

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl. A61K 39/02 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2006년11월13일 10-0642877 2006년10월30일
---------------------------------------	-------------------------------------	------------------------------------------

(21) 출원번호 (22) 출원일자	10-1999-0040180 1999년09월17일	(65) 공개번호 (43) 공개일자	10-2000-0023273 2000년04월25일
------------------------	--------------------------------	------------------------	--------------------------------

(30) 우선권주장 9820525.5 1998년09월21일 영국(GB)

(73) 특허권자 엘러지 테라퍼틱스 리미티드
영국, 이씨2엠 4와이에이취 런던, 커트러스 가든, 디본셔 스퀘어 7

(72) 발명자 윌러앨런
영국, 이씨2엠4와이에이취 런던, 커트러스가든, 디본셔스퀘어7

베리안토니
영국, 이씨2엠4와이에이취 런던, 커트러스가든, 디본셔스퀘어7

(74) 대리인 특허법인씨엔에스
전준향

심사관 : 퇴- 허태희

(54) 면역치료에 유용한 항원조성물

요약

- (A) 항원
 - (B) TH1-유도성 보조제; 그리고
 - (C) 난용성 수용성 아미노산 또는 그 유도체
- 를 포함하는 조성물이 개시된다.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은, 다른 분야도 배제하지는 않지만, 특히 면역에 사용되는 새로운 조성물에 관한 것이다.

면역체계는 숙주로부터 외부의 또는 새로운 물질을 인지하고 제거하는데 특히 관련되며, 이 물질은 바이러스, 박테리아, 또는 기생의 기원이 되는 물질 그리고 숙주 세포의 바깥 또는 안에 존재하거나 종양원 일 수 있다.

항원에 대한 면역 반응은 일반적으로 세포성(cell mediated, T 세포 매개에 의해 사멸시키는) 또는 체액성(humoral, 전체 항원의 인지를 통한 항체 생성) 면역 반응이 있다. 면역 반응에 관련된 TH 세포에 의한 사이토카인 생성 패턴은 이들 반응 형태를 어느 것이 우세한가를 결정지으며; 세포성 면역은(TH1) 높은 IL-2와 IFN γ 및 낮은 IL-4 생성으로 특징지어지는 반면, 체액성 면역(TH2) 반응은 낮은 IL-2와 IFN γ 및 높은 IL-4, IL-5, IL-10으로 특징지어진다. 분비 패턴은 2차 임파성 기관이나 세포의 수준에서 조절되기 때문에, 특정한 TH 사이토카인 생성 방식의 약학적인 조작이 새로 만들어지는 면역 반응의 유형과 범위에 영향을 줄 수 있다.

TH1-TH2의 균형은 두 가지 다른 형태의 보조 T 세포들의 상호변환에 따른다. 이 두 가지 형태는 큰 규모를 갖고 면역 체계에 서로 상반되는 영향을 미친다. 만약 한 면역 반응이 TH1 세포를 선호한다면, 이들 세포들은 세포성 면역 반응을 유도 할 것이며, TH2 세포는 항체-우위적인 반응을 유도 할 것이다. 어떤 알레르기 반응에 관련된 항체 형태는 TH2 세포에 의해 유도되어 진다.

백신화는 면역학적 원리를 인간의 건강에 가장 성공적으로 적용한 것이며 가장 잘 알려져 있는 것이다. 자연적으로, 도입 되고 접근된 백신은 반드시 효과적이어야 하며, 모든 백신의 효용성은 수시로 재검사 되어진다. 많은 인자들이 그러한 효과에 영향을 끼친다. 효과적인 백신은: 올바른 방식의 면역력을 유도해야 하며, 저장시에 안정되어야 하며 충분한 면역원 능력을 가져야 한다. 특히, 사백신(non-living vaccines)은 종종 보조제를 이용해 그들의 면역력을 향상시킬 필요가 있다. 이것은 또한, 몇몇 생백신, 약독화 백신에도 적용된다. 보조제는 항원에 대한 면역 반응을 촉진시키는 물질이다.

1920년대에 인체 치료를 위한 동물의 항혈청의 생산에 대한 실험과정 중에, 특정 항원에 첨가되었거나 유화된 특정물질, 알루미늄 염들이 항체 생성을 크게 증대시키는 것으로 발견되었다. 즉, 이것들은 보조제로서 활동하는 것이다. 알루미늄 수산화물은 여전히 예를들어 디프테리아와 파상풍 독소를 위한 백신에 널리 사용된다.

GB-A-1 377 -074에는 내부에 알레르겐이 분산된 티로신의 공침전물을 제조하는 방법이 기술되어있다.

GB-A-1 492 973에는 내부에 변형된 알레르겐이 분산된 티로신의 공침전물 제조방법이 기술되어있다. 그 알레르겐은 글루타르알데하이드와 같은 약제가 처리되어 변형되어 있는데, 글루타르알데하이드는 분자내 교차 결합을 일으키고 변형되지 않은 알레르겐에 비해 생성물의 알레르겐 활성을 감소시킨다.

3 de-O-아실화 모노포스포릴 지질 A(이후로는 3DMPL 또는 MPL 이라함)는 GB 2220211(Ribi)에 의해 알려져 있다. 화학적으로 이것은 4, 5 또는 6 아실화 사슬과 3 de-O-아실화 모노포스포릴 지질 A의 혼합물이며, Ribi Immonochen Montana에서 생산된다. 3 de-O-아실화 모노포스포릴 지질 A의 바람직한 형태는 국제 특허 적용 번호 92/16556에 개시되어있다. 국제 특허 공개 번호 WO98/44947은 선택적으로 변형된 알레르겐, 티로신 및 3 de-O-아실화 모노포스포릴 지질 A를 포함하는 알레르기 환자들의 민감도 감소 치료에 사용되는 조성물이 기술되어 있다.

보다 나은, 특히 T-세포 유도성 반응을 위한 보조제들을 생산하기 위해, 팔목할 정도의 노력이 있었지만, 아직도 정기적으로 인체를 위해 사용함에 있어서는 아주 소수의 보다 최근의 보조제만이 받아들여졌다는 것이 강조되어야 한다.

