISA 검정에 의해 결정 시 적어도 0.35 µg/ml의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 폴리사카라이드와 결합할 수 있는 IgG 항체를 인간에서 도출할 수 있다.
- [0024] 한 측면에서, 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 50%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있다.
- [0025] 한 측면에서, 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단에 비해 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 대한 반응자의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있다.

- [0026] 한 측면에서, 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단에 비해 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9L 및/또는 9A에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있다.
- [0027] 한 측면에서, 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9L 및/또는 9A에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용된다.
- [0028] 한 측면에서, 면역원성 조성물은, 전신 또는 점막 경로를 통해 상기 면역원성 조성물을 투여함으로써, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의해 초래되는 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에서 사용되거나, 대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 에스. 뉴모니아에 감염을 예방하기 위해 사용되거나, 또는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 감염되기 쉬운 인간을 보호 또는 치료하는 방법에 사용된다.
- [0029] 한 측면에서, 본 발명은, 전신 또는 점막 경로를 통해 상기 면역원성 조성물을 투여함으로써, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의해 초래되는 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 약의 제조를 위한, 대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 에스. 뉴모니아에 감염을 예방하기 위해 사용하기 위한, 또는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 감염되기 쉬운 인간을 예방 또는 치료하는 방법에서 사용하기 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0030] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L과 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에 관한 것이다.
- [0031] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염을 예방하는 방법에 관한 것이다.
- [0032] 추가로 본 발명은 본원에 개시된 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트이며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력 및 상기 키트를 제조하는 방법이 언급되어 있는 것인 키트에 관한 것이다.
- [0033] W02013/191459는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9V 둘 다로부터의 당접합체를 포함하는 15-가 면역원성 조성물을 개시한다. 유사하게, W02014/092377 및 중국 특허 출원 번호 CN101590224 및 CN 103656631은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9V 둘 다로부터의 당접합체를 조합한 면역원성 조성물을 개시한다.
- [0034] 놀랍게도, 혈청형 9V 폴리사카라이드 접합체가 혈청군 9V에 대한 기능적 반응성 항체를 도출하는 것 외에도 혈청군 9 내의 다른 혈청형: 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 교차-반응성 항체를 추가로 유도할 수 있는 것이 밝혀졌다.

도면의 간단한 설명

- [0035] **도 1**은 교차-기능적 OPA 반응이다. 13가 폐렴구균 접합체 백신으로 백신접종된 성인으로부터의 59가지 혈청의 하위 집합 (미국 연구 6115A1-004; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00427895)을 혈청형 9V, 9A, 9L 및 9N에 대한 기능적 항체의 존재에 대해 OPA에서 평가하였다. OPA 양성 역가 (즉, $\geq 1:8$)를 갖는 샘플의 백분율을 각 군 위에 나타내었다. 기하 평균 역가 (GMT)를 각 군 아래의 x 축에 나열하였다.
- 도 2**는 66가지의 매칭된 전/후 혈청의 교차-기능적 OPA 반응이다. 13가 폐렴구균 접합체 백신으로 백신접종된 성인으로부터의 66가지의 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널의 하위 집합 (연구 6115A1-3005; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00546572)을 혈청형 9V, 9A, 9L 및 9N에 대한 기능적 항체의 존재에 대해 OPA에서 평가하였다. OPA 양성 역가 (즉, $\geq 1:8$)를 갖는 샘플의 백분율을 각 군 위에 나타내었다. 기하 평균 역가 (GMT)를 각 군 아래의 x 축에 나열하였다.
- 도 3**은 폐렴구균 혈청형 9V (Pn9V)로의 면역화 전 및 후의 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.
- 13가 폐렴구균 접합체 백신으로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 66)로부터의 혈청형 9V에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (연구 6115A1-3005; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00546572). 플롯은 OPA 양성 역가 (즉, $\geq 1:8$)를 가진 혈청의 백분율을 나타낸다.
- 도 4**는 폐렴구균 혈청형 9A (Pn9A)로의 면역화 전 및 후의 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.
- 13가 폐렴구균 접합체 백신으로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 66)로부터의 혈청형 9A

에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (연구 6115A1-3005; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00546572). 플롯은 OPA 양성 역가 (즉, $\geq 1:8$)를 가진 혈청의 백분율을 나타낸다.

도 5는 폐렴구균 혈청형 9L (Pn9L)로의 면역화 전 및 후의 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.

13가 폐렴구균 접합체 백신으로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 66)로부터의 혈청형 9L에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (연구 6115A1-3005; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00546572). 플롯은 OPA 양성 역가 (즉, $\geq 1:8$)를 가진 혈청의 백분율을 나타낸다.

도 6은 폐렴구균 혈청형 9N (Pn9N)로의 면역화 전 및 후의 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.

13가 폐렴구균 접합체 백신으로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 66)로부터의 혈청형 9N에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (연구 6115A1-3005; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00546572). 플롯은 OPA 양성 역가 (즉, $\geq 1:8$)를 가진 혈청의 백분율을 나타낸다.

도 7은 13vPnC 면역화 이후 연구 B1851088 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01646398)로부터의 매칭된 백신접종 전/후의 혈청으로부터 혈청군 9 교차-기능적 OPA 반응이다.

13vPnC로 백신접종된 성인으로부터의 91가지의 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널의 하위 집합 (연구 B1851088)을 혈청형 9V, 9A, 9L 및 9N에 대한 기능적 항체의 존재에 대해 OPA로 평가하였다. OPA 양성 역가 (즉, $\geq 1:8$)를 갖는 샘플의 백분율을 각 군 위에 나타내었다.

도 8은 23vPS 면역화 이후 연구 B1851088로부터의 매칭된 백신접종 전/후의 혈청으로부터 혈청군 9 교차-기능적 OPA 반응이다.

23vPS로 백신접종된 성인으로부터의 83가지의 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널의 하위 집합 (연구 B1851088)을 혈청형 9V, 9A, 9L 및 9N에 대한 기능적 항체의 존재에 대해 OPA로 평가하였다. OPA 양성 역가 (즉, $\geq 1:8$)를 갖는 샘플의 백분율을 각 군 위에 나타내었다.

도 9는 13vPnC (13v) 또는 23vPS (23v) 면역화 이후 연구 B1851088로부터의 매칭된 백신접종 전/후의 혈청으로부터 혈청군 9 교차-기능적 OPA 역가이다.

도 10은 연구 B1851088로부터의 Pn9V & Pn9N 13vPnC 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.

13vPnC로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 91)로부터의 혈청형 9V 및 9N에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (일본 연구 B1851088).

도 11은 연구 B1851088로부터의 Pn9V & Pn9N 23vPS 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.

23vPS로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 83)로부터의 혈청형 9V 및 9N에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (일본 연구 B1851088).

도 12는 연구 B1851088로부터의 Pn9V & Pn9A 13vPnC 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.

13vPnC로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 91)로부터의 혈청형 9V 및 9A에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (일본 연구 B1851088).

도 13은 연구 B1851088로부터의 Pn9V & Pn9A 23vPS 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.

23vPS로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 83)로부터의 혈청형 9V 및 9A에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (일본 연구 B1851088).

도 14는 연구 B1851088로부터의 Pn9V & Pn9L 13vPnC 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.

13vPnC로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 91)로부터의 혈청형 9V 및 9L에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (일본 연구 B1851088).

도 15는 연구 B1851088로부터의 Pn9V & Pn9L 23vPS 역 누적 분포 곡선 (RCDC)이다.

23vPS로 백신접종된 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N = 83)로부터의 혈청형 9V 및 9L에 대한 OPA 역가의 역 누적 분포 곡선 (일본 연구 B1851088).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 1 본 발명의 번역원성 조성물

[0037] 본 발명의 번역원성 조성물은 전형적으로 접합된 피막 사카라이드 항원 (당접합체로도 명명됨)을 포함하며, 여기서 사카라이드는 에스. 뉴모니아에의 혈청형으로부터 유래된다.

[0038] 바람직하게는, 에스. 뉴모니아에 피막 사카라이드의 수는 1가지 혈청형 (또는 "v", 원자가) 내지 24가지의 상이한 혈청형 (24v)의 범위일 수 있다. 한 실시양태에서, 1가지의 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 2가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 3가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 4가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 5가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 6가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 7가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 8가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 9가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 10가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 11가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 12가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 13가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 14가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 15가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 16가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 17가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 18가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 19가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 20가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 21가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 22가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 23가지의 상이한 혈청형이 있다. 한 실시양태에서, 24가지의 상이한 혈청형이 있다. 하기 기재된 바와 같이 피막 사카라이드는 담체 단백질에 접합되어 당접합체를 형성한다.

[0039] 조성물에서 2가지 이상의 사카라이드에 대해 단백질 담체가 동일한 경우, 상기 사카라이드는 단백질 담체의 동일한 분자에 접합될 수 있다 (담체 분자는 그에 접합된 2가지 이상의 상이한 사카라이드를 가짐) [예를 들어 WO 2004/083251 참조].

[0040] 바람직한 실시양태에서, 사카라이드는 단백질 담체의 상이한 분자에 각각 개별적으로 접합된다 (단백질 담체의 각각의 분자가 그에 접합된 1가지 유형의 사카라이드만을 가짐). 상기 실시양태에서, 피막 사카라이드는 담체 단백질에 개별적으로 접합된다.

[0041] 본 발명의 목적을 위해, 용어 '당접합체'는 담체 단백질에 공유 연결된 피막 사카라이드를 나타낸다. 한 실시양태에서, 피막 사카라이드는 담체 단백질에 직접 연결된다. 제2 실시양태에서, 박테리아 사카라이드는 스페이서/링커를 통해 단백질에 연결된다.

[0042] 1.1 본 발명의 담체 단백질

[0043] 본 발명의 당접합체의 구성성분은 사카라이드에 접합된 담체 단백질이다. 용어 "단백질 담체" 또는 "담체 단백질" 또는 "담체"는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다. 담체 단백질은 표준 접합 절차에 적합해야 한다.

[0044] 바람직한 실시양태에서, 당접합체의 담체 단백질은 DT (디프테리아 독소), TT (파상풍 독소) 또는 TT의 단편 C, CRM₁₉₇ (무독성이지만 디프테리아 독소의 항원적으로 동일한 변이체임), 디프테리아 독소 돌연변이체 CRM₁₉₇의 A쇄 (CN103495161), 다른 DT 돌연변이체 (예컨대, CRM176, CRM228, CRM45 (Uchida et al. (1973) J. Biol. Chem. 218:3838-3844), CRM9, CRM102, CRM103 또는 CRM107; 및 Nicholls and Youle in Genetically Engineered Toxins, Ed: Frankel, Maecel Dekker Inc. (1992)에 기재된 다른 돌연변이; Glu-148에서 Asp, Gln 또는 Ser로 및/또는 Ala 158에서 Gly로의 결실 또는 돌연변이, 및 미국 특허 번호 4,709,017 및 4,950,740에 개시된 다른 돌연변이; 적어도 하나 또는 그 이상의 잔기 Lys 516, Lys 526, Phe 530 및/또는 Lys 534의 돌연변이 및 미국 특허 번호 5,917,017 및 6,455,673에 개시된 다른 돌연변이; 또는 미국 특허 번호 5,843,711에 개시된 단편, 페렴구균 뉴모리신 (ply) (Kuo et al. (1995) Infect Immun 63:2706-2713), 예컨대 동일한 방식으로 해독된 ply, 예를 들어 dPLY-GMBS (WO 2004/081515 및 WO 2006/032499) 또는 dPLY-포르몰, PhtX, 예컨대 PhtA, PhtB, PhtD, PhtE (PhtA, PhtB, PhtD 또는 PhtE의 서열은 WO 00/37105 및 WO 00/39299에 개시됨) 및 Pht 단백질의 융합체, 예를 들어 PhtDE 융합체, PhtBE 융합체, Pht A-E (WO 01/98334, WO 03/054007, WO 2009/000826), OMPC (수막구균 외막 단백질 - 보통 네이세리아 메닝기티디스(*Neisseria meningitidis*) 혈청군 B로부터 추출됨, EP0372501), PorB (엔. 메닝기티디스로부터), PD (해모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*) 단백질 D; 예를 들어 EP0594610 B 참조), 또는 이들의 면역학적 기능적 등가물, 합성 펩티드 (EP0378881, EP0427347), 열 충격 단백질 (WO 93/17712, WO 94/03208), 백일해 단백질 (WO 98/58668, EP0471177), 시토카인, 림포카인, 성장 인자 또는 호르몬 (WO 91/01146), 다양한 병원균 유래된 항원으로부터의 다중 인간 CD4+ T 세포 에피토프를 포함하는 인공 단백질 (Falugi et al. (2001) Eur J Immunol 31:3816-

3824), 예컨대 N19 단백질 (Baraldoi et al. (2004) Infect Immun 72:4884-4887), 폐렴구균 표면 단백질 PspA (WO 02/091998), 철 흡수 단백질 (WO 01/72337), 클로스트리디움 디피실레(*Clostridium difficile*)의 독소 A 또는 B (WO 00/61761), 트랜스페린 결합 단백질, 폐렴구균 접합 단백질 (PsaA), 재조합 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 외독소 A (특히 그의 무독성 돌연변이체 (예컨대, 글루탐산 553에서 치환을 가진 외독소 A (Douglas et al. (1987) J. Bacteriol. 169(11):4967-4971))로 이루어진 균으로부터 선택된다. 다른 단백질, 예컨대 난백알부민, 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH), 소 혈청 알부민 (BSA) 또는 투베르쿨린의 정제된 단백질 유도체 (PPD) 또한 담체 단백질로서 사용될 수 있다. 다른 적합한 담체 단백질은 불활성화된 박테리아 독소, 예컨대 콜레라 독소이드 (예를 들어, WO 2004/083251에 기재됨), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*) LT, 이. 콜라이 ST, 및 피. 아에루기노사로부터의 외독소 A를 포함한다.

[0045] 바람직한 실시양태에서, 당접합체의 담체 단백질은 TT, DT, DT 돌연변이체 (예컨대, CRM₁₉₇), 에이치. 인플루엔자에 단백질 D, PhtX, PhtD, PhtDE 융합체 (특히 WO 01/98334 및 WO 03/054007에 기재된 것), 해독된 폐렴구균 용혈소, PorB, N19 단백질, PspA, OMPC, 씨. 디피실레의 독소 A 또는 B, 및 PsaA로 이루어진 균으로부터 독립적으로 선택된다.

[0046] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 DT (디프테리아 독소이드)이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 TT (파상풍 독소이드)이다.

[0047] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 담체 단백질은 PD (에이치. 인플루엔자에 단백질 D; 예를 들어, EP0594610 B 참조)이다.

[0048] CRM₁₉₇ 단백질은 디프테리아 독소의 무독성 형태이지만, 면역학적으로 디프테리아 독소와 구분되지 않는다. CRM₁₉₇은 독소 발생 코리네파지 베타의 니트로소구아니딘 돌연변이 유발에 의해 생성된 독소 비발생 파지 β 197^{tox-}에 감염된 코리네박테리움 디프테리아에(*Corynebacterium diphtheriae*)에 의해 생산된다 (Uchida et al. (1971) Nature New Biology 233:8-11). CRM₁₉₇ 단백질은 디프테리아 독소와 동일한 분자량을 갖지만, 구조 유사 전자에서 단일 염기 변화 (구아닌에서 아데닌으로)에 의해 상기 독소와 구별된다. 이러한 단일 염기 변화는 성숙 단백질에서 아미노산 치환 (글리신에서 글루탐산으로)을 야기하고, 디프테리아 독소의 독성을 제거한다. CRM₁₉₇ 단백질은 사카라이드를 위한 안전하고 효과적인 T-세포 의존성 담체이다. CRM₁₉₇ 및 그의 제조에 대한 추가의 상세한 내용은 예를 들어 미국 특허 번호 5,614,382에서 확인할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 피막 사카라이드는 CRM₁₉₇ 단백질 또는 CRM₁₉₇의 A쇄에 접합된다 (CN103495161 참조). 한 실시양태에서, 본 발명의 피막 사카라이드는 유전자 재조합 이. 콜라이에 의한 발현을 통해 획득되는 CRM₁₉₇의 A쇄에 접합된다 (CN103495161 참조). 한 실시양태에서, 본 발명의 피막 사카라이드는 모두 CRM₁₉₇에 접합된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 피막 사카라이드는 모두 CRM₁₉₇의 A쇄에 접합된다.

[0049] 따라서, 빈번한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 담체 단백질로서 CRM₁₉₇을 포함하고, 피막 폴리사카라이드가 CRM₁₉₇에 공유 연결된다.

[0050] 1.2 본 발명의 피막 사카라이드

[0051] 본 명세서에서 용어 "사카라이드"는 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드를 나타낼 수 있고, 이들 둘 다를 포함한다. 빈번한 실시양태에서, 사카라이드는 폴리사카라이드, 특히 에스. 뉴모니아에 피막 폴리사카라이드이다.

[0052] 피막 폴리사카라이드는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 표준 기술에 의해 제조된다.

[0053] 본 발명에서, 피막 폴리사카라이드는 예를 들어 에스. 뉴모니아에의 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 15C, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 및 33F로부터 제조될 수 있다. 전형적으로 피막 폴리사카라이드는 각각의 에스. 뉴모니아에 혈청형을 배지에서 (예를 들어, 대두-기재 배지에서) 성장시킴으로써 생산되고, 이어서 박테리아 배양물로부터 폴리사카라이드를 제조한다. 본 발명의 당접합체에 사용되는 각각의 폴리사카라이드를 제조하기 위해 사용되는 에스. 뉴모니아에의 박테리아 균주는 정립된 배양물 수집물 또는 임상 시편으로부터 획득될 수 있다.

[0054] 종종 유기체의 집단 (각각의 에스. 뉴모니아에 혈청형)을, 생산 규모 발효 부피에 도달할 때까지, 시드 바이알

에서 시드 바틀로 규모를 확대하고 부피를 증가시키면서 1개 이상의 시드 발효기에 통과시킨다. 성장 사이클의 마지막에, 세포를 용균시킨 다음, 용균 브로쓰를 하류 (정제) 가공을 위해 수확한다 (예를 들어, WO 2006/110381, WO 2008/118752, 및 미국 특허 출원 공보 번호 2006/0228380, 2006/0228381, 2008/0102498 및 2008/0286838 참조).

- [0055] 개별 폴리사카라이드를 전형적으로 원심분리, 침전, 한외 여과 및/또는 칼럼 크로마토그래피를 통해 정제한다 (예를 들어, WO 2006/110352 및 WO 2008/118752 참조).
- [0056] 본원에서 추가로 기재되는 바와 같이, 정제된 폴리사카라이드를 (예를 들어, 담체 단백질과 직접적으로 또는 링커, 예컨대 eTEC 스페이서를 통해) 반응하도록 활성화시켜 (예를 들어, 화학적으로 활성화시켜), 본 발명의 당 접합체에 혼입시킬 수 있다.
- [0057] 에스. 뉴모니아에 피막 폴리사카라이드는 8개 이하의 당 잔기를 함유할 수 있는 반복 올리고사카라이드 단위를 포함한다.
- [0058] 한 실시양태에서, 본 발명의 피막 사카라이드는 1개의 올리고사카라이드 단위일 수 있거나, 또는 반복 올리고사카라이드 단위의 사카라이드 쇠의 천연 길이보다 짧을 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 피막 사카라이드는 관련 혈청형의 1개의 반복 올리고사카라이드 단위이다.
- [0059] 한 실시양태에서, 본 발명의 피막 사카라이드는 올리고사카라이드일 수 있다. 올리고사카라이드는 적은 수의 반복 단위 (전형적으로 5-15개의 반복 단위)를 가지며, 전형적으로 합성에 의해 또는 폴리사카라이드의 가수분해에 의해 유래된다.
- [0060] 바람직하게는, 본 발명의 및 본 발명의 면역원성 조성물에서의 모든 피막 사카라이드는 폴리사카라이드이다. 고분자량 피막 폴리사카라이드는 항원 표면 상에 존재하는 에피토프로 인해 특정한 항체 면역 반응을 유도할 수 있다. 바람직하게는, 고분자량 피막 폴리사카라이드의 단리 및 정제가 본 발명의 접합체, 조성물 및 방법에서 이용되는 것으로 고려된다.
- [0061] 일부 실시양태에서, 접합 이전의 정제된 폴리사카라이드는 5 kDa 내지 4,000 kDa의 분자량을 갖는다. 다른 이러한 실시양태에서, 폴리사카라이드는 10 kDa 내지 4,000 kDa; 50 kDa 내지 4,000 kDa; 50 kDa 내지 3,000 kDa; 50 kDa 내지 2,000 kDa; 50 kDa 내지 1,500 kDa; 50 kDa 내지 1,000 kDa; 50 kDa 내지 750 kDa; 50 kDa 내지 500 kDa; 100 kDa 내지 4,000 kDa; 100 kDa 내지 3,000 kDa; 100 kDa 내지 2,000 kDa; 100 kDa 내지 1,500 kDa; 100 kDa 내지 1,000 kDa; 100 kDa 내지 750 kDa; 100 kDa 내지 500 kDa; 100 내지 400 kDa; 200 kDa 내지 4,000 kDa; 200 kDa 내지 3,000 kDa; 200 kDa 내지 2,000 kDa; 200 kDa 내지 1,500 kDa; 200 kDa 내지 1,000 kDa; 또는 200 kDa 내지 500 kDa의 분자량을 갖는다.
- [0062] 추가의 실시양태에서, 피막 폴리사카라이드는 70 kDa 내지 150 kDa; 80 kDa 내지 160 kDa; 90 kDa 내지 250 kDa; 100 kDa 내지 1,000; 100 kDa 내지 500 kDa; 100 kDa 내지 400 kDa; 100 kDa 내지 160 kDa; 150 kDa 내지 600 kDa; 200 kDa 내지 1,000 kDa; 200 kDa 내지 600 kDa; 200 kDa 내지 400 kDa; 300 kDa 내지 1,000 kDa; 300 kDa 내지 600 kDa; 300 kDa 내지 500 kDa 또는 500 kDa 내지 600 kDa의 분자량을 갖는다. 임의의 상기 범위 내의 임의의 정수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.
- [0063] 폴리사카라이드는 정상적인 정제 절차 동안에 크기가 약간 감소되기 시작할 수 있다. 추가로, 본원에 기재된 바와 같이, 폴리사카라이드를 접합 이전에 사이징 기술에 적용할 수 있다. 기계적 또는 화학적 사이징이 이용될 수 있다. 화학적 가수분해는 아세트산을 이용하여 수행할 수 있다. 기계적 사이징은 고압력 균질화 전단을 이용하여 수행할 수 있다. 상기 언급된 분자량 범위는 접합 이전에 (예를 들어, 활성화 이전에) 정제된 폴리사카라이드에 대한 것이다.
- [0064] 바람직한 실시양태에서, 정제된 폴리사카라이드는 에스. 뉴모니아에의 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 15C, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 또는 33F로부터의 피막 폴리사카라이드이며, 여기서 피막 폴리사카라이드는 상기 기재된 분자량 범위 중 하나 내에 속하는 분자량을 갖는다.
- [0065] 본원에 사용된 용어 폴리사카라이드의 또는 담체 단백질-폴리사카라이드 접합체의 "분자량"은 다중 각도 레이저 광 산란 검출기 (MALLS)와 조합된 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의해 계산된 분자량을 지칭한다.
- [0066] 일부 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 9V, 18C, 11A, 15B, 22F 및/또는 33F로부터의 폐렴구균 사카라이드는 0-아세틸화된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 9V, 11A, 15B, 22F 및/또는 33F로부터의 폐렴구균 사카라이드는

이드는 0-아세틸화된다.

[0067] 폴리사카라이드의 0-아세틸화 정도는 관련 기술분야의 임의의 방법에 의해, 예를 들어 양성자 NMR에 의해 측정될 수 있다 (예를 들어, Lemerminier et al. (1996) Carbohydrate Research 296:83-96, Jones et al. (2002) J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis 30:1233-1247, WO 2005/033148 및 WO 00/56357 참조). 흔히 이용되는 또 다른 방법은 Hestrin (1949) J. Biol. Chem. 180:249-261에 기재되어 있다. 바람직하게는, 0-아세틸기의 존재는 이온-HPLC 분석에 의해 측정된다.

[0068] 본원에 기재된 정제된 폴리사카라이드는 화학적으로 활성화되어, 사카라이드가 담체 단백질과 반응할 수 있게 만든다. 이들 페렴구균 접합체는 하기 기재된 바와 같이 별도의 공정에 의해 제조되어 단일 투여 제제로 제제화된다.

[0069] 1.3 본 발명의 당접합체

[0070] 정제된 사카라이드는 화학적으로 활성화되어, 사카라이드 (즉, 활성화된 사카라이드)가 담체 단백질과 직접적으로 또는 링커를 통해 반응할 수 있게 만든다. 활성화되면, 각각의 피막 사카라이드가 담체 단백질에 별도로 접합되어 당접합체를 형성한다. 한 실시양태에서, 각각의 피막 사카라이드는 동일한 담체 단백질에 접합된다. 사카라이드의 화학적 활성화 및 담체 단백질과의 후속적인 접합은 본원에 개시된 활성화 및 접합 방법에 의해 달성될 수 있다.

[0071] 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 15C, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 및/또는 33F로부터의 피막 폴리사카라이드는 상기 개시된 바와 같이 제조된다.

[0072] 한 실시양태에서, 폴리사카라이드는 1-시아노-4-디메틸아미노 피리디늄 테트라플루오로보레이트 (CDAP)에 의해 활성화되어 시아네이트 에스테르를 형성한다. 이어서, 활성화된 폴리사카라이드를 직접적으로 또는 스페이서 (링커) 기를 통해 담체 단백질 (바람직하게는 CRM₁₉₇)의 아미노기에 커플링시킨다. 예를 들어, 스페이서는 시스타민 또는 시스테아민일 수 있으며, 이는 말레이미드-활성화된 담체 단백질 (예를 들어, N-[γ -말레이미도부틸옥시]숙신이미드 에스테르 (GMBS)를 사용하여) 또는 할로아세틸화 담체 단백질 (예를 들어, 아이오도아세틸이미드, N-숙신이미딜 브로모아세테이트 (SBA; SIB), N-숙신이미딜(4-아이오도아세틸)아미노벤조에이트 (SIAB), 술포숙신이미딜(4-아이오도아세틸)아미노벤조에이트 (술포-SIAB), N-숙신이미딜 아이오도아세테이트 (SIA), 또는 숙신이미딜 3-[브로모아세틸아미노]프로피리온에이트 (SBAP)를 이용하여)과의 반응 이후에 수득되는 티오에테르 연결을 통해 담체에 커플링될 수 있는 티올화 폴리사카라이드를 제공한다. 바람직하게는, 시아네이트 에스테르 (임의적으로 CDAP 화학에 의해 제조됨)가 핵산 디아민 또는 아디프산 디히드라지드 (ADH)와 커플링하고, 아미노-유도체화된 사카라이드가 카르보디이미드 (예를 들어, EDAC 또는 EDC) 화학을 이용하여 단백질 담체 상의 카르복실기를 통해 담체 단백질 (예를 들어, CRM₁₉₇)에 접합된다. 이러한 접합체는 예를 들어 WO 93/15760, WO 95/08348 및 WO 96/129094에 기재되어 있다.

[0073] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 15C, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 및/또는 33F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조된다.

[0074] 접합을 위한 다른 적합한 기술은 카르보디이미드, 히드라지드, 활성 에스테르, 노르보란, p-니트로벤조산, N-히드록시숙신이미드, S-NHS, EDC, TSTU를 사용한다. 국제 특허 출원 공보 번호 WO 98/42721에 여러 가지가 기재되어 있다. 접합은 사카라이드의 유리 히드록실기와 CDI의 반응 후에 (Bethell et al. (1979) 1. Biol. Chern. 254:2572-2574; Hearn et al. (1981) J. Chromatogr. 218:509-518 참조), 단백질과의 반응에 의해 카르바메이트 연결을 형성함으로써 형성될 수 있는 카르보닐 링커를 수반할 수 있다. 이는 아노머 말단의 1급 히드록실기로의 환원, 1급 히드록실기의 임의적인 보호/탈보호, 1급 히드록실기와 CDI의 반응에 의한 CDI 카르바메이트 중간체의 형성, 및 CDI 카르바메이트 중간체와 단백질 상의 아미노기의 커플링을 수반할 수 있다.

- [0075] 바람직한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 15C, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 및 33F로부터의 적어도 1종의 피막 폴리사카라이드는 환원성 아민화에 의해 담체 단백질에 접합된다 (예컨대, 미국 특허 출원 공보 번호 2006/0228380, 2007/184072, 2007/0231340 및 2007/0184071, WO 2006/110381, WO 2008/079653, 및 WO 2008/143709에 기재됨).
- [0076] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A 및 19A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 3, 6A 및 19A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다.
- [0077] 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다. 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 모두 환원성 아민화에 의해 제조된다.
- [0078] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F 및 23F로부터의 당접합체는 모두 환원성 아민화에 의해 제조된다.
- [0079] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F 및 23F로부터의 당접합체는 모두 환원성 아민화에 의해 제조된다.
- [0080] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F 및 23F로부터의 당접합체는 모두 환원성 아민화에 의해 제조된다.
- [0081] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 모두 환원성 아민화에 의해 제조된다.
- [0082] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 12F, 14, 15C, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체는 모두 환원성 아민화에 의해 제조된다.
- [0083] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 15C, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체는 모두 환원성 아민화에 의해 제조된다.
- [0084] 환원성 아민화는 2개의 단계인 (1) 폴리사카라이드의 산화, (2) 활성화된 폴리사카라이드 및 담체 단백질의 환원을 통해 접합체를 형성하는 것을 수반한다. 산화되기 전에, 폴리사카라이드를 임의적으로 가수분해한다. 기계적 또는 화학적 가수분해를 이용할 수 있다. 화학적 가수분해는 아세트산을 이용하여 수행할 수 있다.
- [0085] 산화 단계는 퍼아이오데이트와의 반응을 수반할 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 용어 "퍼아이오데이트"는 퍼아이오데이트 및 퍼아이오딕산 둘 다를 포함하고; 상기 용어는 메타퍼아이오데이트 (IO_4^-) 및 오르토퍼아이오데이트 (IO_6^{5-}) 둘 다를 또한 포함하고, 퍼아이오데이트의 다양한 염 (예를 들어, 나트륨 퍼아이오데이트 및 칼륨 퍼아이오데이트)을 포함한다. 한 실시양태에서, 피막 폴리사카라이드는 메타퍼아이오데이트의 존재 하에, 바람직하게는 나트륨 퍼아이오데이트 (NaIO_4)의 존재 하에 산화된다. 또 다른 실시양태에서, 피막 폴리사카라이드는 오르토퍼아이오데이트의 존재 하에, 바람직하게는 퍼아이오딕산의 존재 하에 산화된다.
- [0086] 한 실시양태에서, 산화제는 1급 히드록실을 선택적으로 산화시키는 산화제의 존재 하에 안정한 니트록실 또는 니트록시드 라디칼 화합물, 예컨대 피페리딘-N-옥시 또는 피롤리딘-N-옥시 화합물이다 (WO 2014/097099에 기재

됨). 상기 반응에서, 실제 산화제는 촉매 사이클에서 N-옥소암모늄 염이다. 한 측면에서, 상기 안정한 니트록실 또는 니트록시드 라디칼 화합물은 피페리딘-N-옥시 또는 피롤리딘-N-옥시 화합물이다. 한 측면에서, 상기 안정한 니트록실 또는 니트록시드 라디칼 화합물은 TEMPO (2,2,6,6-테트라메틸-1-피페리딘닐옥시) 또는 PROXYL (2,2,5,5-테트라메틸-1-피롤리딘닐옥시) 모이어티를 보유한다. 한 측면에서, 상기 안정한 니트록실 라디칼 화합물은 TEMPO 또는 그의 유도체이다. 한 측면에서, 상기 산화제는 N-할로 모이어티를 보유하는 분자이다. 한 측면에서, 상기 산화제는 N-클로로숙신이미드, N-브로모숙신이미드, N-아이오도숙신이미드, 디클로로이소시아누르산, 1,3,5-트리클로로-1,3,5-트리아지난-2,4,6-트리온, 디브로모이소시아누르산, 1,3,5-트리브로모-1,3,5-트리아지난-2,4,6-트리온, 디아이오도이소시아누르산 및 1,3,5-트리아이오도-1,3,5-트리아지난-2,4,6-트리온으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직하게는 상기 산화제는 N-클로로숙신이미드이다.

[0087] 바람직한 실시양태에서, 혈청형 12F 에스. 뉴모니아에로부터의 피막 폴리사카라이드는 환원성 아민화에 의해 담체 단백질에 접합되고, 여기서 산화제는 공산화제로서 2,2,6,6-테트라메틸-1-피페리딘닐옥시 (TEMPO) 유리 라디칼 및 N-클로로숙신이미드 (NCS)이다 (WO 2014/097099에 기재됨). 따라서, 한 측면에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 12F로부터의 당접합체는 a) 수성 용매 중에서 12F 사카라이드를 2,2,6,6-테트라메틸-1-피페리딘닐옥시 (TEMPO) 및 N-클로로숙신이미드 (NCS)와 반응시켜 활성화된 사카라이드를 수득하는 단계; 및 b) 활성화된 사카라이드를 하나 이상의 아민 기를 포함하는 담체 단백질과 반응시키는 단계를 포함하는 방법에 의해 수득가능하다 (상기 방법은 이후 "TEMPO/NCS-환원성 아민화"로 지칭됨).

[0088] 임의적으로, 산화 반응은 켄칭제의 첨가에 의해 켄칭된다. 켄칭제는 비시날 디올, 1,2-아미노알콜, 아미노산, 글루타티온, 술파이트, 비술파이트, 디티오나이트, 메타비술파이트, 티오술파이트, 포스파이트, 하이포포스파이트 또는 아인산 (예컨대, 글리세롤, 에틸렌 글리콜, 프로판-1,2-디올, 부탄-1,2-디올 또는 부탄-2,3-디올, 아스코르브산)으로부터 선택될 수 있다.

[0089] 폴리사카라이드의 산화 단계 후에 폴리사카라이드가 활성화되며, 이는 이후 "활성화된 폴리사카라이드"로 지칭한다. 활성화된 폴리사카라이드 및 담체 단백질은 독립적으로 (별도의 동결건조) 또는 함께 (공동-동결건조) 동결건조 (냉동-건조)된다. 한 실시양태에서, 활성화된 폴리사카라이드 및 담체 단백질은 공동-동결건조된다. 또 다른 실시양태에서, 활성화된 폴리사카라이드 및 담체 단백질은 독립적으로 동결건조된다.

[0090] 한 실시양태에서, 동결건조는 비환원당의 존재 하에 수행하고, 가능한 비환원당은 수크로즈, 트레할로즈, 라피노즈, 스타키오즈, 멜레지토즈, 텍스트란, 만니톨, 락티톨 및 팔라티니트를 포함한다.

[0091] 접합 공정의 제2 단계는 환원제를 이용하여 활성화된 폴리사카라이드 및 담체 단백질을 환원시켜 접합체를 형성하는 것이다 (소위 환원성 아민화). 적합한 환원제는 시아노보로히드라이드 (예컨대, 브윈스테드 또는 루이스산의 존재 하의 나트륨 시아노보로히드라이드, 나트륨 트리아세톡시보로히드라이드 또는 나트륨 또는 아연 보로히드라이드), 아민 보란, 예컨대 피리딘 보란, 2-피콜린 보란, 2,6-디보란-메탄올, 디메틸아민-보란, t-BuMeⁱPrN-BH₃, 벤질아민-BH₃ 또는 5-에틸-2-메틸피리딘 보란 (PEMB) 또는 보로히드라이드 교환 수지를 포함한다. 한 실시양태에서, 환원제는 나트륨 시아노보로히드라이드이다.

[0092] 한 실시양태에서 환원 반응을 수성 용매 (예를 들어, 6.0 내지 8.5, 7.0 내지 8.0, 또는 7.0 내지 7.5의 pH에서 PBS, MES, HEPES, 비스-tris, ADA, PIPES, MOPSO, BES, MOPS, DIPSO, MOBS, HEPPSO, POPSO, TEA, EPPS, Bicine 또는 HEPB로부터 선택됨) 중에서 수행하고, 또 다른 실시양태에서 반응을 비양성자성 용매 중에서 수행한다. 한 실시양태에서, 환원 반응을 DMSO (디메틸설폭시드) 또는 DMF (디메틸포름아미드) 용매 중에서 수행한다. DMSO 또는 DMF 용매를 사용하여 동결건조되어 있는 활성화된 폴리사카라이드 및 담체 단백질을 재구성할 수 있다.

[0093] 환원 반응의 마지막에, 접합체에 미반응 알데히드 기가 남아 있을 수 있고, 이들을 적합한 캡핑제를 이용하여 캡핑할 수 있다. 한 실시양태에서, 이 캡핑제는 나트륨 보로히드라이드 (NaBH₄)이다. 접합 (환원 반응 및 임의적으로 캡핑) 이후, 당접합체를 통상의 기술자에게 공지된 다양한 기술에 의해 정제할 수 있다 (폴리사카라이드-단백질 접합체의 양과 관련하여 농후화시킴). 이들 기술은 투석, 농축/투석여과 작업, 집선 흐름 여과 침전/용리, 칼럼 크로마토그래피 (DEAE 또는 소수성 상호작용 크로마토그래피), 및 심층 여과를 포함한다. 한 실시양태에서, 당접합체를 투석여과 또는 이온 교환 크로마토그래피 또는 크기 배제 크로마토그래피에 의해 정제한다.

[0094] 한 실시양태에서, 당접합체를 멸균 여과한다.

[0095] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다.

[0096] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다.

[0097] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A 및 19A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다.

[0098] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 3, 6A 및 19A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다.

[0099] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F, 22F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다.

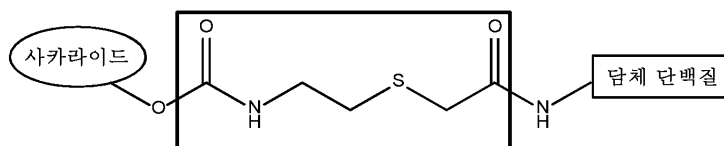
[0100] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F, 22F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다.

[0101] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F, 22F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A 및 19A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다.

[0102] 본 발명의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 18C, 19F, 22F 및 23F로부터의 당접합체는 CDAP 화학을 이용하여 제조되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 3, 6A 및 19A로부터의 당접합체는 환원성 아민화에 의해 제조된다.

[0103] 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 WO 2014/027302에 기재된 바와 같이 eTEC 접합을 이용하여 제조된다. 상기 당접합체는 하나 이상의 eTEC 스페이서를 통해 담체 단백질에 공유 접합된 사카라이드를 포함하고, 여기서 사카라이드는 카르바메이트 연결을 통해 eTEC 스페이서에 공유 접합되고, 담체 단백질은 아마이드 연결을 통해 eTEC 스페이서에 공유 접합된다. 본 발명의 eTEC 연결된 당접합체는 하기 화학식 I로 표시될 수 있다:

[0104] <화학식 I>



[0105] 여기서 eTEC 스페이서를 구성하는 원자들은 중앙 박스 안에 들어 있다.

[0107] eTEC 스페이서는 7개의 선형 원자 (즉, $-C(O)NH(CH_2)_2SCH_2C(O)-$)를 포함하고, 사카라이드와 담체 단백질 사이에 안정한 티오에테르 및 아마이드 결합을 제공한다. eTEC 연결된 당접합체의 합성은, 사카라이드의 활성화된 히드록실기와 티오알킬아민 시약, 예를 들어 시스타민 또는 시스테인아민 또는 그의 염의 아마이드기를 반응시켜 사카라이드로의 카르바메이트 연결을 형성하여 티올화 사카라이드를 제공하는 것을 수반한다. 환원제와의 반응에 의해 하나 이상의 유리 술폰히드릴기의 생성이 동반되어, 활성화된 티올화 사카라이드가 제공된다. 활성화된 티올화 사카라이드의 유리 술폰히드릴기와 아민 함유 잔기 상에 하나 이상의 α -할로아세트아미드기를 갖는 활성화된 담체 단백질의 반응에 의해 티오에테르 결합이 생성되어 접합체를 형성하며, 여기서 담체 단백질은 아마이드 결합을 통해 eTEC 스페이서에 부착된다.

[0108] 본 발명의 상기 당접합체에서, 사카라이드는 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드일 수 있다. 담체 단백질은 본원에 기재되거나 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 적합한 담체로부터 선택될 수 있다. 빈

변한 실시양태에서, 사카라이드는 폴리사카라이드이다. 이러한 일부 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다. 이러한 일부 실시양태에서, eTEC 연결된 당접합체는 에스. 뉴모니아에 혈청형 33F 피막 폴리사카라이드를 포함한다.

- [0109] 특히 바람직한 실시양태에서, eTEC 연결된 당접합체는 eTEC 스페이서를 통해 CRM₁₉₇에 공유 접합된 페렴구균 혈청형 33F (Pn33F) 피막 폴리사카라이드를 포함한다 (혈청형 33F eTEC 연결된 당접합체).
- [0110] 일부 실시양태에서, 본 발명의 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 7F, 9V 및/또는 18C로부터의 당접합체는 O-아세틸화된다. 일부 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 7F 및 9V로부터의 당접합체는 O-아세틸화되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체는 탈-O-아세틸화된다.
- [0111] 일부 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1로부터의 당접합체는 10 내지 100%, 20 내지 100%, 30 내지 100%, 40 내지 100%, 50 내지 100%, 60 내지 100%, 70 내지 100%, 75 내지 100%, 80 내지 100%, 90 내지 100%, 50 내지 90%, 60 내지 90%, 70 내지 90% 또는 80 내지 90%의 O-아세틸화 정도를 갖는 사카라이드를 포함한다. 다른 실시양태에서, O-아세틸화 정도는 $\geq 10\%$, $\geq 20\%$, $\geq 30\%$, $\geq 40\%$, $\geq 50\%$, $\geq 60\%$, $\geq 70\%$, $\geq 80\%$, $\geq 90\%$, 또는 약 100%이다.
- [0112] 일부 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 7F로부터의 당접합체는 10 내지 100%, 20 내지 100%, 30 내지 100%, 40 내지 100%, 50 내지 100%, 60 내지 100%, 70 내지 100%, 75 내지 100%, 80 내지 100%, 90 내지 100%, 50 내지 90%, 60 내지 90%, 70 내지 90% 또는 80 내지 90%의 O-아세틸화 정도를 갖는 사카라이드를 포함한다. 다른 실시양태에서, O-아세틸화 정도는 $\geq 10\%$, $\geq 20\%$, $\geq 30\%$, $\geq 40\%$, $\geq 50\%$, $\geq 60\%$, $\geq 70\%$, $\geq 80\%$, $\geq 90\%$, 또는 약 100%이다.
- [0113] 일부 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V로부터의 당접합체는 10 내지 100%, 20 내지 100%, 30 내지 100%, 40 내지 100%, 50 내지 100%, 60 내지 100%, 70 내지 100%, 75 내지 100%, 80 내지 100%, 90 내지 100%, 50 내지 90%, 60 내지 90%, 70 내지 90% 또는 80 내지 90%의 O-아세틸화 정도를 갖는 사카라이드를 포함한다. 다른 실시양태에서, O-아세틸화 정도는 $\geq 10\%$, $\geq 20\%$, $\geq 30\%$, $\geq 40\%$, $\geq 50\%$, $\geq 60\%$, $\geq 70\%$, $\geq 80\%$, $\geq 90\%$, 또는 약 100%이다.
- [0114] 일부 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체는 10 내지 100%, 20 내지 100%, 30 내지 100%, 40 내지 100%, 50 내지 100%, 60 내지 100%, 70 내지 100%, 75 내지 100%, 80 내지 100%, 90 내지 100%, 50 내지 90%, 60 내지 90%, 70 내지 90% 또는 80 내지 90%의 O-아세틸화 정도를 갖는 사카라이드를 포함한다. 다른 실시양태에서, O-아세틸화 정도는 $\geq 10\%$, $\geq 20\%$, $\geq 30\%$, $\geq 40\%$, $\geq 50\%$, $\geq 60\%$, $\geq 70\%$, $\geq 80\%$, $\geq 90\%$, 또는 약 100%이다. 바람직하게는, 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체는 탈-O-아세틸화된다. 상기 일부 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체는 0 내지 50%, 0 내지 40%, 0 내지 30%, 0 내지 20%, 0 내지 10%, 0 내지 5%, 또는 0 내지 2%의 O-아세틸화 정도를 갖는 사카라이드를 포함한다. 다른 실시양태에서, O-아세틸화 정도는 $\leq 50\%$, $\leq 40\%$, $\leq 30\%$, $\leq 20\%$, $\leq 10\%$, $\leq 5\%$, $\leq 2\%$, 또는 $\leq 1\%$ 이다.
- [0115] O-아세틸화 %는 100%를 기준으로 주어진 사카라이드의 백분율을 의미한다 (여기서 각각의 반복 단위는 그의 아세틸화 구조에 대해 완전히 아세틸화됨).
- [0116] 일부 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 10 kDa 내지 2,000 kDa의 분자량을 갖는 사카라이드를 포함한다. 다른 이러한 실시양태에서, 사카라이드는 50 kDa 내지 1,000 kDa의 분자량을 갖는다. 다른 이러한 실시양태에서, 사카라이드는 70 kDa 내지 900 kDa의 분자량을 갖는다. 다른 이러한 실시양태에서, 사카라이드는 100 kDa 내지 800 kDa의 분자량을 갖는다. 다른 이러한 실시양태에서, 사카라이드는 200 kDa 내지 600 kDa의 분자량을 갖는다. 이러한 추가의 실시양태에서, 사카라이드는 100 kDa 내지 1000 kDa; 100 kDa 내지 900 kDa; 100 kDa 내지 800 kDa; 100 kDa 내지 700 kDa; 100 kDa 내지 600 kDa; 100 kDa 내지 500 kDa; 100 kDa 내지 400 kDa; 100 kDa 내지 300 kDa; 150 kDa 내지 1,000 kDa; 150 kDa 내지 900 kDa; 150 kDa 내지 800 kDa; 150 kDa 내지 700 kDa; 150 kDa 내지 600 kDa; 150 kDa 내지 500 kDa; 150 kDa 내지 400 kDa; 150 kDa 내지 300 kDa; 200 kDa 내지 1,000 kDa; 200 kDa 내지 900 kDa; 200 kDa 내지 800 kDa; 200 kDa 내지 700 kDa; 200 kDa 내지 600 kDa; 200 kDa 내지 500 kDa; 200 kDa 내지 400 kDa; 200 kDa 내지 300; 250 kDa 내지 1,000 kDa; 250 kDa 내지 900 kDa; 250 kDa 내지 800 kDa; 250 kDa 내지 700 kDa; 250 kDa 내지 600 kDa; 250 kDa 내지 500 kDa; 250 kDa 내지 400 kDa; 250 kDa 내지 350 kDa; 300 kDa 내지 1,000 kDa; 300 kDa 내지 900 kDa; 300 kDa 내지 800 kDa; 300 kDa 내지 700 kDa; 300 kDa 내지 600 kDa; 300 kDa 내지 500 kDa; 300 kDa 내지 400 kDa; 400

kDa 내지 1,000 kDa; 400 kDa 내지 900 kDa; 400 kDa 내지 800 kDa; 400 kDa 내지 700 kDa; 400 kDa 내지 600 kDa; 500 kDa 내지 600 kDa의 분자량을 갖는다. 임의의 상기 범위 내의 임의의 정수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다. 이러한 일부 실시양태에서, 당접합체는 환원성 아민화를 이용하여 제조된다.

[0117] 일부 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 400 kDa 내지 15,000 kDa; 500 kDa 내지 10,000 kDa; 2,000 kDa 내지 10,000 kDa; 3,000 kDa 내지 8,000 kDa kDa; 또는 3,000 kDa 내지 5,000 kDa의 분자량을 갖는다. 다른 실시양태에서, 당접합체는 500 kDa 내지 10,000 kDa의 분자량을 갖는다. 다른 실시양태에서, 당접합체는 1,000 kDa 내지 8,000 kDa의 분자량을 갖는다. 여전히 다른 실시양태에서, 당접합체는 2,000 kDa 내지 8,000 kDa 또는 3,000 kDa 내지 7,000 kDa의 분자량을 갖는다. 추가의 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 200 kDa 내지 20,000 kDa; 200 kDa 내지 15,000 kDa; 200 kDa 내지 10,000 kDa; 200 kDa 내지 7,500 kDa; 200 kDa 내지 5,000 kDa; 200 kDa 내지 3,000 kDa; 200 kDa 내지 1,000 kDa; 500 kDa 내지 20,000 kDa; 500 kDa 내지 15,000 kDa; 500 kDa 내지 12,500 kDa; 500 kDa 내지 10,000 kDa; 500 kDa 내지 7,500 kDa; 500 kDa 내지 6,000 kDa; 500 kDa 내지 5,000 kDa; 500 kDa 내지 4,000 kDa; 500 kDa 내지 3,000 kDa; 500 kDa 내지 2,000 kDa; 500 kDa 내지 1,500 kDa; 500 kDa 내지 1,000 kDa; 750 kDa 내지 20,000 kDa; 750 kDa 내지 15,000 kDa; 750 kDa 내지 12,500 kDa; 750 kDa 내지 10,000 kDa; 750 kDa 내지 7,500 kDa; 750 kDa 내지 6,000 kDa; 750 kDa 내지 5,000 kDa; 750 kDa 내지 4,000 kDa; 750 kDa 내지 3,000 kDa; 750 kDa 내지 2,000 kDa; 750 kDa 내지 1,500 kDa; 1,000 kDa 내지 15,000 kDa; 1,000 kDa 내지 12,500 kDa; 1,000 kDa 내지 10,000 kDa; 1,000 kDa 내지 7,500 kDa; 1,000 kDa 내지 6,000 kDa; 1,000 kDa 내지 5,000 kDa; 1,000 kDa 내지 4,000 kDa; 1,000 kDa 내지 2,500 kDa; 2,000 kDa 내지 15,000 kDa; 2,000 kDa 내지 12,500 kDa; 2,000 kDa 내지 10,000 kDa; 2,000 kDa 내지 7,500 kDa; 2,000 kDa 내지 6,000 kDa; 2,000 kDa 내지 5,000 kDa; 2,000 kDa 내지 4,000 kDa; 또는 2,000 kDa 내지 3,000 kDa의 분자량을 갖는다.

[0118] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 3,000 kDa 내지 20,000 kDa; 3,000 kDa 내지 15,000 kDa; 3,000 kDa 내지 10,000 kDa; 3,000 kDa 내지 7,500 kDa; 3,000 kDa 내지 5,000 kDa; 4,000 kDa 내지 20,000 kDa; 4,000 kDa 내지 15,000 kDa; 4,000 kDa 내지 12,500 kDa; 4,000 kDa 내지 10,000 kDa; 4,000 kDa 내지 7,500 kDa; 4,000 kDa 내지 6,000 kDa; 또는 4,000 kDa 내지 5,000 kDa의 분자량을 갖는다.

[0119] 추가의 실시양태에서, 본 발명의 당접합체는 5,000 kDa 내지 20,000 kDa; 5,000 kDa 내지 15,000 kDa; 5,000 kDa 내지 10,000 kDa; 5,000 kDa 내지 7,500 kDa; 6,000 kDa 내지 20,000 kDa; 6,000 kDa 내지 15,000 kDa; 6,000 kDa 내지 12,500 kDa; 6,000 kDa 내지 10,000 kDa 또는 6,000 kDa 내지 7,500 kDa의 분자량을 갖는다.

[0120] 당접합체의 분자량은 SEC-MALLS에 의해 측정된다. 임의의 상기 범위 내의 임의의 정수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.

[0121] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 22F 당접합체는 적어도 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 또는 0.7 또는 약 0.8 mM 아세테이트/mM 혈청형 22F 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.5, 0.6 또는 0.7 mM 아세테이트/mM 혈청형 22F 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.6 mM 아세테이트/mM 혈청형 22F 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.7 mM 아세테이트/mM 혈청형 22F 폴리사카라이드를 포함한다.

[0122] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 33F 당접합체는 적어도 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 또는 0.8 mM 아세테이트/mM 혈청형 33F 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.5, 0.6 또는 0.7 mM 아세테이트/mM 혈청형 33F 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.6 mM 아세테이트/mM 혈청형 33F 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.7 mM 아세테이트/mM 혈청형 33F 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 0-아세틸 기의 존재는 이온-HPLC 분석에 의해 측정된다.

[0123] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 15B 당접합체는 적어도 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 또는 0.8 mM 아세테이트/mM 혈청형 15B 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.5, 0.6 또는 0.7 mM 아세테이트/mM 혈청형 15B 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.6 mM 아세테이트/mM 혈청형 15B 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.7 mM 아세테이트/mM 혈청형 15B 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 0-아세틸 기의 존재는 이온-HPLC 분석에 의해 측정된다.

[0124] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 15B 당접합체는 적어도 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 또는

0.8 mM 글리세롤/mM 혈청형 15B 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 15B 당접합체는 적어도 0.5, 0.6 또는 0.7 mM 글리세롤/mM 혈청형 15B 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 15B 당접합체는 적어도 0.6 mM 글리세롤/mM 혈청형 15B 피막 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 15B 당접합체는 적어도 0.7 mM 글리세롤/mM 혈청형 15B 피막 폴리사카라이드를 포함한다.

[0125] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 11A 당접합체는 적어도 0.3, 0.5, 0.6, 1.0, 1.4, 1.8, 2.2, 2.6, 3.0, 3.4, 3.8, 4.2, 4.6 또는 약 5.0 mM 아세테이트/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 혈청형 11A 당접합체는 적어도 1.8, 2.2 또는 2.6 mM 아세테이트/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 한 실시양태에서, 당접합체는 적어도 0.6 mM 아세테이트/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 11A 당접합체는 적어도 0.6, 1.0, 1.4, 1.8, 2.2, 2.6, 3.0, 3.4, 3.8, 4.2 또는 약 4.6 mM 아세테이트/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드 및 약 5.0 mM 미만의 아세테이트/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 11A 당접합체는 적어도 0.6, 1.0, 1.4, 1.8, 2.2, 2.6 또는 약 3.0 mM 아세테이트/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드 및 약 3.4 mM 미만의 아세테이트/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 11A 당접합체는 적어도 0.6, 1.0, 1.4, 1.8, 2.2, 2.6 또는 약 3.0 mM 아세테이트/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드 및 약 3.3 mM 미만의 아세테이트/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 임의의 상기 수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.

[0126] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 11A 당접합체는 적어도 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 또는 약 1.0 mM 글리세롤/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 혈청형 11A 당접합체는 적어도 0.2, 0.3 또는 0.4 mM 글리세롤/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 11A 당접합체는 적어도 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 또는 약 0.9 mM 글리세롤/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드 및 약 1.0 mM 미만의 글리세롤/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 혈청형 11A 당접합체는 적어도 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 또는 약 0.7 mM 글리세롤/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드 및 약 0.8 mM 미만의 글리세롤/mM 혈청형 11A 폴리사카라이드를 포함한다. 임의의 상기 수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.