보조제의 효과는 주로 2가지 활성, 즉 림프구가 항원에 노출되어지는("디포트,depot" 효과) 장소에서의 항원의 농도와 림프구 기능을 조절하는 사이토카인의 유도이다. 리포솜과 면역 자극 복합체(ISCOMS)와 같은 더 새로운 기구들은 그 안에 갇혀진 항원을 항원 제시 세포들에 운반되는 것을 확실하게 함으로서 같은 목적을 수행한다. 마이코박테리아 세포벽, 내독소(endotoxin)와 같은 박테리아 생성물은 사이토카인 생성을 자극함으로써 활동하는 것으로 믿어진다. 사이토카인 유도는, 일반 백신에 대한 반응이 되지않는 면역적으로 기능이 떨어진 환자들에게 특히 유용하다. 이와 같은 사이토카인 유도는 예를들어 TH1 또는 TH2 세포 반응성만을 원하는 질병에서와 같이, 원하는 방향으로 면역 반응을 향하도록 하는데 유용하다고 믿어진다(Roitt et al., "Immunology" 4th edition).

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명자들은 TH1 반응에 호의적인 TH1-TH2 균형으로 기울이게 할 수 있는 새로운 항원 조성물을 제공한다. 이 조성물은 면역 치료, 특히 백신 분야에 유용하다. 이것은 또한 면역 반응 연구와 항체 생성에 유용하다.

발명의 구성 및 작용

본 발명에 의하면,

(A) 항원; (B) TH1-유도성 보조제; 및(C) 난용성 아미노산이나 그 유도체;를 포함하여 구성되는 조성물이 제공된다.

바람직한 항원은 박테리아나 바이러스, 또는 다른 병원체, 또는 신생물(종양)이나 그것들의 항원적인 구조체로 알려진 것들이다. 바람직하게, 상기 항원은 폴리펩타이드, 또는 항원 펩타이드를 암호화하며 폴리뉴클레오타이드 발현을 허용하는 조절 염기서열에 작동 연결된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터 형태로 되어있는 것이다.

바람직하게는, TH1-유도성 보조제는 MPL, 3-DMPL 또는 그 유도체이다.

바람직하게는, 상기 난용성 아미노산은 티로신, 트립토판 또는 그 유도체이다.

본 발명은 또한 의약적으로 사용하는 조성물을 제공한다.

바람직하게는 상기 조성물은 백신의 형태이다

본 발명은 또한 박테리아, 바이러스 감염이나 암과 같은 다른 질병을 치료하거나 방지하는 의약품의 제조에 있어서 상기 한 바와 같은 조성물의 사용을 제공한다.

본 발명은 더 나아가 본 발명의 조성물로 어떤 동물을 면역화함을 포함하는면역 글로불린 제조 방법을 제공한다.

본 발명은 또한 항원과 TH1-유도성 보조제 용액을 상기 난용성 아미노산 또는 그 유도체용액과 강한 수용액 내에서 용액 혼합물을 중화시키면서 혼합시키고, 이에따라 난용성 아미노산, 항원, 그리고 보조제를 함께 침전시킴을 포함하는 본 발명의 조성물 제조방법을 제공한다. 이 방법은 나아가 약학적으로 수용가능한 운반제, 희석물이나 부형제를 첨가하는 것을 포함할 수 있다.

이하 본 발명의 바람직한 실시예를 설명한다.

(A) 항원

본래 "항원"이라는 용어는 특정한 항체를 생산하기 위해 B 세포들을 유도하는 어떤 분자물질에 대하여 사용되었다. 그러나, 오늘날 상기 용어는 면역 반응의 적응 성분, 예를 들면, B 세포 또는 T 세포, 아니면 이들 양자 모두 특이적으로 인지할 수 있는 어떤 분자도 표시하는데 사용된다. 따라서 항원은 T 및 B 세포에 특이한 수용체들에서 수행된 항체들과 반응하는 물질이다. 하지만, 우리는 전통적으로 "알레르겐"으로 알려진 물질들, 즉 어떤 약제 예를 들면, IgE-매개성 과민을 일으키는 꽃가루, 먼지와 같은 물질들은 제외한다.

알레르기는 마스트 세포에 부착되어 미리 존재하는 IgE 항체에 기인하는 환경 항원(알레르겐)에 대한 반응이다. 천식, 건초열, 장의 메스꺼움, 규칙적인 과민증이나 접촉성 피부염의 원인이 되는 마스트 세포의 생성물질(히스타민등과 같은)에 의해 일시적인 과민 반응이 생겨난다. 이와 같은 과민 반응에는 4가지 타입(타입 I, II, III 그리고 IV)이 있다. 앞의 3가지 타입은 항체 매개성이며, 4번째 타입은 주로 T 세포와 대식세포에 의해 매개된다. 따라서, 본 발명은 "환경적 항원"의 사용에는 관련되어 있지 않다.

이와 같이 바람직하게는, 본 발명에서 사용된 바람직한 "항원"은 꽃가루(예를들면, 두드러기쭉이나 자작나무 꽃가루와 같은), 음식물, 곤충의 독, 곰팡이, 동물의 털이나 집 먼지 진드기(*D. farinae* or *D.pteronysinus*)와 같은 알레르기 원인 물질들로부터 유도된 "알레르겐"은 포함하지 않는다.

따라서 본 발명은 IgE 또는 IgG1 매개성 반응보다는 세포성, IgG2a 또는 IgG2b 매개성 반응에 관계하는 항원들과 관련되어 있다고 볼 수 있다.

본 발명에 사용된 항원은 바람직하게는, 면역원 즉, 그 자체에 대한 면역 반응을 유발할 수 있는 면역 세포들을 활성화시키는 항원이다.

바람직한 구체화에 있어서, 본 발명은 백신으로서 사용하기 위한 조성물에 관한 것이며, 항원은 그와 같은 백신에 유용한 물질 중 하나이다.

본 발명에 사용된 항원은 사용 가능하거나 사용 가능하게 되고있는 어떠한 적당한 항원일 수 있다.

백신에 사용된 항원 종류는 많은 인자들에 의존한다. 일반적으로, 백신에 담겨진 병원균의 항원이 많을수록 더 좋으며, 살아있는 유기체가 죽어있는 유기체보다 더 효과적인 경향이 있다. 이 규칙에서의 예외는 어떤 독소가 병원균의 영향에 책임이 있는 경우의 질병들이다. 이러한 경우에 백신은 단지 독소 또는 변성 독소에 근거를 둔다.

본 발명에 사용된 항원은 어떤 살아있는 유기체; 곤충 또는 죽은 유기체; 부세포성 조각들; 변성 독소; 재조합 DNA에 기초한 항원이나 항유전자형 또는 합성 항원에서 유래될 수 있다.

항원의 타입은 캡슐의 다당류, 표면의 또는 내부의 항원이다. 만약 재조합 DNA에 기초한 경우, 항원은 클론화되고 발현되는 유전자나 본래의 DNA로부터 얻어질 수 있다.

항원은 디알데하이드, 특히 글루타르 알데하이드와 같은 교차 결합제와 함께 반응함으로써 변형되어질 수 있다.

예를 들면, 백신이 이용가능 하거나 요구되는 미생물들은 *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Bordetella*, *Actinobacillus*, *Neisseria*, *Haemophilus* 그리고 *Escherichia coli*가 포함된다.

바람직한 백신은 우두 바이러스(천연두에 대한); 들쥐 간상균(결핵에 대한); 소아마비; 홍역; 이하선염; 풍진; 황열병; 베리셀라 조스터; BCG; 광견병; 인플루엔자; A형 간염 바이러스; 발진티푸스; 백일해; 장티푸스; 콜레라; 플라크; 폐렴균; 수막염균; *Haemophilus influenzae*; B형 간염 바이러스; C형 간염 바이러스; 과상풍 그리고 디프테리아를 포함한다. 독소기초 백신으로는 *Chlostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Vibrio cholerae* 그리고 *Clostridium perfringens*가 포함된다.

백신이 유용하게 사용되는 다른 주요 질병들은 HIV, 헤르페스 바이러스, 아데노바이러스, 라이노바이러스, 포도상구균, 연쇄상구균 A군, *Mycobacterium leprae*, *Treponema pallidum*, *Chlamydia*, *Candida*, *Pneumocystis*, 말라리아, 트리파노소마병; 샤가스씨 병; 쉬스토소마병 그리고 온코세리아병을 포함한다.

종양 항원의 존재가 또한 확인되었으며, 그 결과 암에 대한 백신화의 개념이 떠오르게 되었다. 또한, 원칙적으로, 개념과 주입은 임신 및 다른 재생산적인 호르몬들에 대한 면역력을 유도함으로써 방해받을 수 있다.

(B) TH1-유도성 보조제

"TH1-유도성 보조제"는 어떤 항원에 TH1 반응을 증가시키는 보조제를 의미한다.

TH1-유도성 보조제로서 보조제의 효과는, 역시 다양한 보조제를 포함하여 구성된 백신에 이 항원의 투여로 생겨난 항원에 대해 지시되어진 항체들의 프로파일을 조사함으로써 특정될 수 있다.

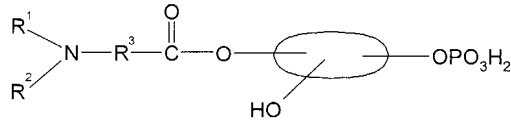
바람직한 보조제는 변형된 리포다당체이다. 미국 특허 번호 4,912,094에 기술되어진 바와 같이, 장내균의 리포다당체(LPS)는 강한 면역자극제이다. 하지만, 이것은 또한 금지되어있고 위험하며, 그리고 때로는 치명적인 반응을 일으킬 수 있다. 현재 LPS와 연관된 내독소 활성이 LPS의 지질 A 성분으로부터 나온다고 알려져 있다. 본 발명은 의하면 더욱 바람직하게는 지질 A의 무독화된 유도체를 이용하는 것이 좋다. Rib이 본래 정제되어 무독화된 내독소(RDE)로서 알려진 지질 A의 유도체를 생성하였으나 이는 모노포스포릴 지질 A(MPL)라고 알려지게 되었다. 미국 특허 번호 4,912,094에서 기술된 바와 같이, MPL은 적절한 강도의 미네랄 산 용액(예를 들면, 0.1N HCl)에서 30분 정도간 그람 음성 박테리아(예를 들면, *Salmonell* sp.와 같은)의 헵토스 결핍 변이로부터 얻어진 LPS 또는 지질 A를 환류함으로써 생성된다. 이 처리 결과 환원 말단 글루코사민의 1번 위치에 있는 포스페이트 분획을 잃게된다. 또한 이러한 처리중에 코아 탄수화물은 비환원 글루코사민의 6번 위치로부터 제거된다.

그러나, 바람직하게는 변형된 LPS나 지질 A는 무독화된 지질 A가 비환원 글루코사민의 6번 위치에 붙어있는 코아 부위를 유지하는데 이용되는 것이 좋다. 이러한 LPS와 지질 A의 유도체는 미국 특허 번호 4,912,094에도 기술되어 있다. 더욱 상

세하게, 미국 특허 번호 4,912,094는 상기 지질다당류의 3번 위치에서 환원 말단 글루코사민에 에스테르 결합되어있는 지질다당류의 β-하이드로미리시틱 아실잔기만을 선택적으로 제거하는 방법으로 얻는 변형된 지질다당류를 개시하고있으며, 이는 상기 방법은 상기 지질다당류를 알칼리 가수분해에 제공함을 포함한다. 이러한 de-O-아실화 모노포스포릴 지질 A(MPL), 디포스포릴 지질 A(DPL) 그리고 LPS가 본 발명에 사용되어 질 수 있다. 이같이 바람직한 실시예로서, 본 발명은 환원 말단 글루코사민 의 3번 위치가 de-O-아실화되는 MPL, DPL 또는 LPS를 사용한다. 이들 화합물들 각각 3-DMPL, 3-DDPL 그리고 3-DLPS로 알려져 있다.

미국 특허 번호 4,987,237에는 다음과 같은 화학식을 갖는 MPL의 유도체가 있다.

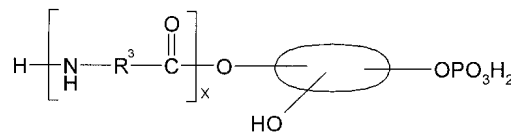
화학식 1



상기 식에서 R¹과 R²는 H이며, R³는 C, H 그리고 선택적으로 O, N 그리고 S로 구성된 직선 또는 분기된 사슬 탄화수소이다. 그리고 이러한 것들은 하나 이상의 원자가 같거나 다를 수 있으며, 원자 C의 총수는 60을 초과하지 않으며, 그리고 타원은 MPL 핵을 나타낸다.

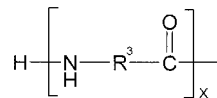
택일적으로, MPL 유도체는 다음과 같은 화학식을 갖는다.

화학식 2



여기서 하기식으로 나타내면 유도체의 분절부분은 2-60 개의 C 원자들을 가지며 R³는 C, H 그리고 선택적으로 O, N 그리고 S로 구성된 직선 또는 분기된 사슬 탄화수소이며, 이들은 하나 이상의 원자가 같거나 다를 수 있으며, x는 최소 1이며, 모든 x 분절내의 C 원자의 총 수가 60을 초과하지 않으며, 각 R³의 화학 구조는 각각 그러한 분절에서 같거나 다를 수 있으며, 상기 타원은 MPL 핵을 나타낸다.