[0127] 본 발명의 당접합체를 특성화하는 또 다른 방식은 사카라이드에 접합되는 담체 단백질 (예를 들어, CRM₁₉₇) 중 리신 잔기의 수이며, 이는 접합된 리신의 범위 (접합 정도)로서 특성화될 수 있다. 폴리사카라이드로의 공유 연결로 인한 담체 단백질의 리신 변형에 대한 증거는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 일상적인 방법에 의해 획득될 수 있다. 접합으로 인해, 접합체 물질을 생성하기 위해 사용된 담체 단백질 출발 물질에 비해 회수된 리신 잔기의 수가 감소한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합 정도는 2 내지 15, 2 내지 13, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 2 내지 5, 2 내지 4, 3 내지 15, 3 내지 13, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 6, 3 내지 5, 3 내지 4, 5 내지 15, 5 내지 10, 8 내지 15, 8 내지 12, 10 내지 15 또는 10 내지 12이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합 정도는 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14 또는 약 15이다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 당접합체의 접합 정도는 4 내지 7이다. 이러한 일부 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다.

[0128] 본 발명의 당접합체는 또한 사카라이드 대 담체 단백질의 비 (중량/중량)로서 특성화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 당접합체에서 폴리사카라이드 대 담체 단백질의 비 (w/w)는 0.5 내지 3 (예를 들어, 약 0.5, 약 0.6, 약 0.7, 약 0.8, 약 0.9, 약 1.0, 약 1.1, 약 1.2, 약 1.3, 약 1.4, 약 1.5, 약 1.6, 약 1.7, 약 1.8, 약 1.9, 약 2.0, 약 2.1, 약 2.2, 약 2.3, 약 2.4, 약 2.5, 약 2.6, 약 2.7, 약 2.8, 약 2.9, 또는 약 3.0)이다. 다른 실시양태에서, 사카라이드 대 담체 단백질 비 (w/w)는 0.5 내지 2.0, 0.5 내지 1.5, 0.8 내지 1.2, 0.5 내지 1.0, 1.0 내지 1.5 또는 1.0 내지 2.0이다. 추가의 실시양태에서, 사카라이드 대 담체 단백질 비 (w/w)는 0.8 내지 1.2이다. 바람직한 실시양태에서, 접합체에서 피막 폴리사카라이드 대 담체 단백질의 비는 0.9 내지 1.1이다. 이러한 일부 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다.

[0129] 본 발명의 당접합체 및 면역원성 조성물은 담체 단백질에 공유 접합되지 않았지만 그럼에도 불구하고 당접합체 조성물 중에 존재하는 유리 사카라이드를 함유할 수 있다. 유리 사카라이드는 당접합체와 비-공유적으로 회합될 수 있다 (즉, 그에 비-공유적으로 결합되거나, 그에 흡착되거나, 또는 그 안에 또는 그와 함께 포획됨).

[0130] 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 폴리사카라이드의 총량을 기준으로 약 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20% 또는 15% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 폴리사카라이드의 총량

을 기준으로 약 25% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 폴리사카라이드의 총량을 기준으로 약 20% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체는 폴리사카라이드의 총량을 기준으로 약 15% 미만의 유리 폴리사카라이드를 포함한다.

[0131] 당접합체는 또한 분자 크기 분포 (K_d)로 특성화될 수 있다. 크기 배제 크로마토그래피 매질 (CL-4B)을 사용하여 접합체의 상대적인 분자 크기 분포를 측정할 수 있다. 접합체의 분자 크기 분포를 프로파일링하기 위해 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)를 중력 공급 칼럼에서 사용한다. 매질의 공극으로부터 배제된 큰 분자는 작은 분자에 비해 더욱 신속히 용리된다. 분획 수집기를 사용하여 칼럼 용리물을 수집한다. 분획을 사카라이드 검정에 의해 비색 시험한다. K_d 의 측정을 위해, 칼럼을 보정하여, 분자가 완전히 배제된 분획 (V_0), ($K_d=0$), 및 최대 보유를 나타내는 분획 (V_i), ($K_d=1$)을 정립한다. 명시된 샘플 속성에 도달한 분획 (V_e)은 K_d 와 관련이 있으며, 이는 $K_d = (V_e - V_0) / (V_i - V_0)$ 으로 표현된다.

[0132] 바람직한 실시양태에서, 당접합체의 적어도 30%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체의 적어도 40%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체의 적어도 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80% 또는 85%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체의 적어도 60%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체의 50% 내지 80%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다. 바람직한 실시양태에서, 당접합체의 65% 내지 80%는 CL-4B 칼럼에서 0.3 이하의 K_d 를 갖는다.

[0133] 담체 단백질 상의 리신으로 사카라이드 쇄의 부착 빈도는 본 발명의 당접합체를 특성화하기 위해 사용되는 또 다른 파라미터이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 담체 단백질과 폴리사카라이드 사이의 적어도 1개의 공유 연결은 폴리사카라이드의 4개 사카라이드 반복 단위마다 발생한다. 또 다른 실시양태에서, 담체 단백질과 폴리사카라이드 사이의 공유 연결은 폴리사카라이드의 10개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1개 발생한다. 또 다른 실시양태에서, 담체 단백질과 폴리사카라이드 사이의 공유 연결은 폴리사카라이드의 15개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1개 발생한다. 추가의 실시양태에서, 담체 단백질과 폴리사카라이드 사이의 공유 연결은 폴리사카라이드의 25개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1개 발생한다.

[0134] 빈번한 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이고, CRM₁₉₇과 폴리사카라이드 사이의 eTEC 스페이서를 통한 공유 연결은 폴리사카라이드의 4, 10, 15 또는 25개 사카라이드 반복 단위마다 적어도 1개 발생한다.

[0135] 다른 실시양태에서, 접합체는 5 내지 10개 사카라이드 반복 단위마다; 2 내지 7개 사카라이드 반복 단위마다; 3 내지 8개 사카라이드 반복 단위마다; 4 내지 9개 사카라이드 반복 단위마다; 6 내지 11개 사카라이드 반복 단위마다; 7 내지 12개 사카라이드 반복 단위마다; 8 내지 13개 사카라이드 반복 단위마다; 9 내지 14개 사카라이드 반복 단위마다; 10 내지 15개 사카라이드 반복 단위마다; 2 내지 6 사카라이드 반복 단위마다, 3 내지 7개 사카라이드 반복 단위마다; 4 내지 8개 사카라이드 반복 단위마다; 6 내지 10개 사카라이드 반복 단위마다; 7 내지 11개 사카라이드 반복 단위마다; 8 내지 12개 사카라이드 반복 단위마다; 9 내지 13개 사카라이드 반복 단위마다; 10 내지 14개 사카라이드 반복 단위마다; 10 내지 20개 사카라이드 반복 단위마다; 4 내지 25 사카라이드 반복 단위 또는 2 내지 25개 사카라이드 반복 단위마다 담체 단백질과 사카라이드 사이의 적어도 1개의 공유 연결을 포함한다. 빈번한 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다.

[0136] 또 다른 실시양태에서, 담체 단백질과 사카라이드 사이의 적어도 1개의 연결은 폴리사카라이드의 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25개 사카라이드 반복 단위마다 발생한다. 한 실시양태에서, 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다. 임의의 상기 범위 내의 임의의 정수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.

[0137] 1.4 본 발명의 당접합체의 조합

[0138] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 본원에 개시된 임의의 당접합체를 포함한다.

[0139] 1.4.1 당접합체의 조합

[0140] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V로부터의 적어도 1종의 당접합체를 포함한다.

- [0141] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하기 2가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 포함한다: 9V 및 4, 9V 및 6B, 9V 및 14, 9V 및 18C, 9V 및 19F 또는 9V 및 23F.
- [0142] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하기 7가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 포함한다: 9V, 4, 6B, 14, 18C, 19F 및 23F.
- [0143] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하기 8가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 포함한다: 9V, 1, 4, 6B, 14, 18C, 19F 및 23F; 9V, 4, 5, 6B, 14, 18C, 19F 및 23F; 9V, 4, 6B, 7F, 14, 18C, 19F 및 23F.
- [0144] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하기 10가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 포함한다: 9V, 1, 5, 4, 6B, 7F, 14, 18C, 19F 및 23F.
- [0145] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하기 11가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 포함한다: 9V, 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 14, 18C, 19F 및 23F; 9V, 1, 4, 5, 6B, 7F, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F.
- [0146] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하기 12가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 포함한다: 9V, 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F.
- [0147] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하기 13가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 포함한다: 9V, 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F.
- [0148] **1.4.2 당접합체의 추가의 조합**
- [0149] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 15B의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0150] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 22F의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0151] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 33F의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0152] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 8의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0153] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 10A의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0154] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 11A의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0155] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 12F의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0156] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 하기 2가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다:
- [0157] 15B 및 22F,
- [0158] 15B 및 33F,
- [0159] 15B 및 12F,
- [0160] 15B 및 10A,
- [0161] 15B 및 11A,
- [0162] 15B 및 8,
- [0163] 22F 및 33F,
- [0164] 22F 및 12F,

[0165]	22F 및 10A,
[0166]	22F 및 11A,
[0167]	22F 및 8,
[0168]	33F 및 12F,
[0169]	33F 및 10A,
[0170]	33F 및 11A,
[0171]	33F 및 8,
[0172]	12F 및 10A,
[0173]	12F 및 11A,
[0174]	12F 및 8,
[0175]	10A 및 11A,
[0176]	10A 및 8, 또는
[0177]	11A 및 8.
[0178]	한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 하기 3가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다:
[0179]	15B 및 22F 및 33F,
[0180]	15B 및 22F 및 12F,
[0181]	15B 및 22F 및 10A,
[0182]	15B 및 22F 및 11A,
[0183]	15B 및 22F 및 8,
[0184]	15B 및 33F 및 12F,
[0185]	15B 및 33F 및 10A,
[0186]	15B 및 33F 및 11A,
[0187]	15B 및 33F 및 8,
[0188]	15B 및 12F 및 10A,
[0189]	15B 및 12F 및 11A,
[0190]	15B 및 12F 및 8,
[0191]	15B 및 10A 및 11A,
[0192]	15B 및 10A 및 8,
[0193]	15B 및 11A 및 8,
[0194]	22F 및 33F 및 12F,
[0195]	22F 및 33F 및 10A,
[0196]	22F 및 33F 및 11A,
[0197]	22F 및 33F 및 8,
[0198]	22F 및 12F 및 10A,
[0199]	22F 및 12F 및 11A,

[0200]	22F 및 12F 및 8,
[0201]	22F 및 10A 및 11A,
[0202]	22F 및 10A 및 8,
[0203]	22F 및 11A 및 8,
[0204]	33F 및 12F 및 10A,
[0205]	33F 및 12F 및 11A,
[0206]	33F 및 12F 및 8,
[0207]	33F 및 10A 및 11A,
[0208]	33F 및 10A 및 8,
[0209]	33F 및 11A 및 8,
[0210]	12F 및 10A 및 11A,
[0211]	12F 및 10A 및 8,
[0212]	12F 및 11A 및 8, 또는
[0213]	10A 및 11A 및 8.
[0214]	한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 하기 4가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다:
[0215]	15B 및 22F 및 33F 및 12F,
[0216]	15B 및 22F 및 33F 및 10A,
[0217]	15B 및 22F 및 33F 및 11A,
[0218]	15B 및 22F 및 33F 및 8,
[0219]	15B 및 22F 및 12F 및 10A,
[0220]	15B 및 22F 및 12F 및 11A,
[0221]	15B 및 22F 및 12F 및 8,
[0222]	15B 및 22F 및 10A 및 11A,
[0223]	15B 및 22F 및 10A 및 8,
[0224]	15B 및 22F 및 11A 및 8,
[0225]	15B 및 33F 및 12F 및 10A,
[0226]	15B 및 33F 및 12F 및 11A,
[0227]	15B 및 33F 및 12F 및 8,
[0228]	15B 및 33F 및 10A 및 11A,
[0229]	15B 및 33F 및 10A 및 8,
[0230]	15B 및 33F 및 11A 및 8,
[0231]	15B 및 12F 및 10A 및 11A,
[0232]	15B 및 12F 및 10A 및 8,
[0233]	15B 및 12F 및 11A 및 8,
[0234]	15B 및 10A 및 11A 및 8,

- [0235] 22F 및 33F 및 12F 및 10A,
- [0236] 22F 및 33F 및 12F 및 11A,
- [0237] 22F 및 33F 및 12F 및 8,
- [0238] 22F 및 33F 및 10A 및 11A,
- [0239] 22F 및 33F 및 10A 및 8,
- [0240] 22F 및 33F 및 11A 및 8,
- [0241] 22F 및 12F 및 10A 및 11A,
- [0242] 22F 및 12F 및 10A 및 8,
- [0243] 22F 및 12F 및 11A 및 8,
- [0244] 22F 및 10A 및 11A 및 8,
- [0245] 33F 및 12F 및 10A 및 11A,
- [0246] 33F 및 12F 및 10A 및 8,
- [0247] 33F 및 12F 및 11A 및 8,
- [0248] 33F 및 10A 및 11A 및 8 또는
- [0249] 12F 및 10A 및 11A 및 8.
- [0250] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 하기 5가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다:
- [0251] 15B 및 22F 및 33F 및 12F 및 10A,
- [0252] 15B 및 22F 및 33F 및 12F 및 11A,
- [0253] 15B 및 22F 및 33F 및 12F 및 8,
- [0254] 15B 및 22F 및 33F 및 10A 및 11A,
- [0255] 15B 및 22F 및 33F 및 10A 및 8,
- [0256] 15B 및 22F 및 33F 및 11A 및 8,
- [0257] 15B 및 22F 및 12F 및 10A 및 11A,
- [0258] 15B 및 22F 및 12F 및 10A 및 8,
- [0259] 15B 및 22F 및 12F 및 11A 및 8,
- [0260] 15B 및 22F 및 10A 및 11A 및 8,
- [0261] 15B 및 33F 및 12F 및 10A 및 11A,
- [0262] 15B 및 33F 및 12F 및 10A 및 8,
- [0263] 15B 및 33F 및 12F 및 11A 및 8,
- [0264] 15B 및 33F 및 10A 및 11A 및 8,
- [0265] 15B 및 12F 및 10A 및 11A 및 8,
- [0266] 22F 및 33F 및 12F 및 10A 및 11A,
- [0267] 22F 및 33F 및 12F 및 10A 및 8,
- [0268] 22F 및 33F 및 12F 및 11A 및 8,
- [0269] 22F 및 33F 및 10A 및 11A 및 8,

- [0270] 22F 및 12F 및 10A 및 11A 및 8 또는
- [0271] 33F 및 12F 및 10A 및 11A 및 8.
- [0272] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 하기 6가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다:
- [0273] 15B 및 22F 및 33F 및 12F 및 10A 및 11A,
- [0274] 15B 및 22F 및 33F 및 12F 및 10A 및 8,
- [0275] 15B 및 22F 및 33F 및 12F 및 11A 및 8,
- [0276] 15B 및 22F 및 33F 및 10A 및 11A 및 8,
- [0277] 15B 및 22F 및 12F 및 10A 및 11A 및 8,
- [0278] 15B 및 33F 및 12F 및 10A 및 11A 및 8 또는
- [0279] 22F 및 33F 및 12F 및 10A 및 11A 및 8.
- [0280] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 하기 7가지 에스. 뉴모니아에 혈청형 각각의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함한다: 15B 및 22F 및 33F 및 12F 및 10A 및 11A 및 8.
- [0281] 한 실시양태에서, 상기 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 2로부터의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0282] 한 실시양태에서, 상기 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 17로부터의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0283] 한 실시양태에서, 상기 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 20으로부터의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0284] 한 실시양태에서, 상기 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 15C로부터의 당접합체를 추가로 포함한다.
- [0285] 바람직하게는, 상기 면역원성 조성물의 모든 당접합체는 담체 단백질에 개별적으로 접합된다.
- [0286] 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 22F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 33F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 15B로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 12F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 10A로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 11A로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 8로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 4, 6B, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 5 및 7F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A 및 19A로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 2로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 17F로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 20으로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다. 임의의 상기 면역원성 조성물의 한

실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 15C로부터의 당접합체는 CRM₁₉₇에 접합된다.

- [0287] 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물의 당접합체는 모두 개별적으로 CRM₁₉₇에 접합된다.
- [0288] 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V로부터의 당접합체는 개별적으로 PD에 접합된다.
- [0289] 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및/또는 23F로부터의 당접합체는 개별적으로 PD에 접합된다.
- [0290] 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체는 TT에 접합된다.
- [0291] 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 19F로부터의 당접합체는 DT에 접합된다.
- [0292] 한 실시양태에서, 임의의 상기 면역원성 조성물의 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및/또는 23F로부터의 당접합체는 개별적으로 PD에 접합되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체는 TT에 접합되고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19F로부터의 당접합체는 DT에 접합된다.
- [0293] 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에의 7 내지 24가지의 상이한 혈청형을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24가지의 상이한 혈청형으로부터의 당접합체를 포함한다.
- [0294] 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에의 7 내지 20가지의 상이한 혈청형을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20가지의 상이한 혈청형으로부터의 당접합체를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 16 또는 20가지의 상이한 혈청형으로부터의 당접합체를 포함한다.
- [0295] 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20-가 페렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 14, 15, 16, 17, 18 또는 19-가 페렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 16-가 페렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 19-가 페렴구균 접합체 조성물이다. 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물은 20-가 페렴구균 접합체 조성물이다.
- [0296] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체를 포함한다.
- [0297] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체를 포함한다.
- [0298] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 접합된 에스. 뉴모니아에 사카라이드를 포함한다.
- [0299] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 혈청형 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 접합된 에스. 뉴모니아에 사카라이드를 포함한다.
- [0300] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물의 당접합체는 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체로 이루어진다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물의 당접합체는 혈청형 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체로 이루어진다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물의 당접합체는 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체로 이루어진다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물의 당접합체는 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F 및 33F로부터의 당접합체로 이루어진다.
- [0301] 바람직하게는, 본 발명의 모든 면역원성 조성물의 당접합체는 개별적으로 담체 단백질에 접합된다. 한 실시양태에서, 상기 면역원성 조성물의 당접합체는 개별적으로 CRM₁₉₇에 접합된다.

[0302] **1.4.3 당접합체의 추가의 조합**

- [0303] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1 또는 1.4.2에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는다.
- [0304] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1 또는 1.4.2에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는다.
- [0305] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1 또는 1.4.2에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는다.
- [0306] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1 또는 1.4.2에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는다.
- [0307] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1 또는 1.4.2에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는다.
- [0308] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1 또는 1.4.2에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는다.
- [0309] 한 실시양태에서, 상기 1.4.1 또는 1.4.2에서 정의된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는다.
- [0310] 피막 폴리사카라이드가 담체 단백질에 접합된 후에, 당접합체를 다양한 기술에 의해 정제한다 (폴리사카라이드-단백질 접합체의 양과 관련하여 농후화시킴). 이들 기술은 농축/투석여과 작업, 침전/용리, 칼럼 크로마토그래피, 및 심층 여과를 포함한다. 예를 들어, 미국 출원 공보 번호 2007/0184072 및 WO 2008/079653을 참조한다. 개별적인 당접합체를 정제한 후에, 이들을 배합하여 본 발명의 면역원성 조성물을 제제화한다.
- [0311] **2 면역원성 조성물의 용량**
- [0312] **2.1 폴리사카라이드의 양**
- [0313] 각각의 용량에서 당접합체(들)의 양은 전형적인 백신에서 유의한 부작용 없이 면역보호 반응을 유도하는 양으로서 선택된다. 이러한 양은 어떠한 특이적인 면역원이 사용되는지와 그것이 어떻게 제시되는지에 따라 달라질 것이다.
- [0314] 면역원성 조성물 중 특정한 당접합체의 양은 해당 접합체에 대한 전체 폴리사카라이드 (접합된 및 비-접합된)를 기준으로 하여 계산될 수 있다. 예를 들어, 20% 유리 폴리사카라이드를 갖는 당접합체는 100 μ g의 폴리사카라이드 용량 중에 약 80 μ g의 접합된 폴리사카라이드 및 약 20 μ g의 비-접합된 폴리사카라이드를 가질 것이다. 당접합체의 양은 스트렙토코쿠스 혈청형에 따라 달라질 수 있다. 사카라이드 농도는 우론산 검정에 의해 측정될 수 있다.
- [0315] 면역원성 조성물 중 상이한 폴리사카라이드 구성성분의 "면역원성 양"은 서로 다를 수 있고, 각각 약 1.0 μ g, 약 2.0 μ g, 약 3.0 μ g, 약 4.0 μ g, 약 5.0 μ g, 약 6.0 μ g, 약 7.0 μ g, 약 8.0 μ g, 약 9.0 μ g, 약 10.0 μ g, 약 15.0 μ g, 약 20.0 μ g, 약 30.0 μ g, 약 40.0 μ g, 약 50.0 μ g, 약 60.0 μ g, 약 70.0 μ g, 약 80.0 μ g, 약 90.0 μ g, 또는 약 100.0 μ g의 임의의 특정한 폴리사카라이드 항원을 포함할 수 있다.
- [0316] 일반적으로, 각각의 용량은 주어진 혈청형에 대한 폴리사카라이드를 0.1 μ g 내지 100 μ g, 특히 0.5 μ g 내지 20 μ g, 더욱 특히 1 μ g 내지 10 μ g, 및 훨씬 더 특히 2 μ g 내지 5 μ g 포함한다. 임의의 상기 범위 내의 임의의 정수는 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.
- [0317] 한 실시양태에서, 각각의 용량은 주어진 혈청형에 대한 폴리사카라이드를 1 μ g, 2 μ g, 3 μ g, 4 μ g, 5 μ g, 6 μ g, 7 μ g, 8 μ g, 9 μ g, 10 μ g, 15 μ g 또는 20 μ g 포함한다.
- [0318] **2.2 담체의 양**
- [0319] 일반적으로, 각각의 용량은 5 μ g 내지 150 μ g의 담체 단백질, 특히 10 μ g 내지 100 μ g의 담체 단백질, 더욱 특히 15 μ g 내지 100 μ g의 담체 단백질, 더욱 특히 25 내지 75 μ g의 담체 단백질, 더욱 특히 30 μ g 내지 70 μ g의 담체 단백질, 더욱 특히 30 내지 60 μ g의 담체 단백질, 더욱 특히 30 μ g 내지 50 μ g의 담체 단백질 및 훨씬 더 특히 40 내지 60 μ g의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 상기 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다.

- [0320] 한 실시양태에서, 각각의 용량은 약 25 μg , 약 26 μg , 약 27 μg , 약 28 μg , 약 29 μg , 약 30 μg , 약 31 μg , 약 32 μg , 약 33 μg , 약 34 μg , 약 35 μg , 약 36 μg , 약 37 μg , 약 38 μg , 약 39 μg , 약 40 μg , 약 41 μg , 약 42 μg , 약 43 μg , 약 44 μg , 약 45 μg , 약 46 μg , 약 47 μg , 약 48 μg , 약 49 μg , 약 50 μg , 약 51 μg , 약 52 μg , 약 53 μg , 약 54 μg , 약 55 μg , 약 56 μg , 약 57 μg , 약 58 μg , 약 59 μg , 약 60 μg , 약 61 μg , 약 62 μg , 약 63 μg , 약 64 μg , 약 65 μg , 약 66 μg , 약 67 μg , 68 μg , 약 69 μg , 약 70 μg , 약 71 μg , 약 72 μg , 약 73 μg , 약 74 μg 또는 약 75 μg 의 담체 단백질을 포함할 것이다. 한 실시양태에서, 상기 담체 단백질은 CRM₁₉₇이다.
- [0321] **3 추가의 항원**
- [0322] 본 발명의 면역원성 조성물은 접합된 에스. 뉴모니아에 사카라이드 항원 (당접합체)을 포함한다. 이들은 또한 다른 병원균으로부터의 항원, 특히 박테리아 및/또는 바이러스로부터의 항원을 추가로 포함할 수 있다. 바람직한 추가의 항원은 디프테리아 독소이드 (D), 파상풍 독소이드 (T), 백일해 항원 (P), 전형적으로 무세포성 백일해 항원 (Pa), B형 간염 바이러스 (HBV) 표면 항원 (HBsAg), A형 간염 바이러스 (HAV) 항원, 접합된 헤모필루스 인프루엔자에 b형 피막 사카라이드 (Hib), 불활성화 폴리오바이러스 백신 (IPV)으로부터 선택된다.
- [0323] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 D-T-Pa를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 D-T-Pa-Hib, D-T-Pa-IPV 또는 D-T-Pa-HBsAg를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 D-T-Pa-HBsAg-IPV 또는 D-T-Pa-HBsAg-Hib를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 D-T-Pa-HBsAg-IPV-Hib를 포함한다.
- [0324] 백일해 항원: 보르데텔라 페르투스시스(*Bordetella pertussis*)는 백일해를 초래한다. 백신 중의 백일해 항원은 세포성 (전세포, 불활성화된 비. 페르투스시스 세포의 형태) 또는 무세포성이다. 세포성 백일해 항원의 제조는 널리 문서화되어 있다 (예를 들어, 이는 비. 페르투스시스의 I상 배양물의 열 불활성화에 의해 획득될 수 있음). 그러나, 바람직하게는 본 발명은 무세포성 항원을 사용한다. 무세포성 항원이 사용되는 경우, 하기 항원 중 1종, 2종 또는 (바람직하게는) 3종을 사용하는 것이 바람직하다: (1) 해독된 백일해 독소 (백일해 독소이드, 또는 PT); (2) 필라멘트형 혈구 응집소 (FHA); (3) 페르타틴 (69 킬로달톤의 외막 단백질로도 공지됨). FHA 및 페르타틴을 본 발명에 따라 사용하기 전에 포름알데히드로 처리할 수 있다. PT는 바람직하게는 포름알데히드 및/또는 글루타르알데히드로의 처리에 의해 해독된다. 무세포성 백일해 항원을 바람직하게는 1종 이상의 알루미늄 염 아주반트 상에 흡착시킨다. 대안적으로, 이들은 흡착되지 않은 상태로 첨가될 수 있다. 페르타틴을 첨가하는 경우에는, 수산화알루미늄 아주반트 상에 미리 흡착시키는 것이 바람직하다. PT 및 FHA를 수산화알루미늄 아주반트 또는 인산알루미늄 상에 흡착시킬 수 있다. PT, FHA 및 페르타틴 모두를 수산화알루미늄에 흡착시키는 것이 가장 바람직하다.
- [0325] 불활성화 폴리오바이러스 백신: 폴리오바이러스는 소아마비를 초래한다. 경구 폴리오바이러스 백신을 사용하기 보다는, 본 발명의 바람직한 실시양태는 IPV를 사용한다. 환자에게 투여하기 전에, 폴리오바이러스를 불활성화시켜야 하고, 이는 포름알데히드 처리에 의해 달성될 수 있다. 소아마비는 3가지 유형의 폴리오바이러스 중 하나에 의해 초래될 수 있다. 상기 3가지 유형은 유사하고, 동일한 증상을 초래하지만, 이들은 항원적으로 상이하고, 1가지 유형에 의한 감염은 다른 것에 의한 감염에 대해 보호하지 않는다. 따라서, 본 발명에서는 3가지 폴리오바이러스 항원: 폴리오바이러스 유형 1 (예를 들어, 마호니(Mahoney) 균주), 폴리오바이러스 유형 2 (예를 들어, MEF-1 균주), 및 폴리오바이러스 유형 3 (예를 들어, 사우켓(Saukett) 균주)을 사용하는 것이 바람직하다. 바람직하게는 바이러스를 성장시키고, 정제하고, 개별적으로 불활성화시킨 다음, 조합하여, 본 발명에서 사용하기 위한 벌크 3가 혼합물을 제공한다.
- [0326] 디프테리아 독소이드: 코리네박테리움 디프테리아에는 디프테리아를 초래한다. 디프테리아 독소를 (예를 들어, 포르말린 또는 포름알데히드를 사용하여) 처리하여, 주사 후에 특이적 항-독소 항체를 도출하는 능력을 유지하면서 독성을 제거할 수 있다. 이들 디프테리아 독소이드는 디프테리아 백신에서 사용된다. 바람직한 디프테리아 독소이드는 포름알데히드 처리에 의해 제조되는 것들이다. 디프테리아 독소이드는 성장 배지에서 씨. 디프테리아에를 성장시킨 후, 포름알데히드 처리, 한외여과 및 침전을 수행함으로써 획득될 수 있다. 이어서, 독소이드화된 물질을 멸균 여과 및/또는 투석을 포함하는 공정으로 처리할 수 있다. 바람직하게는 디프테리아 독소이드를 수산화알루미늄 아주반트 상에 흡착시킨다.
- [0327] 파상풍 독소이드: 클로스트리디움 테타니(*Clostridium tetani*)는 파상풍을 초래한다. 파상풍 독소를 처리하여 보호성 독소이드를 제공할 수 있다. 상기 독소이드를 파상풍 백신에 사용한다. 바람직한 파상풍 독소이드는

포름알데히드 처리에 의해 제조된 것들이다. 과산화물 특소이드는 성장 배지에서 씨, 테타니를 성장시킨 후, 포름알데히드 처리, 한외여과 및 침전을 수행함으로써 수득될 수 있다. 이어서, 상기 물질을 멸균 여과 및/또는 투석을 포함하는 공정으로 처리할 수 있다.