화학식 3



사용 가능하거나 사용 가능하게되는 이 같은 LPS 또는 지질 A의 모든 유도체들 또는 그 염이 본 발명에 사용되어진다.

삭제

TH1-유도성 보조제는 투여전에 조성물의 다른 성분과 함께 혼합될 수 있다. 택일적으로 제품의 제조도중 다른 성분들과 함께 배합될 수 있다. 택일적으로, 이것은 다른 성분과 다른 위치 또는 다른 시간에서 투여될 수 있다. 투여는 다수의 경로를 통해 이루어 질 수 있다.

(C) 난용성 아미노산 (sparingly soluble amino acid)

아미노산은 보조제와 항원이 면역 반응을 일으킬 수 있도록 수용액내에서 난용성이어야 한다.

[표 1]

아미노산	물 용해도 g/100ml
글리신	25
알라닌	16.7
발린	8.9
루신	2.4
이소루신	4.1
메티오닌	3.4
프롤린	162
페닐알라닌	3.0
트립토판	1.1
세린	5.0
트레오닌	아주 큼
시스테인	아주 큼
티로신	0.04
아르파라긴	3.5
글루타민	3.7
아스파르트산	0.54
글루탐산	0.86
라이신	아주 큼
아르기닌	15
히스티딘	4.2

대부분의 아미노산들은 결정 격자무늬에서 강한 분자간 인력이 작용한 결과, 물에 약간만 녹을 뿐이다. 그 예외는, 글리신, 프롤린, 라이신, 트레오닌, 시스테인 그리고 아르기닌이며, 이들 모두는 물에 잘 녹아 이러한 아미노산들은 본 발명에 포함되지 않는다. 아미노산의 물 용해도를 하기 표에 나타내었다.

본 발명에 사용된 바람직한 아미노산의 물 용해도는 25℃에서 1.1g/100ml H₂O 또는 그 미만이다. 특히 바람직한 아미노산은 티로신 또는 트립토판이며 더 바람직한 아미노산은 좀 더 물에 잘 녹지 않는 티로신이다. 벤질-O-옥타디케노일-L-티로신같은 이들 아미노산의 유도체들 역시 본 발명의 범위에 포함된다.

전형적으로, 항원은 예를들어 공침전이나 혼합에 의해 각각 아미노산 내에 분산되거나 아미노산에 부착된다.

제조

본 발명의 조성물은 항원수용액과 난용성 아미노산용액을 강한 수용성 산 내에서 용액 혼합물을 중화시키면서하고, 이에 의해 아미노산과 항원을 공침전시키고, 그 산물은 TH1-유도성 보조제와 혼합전 또는 후에 생리학적으로 수용가능한 희석제, 부형제 또는 운반제를 첨가하여 제조된다. 택일적으로 상기 TH1-유도성 보조제는 항원과 함께 공침전 될 수 있다. 투여되기전 조성물의 다른 성분과 혼합되거나 공침전될 수 있을 뿐만 아니라, 상기 TH1-유도성 보조제는 다른 조성물과 다른 위치나 다른 시간에 투여될 수 있다.

일반적으로 고체를 용매화하여 얻을 수 있고, 바람직하게는 pH7±1에서 강산 수용액에서 아미노산의 용액과 혼합시킨다. 상기 강산은 보통 무기산이며, 바람직하게는 염산이다. 이 과정에서 사용된 항원 용액은 일반적으로 0.1 - 1000µg/ml의 항원 단백질(예를 들면, 약 400µg/ml)을 포함하고 있다. 혼합물내의 항원과 아미노산의 비율은 일반적으로 1:4 × 10⁵ ~ 1:1 × 10²w/w의 범위이다.

항원과 아미노산 용액의 혼합물은 중화되어진다. 여기서 '중화'란 pH값을 4.0 ~ 7.5 범위로 조정함을 의미한다. 중화도중에는 용액 pH가 잠시라도, 최소 긴 시간동안 7.5를 넘지않도록 조정함을 의미한다. 이 조건은 용액을 강하게 교반하고 그리고 필요한 경우 오직 요구되는 양만의 염기를 사용하여 부합시킬 수 있다. 혼합 및 중화 단계동안 pH 조절을 돕기위하여 여러 가지 완충제를 항원 용액에 첨가할 수 있다.

중화를 수행하는데 특히 유용한 방법은 아미노산의 용액과 중화시키는 염기를 항원 용액내로 분리하여 들어가게 하는 것이다. 첨가된 용액의 유속은 pH상태에 따라 조절된다. 즉, 반응 혼합물의 pH가 미리 결정된 수준으로 거의 일정하게 유지될 수 있도록 용액중 하나 혹은 양자 모두의 흐름을 제어하는 장치에의해 제어된다. 본 발명자들은 항원의 성질에 따라 정확한 pH는 변화하지만, 최적의 결과들이 보통 pH6.5 - 7.5 범위내의 pH조절에서 얻어지는 것을 발견하였다.

중화 결과 아미노산은 즉시 침전되며, 그 내부 및/또는 그 위에서 항원 용액은 흡장되고 그리고/또는 흡수된다. 침전 후 혼합물은 즉시 세척되거나 세척하기 전에 몇 시간에서 하루 또는 이틀 정도의 기간동안 방치되어진다.

결과물인 침전물은 원심분리나 여과에 의해 용액으로부터 제거되며 필요하면 재부유전에 생리학적으로 수용가능한 운반제, 부형제 또는 희석제내에서 예를 들어 페놀-식염수와 같은 물질로 세척된다.

하기 제3에 기술된 방법, 또는 초음파 처리에 의해 용해된 MPL(또는 다른 TH1-유도성 보조제)은 항원의 아미노산 흡착물에 첨가하기 전에 다양한 수단으로 희석 될 수 있다. MPL의 제제는 초기에 전형적으로 ml당 0.5 - 4mg 사이의 농도로, 예를 들어 ml당 1mg 농도로 만들어진다. 이것은 500 μ g/ml에서 20 μ g/ml사이의 농도로, 바람직하게는 100 μ g/ml 농도로 희석될 수 있다. 이러한 희석은 순수한 물, 또는 1 - 4%의 글리세롤, 바람직하게는 2%인수성의 글리세롤 용액내에서 할 수 있다. 이러한 희석물은 그후 위에서 기술된 대로 제조된 아미노산 흡착 부유물에 첨가될 수 있다. 편의를 위해, MPL 용액과 아미노산 흡착 부유물 농도는 주입을 위한 최종 생성물을 얻기 위해 거의 동등한 양의 부피가 얻어지도록 선택될 수 있다. 전형적인 최종 생성물은 약 100 μ g/ml의 항원과 약 250 μ g/ml의 MPL을 포함한다.

이와같이, 본 발명의 조성물은 직접적으로 투여된다 하더라도, 바람직하게는 상기 조성물은 인체 또는 다른 척추동물에 사용할 수 있도록 약학적으로 수용가능한 운반제, 부형제 또는 희석제와 혼합되어진다. 적당한 약학적으로 수용가능한 운반제들과 희석제들의 예를 들면 인산완충식염수, 페놀 식염수와 같은 식염수와 멸균수가 포함된다. 상기 조성물은 비경구, 근육내, 정맥내, 피하, 안구 내 또는 혈관 내로의 투여를 위해 배합될 수 있다.

여기서 기술된 투여 경로와 투여량은 단지 어떤 지침으로 나타낸 것이기 때문에, 이 분야의 숙련된 전문가가 어떤 특정 환자나 상태에 따라 적당한 투여 경로와 양을 쉽게 판단할 수 있을 것이다.

백신의 제조

백신은 본 발명의 조성물로부터 제조될 수 있다. 항원을 활성성분으로서 함유하는 백신 제조 방법은 이 분야에서 숙련된 자에게는 알려져 있다. 전형적으로 이같은 백신은 액체 용액이나 부유물 상태로 주사 가능하게 제조될 수 있으며; 주사전 액체상태나 부유물 상태에 적합한 고체 형태로 제조할 수도 있다. 이 제조는 에멀전화 시키거나, 혹은 리포솜으로 캡슐화될 수도 있다. 상기한 바와 같이, 상기 조성물은 약학적으로 수용가능하고 이 조성물과 양립적인 운반제, 희석제 그리고 부형제들과 혼합될 수 있다. 이 같은 부형제들은 예를 들어 물, 식염수, 포도당, 글리세롤, 에탄올, 또는 이 이들의 혼합물을 들 수 있다.

덧붙여서, 필요하면, 백신은 습윤 또는 에멀전화제, pH 완충제 및/또는 백신의 효과를 증진시키는 보조제등을 적은 양으로 포함할 수 있다.

항원과 보조제의 비율은 이들이 유효하게 존재하는 한 다양하게 변화시킬 수 있다. 편의상, 백신은 항원의 최종 농도가 0.2 μ g/ml에서 200 μ g/ml의 범위 내로, 바람직하게는 5 μ g/ml에서 50 μ g/ml, 더 바람직하게는 약 15 μ g/ml 농도로 포함되게 배합된다.

배합후에, 백신은 멸균된 컨테이너에 담겨진후, 봉해지고 저온, 예를 들어 40°C에서 보관되거나, 또는 냉동 건조되어진다. 냉동 건조는 안정된 형태로 장기간 보관을 가능하게 한다.

백신들은 통상적으로 주사, 예를 들면 피하나 근육 주사와 같이 비경구적으로 투여된다.

좌약과, 어떤 경우에는 경구용 조성물을 포함하는 다른 방법에서의 투여를 위해 적당한 여러 방법의 배합이 있을 수 있다. 좌약을 위해서, 전통적인 결합제와 운반제들은 폴리알칼렌 글리콜 또는 트리글리세라이드와 같은 것들을 포함할 수 있으며, 이러한 좌약들은 활성적인 성분이 0.5%에서 10%의 범위로, 바람직하게는 1%에서 2% 포함된 혼합물로부터 형성될 수 있다. 경구용 조성물은 이러한 정상적으로 사용되는 부형제, 예를 들면 약학적인 등급의 마니톨, 락토즈, 녹말, 마그네슘 스테아르산염, 사카린나트륨, 셀룰로오스, 마그네슘 탄산염, 그리고 이와 비슷한 물질들을 포함한다. 이러한 성분들은 용액, 부유물, 정, 알약, 캡슐, 지속적으로 분비하는 조성물이나 파우더의 형태를 취하며 10%에서 95%의 활성 성분, 바람직하게는 25%에서 70%의 활성 성분을 포함한다. 백신 조성물이 동결 건조되는 경우에, 그 동결 건조된 물질은 투여되기 전에 예를 들어 서스펜션으로서 재구성될 수 있다. 재구성은 완충제내에서 이루어지는 것이 바람직하다.

환자에게 경구 투여를 위한 캡슐, 정(타블렛), 알약은 예를 들어 Eudragit "S", Eudragit "L", 셀룰로오스 아세테이트, 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트 또는 수산화프로필메틸 셀룰로오스와 같은 물질을 포함하는 피막으로 코팅되어 제공된다.

본 발명에서 사용되는 항원은 중성의 또는 염의 형태로 백신내에 배합된다. 약학적으로 수용적인 염은 산이 첨가된 염(펩타이드의 자유아미노기를 가진 형태)이 포함되는데, 이들은 예를 들어 염산이나 인산과 같은 무기산 및 아세트산, 옥살산, 타르타르산 및 말레이산 같은 유기산으로 형성된다. 자유 카르복실기로 형성된 염들 무기 염기와 예를 들면 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 또는 수산화철과 같은 무기 염기와 이소프로필아민, 트리메틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘 및 프로카인과 같은 유기 염기로부터 유도될 수 있다.

백신의 접종량과 투여

백신은 투여 배합물과 양립적인 방식으로 예방적으로 또는 치료적으로 효과적인 양으로 투여된다. 투여되는 양은 일반적으로 한 접종당 5 μ g에서 250 μ g의 항원 범위이며, 이것은 치료받는 그 환자의 항체를 합성하는 면역계의 능력과 그리고 요구되는 보호 정도에 따라 달라진다. 바람직한 범위는 한 접종량 당 약 20 μ g에서 40 μ g정도이다.

적당한 접종규모는 약 0.5ml이다. 따라서 예를 들어, 근육 주사를 위한 접종량은 0.5%의 보조제와 함께 20 μ g의 면역원을 함유한 0.5ml을 포함하는 것이다.

투여하는데 필요한 활성적인 성분의 정확한 양은 숙련자의 판단에 의존하여 각 환자에 따라 달라질 수 있다.