- [0328] A형 간염 바이러스 항원: A형 간염 바이러스 (HAV)는 바이러스성 간염을 초래하는 공지된 작용제 중 하나이다. 바람직한 HAV 구성성분은 불활성화 바이러스를 기재로 하고, 불활성화는 포르말린 처리에 의해 달성될 수 있다.
- [0329] B형 간염 바이러스 (HBV)는 바이러스성 간염을 초래하는 공지된 작용제 중 하나이다. 캡시드의 주요 구성성분은 HBV 표면 항원, 또는 보다 흔하게는 HBsAg로 공지된 단백질이며, 이는 전형적으로 ~24 kDa의 분자량을 갖는 226개 아미노산 폴리펩티드이다. 모든 존재하는 B형 간염 백신은 HBsAg를 함유하고, 이 항원을 정상 백신에 투여하는 경우, 이는 HBV 감염에 대해 보호하는 항-HBsAg 항체의 생산을 자극한다.
- [0330] 백신 제조를 위해, HBsAg를 2가지 방식으로 제조하였다: 만성 B형 간염 보균자의 혈장으로부터 특정한 형태의 항원의 정제, 또는 재조합 DNA 방법에 의한 단백질의 발현 (예를 들어, 효모 세포에서 재조합 발현). 천연 HBsAg (즉, 혈장-정제된 생성물로서)와는 달리, 효모-발현된 HBsAg는 일반적으로 글리코실화되지 않고, 이는 본 발명에서 사용하기에 가장 바람직한 HBsAg 형태이다.
- [0331] 접합된 헤모필루스 인프루엔자에 b형 항원: 헤모필루스 인프루엔자에 b형 (Hib)은 박테리아성 수막염을 초래한다. Hib 백신은 전형적으로 피막 사카라이드 항원을 기재로 하며, 그의 제조는 널리 문서화되어 있다. 특히 소아에서 면역원성을 증강시키기 위해 Hib 사카라이드를 담체 단백질에 접합시킬 수 있다. 전형적인 담체 단백질은 과산화물 특소이드, 디프테리아 특소이드, CRM197, 에이치. 인플루엔자 단백질 D, 및 혈청군 B 메니고코쿠스로부터의 외막 단백질 복합체이다. 접합체의 사카라이드 모이어티는 Hib 박테리아로부터 제조되는 전장 폴리리보실리비톨 포스페이트 (PRP) 및/또는 전장 PRP의 단편을 포함할 수 있다. Hib 접합체를 알루미늄 염 아주반트 상에 흡착시키거나 흡착시키지 않을 수 있다.
- [0332] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 접합된 엔. 메닌기티디스 혈청군 Y 피막 사카라이드 (MenY) 및/또는 접합된 엔. 메닌기티디스 혈청군 C 피막 사카라이드 (MenC)를 추가로 포함한다.
- [0333] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 접합된 엔. 메닌기티디스 혈청군 A 피막 사카라이드 (MenA), 접합된 엔. 메닌기티디스 혈청군 W135 피막 사카라이드 (MenW135), 접합된 엔. 메닌기티디스 혈청군 Y 피막 사카라이드 (MenY) 및/또는 접합된 엔. 메닌기티디스 혈청군 C 피막 사카라이드 (MenC)를 추가로 포함한다.
- [0334] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 접합된 엔. 메닌기티디스 혈청군 W135 피막 사카라이드 (MenW135), 접합된 엔. 메닌기티디스 혈청군 Y 피막 사카라이드 (MenY) 및/또는 접합된 엔. 메닌기티디스 혈청군 C 피막 사카라이드 (MenC)를 추가로 포함한다.
- [0335] **4 아주반트(들)**
- [0336] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 적어도 1종의 아주반트 (예를 들어, 1종, 2종 또는 3종의 아주반트)를 추가로 포함할 수 있다. 용어 "아주반트"는 항원에 대한 면역 반응을 증강시키는 화합물 또는 혼합물을 지칭한다. 항원은 일차적으로 전달체로 작용할 수 있거나, 일차적으로 면역 조정자로서 작용할 수 있거나, 또는 이들 둘의 강력한 성질을 가질 수 있다. 적합한 아주반트는 포유류, 예컨대 인간에서 사용하기에 적합한 것들을 포함한다.
- [0337] 인간에서 사용될 수 있는 공지된 적합한 전달체 유형 아주반트의 예는 알루미늄 (예를 들어, 인산알루미늄, 황산알루미늄 또는 수산화알루미늄), 인산칼슘, 리포솜, 수중유 에멀전, 예컨대 MF59 (4.3% w/v 스쿠알렌, 0.5% w/v 폴리소르베이트 80 (트윈(Tween) 80), 0.5% w/v 소르비탄 트리올레에이트 (스팬(Span) 85)), 유중수 에멀전, 예컨대 몬타나이드, 및 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드) (PLG) 마이크로입자 또는 나노입자를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0338] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 아주반트로서 알루미늄 염 (알루미늄) (예를 들어, 인산알루미늄, 황산알루미늄 또는 수산화알루미늄)을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 아주반트로서 인산알루미늄 또는 수산화알루미늄을 포함한다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 인산알루미늄 형태의 원소 알루미늄을 0.1 mg/mL 내지 1 mg/mL 또는 0.2 mg/mL 내지 0.3 mg/mL 포함한다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 인산알루미늄 형태의 원소 알루미늄을 약 0.25 mg/mL 포함한다.
- [0339] 인간에서 사용될 수 있는 공지된 적합한 면역 조정자 유형 아주반트의 예는 아퀼라(Aquilla) 나무 껍질로부터의

사포닌 추출물 (QS21, Quil A), TLR4 효능제, 예컨대 MPL (모노포스포릴 지질 A), 3DMPL (3-O-탈아실화 MPL) 또는 GLA-AQ, LT/CT 돌연변이체, 시토카인, 예컨대 다양한 인터류킨 (예를 들어, IL-2, IL-12) 또는 GM-CSF 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0340] 인간에서 사용될 수 있는 전달 및 면역 조정자 성질을 둘 다 갖는 공지된 적합한 면역 조정자 유형 아주반트의 예는 ISCOMS (예를 들어, Sjoelander et al. (1998) J. Leukocyte Biol. 64:713; WO 90/03184, WO 96/11711, WO 00/48630, WO 98/36772, WO 00/41720, WO 2006/134423 및 WO 2007/026190 참조), 또는 TLR4 효능제 및 수중유 에멀전의 조합물인 GLA-EM을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0341] 동물 실험을 포함하나 이에 제한되지는 않는 수의학적 적용을 위해, 완전 프로인트 아주반트 (CFA), 프로인트 불완전 아주반트 (IFA), 에멀지겐, N-아세틸-무라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민 (thr-MDP), N-아세틸-노르-무라밀-L-알라닐-D-이소글루타민 (CGP 11637, 노르-MDP로 지칭됨), N-아세틸무라밀-L-알라닐-D-이소글루타미닐-L-알라닌-2-(1'-2'-디팔미토일-sn-글리세로-3-히드록시포스포릴옥시)-에틸아민 (CGP 19835A, MTP-PE로 지칭됨), 및 2% 스쿠알렌/트윈 80 에멀전 중에 박테리아로부터 추출된 3종의 구성성분인 모노포스포릴 지질 A, 트레할로즈 디마이콜레이트 및 세포벽 골격 (MPL+TDM+CWS)을 함유하는 RIBI를 사용할 수 있다.

[0342] 본원에 개시된 폐렴구균 백신의 효능을 증강시키는 추가의 예시적인 아주반트는 하기의 것들을 포함하나 이에 제한되지는 않는다: (1) 수중유 에멀전 제제 (다른 특이적인 면역자극제, 예컨대 무라밀 펩티드 (하기 참조) 또는 박테리아 세포벽 구성성분을 함유하거나 함유하지 않음), 예컨대 (a) 서브마이크로미터 에멀전으로 미소유체화된 또는 보다 큰 입자 크기 에멀전을 생성하도록 불텍싱된, 10% 스쿠알렌, 0.4% 트윈 80, 5% 플루로닉-차단된 중합체 L121, 및 thr-MDP를 함유하는 SAF, 및 (b) 2% 스쿠알렌, 0.2% 트윈 80, 및 1종 이상의 박테리아 세포벽 구성성분, 예컨대 모노포스포리피드 A (MPL), 트레할로즈 디마이콜레이트 (TDM), 및 세포벽 골격 (CWS), 바람직하게는 MPL + CWS (데톡스(DETOX™))를 함유하는 리비(RIBI™) 아주반트 시스템 (RAS), (리비 이뮤노캠(Ribi Immunochem), 몬타나주 해밀턴); (2) 사포닌 아주반트, 예컨대 QS21, 스티물론(STIMULON™) (캠브리지 바이오사이언스(Cambridge Bioscience), 매사추세츠주 우스터), 아비스코(Abisco)® (이스코노바(Isconova), 스웨덴), 또는 이스코매트릭스(Iscomatrix)® (커먼웰스 세럼 래버러토리즈(Commonwealth Serum Laboratories), 호주), 또는 그로부터 생성된 입자, 예컨대 ISCOM (면역자극 복합체), (ISCOM에는 추가의 세제가 없을 수 있음) (예를 들어, WO 00/07621); (3) 완전 프로인트 아주반트 (CFA) 및 불완전 프로인트 아주반트 (IFA); (4) 시토카인, 예컨대 인터류킨 (예를 들어, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12 (WO 99/44636)), 인터페론 (예를 들어, 감마 인터페론), 대식세포 콜로니 자극 인자 (M-CSF), 종양 괴사 인자 (TNF) 등; (5) 모노포스포릴 지질 A (MPL) 또는 3-O-탈아실화 MPL (3dMPL) (예를 들어, GB-2220221, EP0689454 참조), (임의적으로 폐렴구균 사카라이드와 함께 사용시 알룸의 실질적인 부재 하에) (예를 들어, WO 00/56358 참조); (6) 3dMPL과 예를 들어 QS21 및/또는 수중유 에멀전의 조합물 (예를 들어, EP0835318, EP0735898, EP0761231 참조); (7) 폴리옥시에틸렌 에테르 또는 폴리옥시에틸렌 에스테르 (예를 들어, WO99/52549 참조); (8) 옥톡시놀과 조합된 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르 계면활성제 (WO 01/21207), 또는 적어도 1종의 추가의 비-이온성 계면활성제, 예컨대 옥톡시놀과 조합된 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르 또는 에스테르 계면활성제 (WO 01/21152); (9) 사포닌 및 면역자극성 올리고뉴클레오타이드 (예를 들어, CpG 올리고뉴클레오타이드) (WO 00/62800); (10) 면역자극제 및 금속 염의 입자 (예를 들어, WO00/23105 참조); (11) 사포닌 및 수중유 에멀전, 예를 들어 WO 99/11241; (12) 사포닌 (예를 들어, QS21) + 3dMPL + IM2 (임의적으로 + 스테롤), 예를 들어 WO 98/57659; (13) 조성물의 효능을 증강시키기 위해 면역자극제로서 작용하는 다른 물질. 무라밀 펩티드는 N-아세틸-무라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민 (thr-MDP), N-25 아세틸-노르무라밀-L-알라닐-D-이소글루타민 (노르-MDP), N-아세틸무라밀-L-알라닐-D-이소글루타르니닐-L-알라닌-2-(1'-2'-디팔미토일-sn-글리세로-3-히드록시포스포릴옥시)-에틸아민 MTP-PE) 등을 포함한다.

[0343] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 아주반트로서 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 본원에 사용된 CpG 올리고뉴클레오타이드는 면역자극성 CpG 올리고데옥시뉴클레오타이드 (CpG ODN)를 지칭하며, 따라서 이들 용어는 달리 나타내지 않는 한 상호교환적으로 사용된다. 면역자극성 CpG 올리고데옥시뉴클레오타이드는 임의적으로 특정한 바람직한 염기 맥락 내에서 메틸화되지 않은 시토신-구아닌 디뉴클레오타이드인 하나 이상의 면역자극성 CpG 모티프를 함유한다. CpG 면역자극성 모티프의 메틸화 상태는 일반적으로 디뉴클레오타이드에서 시토신 잔기를 나타낸다. 적어도 하나의 메틸화되지 않은 CpG 디뉴클레오타이드를 함유하는 면역자극성 올리고뉴클레오타이드는 포스페이트 결합에 의해 3' 구아닌에 연결된 5' 메틸화되지 않은 시토신을 함유하고 톨-유사 수용체 9 (TLR-9)로의 결합을 통해 면역계를 활성화시키는 올리고뉴클레오타이드이다. 또 다른 실시양태에서, 면역자극성 올리고뉴클레오타이드는, CpG 모티프(들)이 메틸화되지 않았을 경우만큼은 강력하지 않게

TLR9를 통해 면역계를 활성화시키는 하나 이상의 메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 함유할 수 있다. CpG 면역자극성 올리고뉴클레오타이드는 CpG 디뉴클레오타이드를 결국 포함할 수 있는 1종 이상의 팔린드롬을 포함할 수 있다. CpG 올리고뉴클레오타이드는 수많은 허여된 특허, 공개된 특허 출원, 및 다른 공보, 예컨대 미국 특허 번호 6,194,388; 6,207,646; 6,214,806; 6,218,371; 6,239,116; 및 6,339,068에 기재되어 있다.

- [0344] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 WO 2010/125480의 제3면 제22행 내지 제12면 제36행에 기재된 임의의 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0345] 상이한 부류의 CpG 면역자극성 올리고뉴클레오타이드가 확인되었다. 이들은 A, B, C 및 P 부류로 지칭되며, WO 2010/125480의 제3면 제22행 내지 제12면 제36행에 보다 상세히 기재되어 있다. 본 발명의 방법은 이들 상이한 부류의 CpG 면역자극성 올리고뉴클레오타이드를 사용하는 것을 포함한다.
- [0346] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 A 부류 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 B 부류 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0347] 본 발명의 B 부류 CpG 올리고뉴클레오타이드 서열은 상기에 광범위하게 기재된 것들 뿐만 아니라 WO 96/02555, WO 98/18810, 및 미국 특허 번호 6,194,388; 6,207,646; 6,214,806; 6,218,371; 6,239,116; 및 6,339,068에 개시된 것들이다. 예시적인 서열은 이들 후자의 출원 및 특허에 개시된 것들을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0348] 한 실시양태에서, 본 발명의 "B 부류" CpG 올리고뉴클레오타이드는 하기 핵산 서열을 갖는다:
- [0349] 5' TCGTCGTTTTTCGGTCGTTTT 3' (서열식별번호(SEQ ID NO): 1), 또는
- [0350] 5' TCGTCGTTTTTCGGTCGTTTT 3' (서열식별번호: 2), 또는
- [0351] 5' TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT 3' (서열식별번호: 3), 또는
- [0352] 5' TCGTCGTTTCGTCGTTTTGTCGTT 3' (서열식별번호: 4), 또는
- [0353] 5' TCGTCGTTTTGTCGTTTTTTTCGA 3' (서열식별번호: 5).
- [0354] 임의의 이들 서열에서, 모든 연결은 모두 포스포로티오에이트 결합일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 임의의 이들 서열에서, 하나 이상의 연결은 바람직하게는 세미-소프트 CpG 올리고뉴클레오타이드를 만드는 CpG 모티프의 "C"와 "G" 사이의 포스포디에스테르일 수 있다. 임의의 이들 서열에서, 에틸-우리딘 또는 할로젠이 5' T를 대체할 수 있고; 할로젠 치환의 예는 브로모-우리딘 또는 아이오도-우리딘 치환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0355] B-부류 올리고뉴클레오타이드의 몇몇 비제한적인 예는 하기 서열을 포함한다:
- [0356] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*G*T*G*C*T*T*T*T 3' (서열식별번호: 6), 또는
- [0357] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*T*C*G*G*T*C*G*T*T*T*T 3' (서열식별번호: 7), 또는
- [0358] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T 3' (서열식별번호: 8), 또는
- [0359] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T 3' (서열식별번호: 9), 또는
- [0360] 5' T*C*G*T*C*G*T*T*T*T*G*T*C*G*T*T*T*T*T*T*T*C*G*A 3' (서열식별번호: 10).
- [0361] 여기서, "*"는 포스포로티오에이트 결합을 나타낸다.
- [0362] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 C 부류 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0363] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 P 부류 CpG 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0364] 한 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 1종의 포스포로티오에이트 연결을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드의 모든 인트뉴클레오타이드 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 또 다른 실시양태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 포스포디에스테르-유사 연결을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 포스포디에스테르-유사 연결은 포스포디에스테르 연결이다. 또 다른 실시양태에서, 친유성 기가 올리고뉴클레오타이드에 접합된다. 한 실시양태에서, 친유성 기는 콜레스테롤이다.
- [0365] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 CpG 올리고뉴클레오타이드의 모든 인트뉴클레오타이드 연결은 포스포디에스테르 결합이다 (WO 2007/026190에 기재된 "소프트" 올리고뉴클레오타이드). 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오타이드는 분해에 대한 내성이 있다 (예를 들어, 안정화됨). "안정화된 올리고뉴클레오타이드"는 (예를

들어, 엑소- 또는 엔도-뉴클레아제를 통한) 생체내 분해에 대해 비교적 내성인 올리고뉴클레오티드를 지칭한다. 핵산 안정화는 주쇄 변형을 통해 달성될 수 있다. 포스포로티오에이트 연결을 갖는 올리고뉴클레오티드는 최대 활성을 제공하고, 세포내 엑소- 및 엔도-뉴클레아제에 의한 분해로부터 올리고뉴클레오티드를 보호한다.

- [0366] 번역자극성 올리고뉴클레오티드는 포스포디에스테르 및 포스포로티오에이트 연결의 조합을 갖는 키메라 주쇄를 가질 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 키메라 주쇄는 부분적으로 안정화된 주쇄를 지칭하며, 여기서 적어도 하나의 인터뉴클레오티드 연결은 포스포디에스테르 또는 포스포디에스테르-유사 연결이고, 적어도 하나의 다른 인터뉴클레오티드 연결은 안정화된 인터뉴클레오티드 연결이고, 적어도 하나의 포스포디에스테르 또는 포스포디에스테르-유사 연결 및 적어도 하나의 안정화된 연결은 상이하다. 포스포디에스테르 연결이 CpG 모티프 내에 우세하게 위치하는 경우, 이들 분자는 WO 2007/026190에 기재된 바와 같이 "세미-소프트"인 것으로 지칭된다.
- [0367] 다른 변형된 올리고뉴클레오티드는 포스포디에스테르, 포스포로티오에이트, 메틸포스포네이트, 메틸포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 및/또는 p-에톡시 연결의 조합을 포함한다.
- [0368] 혼합된 주쇄 변형된 ODN은 WO 2007/026190에 기재된 바와 같이 합성될 수 있다.
- [0369] CpG 올리고뉴클레오티드의 크기 (즉, 올리고뉴클레오티드의 길이를 따라 뉴클레오티드 잔기의 수) 또한 올리고뉴클레오티드의 자극 활성에 기여할 수 있다. 세포로의 흡수를 촉진시키기 위해, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오티드는 바람직하게는 6개 뉴클레오티드 잔기의 최대 길이를 갖는다. 보다 큰 올리고뉴클레오티드가 세포 내에서 분해되기 때문에, 6개 뉴클레오티드 초과인 임의의 크기의 (심지어 수 kb 길이) 올리고뉴클레오티드는 충분한 번역자극성 모티프가 존재하는 경우 번역 반응을 유도할 수 있다. 어떤 실시양태에서, CpG 올리고뉴클레오티드는 6 내지 100개 뉴클레오티드 길이, 바람직하게는 8 내지 30개 뉴클레오티드 길이이다. 중요한 실시양태에서, 본 발명의 핵산 및 올리고뉴클레오티드는 플라스미드 또는 발현 벡터가 아니다.
- [0370] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 CpG 올리고뉴클레오티드는 WO 2007/026190의 문단 134 내지 147에 기재된 바와 같이 예컨대 염기 및/또는 당에서 치환 또는 변형을 포함한다.
- [0371] 한 실시양태에서, 본 발명의 CpG 올리고뉴클레오티드는 화학적으로 변형된다. 화학적 변형의 예는 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 예를 들어 Uhlmann et al. (1990) Chem. Rev. 90:543; S. Agrawal, Ed., Humana Press, Totowa, USA 1993; Crooke. et al. (1996) Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 36:107-129; 및 Hunziker et al., (1995) Mod. Synth. Methods 7:331-417에 기재되어 있다. 본 발명에 따른 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 변형을 가질 수 있으며, 여기서 각각의 변형은 천연 DNA 또는 RNA로 구성된 동일한 서열의 올리고뉴클레오티드와 비교하여 특정한 포스포디에스테르 인터뉴클레오시드 브릿지에 및/또는 특정한 β -D-리보스 단위에 및/또는 특정한 천연 뉴클레오시드 염기 위치에 위치할 수 있다.
- [0372] 본 발명의 일부 실시양태에서, CpG-함유 핵산은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 따라 번역원성 담체와 간단히 혼합될 수 있다 (예를 들어, WO 03/024480 참조).
- [0373] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 번역원성 조성물은 2 μ g 내지 100 mg CpG 올리고뉴클레오티드, 바람직하게는 0.1 mg 내지 50 mg CpG 올리고뉴클레오티드, 바람직하게는 0.2 mg 내지 10 mg CpG 올리고뉴클레오티드, 바람직하게는 0.3 mg 내지 5 mg CpG 올리고뉴클레오티드, 바람직하게는 0.3 mg 내지 5 mg CpG 올리고뉴클레오티드, 훨씬 더 바람직하게는 0.5 mg 내지 2 mg CpG 올리고뉴클레오티드, 훨씬 더 바람직하게는 0.75 mg 내지 1.5 mg CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 번역원성 조성물은 약 1 mg CpG 올리고뉴클레오티드를 포함한다.
- [0374] **5 제제**
- [0375] 본 발명의 번역원성 조성물은 액체 형태 (즉, 용액 또는 현탁액) 또는 동결건조된 형태로 제제화될 수 있다. 액체 제제는 유리하게는 그의 포장된 형태로 직접 투여될 수 있고, 따라서 본 발명의 동결건조된 조성물에서 요구되는 바와 같이 수성 매질로 재구성할 필요없이 주사용으로 이상적이다.
- [0376] 본 발명의 번역원성 조성물의 제제는 관련 기술분야에서 인식되는 방법을 이용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 개별적인 페럼구균 접합체를 조성물의 제조를 위해 생리학적으로 허용가능한 비히클과 함께 제제화할 수 있다. 이러한 비히클의 예는 물, 완충된 염수, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜) 및 텍스트로즈 용액을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0377] 본 개시내용은 본원에 개시된 당접합체 및 제약상 허용가능한 부형제, 담체, 또는 희석제의 임의의 조합을 포함

하는 면역원성 조성물을 제공한다.

- [0378] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 액체 형태, 바람직하게는 수성 액체 형태이다.
- [0379] 본 개시내용의 면역원성 조성물은 완충제, 염, 2가 양이온, 비-이온성 세제, 동결방지제, 예컨대 당, 및 항산화제, 예컨대 유리 라디칼 스캐빈저 또는 킬레이팅제, 또는 이들의 임의의 다중 조합물 중 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0380] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 완충제를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 완충제는 약 3.5 내지 약 7.5의 pKa를 갖는다. 일부 실시양태에서, 완충제는 포스페이트, 숙시네이트, 히스티딘 또는 시트레이트이다. 어떤 실시양태에서, 완충제는 최종 농도 1 mM 내지 10 mM의 숙시네이트이다. 한 특정한 실시양태에서, 숙시네이트 완충제의 최종 농도 약 5 mM이다.
- [0381] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 염을 포함한다. 일부 실시양태에서, 염은 염화마그네슘, 염화칼륨, 염화나트륨 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 특정한 실시양태에서, 염은 염화나트륨이다. 한 특정한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 150 mM의 염화나트륨을 포함한다.
- [0382] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 계면활성제를 포함한다. 한 실시양태에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20 (트윈TM20), 폴리소르베이트 40 (트윈TM40), 폴리소르베이트 60 (트윈TM60), 폴리소르베이트 65 (트윈TM65), 폴리소르베이트 80 (트윈TM80), 폴리소르베이트 85 (트윈TM85), 트리톤(TRITONTM) N-1 01, 트리톤TM X-100, 옥스톡시놀 40, 노녹시놀-9, 트리에탄올아민, 트리에탄올아민 폴리펩티드 올레에이트, 폴리옥시에틸렌-660 히드록시스테아레이트 (PEG-15, 솔루톨(Solutol) H 15), 폴리옥시에틸렌-35-리시놀레에이트 (크레모포르(CREMOPHOR)® EL), 대두 레시틴 및 폴록사머로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 특정한 실시양태에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 80이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 적어도 0.0001% 내지 10% 폴리소르베이트 80 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 적어도 0.001% 내지 1% 폴리소르베이트 80 중량/중량 (w/w)이다. 상기 일부 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 적어도 0.01% 내지 1% 폴리소르베이트 80 중량/중량 (w/w)이다. 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09% 또는 0.1% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다. 또 다른 실시양태에서, 제제 중 폴리소르베이트 80의 최종 농도는 1% 폴리소르베이트 80 (w/w)이다.
- [0383] 어떤 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 5.5 내지 7.5의 pH, 더욱 바람직하게는 5.6 내지 7.0의 pH, 훨씬 더 바람직하게는 5.8 내지 6.0의 pH를 갖는다.
- [0384] 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물로 충전된 용기를 제공한다. 한 실시양태에서, 용기는 바이알, 시린지, 플라스크, 발효기, 생물반응기, 백, 병, 앰플, 카트리지 및 일회용 펜으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 어떤 실시양태에서, 용기를 실리콘 처리한다.
- [0385] 한 실시양태에서, 본 발명의 용기는 유리, 금속 (예를 들어, 스틸, 스테인리스 스틸, 알루미늄 등) 및/또는 중합체 (예를 들어, 열가소성 플라스틱, 엘라스토머, 열가소성-엘라스토머)로 제조된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 용기는 유리로 제조된다.
- [0386] 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물로 충전된 시린지를 제공한다. 어떤 실시양태에서, 시린지를 실리콘 처리하고/거나 유리로 제조한다.
- [0387] 주사를 위한 본 발명의 면역원성 조성물의 전형적인 용량은 0.1 mL 내지 2 mL, 더욱 바람직하게는 0.2 mL 내지 1 mL, 훨씬 더 바람직하게는 약 0.5 mL의 부피를 갖는다.
- [0388] 따라서, 상기 정의된 용기 또는 시린지는 0.1 mL 내지 2 mL, 더욱 바람직하게는 0.2 mL 내지 1 mL, 훨씬 더 바람직하게는 약 0.5 mL의 부피의 본원에 정의된 임의의 면역원성 조성물로 충전된다.
- [0389] **6 교차-반응성 항체를 도출하는 본 발명의 면역원성 조성물의 능력**
- [0390] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 ELISA 검정에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 폴리사카라이드와 결합할 수 있는 IgG 항체를 인간에서 도출할 수 있다.
- [0391] ELISA (효소-결합된 면역흡착 검정) 방법에서, 백신접종된 대상체의 혈청으로부터의 항체를 고체 지지체에 흡착된 폴리사카라이드와 함께 인큐베이션한다. 결합된 항체를 효소-접합된 이차 검출 항체를 이용하여 검출한다.