백신은 단일 접종되거나, 바람직하게는 복수회 접종이 가능하다. 복수 접종은 일차 백신을 1 - 10회의 분리접종으로 하고, 그후 면역 반응을 유지하거나 보강하는데 필요한 간격을 두고 예를 들어, 1~4개월 후 2차 접종하며, 필요하다면, 수 개월 후 다시 접종할 수도 있다. 접종 관리는 개개인의 필요에 따라 그리고 실시자의 판단에 따라 결정될 것이다.

또한, 항원을 포함하는 백신은 면역글로불린과 같은 다른 면역 조절제와 함께 투여될 수도 있다.

본 발명의 조성물을 이용한 항체 제조

본 발명에 의한 조성물은 면역혈청과 단일 클론화 항체를 생성시키는 더 이상의 보조제 사용 없이 직접적으로 사용될 수 있다.

이와 같이 본 발명은 다음과 같은 과정을 포함하는 항원 특이 면역 글로불린 생성을 유도하는 방법이 제공된다.

- a) 본 발명에 따른 조성물로 동물을 면역화하는 단계
- b) 동물의 항 혈청으로부터 상기 조성물의 항원 영역에 특이한 면역 글로불린을 회수하는 단계

항체 생산을 위해 사용된 동물은 보통 실험을 목적으로 사용되는 어떠한 종류의 동물, 특히 포유동물일 수 있다. 특히, 마우스, 랫트, 기니 돼지 그리고 토끼가 해당된다.

면역화는 확립된 기술("Antibodies, A Laboratory Manual", E. Harlow, D. Lane, 1988, Cold Spring Harbor, U. S. A.)에 따라 수행된다. 정제된 조성물(약 1mg)을 토끼에 주입하였다. 두 번째 주사는 조성물의 0.5mg을 첫 번째 주사 4주 후에 주사하였다. 항체를 토끼 혈청으로부터 분리하였으며 활성을 시험하였다. 이 방법에 의해 주어진 항원에 선택적으로 결합할 수 있는 항체들이 얻어진다.

더욱이, 항원을 포함하는 본 발명의 조성물은 항체를 생산하는데 있어서, 단일 클론성과 다중 클론성 항체 모두를 제조하는데 이용될 수 있다. 만약 다중 클론성 항체가 요구된다면, 선택된 포유 동물(마우스, 토끼, 염소, 말 등과 같은)이 면역화된다. 그 면역화된 동물로부터의 혈청이 수집되고 알려진 방법에 따라 처리된다. 만약 다른 항원에 대한 다중 클론성 항체를 포함하는 혈청이라면, 그 다중 클론성 항체는 면역친화적 크로마토그래피에 의하여 정제될 수 있다. 다중 클론성 항체를 생산하고 조작하는 기술은 이 분야에서 알려져 있다.

본 발명에서 사용된 항원에 대한 단일 클론성 항체 또한 쉽게 이 분야에서 숙련된 사람에 의해 생산될 수 있다. 하이브리도마에 의해 단일 클론성 항체를 만드는 일반적인 방법론은 잘 알려져 있다. 영원한 항체-생성 세포 주는 세포 융합에 의해 만들어질 수 있으며, 종양성 DNA로 직접 B 림프구를 형질변환 시키거나 또는 Epstein-Barr virus를 가지고 감염시킴으로 만들어 질 수 있다. 항원에 대해 생성된 단일 클론성 항체 패널은 이소타입과 에피토프 친화도와 같은 다양한 특성에 의하여 스크린될 수 있다.

선택적인 기술은 파아지 디스플레이 도서관을 스크린하는 것이며, 여기서는 예를들어 파아지가 크게 다양한 CDR (complementary determining regions)을 가지고 그들의 피막 표면에 scFv를 발현한다. 이러한 기술은 이 분야에서 잘 알려져 있다.

항원에 대해 지시된 단일 클론성과 다중 클론성 항체 2가지 모든 항체들은 특히 진단에 유용하며, 중화하는 것들은 수동적인 면역치료에 유용하다. 단일 클론화 항체는, 특히 항 유전자형 항체(anti-idiotypic antibodies)를 증가시키는데 사용된다. 항 유전자 항체는 보호가 요구되는 감염체의 항원의 "내부 상(internal image)"을 갖는 면역 글로불린이다.

항 유전자 항체를 증가시키는 기술은 이 분야에서 잘 알려져 있다. 이러한 항 유전자 항체들은 또한 치료 뿐 만 아니라 항원의 면역원성 부위 해석에도 유용하다.

본 발명의 목적에 있어서, "항체"라는 용어는 별도의 설명이 없는 한, 표적 항원에 대한 결합 능력을 가지고 있는 전체 항체들의 단편을 포함한다. 이러한 단편은 Fv, F(ab')₂ 단편 뿐 아니라 scFv(단일 사슬 항체)도 포함한다. 더 나아가, 항체와 그 단편들은 EP-A-239400에 기술된 것과 같은 인체성 항체들일 수 있다.

이하 본 발명들은 실시예에 따라 설명한다. 다만 본 실시예는 단지 예에 불과한 것으로써 결코 본 발명을 제한하는 것은 아닌 것으로 해석되어야 한다.

기준예

제조 1

모델 알레르겐으로서 오발부민 8mg은 EVANS 용액 20ml에 혼합하며 용해시켰다. 다음, 6.9ml의 인산 완충제를 혼합 첨가하였다. 이 용액을 자기교반기를 갖는 100ml 비이커에 잡입하였다. 자기교반기로 교반하면서, 24% w/v 티로신을 함유한 3.2N NaOH 6.9ml과 티로신 3.8N HCl 6.9ml을 5분간에 걸쳐 동시에 적정 첨가하여 침전을 형성하였다. 그 혼합물은 5분 더 교반한 다음 50ml 원심분리 튜브에 옮겨져 2500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리가 끝난후에 상층액은 비워지고 침전물은 40ml의 인산 완충제에 재부유시켰다. 혼합물은 2500rpm에서 5분간 원심분리하였다. 원심분리가 끝난후에 상층액은 비워지고 침전물은 인산 완충제 40ml내에서 재부유되었다. 그 혼합물은 2500rpm에서 5분간 원심분리하였다. 원심분리후 상층액을 따워내고 펠릿화된 침전물을 보존제로서 0.4% v/v 글리세롤과 0.01% w/v티메로잘을 함유한 인산염완충액 pH7.2 40ml에 재부유 시키었다. 최종 생성물은 티로신 흡착물 약 40mg/ml을 함유하였다. 티로신 흡착물에 XOA가 100% 결합하였다고 가정하면 XOA는 최종산물내에 200µg/ml 농도로 있었다. XOA 티로신 흡착물은 필요할 때까지 4°C에서 보관되었다.

제조 2

순수한 에탄올에 4mg/ml의 1,2-디팔미토일-SN-글리세로-3-포스포 콜린(DPPC) 용액을 제조하였다. 용해되어질 MPL[®]-TEA(트리에틸라민) 염 각각 1.0mg씩에 대하여, MPL[®]을 용해하기위해 DPPC 27µl를 첨가하였다. 된다. MPL[®]은 상기에서 기술된 대로 준비된다. 에탄올은 유리병내에 N₂를 불어넣음으로서 제거되었다. 다음에 피로겐이 없는 주사용 품 1.0ml을 건조된 MPL[®]/DPPC 혼합물 내의 MPL[®] 각 mg에 대하여 첨가하였다. 그 용액은 투명하게 될 때까지 60 -

70°C에서 초음파 분쇄기에서 초음파처리 되었다. 그 다음에 MPL[®]/DPPC 용액은 SFCA 290 - 4520 Nalgene 0.2 μ m 필터로 여과하여 필터 멸균되었다. MPL[®]/DPPC 용액은 1.0mg/ml로 발열물질이 제거된 유리병에 무균적으로 분산되었으며, MPL[®]-AF/(DPPC에 용해된 MPL)로 표기되어 4°C에서 보관되었다.

생물학적 활성

마우스내에서의 TH1 유도 활성을 IgG2a와 IgG2b 항체들의 생성물로 균형되어 질 수 있으며, 그리고 TH2 유도 활성은 IgG1과 IgE 항체들로 균형되어 진다. 따라서, 예로서, 실험은 실험물로서 닭의 수정란에서 유도된 잘 알려진 알레르겐인 오발부민(XOA)에 대한 알레르겐 특이 항체들의 프로파일을 보여주는 실험을 행하였다. MPL + XOA + 티로신으로 이루어진 조성물이 자극된 경우가 MPL + XOA, XOA + 티로신 또는 XOA 단독보다 더 이익적인 항체 프로파일을 자극하였다는 것이 확인되었다.

6 - 8 주된 8마리의 BALB/c 암컷 마우스를 다음의 백신 중 한가지를 0.2ml씩 사타구니 부분에 피하주사로 주입되었다.

XOA + 티로신 상기 제조 1에서 제조된 XOA 티로신 흡착물을 주사전 30분 이내에 같은 양의 포스페이트 완충염수로 희석하였다.

XOA + 티로신 + MPL 상기 제조 1에서 제조된 XOA 티로신 흡착물을 포스페이트 완충염수에 500 μ g/ml 이 들어있는 동일 체적의 MPL[®]-AF로 희석하였다.

XOA + MPL XOA는 200 μ g/ml으로 포스페이트 완충염수에 용해시키고, 포스페이트 완충염수에 500 μ g/ml이 들어있는 동일 체적의 MPL[®]-AF로 주입되기 30분전에 희석되었다.

XOA 단독 XOA는 200 μ g/ml수준으로 포스페이트 완충염수에 용해시키고, 동일체적의 포스페이트 완충 염수와 같은 양으로 희석시켰다.

21일이 지난 후 4개 그룹의 마우스들은 새로이 제조된 백신 0.2ml로 2차 접종되었다. 2차 접종 14일후, 마우스들의 혈액이 얻어졌으며 혈청은 분리되고, 검정될 때까지 -70°C에서 보관되었다.

혈청은 일반적인 ELISA 기술에 의해 분석되었다. 재료는 Southern Biotechnology Inc.(Birmingham, AL, USA)로부터 구입한 양고추냉이가 결합된 염소 항 마우스 IgG1, IgG2a 그리고 IgG2b가 사용되었으며 제조회사의 지시에 따라 사용되었다. IgG1, IgG2a 그리고 IgG2b의 역가는 A₄₉₀에서 OD값이 0.1보다 크게 주어지는 상호 혈청 희석을 나타낸다.

혈청 IgE 수준을 바이오틴이 결합된 오발부민 탐침자를 이용하여 항 IgE 포획 ELISA를 통해 측정된다. 결합된 수치는 양고추냉이가 결합된 스트렙토아비딘을 첨가한 다음에 측정되었다. 결과는 A₄₉₀에서 OD값으로 표기하였다.

결과

혈청은 일반적인 ELISA 기술에 의해 검정되었다. 재료는 Southern Biotechnology Inc.(Birmingham, AL, USA)로부터 구입한 양고추냉이가 결합된 염소 항 마우스 IgG1, IgG2a 그리고 IgG2b가 사용되었으며 제조회사의 지시에 따라 사용되었다. IgG1, IgG2a 그리고 IgG2b의 역가는 A₄₉₀에서 OD값이 0.1보다 크게 주어지는 상호 혈청 희석을 나타낸다.

혈청 IgE 수준을 바이오틴이 결합된 오발부민 탐침자를 이용하여 항 IgE 포획 ELISA를 통해 측정된다. 결합된 수치는 양고추냉이가 결합된 스트렙토아비딘을 첨가한 다음에 측정되었다. 특히 중요한 것은 알레르겐 + 티로신 + MPL의 조합이 다른 조합보다 항원 특이 IgE 항체를 덜 유도한다는 사실이다. 더욱이, IgG2a 또는 IgG2b와 IgG1 항체의 비율은 어떤 다른 마우스그룹에서보다 더 크며, 항원 + 티로신 + MPL이 주어진 마우스 실험에서 보여진 최고 수준의 전의 2가지 항체 이소타입에서 보다 크고 일정한 것이다. 이것은 다른 군의 마우스들에서 유도된 것과 비교했을 때 이 그룹에서는 TH2 세포 유도보다 TH1세포 유도의 비가 좋다는 것을 나타낸다.

본 발명에 의한 실시예

제조 A

B형 간염 바이러스 항원유발성을 나타내는 순수 폴리펩타이드 중성용액(이 같은 폴리펩타이드를 제조하는 방법은 EP-A-0 182 442와 WO98/44947에 나와 있다.)에 pH7±1에서 포스페이트 완충용액을 첨가하였다. HCl내의 1체적의 1-티로신(3.8M HCl 100ml에 24g의 L-티로신을 용해하여 제조됨)과 3.2M NaOH 1 체적을 4용적의 항원액에 동시에 첨가하고 강하게 교반하여 상기 항원액을 티로신과 함께 공침전시켰다. 이렇게 해서 형성된 부유액은 원심분리되고, pH6±1의 완충염수로 여러 번 세정하였다.