- [0392] 한 실시양태에서, 상기 ELISA 검정은 WHO에 의해 "Training Manual For Enzyme Linked Immunosorbent Assay For The Quantitation Of Streptococcus Pneumoniae Serotype Specific IgG (Pn PS ELISA)"로 정의된 표준화된 ELISA 검정이다 (<http://www.vaccine.uab.edu/ELISA%20protocol.pdf>에서 입수가가능함, 2014년 3월 31일에 입수함).
- [0393] ELISA는 인간 혈청에 존재하는 유형 특이적인 IgG 항-에스. 뉴모니아에 피막 폴리사카라이드 (PS) 항체를 측정한다. 인간 혈청의 희석액을 유형-특이적 피막 PS-코팅된 미세역가 플레이트에 첨가할 때, 상기 피막 PS에 대해 특이적인 항체가 미세역가 플레이트에 결합한다. 플레이트에 결합된 항체를 염소 항-인간 IgG 알칼리성 포스파타제-표지된 항체에 이어 p-니트로페닐 포스페이트 기질을 이용하여 검출한다. 착색된 최종 생성물의 광학 밀도는 혈청에 존재하는 항-피막 PS 항체의 양에 비례한다.
- [0394] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 ELISA 검정에 의해 결정 시 적어도 0.05 µg/ml, 0.1 µg/ml, 0.2 µg/ml, 0.3 µg/ml, 0.35 µg/ml, 0.4 µg/ml 또는 0.5 µg/ml의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 폴리사카라이드와 결합할 수 있는 IgG 항체를 인간에서 도출할 수 있다.
- [0395] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 ELISA 검정에 의해 결정 시 적어도 0.05 µg/ml, 0.1 µg/ml, 0.2 µg/ml, 0.3 µg/ml, 0.35 µg/ml, 0.4 µg/ml 또는 0.5 µg/ml의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 폴리사카라이드와 결합할 수 있는 IgG 항체를 인간에서 도출할 수 있다.
- [0396] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 ELISA 검정에 의해 결정 시 적어도 0.05 µg/ml, 0.1 µg/ml, 0.2 µg/ml, 0.3 µg/ml, 0.35 µg/ml, 0.4 µg/ml 또는 0.5 µg/ml의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L 폴리사카라이드와 결합할 수 있는 IgG 항체를 인간에서 도출할 수 있다.
- [0397] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 검정 (OPA)에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L을 사멸시킬 수 있는 기능적 항체를 인간에서 도출할 수 있다 (실시에 1 참조). 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 검정 (OPA)에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N을 사멸시킬 수 있는 기능적 항체를 인간에서 도출할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 검정 (OPA)에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A를 사멸시킬 수 있는 기능적 항체를 인간에서 도출할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 검정 (OPA)에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L을 사멸시킬 수 있는 기능적 항체를 인간에서 도출할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 검정 (OPA)에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A를 사멸시킬 수 있는 기능적 항체를 인간에서 도출할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 검정 (OPA)에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L을 사멸시킬 수 있는 기능적 항체를 인간에서 도출할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 검정 (OPA)에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L을 사멸시킬 수 있는 기능적 항체를 인간에서 도출할 수 있다.
- [0398] 기능적 항체 및 보체의 존재 하에 식세포성 이펙터 세포에 의한 에스. 뉴모니아에 세포의 사멸을 측정하는 페럼 구균 흡소닌식세포성 검정 (OPA)은 페럼구균 백신의 효능을 평가하기 위한 중요한 대안법으로 고려된다.
- [0399] 시험관내 흡소닌식세포성 검정 (OPA)은 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 세포, 시험하고자 하는 열 불활성화 인간 혈청, 분화된 HL-60 세포 (식세포) 및 외인성 보체 공급원 (예를 들어, 아기 토끼 보체)의 혼합물과 함께 인큐베이션함으로써 수행할 수 있다. 인큐베이션하는 동안 흡소닌식세포작용이 진행되고, 흡소닌식세포작용 시에 항체 및 보체로 코팅된 박테리아 세포가 사멸된다. 흡소닌식세포작용으로부터 탈출한 생존 박테리아의 콜로니 형성 단위 (cfu)를 검정 혼합물을 플레이팅함으로써 측정할 수 있다. OPA 역가는 시험 혈청이 없는 대조군 웰에 비해 박테리아 카운트의 50% 감소를 일으키는 희석의 역수로서 정의된다. OPA 역가는 50% 사멸 컷-오프를 포함하는 2개 희석으로부터 보간된다.
- [0400] 1:8 이상의 종점 역가는 이들 사멸 유형 OPA에서 양성 결과인 것으로 고려된다.
- [0401] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 50%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 흡소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 적어도 93%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있다.

- [0402] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 옅소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 50%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 옅소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 적어도 95%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있다.
- [0403] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 옅소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 50%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 시험관내 옅소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 적어도 95%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있다.
- [0404] 일부 실시양태에서, 대상체는 예를 들어 에스. 뉴모니아에 대한 자연 노출로 인해 (예를 들어, 성인 대상체의 경우) 폐렴구균 백신접종 이전에 혈청형 특이적인 OPA 역가를 가질 수 있다.
- [0405] 따라서, 본 발명의 면역원성 조성물로의 면역화 전 및 후의 혈청의 OPA 활성의 비교를 수행하고, 혈청형 9A, 9L 및 9N에 대한 그들의 반응을 비교하여 반응자의 잠재적인 증가를 평가할 수 있다 (실시예 1 참조).
- [0406] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 반응자 (즉, 시험관내 OPA에 의해 결정 시 역가가 적어도 1:8인 혈청을 가진 개체)의 비율을 유의하게 증가시킨다.
- [0407] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 반응자 (즉, 시험관내 OPA에 의해 결정 시 역가가 적어도 1:8인 혈청을 가진 개체)의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있다.
- [0408] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 반응자 (즉, 시험관내 OPA에 의해 결정 시 역가가 적어도 1:8인 혈청을 가진 개체)의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있다.
- [0409] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 반응자 (즉, 시험관내 OPA에 의해 결정 시 역가가 적어도 1:8인 혈청을 가진 개체)의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있다.
- [0410] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A에 대한 반응자 (즉, 시험관내 OPA에 의해 결정 시 역가가 적어도 1:8인 혈청을 가진 개체)의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있다.
- [0411] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L에 대한 반응자 (즉, 시험관내 OPA에 의해 결정 시 역가가 적어도 1:8인 혈청을 가진 개체)의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있다.
- [0412] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L (즉, 시험관내 OPA에 의해 결정 시 역가가 적어도 1:8인 혈청을 가진 개체)에 대한 반응자의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있다.
- [0413] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L에 대한 반응자 (즉, 시험관내 OPA에 의해 결정 시 역가가 적어도 1:8인 혈청을 가진 개체)의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있다.
- [0414] 본 발명의 면역원성 조성물로의 면역화 전 및 후의 혈청의 OPA 활성의 비교는 또한 OPA 역가에서의 잠재적인 증가를 비교함으로써 수행할 수 있다.
- [0415] 따라서, 본 발명의 면역원성 조성물로의 면역화 전 및 후의 혈청의 OPA 활성의 비교를 수행하고, 혈청형 9A, 9L 및 9N에 대한 그들의 반응을 비교하여 OPA 역가에서의 잠재적인 증가를 평가할 수 있다 (실시예 1 참조).
- [0416] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있다.
- [0417] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청

형 9N에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.2, 1.5, 1.75, 2.0 또는 2.1이다.

[0418] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 6.5, 7.0 또는 7.5이다.

[0419] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교할 때 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 또는 4.2이다.

[0420] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.2, 1.5, 1.75, 2.0 또는 2.1이고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 6.5, 7.0 또는 7.5이다.

[0421] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.2, 1.5, 1.75, 2.0 또는 2.1이고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 또는 4.2이다.

[0422] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 6.5, 7.0 또는 7.5이고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 또는 4.2이다.

[0423] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.2, 1.5, 1.75, 2.0 또는 2.1이고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 6.5, 7.0 또는 7.5이고, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 OPA 역가의 배수-상승은 적어도 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 또는 4.2이다.

[0424] 7 본 발명의 면역원성 조성물의 용도

[0425] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 의약으로서 사용된다.

[0426] 본원에 기재된 면역원성 조성물은 대상체에서 박테리아 감염, 질환 또는 상태의 예방, 치료 또는 개선을 위한 다양한 치료 또는 예방 방법에 사용될 수 있다. 특히, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키기 위해 사용될 수 있다.

[0427] 따라서, 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에와 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법을 제공한다.

[0428] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L과 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법을 제공한다.

[0429] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N과 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법을 제공한다.

[0430] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A와 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법을 제공한다.

[0431] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L과 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법을 제공한다.

- [0432] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A와 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법을 제공한다.
- [0433] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L과 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법을 제공한다.
- [0434] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L과 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법을 제공한다.
- [0435] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 대한 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다.
- [0436] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다.
- [0437] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다.
- [0438] 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다.
- [0439] 한 측면에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에 사용된다.
- [0440] 한 측면에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에 사용된다. 한 측면에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에 사용된다. 한 측면에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에 사용된다.
- [0441] 한 측면에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에 사용된다. 한 측면에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에 사용된다. 한 측면에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에 사용된다.
- [0442] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에 사용된다.
- [0443] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에 사용된다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에 사용된다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에 사용된다.
- [0444] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에 사용된다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에 사용된다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에 사용된다.
- [0445] 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0446] 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를

예방, 치료 또는 개선시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다. 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다. 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0447] 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0448] 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0449] 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0450] 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 대한 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 백신으로서 사용된다. 더욱 특히, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 에스. 뉴모니아에 감염을 예방하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 한 측면에서, 본 발명은 면역학적 유효량의 본 발명의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 에스. 뉴모니아에 의한 감염을 예방하는 방법을 제공한다. 이러한 일부 실시양태에서, 감염은 폐렴, 부비동염, 중이염, 급성 중이염, 수막염, 균혈증, 패혈증, 농흉, 결막염, 골수염, 패혈성 관절염, 심내막염, 복막염, 심막염, 유양돌기염, 봉와직염, 연조직 감염 및 뇌 농양으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 측면에서, 백신접종될 대상체는 포유류, 예컨대 인간, 고양이, 양, 돼지, 말, 소 또는 개이다.

[0451] 한 측면에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L을 갖는 에스. 뉴모니아에와 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에서 사용된다. 이러한 일부 실시양태에서, 감염, 질환 또는 상태는 폐렴, 부비동염, 중이염, 급성 중이염, 수막염, 균혈증, 패혈증, 농흉, 결막염, 골수염, 패혈성 관절염, 심내막염, 복막염, 심막염, 유양돌기염, 봉와직염, 연조직 감염 및 뇌 농양으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0452] 한 측면에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 대상체에서 에스. 뉴모니아에의 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염을 예방하는 방법에서 사용된다. 이러한 일부 실시양태에서, 감염은 폐렴, 부비동염, 중이염, 급성 중이염, 수막염, 균혈증, 패혈증, 농흉, 결막염, 골수염, 패혈성 관절염, 심내막염, 복막염, 심막염, 유양돌기염, 봉와직염, 연조직 감염 및 뇌 농양으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 측면에서, 백신접종될 대상체는 포유류, 예컨대 인간, 고양이, 양, 돼지, 말, 소 또는 개이다.

[0453] 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L을 가진 에스. 뉴모니아에와 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다. 이러한 일부 실시양태에서, 감염, 질환 또는 상태는 폐렴, 부비동염, 중이염, 급성 중이염, 수막염, 균혈증, 패혈증, 농흉, 결막염, 골수염, 패혈성 관절염, 심내막염, 복막염, 심막염, 유양돌기염, 봉와직염, 연조직 감염 및 뇌 농양으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0454] 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 에스. 뉴모니아에의 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염을 예방하기 위한 의약의 제조를 위한 본원에 개시된 면역원성 조성물의 용도에 관한 것이다. 이러한 일부 실시양태에서, 감염은 폐렴, 부비동염, 중이염, 급성 중이염, 수막염, 균혈증, 패혈증, 농흉, 결막염, 골수염, 패혈성 관절염,

심내막염, 복막염, 심막염, 유양돌기염, 봉와직염, 연조직 감염 및 뇌 농양으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 측면에서, 백신접종될 대상체는 포유류, 예컨대 인간, 고양이, 양, 돼지, 말, 소 또는 개이다.

- [0455] 본 발명의 면역원성 조성물은 면역원성 조성물을 전신 또는 점막 경로를 통해 투여함으로써 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 감염되기 쉬운 인간을 보호 또는 치료하기 위해 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 근육내, 복강내, 피내 또는 피하 경로에 의해 투여된다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 근육내, 복강내, 피내 또는 피하 주사에 의해 투여된다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 근육내 또는 피하 주사에 의해 투여된다.
- [0456] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 면역원성 조성물은 에스. 뉴모니아에 9V로부터의 적어도 1종의 당접합체 (예컨대, 상기 섹션 1.3의 당접합체)를 포함한다.
- [0457] **8 본 발명의 면역원성 조성물로 치료될 대상체**
- [0458] 본원에 개시된 바와 같이, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 대상체에서 박테리아 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키기 위한 다양한 치료 또는 예방 방법에 사용될 수 있다.
- [0459] 바람직한 실시양태에서, 상기 대상체는 인간이다. 가장 바람직한 실시양태에서, 상기 대상체는 신생아 (즉, 3개월 이하의 나이), 영아 (즉, 3개월 내지 1세의 나이) 또는 유아 (즉, 1세 내지 4세의 나이)이다.
- [0460] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 면역원성 조성물은 백신으로서 사용된다.
- [0461] 이러한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 나이가 1세 미만이다. 예를 들어, 백신접종될 대상체는 나이가 약 1, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11 또는 약 12개월이다. 한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 나이가 약 2, 4 또는 6개월이다. 또 다른 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 나이가 2세 미만이다. 예를 들어, 백신접종될 대상체는 나이가 약 12 내지 약 15개월이다. 일부 경우에, 본 발명에 따른 면역원성 조성물의 1회 용량만큼 적은 용량이 필요하지만, 일부 상황 하에서는 제2, 제3 또는 제4 용량이 주어질 수 있다 (하기 섹션 9 참조).
- [0462] 본 발명의 한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 50세 이상의 인간 성인, 더욱 바람직하게는 55세 이상의 인간 성인이다. 한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 65세 이상, 70세 이상, 75세 이상 또는 80세 이상의 인간 성인이다.
- [0463] 한 실시양태에서, 백신접종될 대상체는 면역약화된 개체, 특히 인간이다. 면역약화된 개체는 일반적으로 감염원의 도전에 대해 정상적인 호르몬성 또는 세포성 방어를 증가시키는 능력이 약화 또는 감소된 사람으로 정의된다.
- [0464] 본 발명의 한 실시양태에서, 백신접종될 면역약화된 대상체는 면역계가 손상된 질환 또는 상태로 고통받고 있으며, 폐렴구균 질환에 대해 보호하기에 또는 이를 치료하기에는 불충분한 항체 반응을 나타낸다.
- [0465] 한 실시양태에서, 상기 질환은 원발성 면역결핍 장애이다. 바람직하게는, 상기 원발성 면역결핍 장애는 조합된 T- 및 B-세포 면역결핍, 항체 결핍, 잘 정의된 증후군, 면역 조절장애 질환, 식세포 장애, 선천성 면역력 결핍, 자가염증성 장애, 및 보체 결핍으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 상기 원발성 면역결핍 장애는 WO 2010/125480의 제24면 제11행 내지 제25면 제19행에 개시된 것들로부터 선택된다.
- [0466] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역약화된 대상체는 HIV-감염, 후천성 면역결핍 증후군 (AIDS), 암, 만성 심장 또는 폐 장애, 유행성 심부전, 진성 당뇨병, 만성 간 질환, 알콜 중독, 간경화증, 척수액 누출, 심근증, 만성 기관지염, 폐기종, 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD), 비장 기능장애 (예컨대, 겸상 세포 질환), 비장 기능 결여 (비장결손), 혈액 악성 종양, 백혈구, 다발성 골수종, 호지킨병, 림프종, 신부전, 신장 증후군 및 천식으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환으로 고통받고 있다.
- [0467] 본 발명의 한 실시양태에서, 백신접종될 면역약화된 대상체는 영양실조로 고통받고 있다.
- [0468] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역약화된 대상체는 감염에 대한 신체의 내성을 저하시키는 약물 또는 치료를 받고 있다. 한 실시양태에서, 상기 약물은 WO 2010/125480의 제26면 제33행 내지 제26면 제4행에 개시된 것들로부터 선택된다.
- [0469] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역약화된 대상체는 흡연자이다.
- [0470] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역약화된 대상체는 5×10^9 세포/리터 미만, 또는 4×10^9 세포/

리터 미만, 또는 3×10^9 세포/리터 미만, 또는 2×10^9 세포/리터 미만, 또는 1×10^9 세포/리터 미만, 또는 0.5×10^9 세포/리터 미만, 또는 0.3×10^9 세포/리터 미만, 또는 0.1×10^9 세포/리터 미만의 백혈구 카운트 (류코사이트 카운트)를 갖는다.

[0471] 백혈구 카운트 (류코사이트 카운트): 혈중 백혈구의 수 (WBC). WBC는 보통 CBC (완전 혈구 카운트)의 일부로서 측정된다. 백혈구는 혈중에서 감염과 싸우는 세포이고, 적혈구로 알려진 적색 (산소-보유) 혈액 세포와는 구별된다. 상이한 유형의 백혈구, 예컨대 호중구 (다형핵 류코사이트; PMN), 대상핵 세포 (약간 미성숙한 호중구), T-유형 림프구 (T-세포), B-유형 림프구 (B-세포), 단핵구, 호산구, 및 호염기구가 있다. 모든 유형의 백혈구가 백혈구 카운트에 반영된다. 백혈구 카운트에 대한 정상 범위는 4,300 내지 10,800 세포/세제곱 밀리미터 혈액이다. 이는 류코사이트 카운트로도 지칭될 수 있고, $4.3 - 10.8 \times 10^9$ 세포/리터로서 국제 단위로 표현될 수 있다.

[0472] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역약화된 대상체는 호중구감소증으로 고통받고 있다. 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역약화된 대상체는 2×10^9 세포/리터 미만, 또는 1×10^9 세포/리터 미만, 또는 0.5×10^9 세포/리터 미만, 또는 0.1×10^9 세포/리터 미만, 또는 0.05×10^9 세포/리터 미만의 호중구 카운트를 갖는다.

[0473] 낮은 백혈구 카운트 또는 "호중구감소증"은 순환중인 혈액 중에서 호중구의 비정상적으로 낮은 수준을 특징으로 하는 상태이다. 호중구는 감염을 예방하고 그와 싸우는데 도움이 되는 특이적인 유형의 백혈구이다. 암 환자가 호중구감소증을 겪는 가장 흔한 이유는 화학요법의 부작용 때문이다. 화학요법-유도된 호중구감소증은 환자의 감염 위험을 증가시키고, 암 치료를 방해한다.

[0474] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 백신접종될 면역약화된 대상체는 500/mm³ 미만의 CD4+ 세포 카운트, 또는 300/mm³ 미만의 CD4+ 세포 카운트, 또는 200/mm³ 미만의 CD4+ 세포 카운트, 100/mm³ 미만의 CD4+ 세포 카운트, 75/mm³ 미만의 CD4+ 세포 카운트, 또는 50/mm³ 미만의 CD4+ 세포 카운트를 갖는다.

[0475] CD4 세포 시험은 보통 mm³ 당 세포 카운트로서 보고된다. 정상적인 CD4 카운트는 500 내지 1600이고, CD8 카운트는 375 내지 1100이다. CD4 수는 HIV를 가진 사람에서 극적으로 저하된다.

[0476] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 개시된 임의의 면역약화된 대상체는 인간 남성 또는 인간 여성이다.

[0477] 9 투약법

[0478] 일부 경우에, 본 발명에 따른 면역원성 조성물의 1회 용량만큼 적은 용량이 필요하지만, 더 많이 면역 결핍된 상태와 같은 일부 상황 하에서는 제2, 제3 또는 제4 용량이 주어질 수 있다. 초기 백신접종 이후, 대상체는 적절한 간격으로 1회 또는 수회의 부스터 면역화를 제공받을 수 있다.

[0479] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 면역원성 조성물의 백신접종 스케줄은 단일 용량이다. 특정한 실시양태에서, 상기 단일 용량 스케줄은 적어도 2세인 건강한 사람에 대한 것이다.

[0480] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 면역원성 조성물의 백신접종 스케줄은 다중 용량 스케줄이다. 특정한 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월 내지 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 2회 용량으로 이루어진다. 특정한 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월의 간격으로 분리된 일련의 2회 용량으로 구성되거나, 또는 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 2회 용량으로 이루어진다.

[0481] 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월 내지 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량으로 이루어진다. 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량으로 이루어지거나, 또는 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량으로 이루어진다.

[0482] 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월 내지 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량에 이어서, 제1 용량 이후 약 10개월 내지 약 13개월에 제4 용량으로 이루어진다. 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 약 1개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량에 이어서, 제1 용량 이후 약 10개월 내지 약 13개월에 제4 용량으로 이루어지거나, 또는 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량에 이어서, 제1 용량 이후 약 10개월 내지 약 13개월에 제4 용량으로 이루어진다.

[0483] 한 실시양태에서, 다중 용량 스케줄은 1세에 적어도 1회의 용량 (예를 들어, 1, 2 또는 3회 용량)에 이어서, 적

어도 1회의 유아 용량으로 이루어진다.

- [0484] 한 실시양태에서, 다중 용량 스케줄은 2개월 나이에 시작하는 약 1개월 내지 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 2 또는 3회 용량 (예를 들어, 용량들 사이에 28-56일)에 이어서, 12-18개월 나이에 유아 용량으로 이루어진다. 한 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 2개월 나이에 시작하는 약 1개월 내지 2개월의 간격으로 분리된 일련의 3회 용량 (예를 들어, 용량들 사이에 28-56일)에 이어서, 12-15개월 나이에 유아 용량으로 이루어진다. 또 다른 실시양태에서, 상기 다중 용량 스케줄은 2개월 나이에 시작하는 약 2개월의 간격으로 분리된 일련의 2회 용량에 이어서, 12-18개월 나이에 유아 용량으로 이루어진다.
- [0485] 한 실시양태에서, 다중 용량 스케줄은 2, 4, 6, 및 12-15 개월 나이에 일련의 4회 백신으로 이루어진다.
- [0486] 한 실시양태에서, 제0일에 프라임 용량을 제공하고, 약 2 내지 약 24주 범위의 간격으로, 바람직하게는 4-8주의 투여 간격으로 1회 이상의 부스트를 제공한다.
- [0487] 한 실시양태에서, 제0일에 프라임 용량을 제공하고, 약 3개월 후에 부스트를 제공한다.
- [0488] **10 키트 및 공정**
- [0489] 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 개시된 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트에 관한 것이다.
- [0490] 한 실시양태에서, 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있다.
- [0491] 한 실시양태에서, 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있다.
- [0492] 한 실시양태에서, 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 $\geq 0.35 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 항-피막 항체를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있다.
- [0493] 한 실시양태에서, 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 $\geq 0.35 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 항-피막 항체를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있다.
- [0494] 한 실시양태에서, 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 OPA 역가를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있다.
- [0495] 한 실시양태에서, 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 OPA 역가를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있다.
- [0496] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0497] - 본 개시내용의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0498] - 상기 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계
- [0499] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0500] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0501] - 본 개시내용의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0502] - 상기 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 $\geq 0.35 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 항-피막 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계
- [0503] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0504] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0505] - 본 개시내용의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0506] - 상기 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 OPA 역가를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어

있는 것인 단계

- [0507] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0508] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0509] - 본 개시내용의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0510] - 정보 리플렛을 인쇄하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계;
- [0511] - 상기 면역원성 조성물 및 상기 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하는 단계
- [0512] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0513] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0514] - 본 개시내용의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0515] - 정보 리플렛을 인쇄하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 $\geq 0.35 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 항-피막 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계;
- [0516] - 상기 면역원성 조성물 및 상기 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하는 단계
- [0517] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0518] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0519] - 본 개시내용의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0520] - 정보 리플렛을 인쇄하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 OPA 역가를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계;
- [0521] - 상기 면역원성 조성물 및 상기 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하는 단계
- [0522] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0523] **11 방법**
- [0524] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0525] - 면역학적 유효량의 본원에 정의된 임의의 면역원성 조성물을 대상체에게 주사하는 단계;
- [0526] - 상기 대상체로부터 혈청 샘플을 수집하는 단계;
- [0527] - 시험관내 옥소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 옥소닌식세포성 사멸 활성화에 대해 상기 혈청 샘플을 시험하는 단계
- [0528] 를 포함하는 방법에 관한 것이다.
- [0529] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0530] - 면역학적 유효량의 본원에 정의된 임의의 면역원성 조성물을 대상체에게 주사하는 단계;
- [0531] - 상기 대상체로부터 혈청 샘플을 수집하는 단계;
- [0532] - 시험관내 옥소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 옥소닌식세포성 사멸 활성화에 대해 상기 혈청 샘플을 시험하는 단계
- [0533] 를 포함하는 방법에 관한 것이다.
- [0534] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0535] - 면역학적 유효량의 본원에 정의된 임의의 면역원성 조성물을 대상체에게 주사하는 단계;
- [0536] - 상기 대상체로부터 혈청 샘플을 수집하는 단계;
- [0537] - 시험관내 옥소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 옥소닌식세포성 사멸

활성에 대해 상기 혈청 샘플을 시험하는 단계

- [0538] 를 포함하는 방법에 관한 것이다.
- [0539] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0540] - 면역학적 유효량의 본원에 정의된 임의의 면역원성 조성물을 대상체에게 주사하는 단계;
- [0541] - 상기 대상체로부터 혈청 샘플을 수집하는 단계;
- [0542] - 시험관내 흡소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 대한 흡소닌식세포성 사멸 활성에 대해 상기 혈청 샘플을 시험하는 단계
- [0543] 를 포함하는 방법에 관한 것이다.
- [0544] 본 개시내용의 특정한 실시양태는 하기 넘버링된 단락들에서 설명된다:
- [0545] 1. 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V로부터의 적어도 1종의 당접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0546] 2. 제1 단락에 있어서, 상기 조성물이 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N으로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는 것인 면역원성 조성물.
- [0547] 3. 제1 또는 제2 단락에 있어서, 상기 조성물이 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는 것인 면역원성 조성물.
- [0548] 4. 제1 내지 제3 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물이 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는 것인 면역원성 조성물.
- [0549] 5. 제1 단락에 있어서, 상기 조성물이 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L로부터의 피막 사카라이드를 포함하지 않는 것인 면역원성 조성물.
- [0550] 6. 제1 내지 제5 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 4로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0551] 7. 제1 내지 제6 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6B로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0552] 8. 제1 내지 제7 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 14로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0553] 9. 제1 내지 제8 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0554] 10. 제1 내지 제9 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19F로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0555] 11. 제1 내지 제10 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 23F로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0556] 12. 제1 내지 제5 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 4, 6B, 14, 18C, 19F 및 23F로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0557] 13. 제1 내지 제12 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0558] 14. 제1 내지 제13 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 5로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0559] 15. 제1 내지 제14 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 7F로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0560] 16. 제1 내지 제15 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 5 및 7F로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.

- [0561] 17. 제1 내지 제16 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0562] 18. 제1 내지 제17 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19A로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0563] 19. 제1 내지 제15 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A 및 19A로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0564] 20. 제1 내지 제19 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0565] 21. 제1 내지 제20 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 15B로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0566] 22. 제1 내지 제21 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 22F로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0567] 23. 제1 내지 제22 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 33F로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0568] 24. 제1 내지 제23 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 12F로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0569] 25. 제1 내지 제24 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 10A로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0570] 26. 제1 내지 제25 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 11A로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0571] 27. 제1 내지 제26 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 8로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0572] 28. 제1 내지 제20 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 22F 및 33F로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0573] 29. 제1 내지 제20 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 15B, 22F 및 33F로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0574] 30. 제1 내지 제23 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 12F, 10A, 11A 및 8로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0575] 31. 제1 내지 제30 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 2로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0576] 32. 제1 내지 제31 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 17F로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0577] 33. 제1 내지 제32 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 20으로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0578] 34. 제1 내지 제30 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 2, 17F 및 20으로부터의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0579] 35. 제1 내지 제34 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 15C로부터의 적어도 1종의 당접합체를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0580] 36. 제1 내지 제35 단락 중 어느 하나에 있어서, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24-가 페렘구균 접합체 조성물인 면역원성 조성물.
- [0581] 37. 제1 내지 제35 단락 중 어느 하나에 있어서, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20가 페렘구균 접합체 조성물인 면역원성 조성물.

- [0582] 38. 제1 내지 제35 단락 중 어느 하나에 있어서, 16-가 페럼구균 접합체 조성물인 면역원성 조성물.
- [0583] 39. 제1 내지 제35 단락 중 어느 하나에 있어서, 20-가 페럼구균 접합체 조성물인 면역원성 조성물.
- [0584] 40. 제1 내지 제39 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 당접합체가 개별적으로 CRM₁₉₇에 접합되는 것인 면역원성 조성물.
- [0585] 41. 제1 내지 제39 단락 중 어느 하나에 있어서, 모든 당접합체가 개별적으로 CRM₁₉₇에 접합되는 것인 면역원성 조성물.
- [0586] 42. 제1 내지 제39 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14 및/또는 23F로부터의 당접합체가 개별적으로 PD에 접합되는 것인 면역원성 조성물.
- [0587] 43. 제9 내지 제39 및 제42 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 18C로부터의 당접합체가 TT에 접합되는 것인 면역원성 조성물.
- [0588] 44. 제10 내지 제39 및 제42 내지 제43 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19F로부터의 당접합체가 DT에 접합되는 것인 면역원성 조성물.
- [0589] 45. 제1 내지 제44 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 당접합체가 CDAP 화학을 이용하여 제조되는 것인 면역원성 조성물.
- [0590] 46. 제1 내지 제44 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 당접합체가 환원성 아민화에 의해 제조되는 것인 면역원성 조성물.
- [0591] 47. 제1 내지 제44 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 6A로부터의 상기 당접합체가 환원성 아민화에 의해 제조되는 것인 면역원성 조성물.
- [0592] 48. 제1 내지 제44 및 제47 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 19A로부터의 상기 당접합체가 환원성 아민화에 의해 제조되는 것인 면역원성 조성물.
- [0593] 49. 제1 내지 제44 및 제47 내지 제48 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 3으로부터의 상기 당접합체가 환원성 아민화에 의해 제조되는 것인 면역원성 조성물.
- [0594] 50. 제1 내지 제49 단락 중 어느 하나에 있어서, 다른 병원균으로부터의 항원을 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0595] 51. 제1 내지 제49 단락 중 어느 하나에 있어서, 디프테리아 독소이드 (D), 파상풍 독소이드 (T), 백일해 항원 (P), 전형적으로 무세포성 백일해 항원 (Pa), B형 간염 바이러스 (HBV) 표면 항원 (HBsAg), A형 간염 바이러스 (HAV) 항원, 접합된 헤모필루스 인플루엔자에 b형 피막 사카라이드 (Hib), 불활성화 폴리오바이러스 백신 (IPV)으로부터 선택된 항원을 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0596] 52. 제1 내지 제51 단락 중 어느 하나에 있어서, 적어도 1종의 아주반트, 가장 바람직하게는 본원에 개시된 임의의 아주반트를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0597] 53. 제1 내지 제51 단락 중 어느 하나에 있어서, 인산알루미늄, 황산알루미늄 및 수산화알루미늄으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 아주반트를 추가로 포함하는 면역원성 조성물.
- [0598] 54. 제1 내지 제51 단락 중 어느 하나에 있어서, 아주반트로서 인산알루미늄 형태의 원소 알루미늄을 0.1 mg/mL 내지 1 mg/mL 포함하는 면역원성 조성물.
- [0599] 55. 제1 내지 제54 단락 중 어느 하나에 있어서, ELISA 검정에 의해 결정 시 적어도 0.35 µg/ml의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 폴리스카라이드와 결합할 수 있는 IgG 항체를 인간에서 도출할 수 있는 면역원성 조성물.
- [0600] 56. 제1 내지 제55 단락 중 어느 하나에 있어서, ELISA 검정에 의해 결정 시 적어도 0.35 µg/ml의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 폴리스카라이드와 결합할 수 있는 IgG 항체를 인간에서 도출할 수 있는 면역원성 조성물.
- [0601] 57. 제1 내지 제56 단락 중 어느 하나에 있어서, ELISA 검정에 의해 결정 시 적어도 0.35 µg/ml의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L 폴리스카라이드와 결합할 수 있는 IgG 항체를 인간에서 도출할 수 있는 면역원성 조

성물.

- [0602] 58. 제1 내지 제57 단락 중 어느 하나에 있어서, 시험관내 흡소닌식세포성 검정 (OPA)에 의해 결정 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L을 사멸시킬 수 있는 기능적 항체를 인간에서 도출할 수 있는 면역원성 조성물.
- [0603] 59. 제1 내지 제58 단락 중 어느 하나에 있어서, 시험관내 흡소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 50%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있는 면역원성 조성물.
- [0604] 60. 제1 내지 제59 단락 중 어느 하나에 있어서, 시험관내 흡소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 50%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있는 면역원성 조성물.
- [0605] 61. 제1 내지 제60 단락 중 어느 하나에 있어서, 시험관내 흡소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 결정 시 대상체의 적어도 50%에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대해 적어도 1:8의 역가를 도출할 수 있는 면역원성 조성물.
- [0606] 62. 제1 내지 제61 단락 중 어느 하나에 있어서, 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 반응자의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있는 면역원성 조성물.
- [0607] 63. 제1 내지 제62 단락 중 어느 하나에 있어서, 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 반응자의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있는 면역원성 조성물.
- [0608] 64. 제1 내지 제63 단락 중 어느 하나에 있어서, 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 반응자의 비율을 유의하게 증가시킬 수 있는 면역원성 조성물.
- [0609] 65. 제1 내지 제64 단락 중 어느 하나에 있어서, 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있는 면역원성 조성물.
- [0610] 66. 제1 내지 제65 단락 중 어느 하나에 있어서, 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있는 면역원성 조성물.
- [0611] 67. 제1 내지 제66 단락 중 어느 하나에 있어서, 미리 면역화된 집단과 비교 시 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 대한 인간 대상체의 OPA 역가를 유의하게 증가시킬 수 있는 면역원성 조성물.
- [0612] 68. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0613] 69. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0614] 70. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0615] 71. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9A에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0616] 72. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N 및 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0617] 73. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A 및 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0618] 74. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0619] 75. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0620] 76. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 에스. 뉴모니아에 감염을 예방하기 위해 사용하기 위한 면역원성 조성물.

- [0621] 77. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역원성 조성물을 전신 또는 점막 경로를 통해 투여함으로써, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 감염되기 쉬운 인간을 보호 또는 치료하는 방법에서 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0622] 78. 면역학적 유효량의 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L과 연관된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 방법.
- [0623] 79. 면역학적 유효량의 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염을 예방하는 방법.
- [0624] 80. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체가 1세 미만의 인간인 면역원성 조성물.
- [0625] 81. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체가 2세 미만의 인간인 면역원성 조성물.
- [0626] 82. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체가 50세 이상의 인간 성인인 면역원성 조성물.
- [0627] 83. 제1 내지 제82 단락 중 어느 하나에 있어서, 다중 용량 백신접종 스케줄로 사용하기 위한 면역원성 조성물.
- [0628] 84. 본원에 개시된 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트.
- [0629] 85. 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트.
- [0630] 86. 제85 또는 제86 단락에 있어서, 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 키트.
- [0631] 87. 제85 또는 제86 단락에 있어서, 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 키트.
- [0632] 88. 제85 또는 제86 단락에 있어서, 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 $\geq 0.35 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 항-피막 항체를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 키트.
- [0633] 89. 제85 또는 제86 단락에 있어서, 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 $\geq 0.35 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 항-피막 항체를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 키트.
- [0634] 90. 제85 내지 제89 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 OPA 역가를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 키트.
- [0635] 91. 제85 내지 제89 단락 중 어느 하나에 있어서, 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N에 대한 OPA 역가를 도출하는 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 키트.
- [0636] 92. - 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0637] - 상기 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계
- [0638] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법.
- [0639] 93. - 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0640] - 상기 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 $\geq 0.35 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 항-피막 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계
- [0641] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법.
- [0642] 94. - 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0643] - 상기 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 OPA 역가를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계

- [0644] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법.
- [0645] 95. - 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0646] - 정보 리플렛을 인쇄하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 기능적 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계;
- [0647] - 상기 면역원성 조성물 및 상기 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하는 단계
- [0648] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법.
- [0649] 96. - 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0650] - 정보 리플렛을 인쇄하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 $\geq 0.35 \mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 항-피막 항체를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계;
- [0651] - 상기 면역원성 조성물 및 상기 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하는 단계
- [0652] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법.
- [0653] 97. - 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 제조하는 단계; 및
- [0654] - 정보 리플렛을 인쇄하며, 여기서 상기 정보 리플렛에는 인간 집단에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9A, 9L 및/또는 9N에 대한 OPA 역가를 도출하는 상기 조성물의 능력이 언급되어 있는 것인 단계;
- [0655] - 상기 면역원성 조성물 및 상기 정보 리플렛을 동일한 키트에서 조합하는 단계
- [0656] 를 포함하는, 면역원성 조성물 및 정보 리플렛을 포함하는 키트를 제조하는 방법.
- [0657] 98. - 면역학적 유효량의 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나에 정의된 면역원성 조성물을 대상체에게 주사하는 단계;
- [0658] - 상기 대상체로부터 혈청 샘플을 수집하는 단계;
- [0659] - 시험관내 흡소닌식세포성 사멸 검정 (OPA)에 의해 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 대한 흡소닌식세포성 사멸 활성에 대해 상기 혈청 샘플을 시험하는 단계
- [0660] 를 포함하는 방법.
- [0661] 99. 면역학적 유효량의 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 대한 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0662] 100. 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의한 감염에 대해 대상체를 면역화시키는 의약의 제조를 위한 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0663] 101. 대상체에서 에스. 뉴모니아에 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L에 의해 초래된 감염, 질환 또는 상태를 예방, 치료 또는 개선시키는 의약의 제조를 위한 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0664] 102. 대상체에서 혈청형 9N, 9A 및/또는 9L 에스. 뉴모니아에 의한 감염을 예방하기 위한 의약의 제조를 위한 제1 내지 제67 단락 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0665] 본원에 사용된 용어 "약"은 명시된 농도 범위, 기간, 분자량, 온도 또는 pH와 같은 값의 통계적으로 유의한 범위 내를 의미한다. 이러한 범위는 주어진 값 또는 범위의 한 자릿수 이내, 전형적으로 20% 이내, 더욱 전형적으로 10% 이내, 및 훨씬 더 전형적으로 5% 이내 또는 1% 이내일 수 있다. 때때로, 이러한 범위는 주어진 값 또는 범위의 측정 및/또는 결정에 사용되는 표준 방법에서 전형적인 실험 오차 내에 있을 수 있다. 용어 "약"에 의해 포괄되는 허용가능한 변이는 연구시의 특정한 시스템에 따라 좌우될 것이고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 용이하게 이해될 수 있다. 본 출원에서 소정의 범위가 인용되는 경우에는 언제나, 상기 범위 내의 모든 정수 또한 본 개시내용의 실시양태로서 고려된다.
- [0666] 본원에서 용어 "포함하는", "포함하다" 및 "포함한다"는 발명자에 의해 모든 경우에 각각 용어 "로 이루어진", "로 이루어지다" 및 "로 이루어진다"와 임의적으로 대체가능한 것으로 의도된다.
- [0667] 본 특허 명세서 내에 인용된 모든 참고문헌 또는 특허 출원은 본원에 참조로 포함된다.

- [0668] 본 발명은 첨부된 실시예에 의해 설명된다. 하기 실시예는 달리 상세하게 기재된 경우를 제외하고는 관련 기술 분야의 기술자에게 널리 공지되고 일상적인 표준 기술을 이용하여 수행된다. 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것이며, 본 발명을 제한하지 않는다.
- [0669] **실시예**
- [0670] **실시예 1. 스트렙토코쿠스 뉴모니아에의 혈청군 9 내에서 교차-반응성 옥소닌식세포성 면역 반응의 평가**
- [0671] 기능적 항체 및 보체의 존재 하에 식세포성 이펙터 세포에 의한 에스. 뉴모니아에 세포의 사멸을 측정하는 폐렴구균 옥소닌식세포성 검정 (OPA)은 폐렴구균 백신의 효능을 평가하는 중요한 대안법으로 고려된다.
- [0672] **물질 및 방법**
- [0673] 13-가 폐렴구균 접합체 백신 (13vPnC)으로 백신접종된 성인으로부터의 면역 혈청의 무작위로 선택된 2개의 하위 집합을 혈청형 9V, 9A, 9L 및 9N에 대한 OPA 검정으로 시험하였다. 혈청은 각각 미국 임상 시험 6115A1-004 (N=59, 백신접종 후) 및 6115A1-3005 (N=66, 매칭된 백신접종 전 및 후)로부터 수집하였다.
- [0674] 연구 6115A1-3005 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00546572)는, 연구에 등록하기 적어도 5년 전에 23vPS를 1회 용량을 제공받은 보행가능한 70세 이상의 노인 개체에서, 23-가 폐렴구균 폴리사카라이드 백신 (23vPS)과 비교하여, 프리브나 13®의 안전성, 내약성, 및 면역원성을 평가하는 3상, 무작위, 활성-제어, 변형 이중-맹검 시험이었다 (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00546572> 참조, 2014년 3월 31일에 입수함).
- [0675] 연구 6115A1-004 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00427895)는, 23-가 폐렴구균 폴리사카라이드 백신 (23vPS)과 비교하여, 23vPS를 투여한 적이 없는 60 내지 64세의 성인에서 13-가 폐렴구균 접합체 백신 (13vPnC)의 안전성, 내약성, 및 면역원성을 평가하고, 23vPS를 투여한 적이 없는 18 내지 59세의 성인에서 13vPnC의 안전성, 내약성, 및 면역원성을 평가하는 3상, 무작위, 활성-제어, 변형 이중-맹검 시험이었다 (<http://clinicaltrials.gov/show/NCT00427895> 참조, 2014년 3월 31일에 입수함).
- [0676] 이들 연구에서 시험한 13-가 폐렴구균 접합체 백신 (13vPnC)은 디프테리아 교차-반응 물질 197 (CRM₁₉₇) 담체 단백질에 개별적으로 접합된 폐렴구균 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F로부터의 접합체를 함유하였다.
- [0677] OPA를 이용하여, 에스. 뉴모니아에 혈청형 9V, 9N, 9A 및/또는 9L에 대한 기능적 항체를 인간 혈청에서 측정하였다. 피막 폴리사카라이드 특이적인 이뮤노글로불린이 박테리아를 옥소닌화하고 보체 침착을 촉발시켜, 식세포작용을 촉진시키고 식세포에 의해 박테리아를 사멸시키는 능력을 측정하는 검정 반응에서 시험 혈청을 설정하였다. OPA 역가는 시험 혈청이 없는 대조군 웰에 비해 박테리아 카운트의 50% 감소를 일으키는 희석의 역수로서 정의된다. OPA 역가는 50% 사멸 컷-오프를 포함하는 2개 희석으로부터 보간된다.
- [0678] OPA 절차는 문헌 [Hu et al., (2005) Clin Diagn Lab Immunol 12:287-295]에 기재된 방법을 기준으로 하였다. 열-불활성화 시험 혈청을 2.5-배로 연속 희석하고, 검정 플레이트에서 표적 박테리아와 함께 첨가하고, 진탕하면서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 분화된 HL-60 세포 (식세포) 및 아기 토끼 혈청 (3- 내지 4-주령, 펠-프리즈(PEL-FREEZ)®, 아칸소주, 12.5% 최종 농도)을 대략 200:1의 이펙터 대 표적 비로 웰에 첨가하고, 진탕하면서 37°C에서 인큐베이션하였다. 반응을 종료하기 위해, 80 µL의 0.9% NaCl을 모든 웰에 첨가하고, 혼합하고, 10 µL 분취량을 200 µL의 물을 함유하는 멀티스크린(MULTISCREEN)® HTS HV 필터 플레이트 (밀리포어(MILLIPORE)®)의 웰에 옮겼다. 액체를 진공 하에 플레이트를 통해 여과하고, 150 µL의 하이소이(HYSOY)® 배지를 각각의 웰에 첨가하고 여과하였다. 이어서, 필터 플레이트를 37°C, 5% CO₂에서 밤새 인큐베이션한 다음, 디스테인 솔루션(Destain Solution) (바이오-라드 래버러토리즈, 인크.(Bio-Rad Laboratories, Inc.), 캘리포니아주 허큘레스)으로 고정시켰다. 이어서, 플레이트를 쿠마시 블루로 염색하고 다시 탈색하였다. 콜로니를 셀룰라 테크놀로지 리미티드(Cellular Technology Limited (CTL)) (오하이오주 셰이커하이츠) 이뮤노스팟(IMMUNOSPOT)® 분석기 상에서 영상화하고 나열하였다. OPA 항체 역가는, 혈청을 함유하지 않는 박테리아-이펙터 세포-보체 대조군 웰과 비교시 박테리아 콜로니 수의 50% 감소를 일으키는 최저 혈청 희석의 역수로서 결정하였다.
- [0679] 통계적 분석: 피어슨 양측 연관성을 계산하였다.
- [0680] **결과 - 9V, 9A, 9L 및 9N에서 OPA 반응**
- [0681] 혈청형 9V에 대한 동종성 기능적 반응과 함께 혈청형 9A, 9L 및 9N에 대해 13vPnC로 면역화된 성인의 면역 혈청

으로부터 교차-기능적 반응을 각각의 미세콜로니 옅소닌식세포성 검정 (mcOPA)으로 평가하였다. 13vPnC로 백신 접종된 성인으로부터의 면역 혈청의 무작위로 선택된 2개의 하위 집합을 시험하였다. 혈청은 각각 미국 임상 시험 6115A1-004 (N=59, 백신접종 후) 및 6115A1-3005 (N=66, 매칭된 백신접종 전 및 후)로부터 수집하였다.

[0682] 연구 6115A1-004에서 대상체는 이전에 어떠한 폐렴구균 백신접종도 받은 적이 없으며, 연구 프로토콜의 일부로서 13vPnC의 단일 용량을 제공받았다. 연구 6115A1-004로부터의 면역 혈청은, 9V, 9A, 9L 및 9N에 대해 각각 98.3%, 98.3%, 100% 및 93.2%의 값으로 모든 혈청군에 대해 유사한 백분율의 반응자를 나타내었으며 (도 1), 이는 6115A1-3005로부터의 결과를 뒷받침한다 (도 2). 비교적 양호한 OPA 역가 연관성이 혈청형 9V와 9A의 사이에서 (피어슨 연관성 $p = 0.5456$, $p < 0.0001$) 또는 혈청형 9V와 9L의 사이에서 ($p = 0.7353$, $p < 0.0001$) 나타났지만, 혈청형 9V와 9N의 사이에서는 나타나지 않았다 ($p = 0.1217$, $p < 0.3627$).

[0683] 연구 6115A1-3005에서 대상체는 연구에 등록하기 적어도 5년 전에 23vPS를 이미 1회 용량을 제공받은 적이 있었고, 연구 프로토콜의 일부로서 13vPnC의 단일 용량을 제공받았다. 13vPnC로 면역화된 성인으로부터의 매칭된 백신접종 전 및 후의 혈청 패널 (N=66) (연구 6115A1-3005)을 혈청형 9V에 대한 동종성 반응에 대해 및 혈청형 9A, 9L 및 9N에 대한 항-9V 항체의 교차-반응성에 대해 OPA로 평가하였다. 도 2에 도시된 바와 같이, OPA 검정에서 혈청형 9V 및 9N으로부터의 접합되지 않은 폴리사카라이드를 포함하는 23vPS로의 사전 면역화로 인해 9V (84%), 9A (66%), 9L (82%) 및 9N (86%)에 대해 비교적 높은 면역력 (반응자 백분율)이 검출되었다. 그러나, 혈청군 9로부터의 혈청형 9V 접합체만을 함유하는 13vPnC로 백신접종한 후에 4가지 모든 혈청형에 대해 반응자 백분율이 95% 이상까지 증가하였다. 역가의 배수-상승을 표 1에 나타내었고 혈청형들 간에 유사하였으며, 이는 또한 교차-반응성을 시사한다.

[0684] 표 1. 매칭된 13vPnC 백신접종 전 및 후의 OPA 역가 배수-상승

OPA 역가								
9V		9A		9L		9N		GMT 배수-상승
전	후	전	후	전	후	전	후	
221	1323	41	308	165	706	322	693	
5.9		7.5		4.2		2.1		

[0685]

[0686] OPA 역가 분포의 보다 포괄적인 분석을 도 3 내지 6에서 역 누적 분포 곡선 (RCDC)으로 도시하였다. RCDC는 혈청형 9V, 9A, 9L 및 보다 적은 정도로 9N에 대해 백신접종 후에 혈청형-특이적 면역 반응의 상승을 나타내었다. 9V/9A, 9V/9L 및 9V/9N 간의 개별 매칭 / 샘플의 역가의 배수-상승의 연관성 또한 피어슨 연관성을 이용하여 분석하였다. 역가의 배수-상승의 비교적 양호한 연관성이 혈청형 9V와 9A의 사이에서 (피어슨 연관성 $p = 0.8720$, $p < 0.0001$) 또는 혈청형 9V와 9N의 사이에서 ($p = 0.5801$, $p < 0.0001$) 나타났지만, 혈청형 9V와 9L의 사이에서는 보다 적은 정도로 나타났다 ($p = 0.1804$, $p < 0.1640$).

[0687] 결론

[0688] 이들 데이터를 기준으로, 13vPnC 백신은 혈청형 9A, 9L 및 9N에 대한 추가의 보호를 제공함으로써 보다 광범위한 혈청형 범위를 제공할 수 있다.

[0689] 실시예 2. 스트렙토코쿠스 뉴모니아에의 혈청군 9 내에서 교차-반응성 옅소닌식세포성 면역 반응의 추가의 평가

[0690] 13vPnC-유도된 혈청형 9V-특이적 항체가 혈청형 9A, 9L 및 9N으로부터의 박테리아와 기능적으로 교차-반응하는 능력 (즉, 혈청형 9A, 9L 및 9N OPA에서 박테리아 사멸)을 제3의 임상 연구로부터의 혈청에서 추가로 평가하였다.

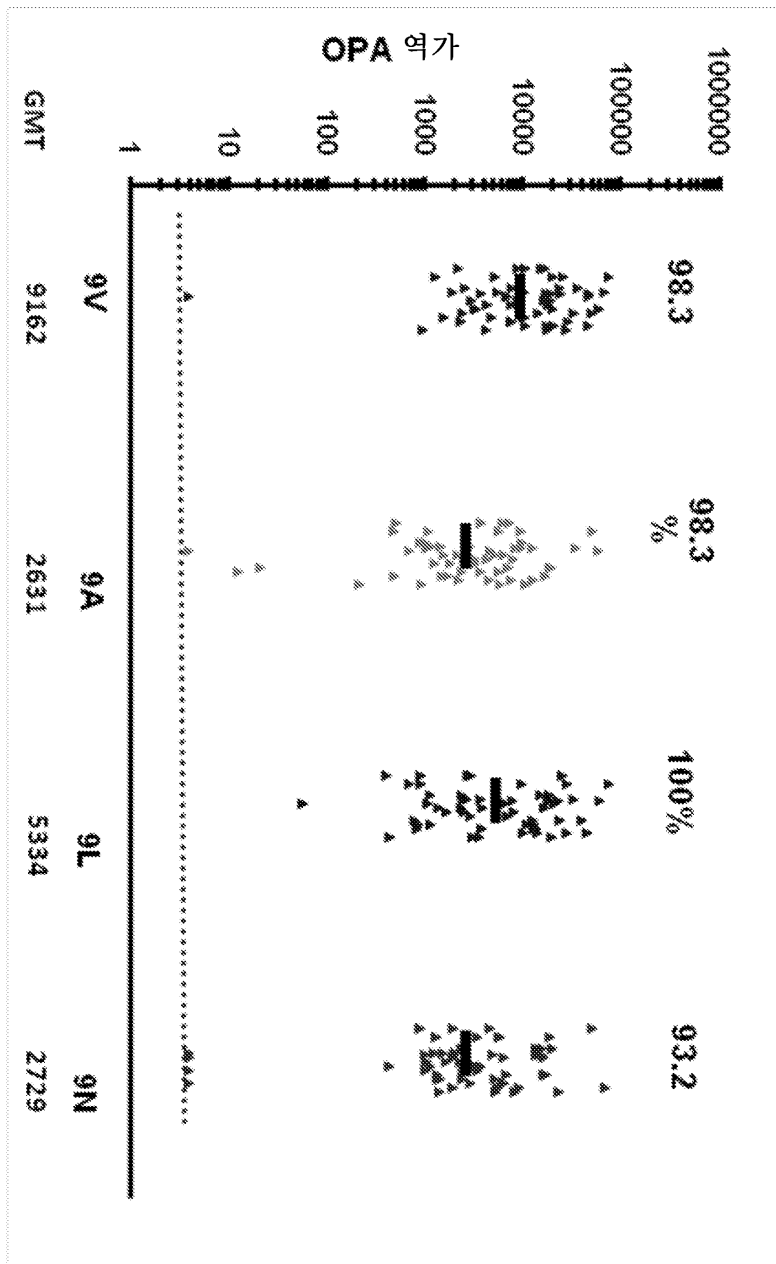
[0691] 물질 및 방법

[0692] 13-가 폐렴구균 접합체 백신 (13vPnC)으로 백신접종된 성인으로부터의 면역 혈청의 무작위로 선택된 하위 집합을 혈청형 9V, 9A, 9L 및 9N에 대해 OPA 검정으로 평가하였다. 혈청은 일본 성인 임상 연구 B1851088 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01646398)로부터 백신접종 전 및 후의 혈청으로부터 수집하였다.