제조 B

XOA를 B형 간염 바이러스(HBV) 항원 유발성을 나타내는 폴리펩타이드로 대체할 것을 제외하고는 기준예의 조제 1과 동일하였다.

제조 C

기준예의 제조 2와 동일하다.

생물학적 활성

마우스의 TH1 유도 활성은 IgG2a와 IgG2b 항체들의 생성물로 균형되어 질 수 있으며, 그리고 TH2 유도 활성은 IgG1과 IgE 항체들로 균형되어 진다.

따라서, 예로서, 실험은 잘 알려진 HBV에 대한 항원 특이 항체들의 프로파일을 보여주기 위해 마우스를 이용해 실시되었다. MPL + HBV + 티로신으로 구성된 조성물이 MPL + HBV, HBV + 티로신 또는 HBV 단독보다 더 이익적인 항체 프로파일을 자극한다는 것이 확인되었다.

6 - 8 주된 8마리의 BALB/c 암컷 마우스를 다음의 백신 중 한가지를 0.2ml씩 사타구니 부분에 피하주사로 주입되었다.

XOA + 티로신 상기 제조 A에서 제조된 HBV 티로신 흡착물을 동일 체적의 포스페이트 완충염수로 주사되기 30분 전에 희석시켰다.

XOA + 티로신 + MPL 상기 제조 A에서 제조된 HBV 티로신 흡착물을 포스페이트 완충염수에 500µg/ml로 동일 체적의 MPL⊕-AF로 주사되기 30분 전에 희석시켰다.

HBV + MPL HBV를 200µg/ml로 포스페이트 완충염수에 용해시키고, 포스페이트 완충염수에 500µg/ml로 동일 체적의 MPL⊕-AF로 주사되기 30분전에 희석시켰다.

XOA 단독 XOA는 200µg/ml수준으로 포스페이트 완충염수에 용해시키고, 동일체적의 포스페이트 완충 염수와 같은 양으로 희석시켰다.

21일이 지난 후 4개 그룹의 마우스들은 새로이 제조된 백신 0.2ml로 2차 접종되었다. 2차 접종 14일후, 마우스들의 혈액이 얻어졌으며 혈청은 분리되고, 검정될 때까지 -70°C에서 보관되었다.

혈청은 일반적인 ELISA 기술에 의해 검정되었다. 재료는 Southern Biotechnology Inc.(Birmingham, AL, USA)로부터 구입한 양고추냉이가 결합된 염소 항 마우스 IgG1, IgG2a 그리고 IgG2b가 사용되었으며 제조회사의 지시에 따라 사용되었다. IgG1, IgG2a 그리고 IgG2b의 역가는 A₄₉₀에서 OD값이 0.1보다 크게 주어지는 상호 혈청 희석을 나타낸다.

혈청 IgE 수준을 바이오틴이 결합된 오발부민 탐침자를 이용하여 항 IgE 포획 ELISA를 통해 측정된다. 결합된 수치는 양고추냉이가 결합된 스트렙토아비딘을 첨가한 다음에 측정되었다. 특히 중요한 것은 알레르겐 + 티로신 + MPL의 조합이 다른 조합보다 항원 특이 IgE 항체를 덜 유도한다는 사실이다. 더욱이, IgG2a 또는 IgG2b와 IgG1 항체의 비율은 어떤 다른 마우스그룹에서보다 더 크며, 항원 + 티로신 + MPL이 주어진 마우스 실험에서 보여진 최고 수준의 전의 2가지 항체 이소타입에서 보다 크고 일정한 것이다. 이것은 다른 군의 마우스들에서 유도된 것과 비교했을 때 이 그룹에서는 TH2 세포 유도보다 TH1세포 유도의 비가 좋다는 것을 나타낸다.

발명의 효과

본 발명은 TH1 반응에 호의적인 TH1-TH2 균형으로 기울이게 할 수 있는 새로운 항원 조성물을 제공함으로써 면역 치료, 특히 백신 분야에 유용하다. 이것은 또한 면역 반응 연구와 항체 생성에 유용하다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

(A) 항원 (B) 3 de-O-아실화 모노포스포릴 지질 A; 그리고 (C) 티로신 아미노산 또는 그 유도체나 염;을 포함하여 구성된 조성물.

청구항 2.

제 1 항에 있어서, 상기 항원은 박테리아, 바이러스 또는 신생물질(종양)으로부터 유도됨을 특징으로하는 조성물.

청구항 3.

제 1 항에 있어서, 상기 항원은 폴리펩타이드, 또는 항원 펩타이드를 암호화하며 폴리뉴클레오타이드 발현을 허용하는 조절 염기서열에 작동 연결된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터 형태로 되어있음을 특징으로하는 조성물.

청구항 4.

삭제

청구항 5.

삭제

청구항 6.

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 박테리아 감염, 바이러스 감염 또는 암에 대한 민감성을 치료하거나 방해 또는 감소시키기 위해 사용됨을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7.

의약적으로 수용가능한 운반제, 희석제 또는 부형제와 함께 제 1 항 내지 제 3 항 및 제 6 항중 어느 한 항에 나타낸 조성물을 포함하는 약학 조성물.

청구항 8.

의약적으로 수용 가능한 운반제, 희석제 또는 부형제와 함께 제 1 항 내지 제 3 항 및 제 6 항 중 어느 한 항에 나타낸 조성물을 포함하는 백신 조성물.

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

삭제

청구항 12.

삭제

청구항 13.

강산 수용액에서 항원용액과 3 de-O-아실화 모노포스포릴 지질 A를 티로신 아미노산 또는 그 유도체나 염 용액과 용액 혼합물을 중화시키면서 혼합시키고, 이에 따라 티로신 아미노산, 항원 및 보조제를 공침전시킴을 포함하는 제 1 항 내지 제 3 항 및 제 6 항중 어느 한 항에 의한 조성물 제조 방법.

청구항 14.

제13항에 있어서, 나아가 약학적으로 수용가능한 운반제, 희석제 또는 부형제를 첨가하는 단계를 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 15.

제 2 항에 있어서, 상기 항원은 폴리펩타이드, 또는 항원 펩타이드를 암호화하며 폴리뉴클레오타이드 발현을 허용하는 조절 염기서열에 작동 연결된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터 형태로 되어있음을 특징으로하는 조성물.

청구항 16.

삭제

청구항 17.

삭제

청구항 18.

삭제