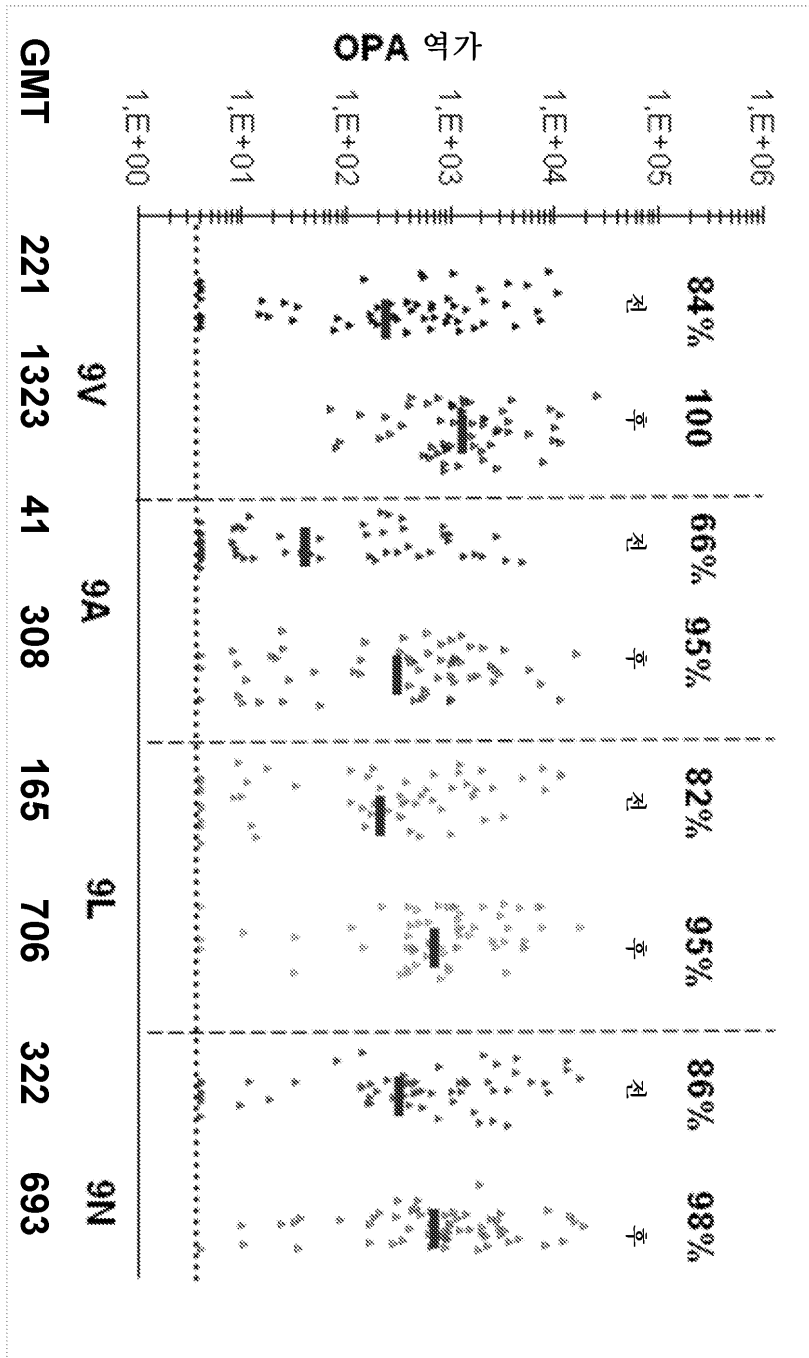
- [0693] 연구 B1851088은 페럼구균 백신을 받은 적이 없는 65세 이상의 일본 노인에서 13-가 페럼구균 접합체 백신의 안전성, 내약성 및 면역원성을 평가하는 3상, 무작위, 변형 이중-맹검, 활성-제어 시험이었다 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT0164639> 참조, 2015년 11월 30일에 입수함).
- [0694] 이들 연구에서 시험한 13-가 페럼구균 접합체 백신 (13vPnC)은 디프테리아 교차-반응 물질 197 (CRM₁₉₇) 담체 단백질에 개별적으로 접합된 페럼구균 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F 및 23F를 함유하였다.
- [0695] OPA 및 통계적 분석을 실시예 1에 기재된 바와 같이 수행하였다.
- [0696] 결과 - 9V, 9A, 9L 및 9N에서 OPA 반응
- [0697] 연구 B1851088에서 대상체는 이전에 페럼구균 백신으로 백신접종된 적이 없었고, 연구 프로토콜의 일부로서 13vPnC 또는 23vPS (유형 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19F, 19A, 20, 22F, 23F 및 33F로부터의 정제된 피막 폴리사카라이드의 혼합물로 이루어진 23-가 페럼구균 폴리사카라이드 백신)의 단일 용량을 제공받았다. 13vPnC 또는 23vPS로 면역화된 일본 성인으로부터의 면역 혈청에서 혈청형 9A, 9L 및 9N에 대한 교차-기능적 반응을 각각의 혈청군 9 OPA로 평가하였다.
- [0698] 13vPnC 또는 23vPS로 백신접종된 성인으로부터의 면역화 전 및 후의 혈청의 하위 집합을 혈청형 9A, 9L 및 9N에 대해 OPA 검정으로 평가하였다. 9V OPA 역가는 보고된 임상 데이터로부터 수득하였다. 혈청은 일본 임상 시험 B1851088 13vPnC 아암 (N = 91, 매칭된 백신접종 전 및 후) 및 23vPS 아암 (N = 83, 매칭된 백신접종 전 및 후)으로부터 선택하였다. 혈청은 백신접종 전에 OPA 역가가 낮았거나 또는 보고된 임상 데이터로부터 9V에 대해 음성인 대상체로부터 선택하였다. B1851088로부터의 모든 대상체를 23vPS 백신에 미리 노출시키지 않았다.
- [0699] 백신접종 이전에 대상체에서 비교적 낮은 기준선 혈청군 9 OPA 역가가 관찰되었다. 13vPnC 또는 23vPS로 백신접종한 후에, 혈청군 9 OPA 반응이 높은 반응자 비율로 증가하였다: 13vPnC 대상체로부터의 9V, 9A, 9L 및 9N에 대해 각각 100%, 98%, 92% 및 96%, 및 23vPS 대상체로부터의 9V, 9A, 9L 및 9N에 대해 각각 100%, 88%, 94% 및 100% (도 7 및 도 8).
- [0700] 13vPnC는 혈청군 9로부터의 혈청형 9V 폴리사카라이드만을 함유하는 반면에, 23vPS는 9V 및 9N 둘 다로부터의 폴리사카라이드를 함유한다. 따라서, 혈청형 9N 반응이 23vPS 백신접종 후에는 동종성이고, 13vPnC 백신접종 후에는 이종성이다 (혈청형 9V로부터 교차-반응).
- [0701] 백신접종 후에 혈청군 9 OPA GMT는 제공받은 백신에 상관없이 모든 혈청군 9 혈청형에 대해 높았다 (도 9). 도 10 내지 도 15는 13vPnC 또는 23vPS 백신접종에 대한 혈청군 9 OPA 반응에 대한 역 누적 분포 곡선을 도시한다.
- [0702] 기능적 교차-반응성 혈청군 9 OPA 반응을 3가지 페럼구균 백신 연구 (6115A1-004, 6155A1-3005 (실시예 1) 및 B1851088 (실시예 2))로부터의 혈청 시편에서 평가하였다. 놀랍게도, 혈청형 9V에 대해 13vPnC 유도된 면역 반응은 혈청군 9 내의 모든 이종성 혈청형 (9A, 9L 및 9N)과 여러 정도로 교차-반응하였다. 이들 데이터를 기준으로, 13vPnC 백신은 혈청형 9V에 대한 예상된 보호 외에도, 혈청형 9A, 9L 및 9N에 대한 추가의 보호를 제공한다.
- [0703] 본 명세서에 언급된 모든 공보 및 특허 출원은 본 발명이 속하는 기술분야의 기술자의 수준을 나타낸다. 모든 공보 및 특허 문헌은 각각의 개별 공보 또는 특허 출원이 참조로 포함된다고 구체적으로 또는 개별적으로 나타낸 것과 동일한 정도로 본원에 참조로 포함된다.
- [0704] 상기 발명이 명확한 이해를 위해 설명 및 예시의 방식으로 다소 상세히 기재되었지만, 첨부된 청구범위 내에서 특정한 변화 및 변형이 실시될 수 있다.

도면

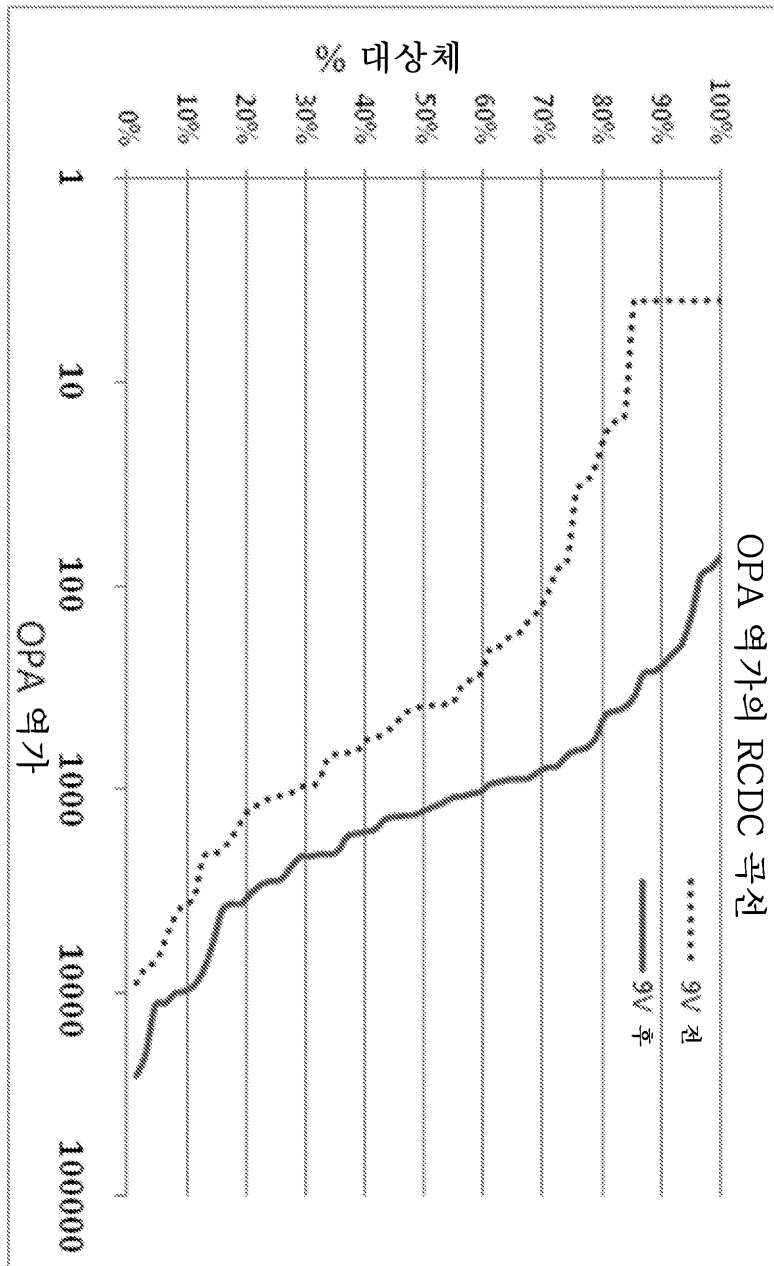
도면1



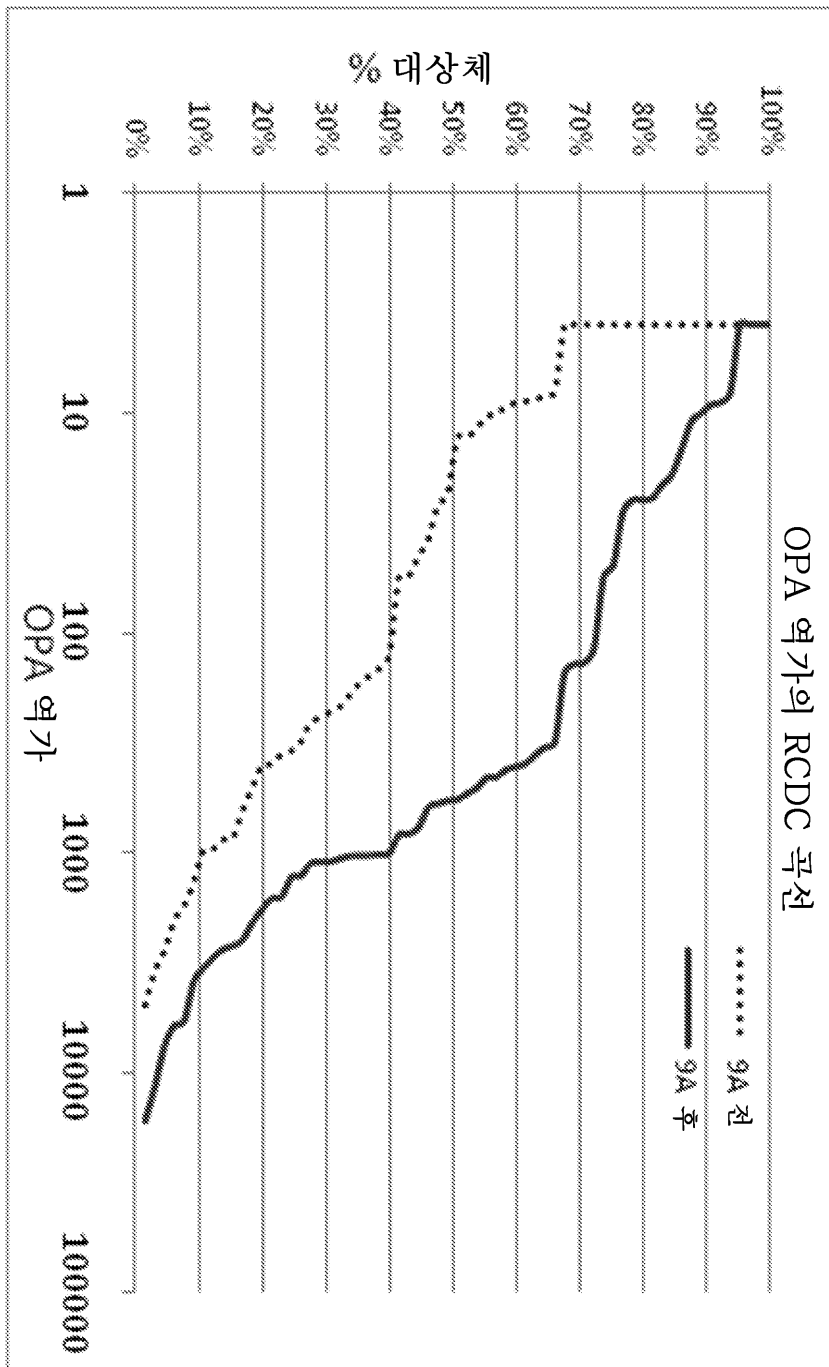
도면2



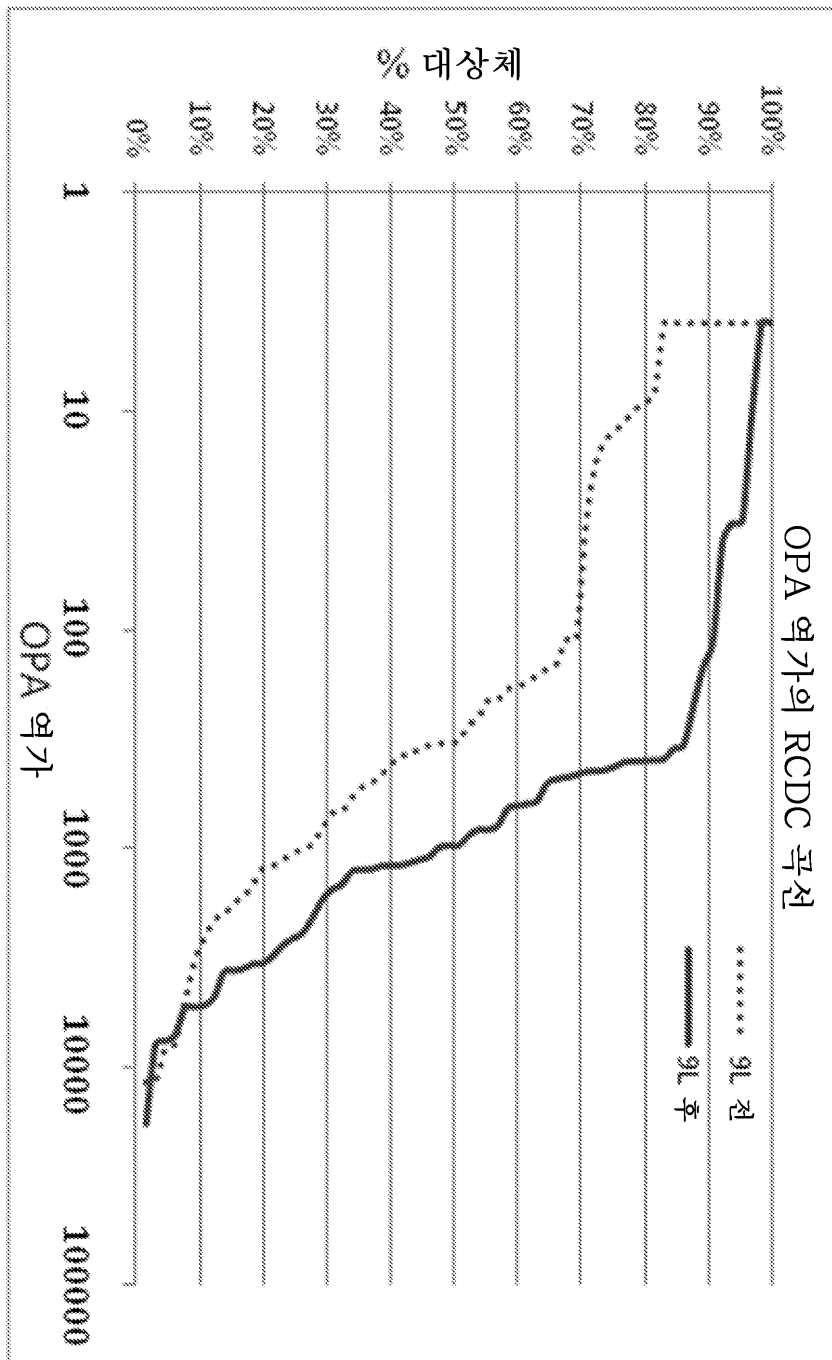
도면3



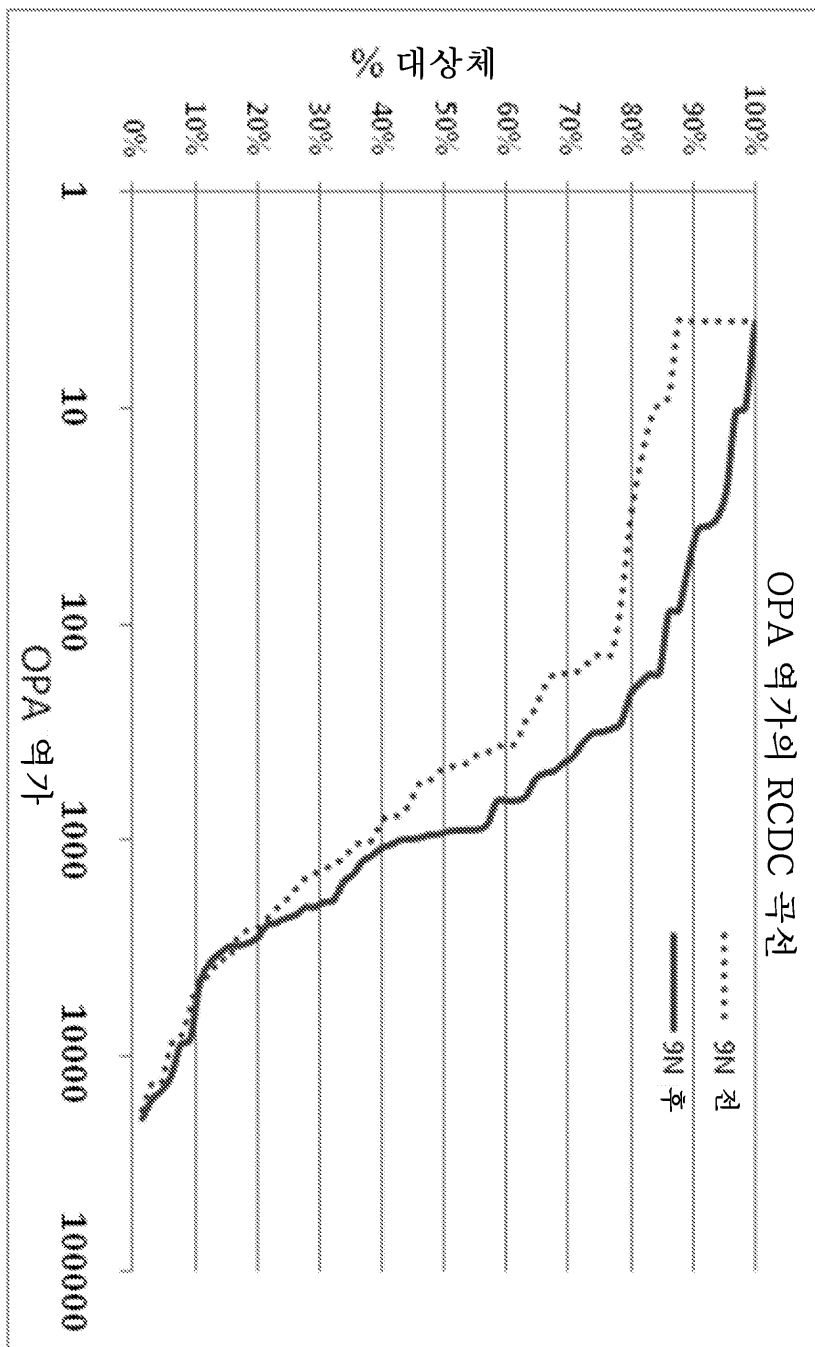
도면4



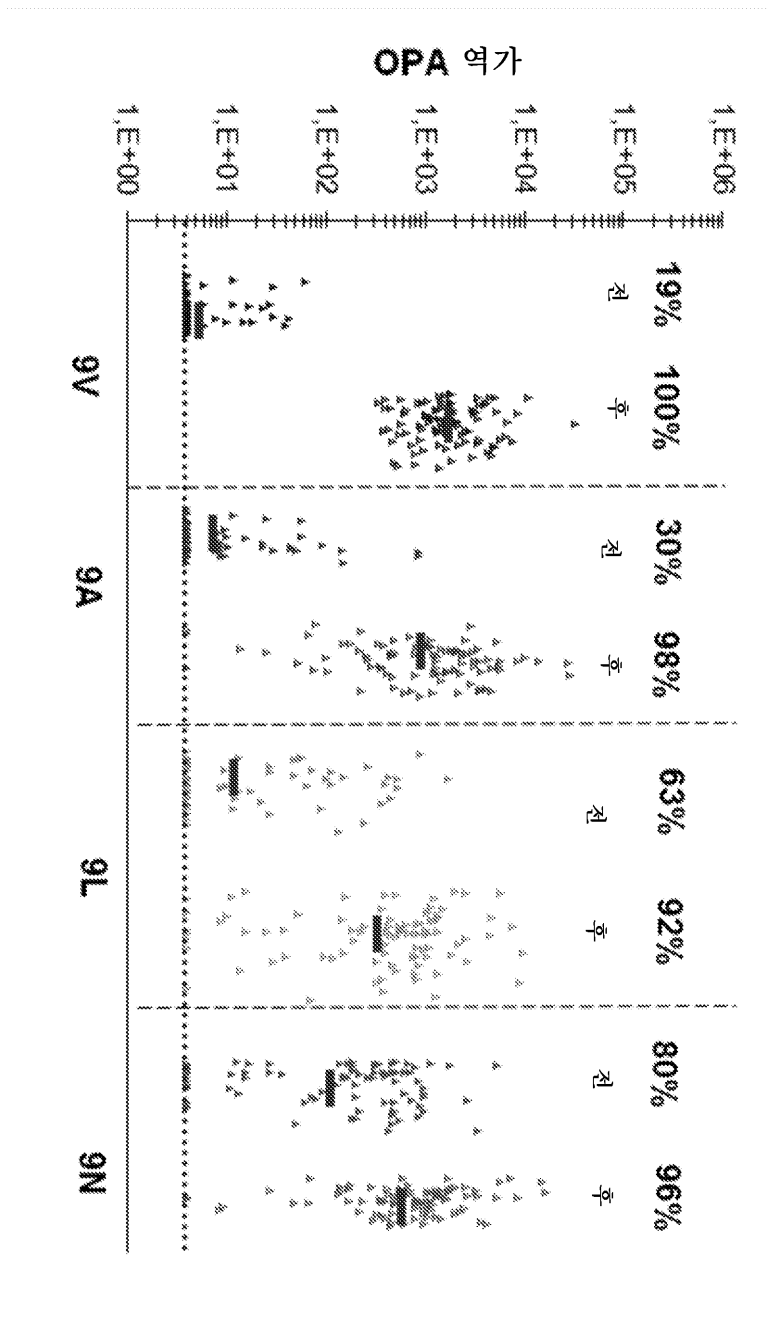
도면5



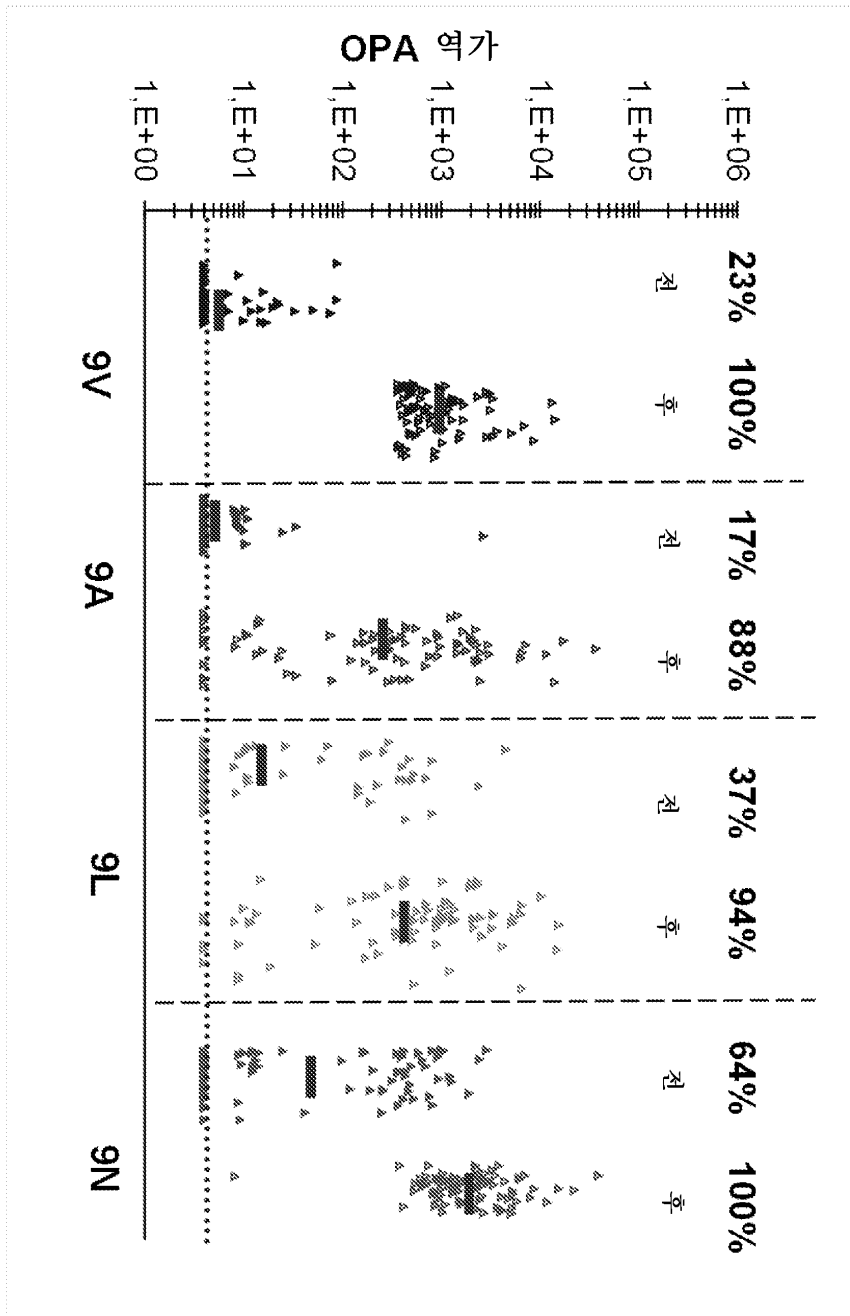
도면6



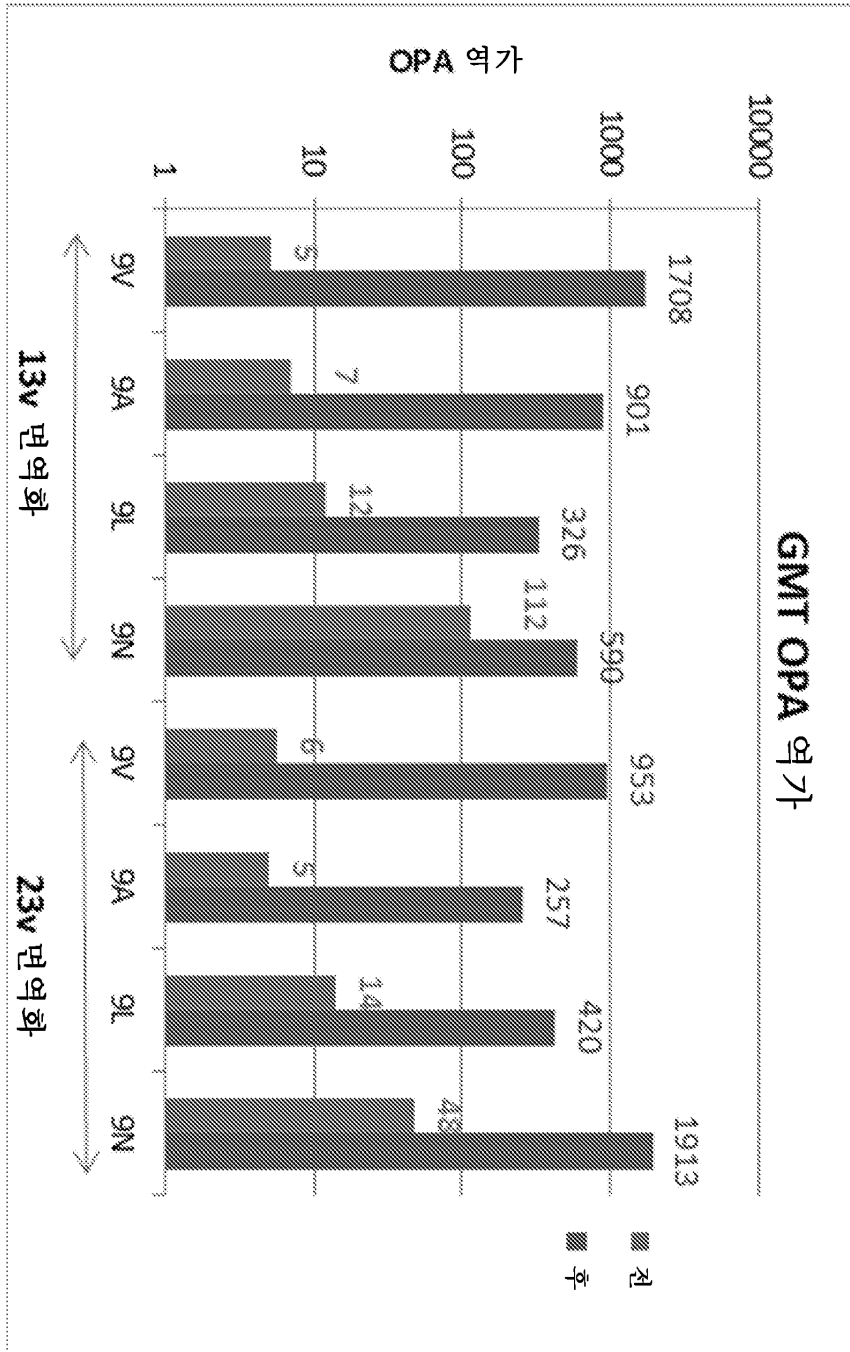
도면7



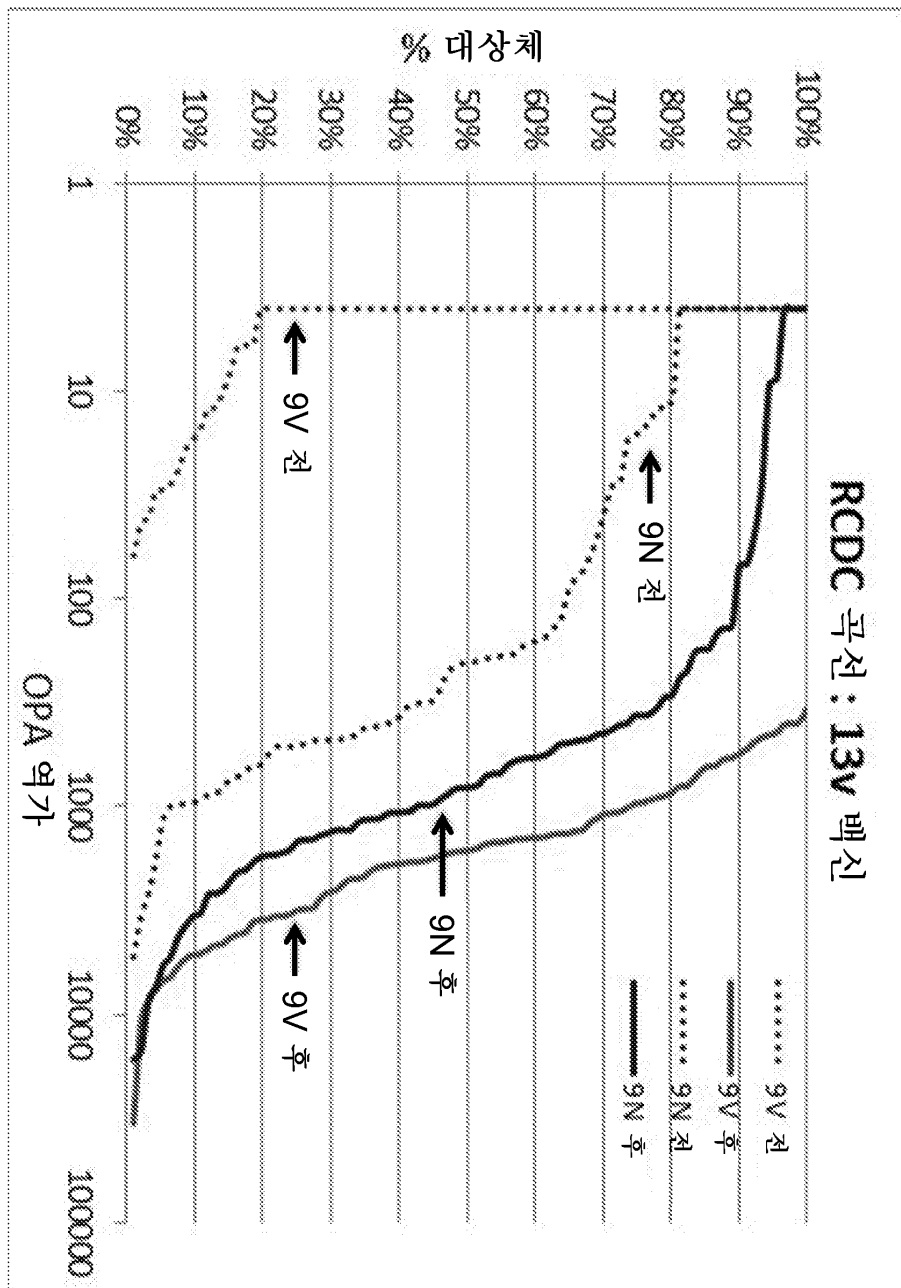
도면8



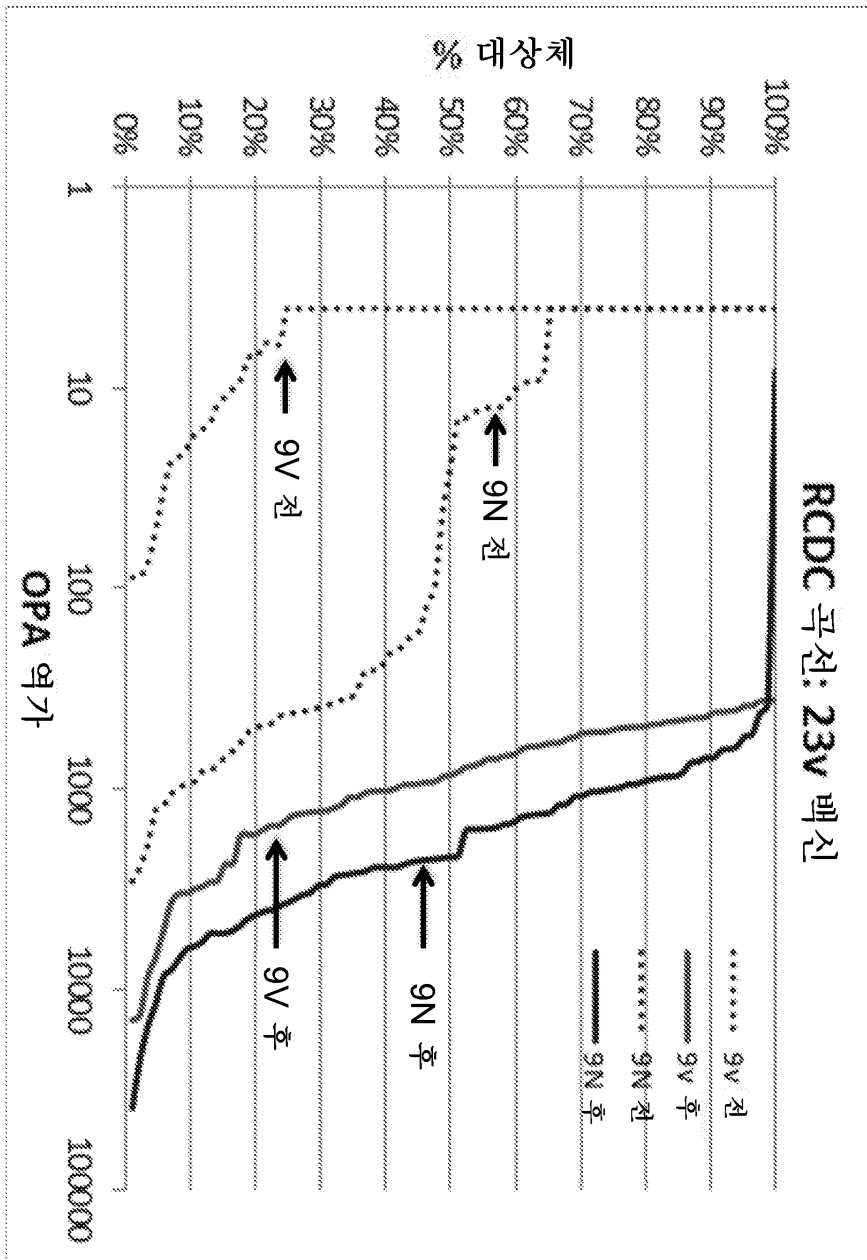
도면9



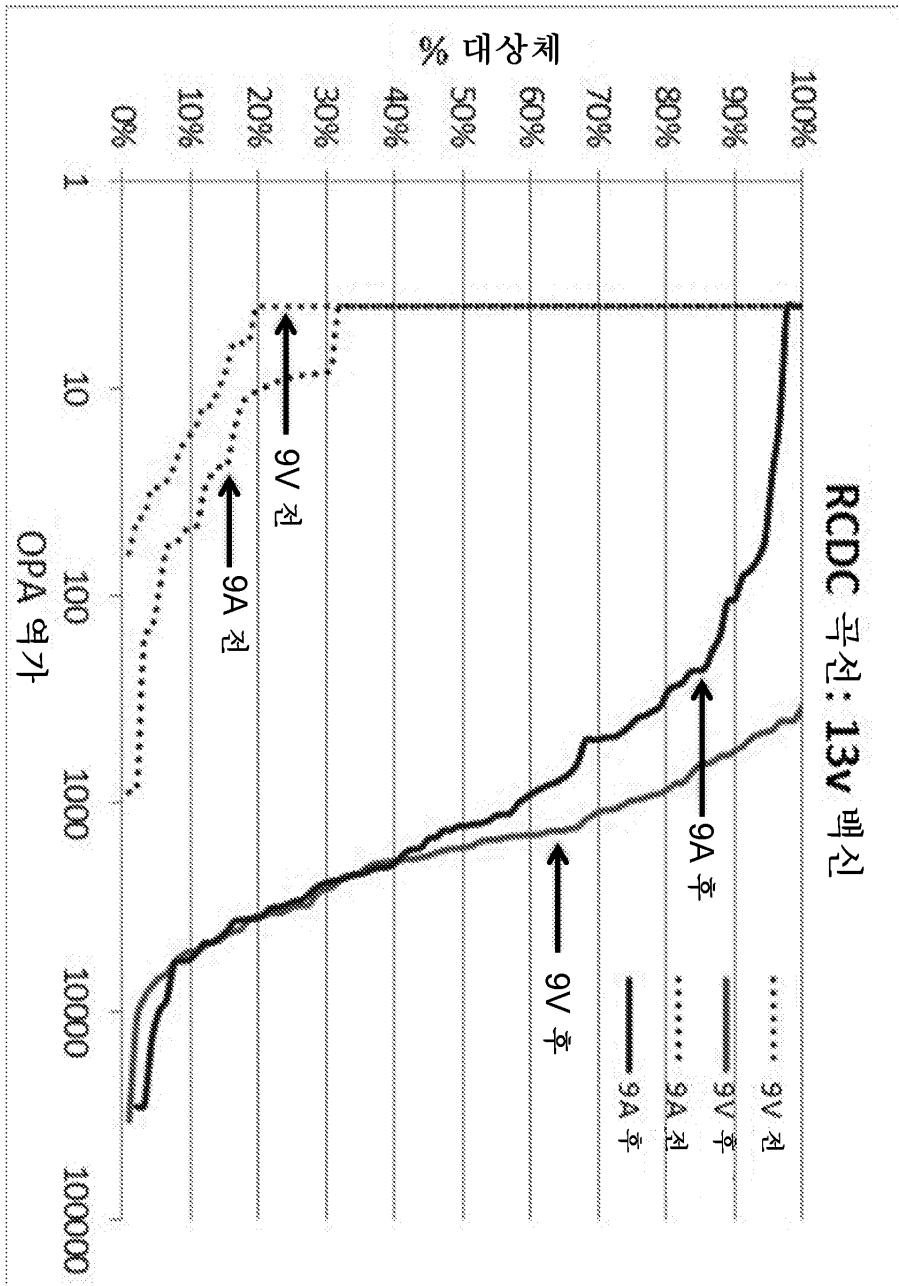
도면10



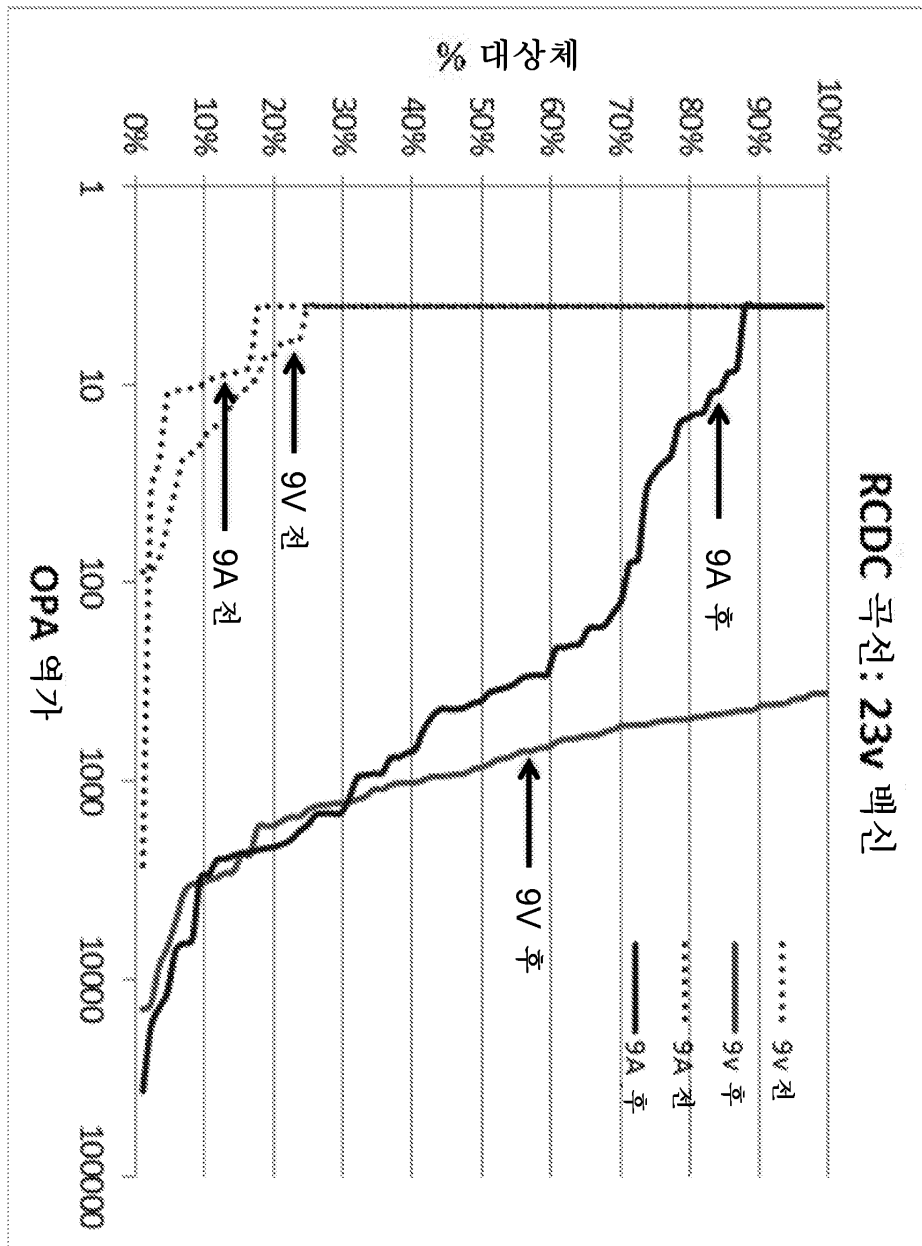
도면11



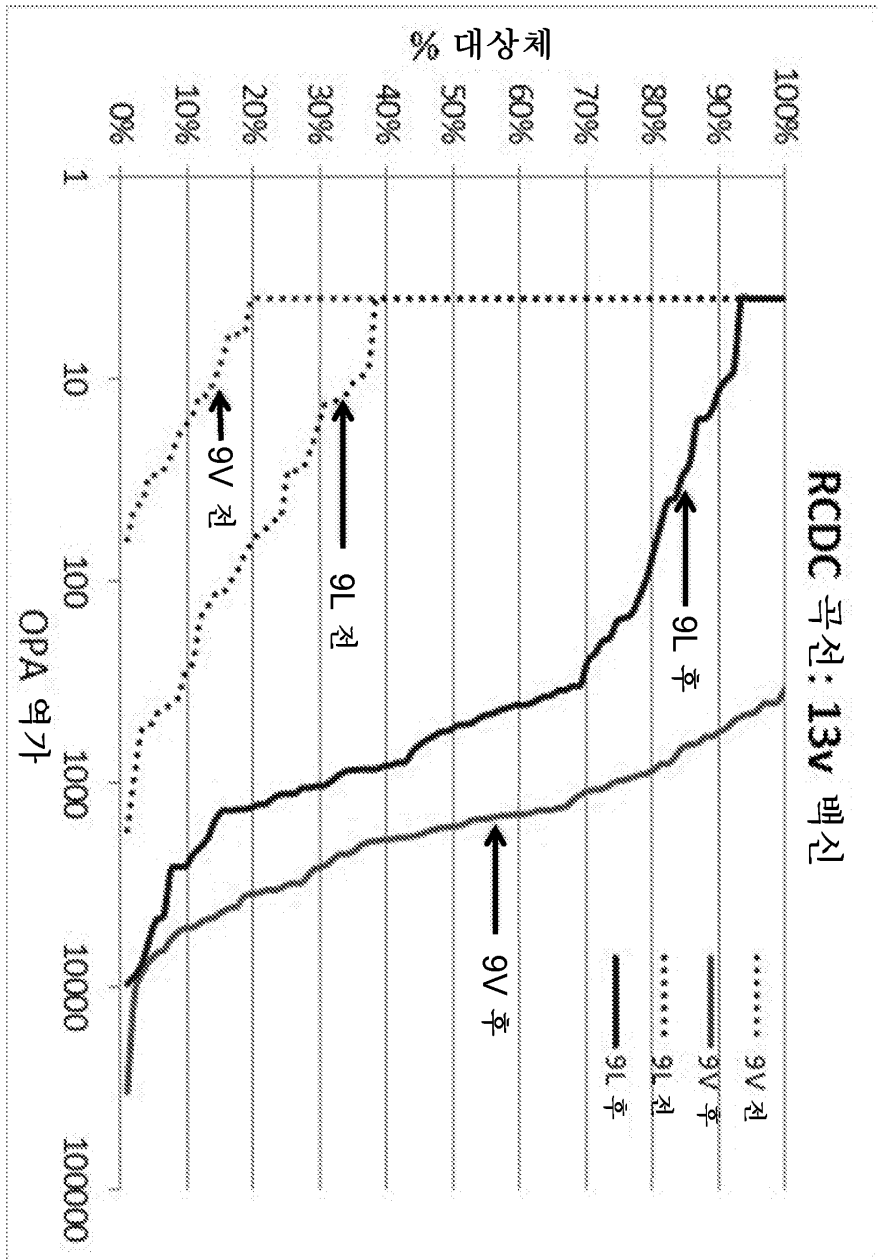
도면12



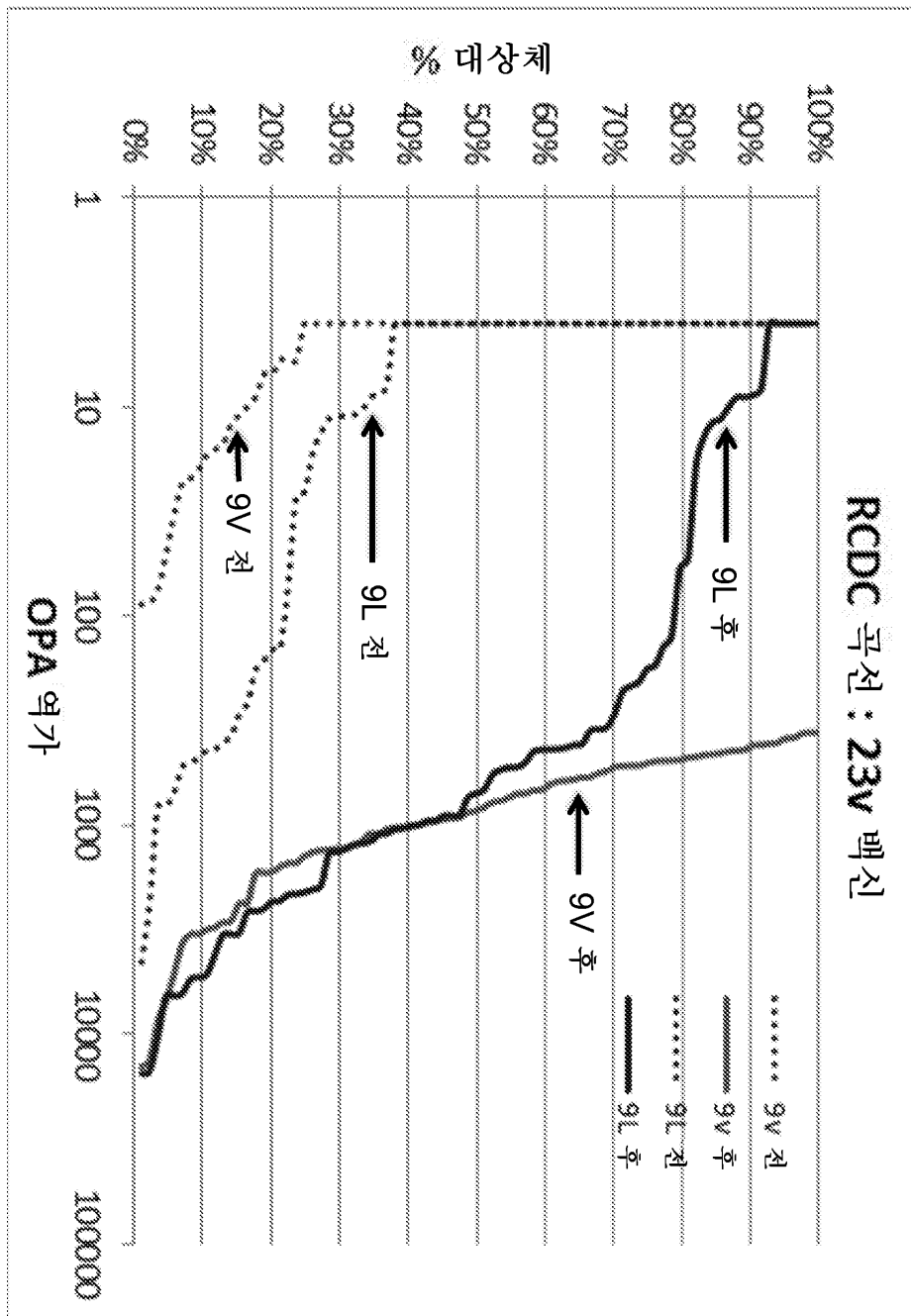
도면13



도면14



도면15



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Pfizer Inc.

<120> Immunogenic compositions for use in pneumococcal vaccines

<130> PC72094

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> "B class" CpG oligonucleotide
 <400> 1
 tcgtcgtttt tcggtgcttt t 21
 <210> 2
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> "B class" CpG oligonucleotide
 <400> 2

 tcgtcgtttt tcggtgcttt t 21
 <210> 3
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> "B class" CpG oligonucleotide
 <400> 3
 tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt 24
 <210> 4
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> "B class" CpG oligonucleotide
 <400> 4
 tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt 24
 <210> 5
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> "B class" CpG oligonucleotide

<400> 5	
tcgtcgtttt gtcgtttttt tcga	24
<210> 6	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> "B class" CpG oligonucleotide	
<400> 6	
tcgtcgtttt tcggtgcttt t	21
<210> 7	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> "B class" CpG oligonucleotide	
<400> 7	
tcgtcgtttt tcggtcgttt t	21
<210> 8	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> "B class" CpG oligonucleotide	
<400> 8	
tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt	24
<210> 9	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> "B class" CpG oligonucleotide	
<400> 9	
tcgtcgtttc gtcgttttgt cggt	24
<210> 10	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> "B class" CpG oligonucleotide

<400> 10

tcgtcgtttt gtcgtttttt tcga

24