

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2018년 10월 4일 (04.10.2018) **WIPO | PCT**

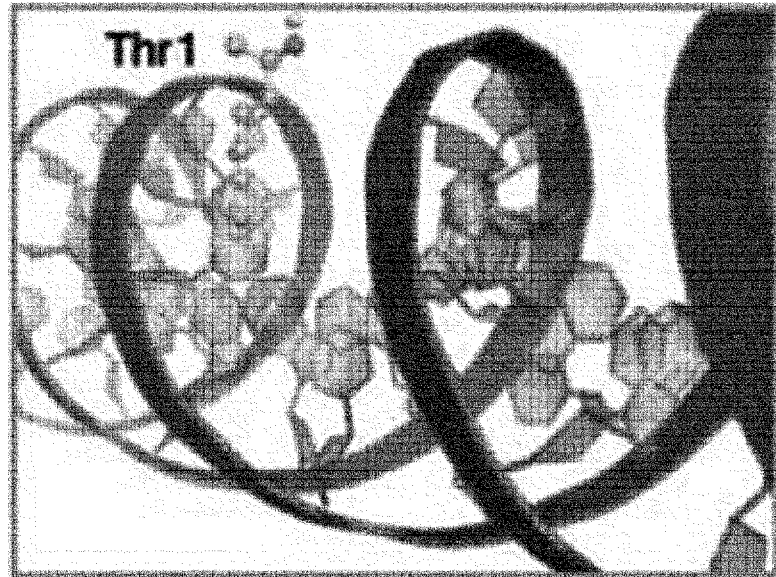


(10) 국제공개번호
WO 2018/182054 A1

- (51) 국제특허분류:
C07H 21/02 (2006.01) *C09K 3/18* (2006.01)
A01N 1/02 (2006.01) *C09K 5/20* (2006.01)
A23L 3/3463 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2017/003274
- (22) 국제출원일: 2017년 3월 27일 (27.03.2017)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2017-0038534 2017년 3월 27일 (27.03.2017) KR
- (71) 출원인: 부경대학교 산학협력단 (PUKYONG NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-UNIVERSITY COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 48547 부산시 남구 신선로 365 (용당동, 부경대학교), Busan (KR). 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) [KR/KR]; 02841 서울시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동 5가), Seoul (KR).
- (72) 발명자: 광민석 (KWAK, Min Seok); 48516 부산시 남구 분포로 113, 228동 104호 (용호동, 엘지메트로시티), Busan (KR). 안동준 (AHN, Dong June); 06721 서울시 서초구 효령로 68길 81, 102동 403호 (서초동, 서초자이아파트), Seoul (KR).
- (74) 대리인: 두호특허법인 (DOOHO IP LAW FIRM); 06628 서울시 서초구 강남대로 51길 1, 7층 (서초동, 대현블루타워), Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,

(54) Title: FUNCTIONAL NUCLEIC ACID STRUCTURE AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 발명의 명칭: 기능성 핵산 구조체 및 그의 제조방법



(57) Abstract: The present invention relates to a nucleic acid structure in which at least one base has a structure derived from threonine, or at least one base has a structure derived from a polar amino acid selected from the group consisting of serine, asparagine, and glutamine, and at least one base has a structure derived from a hydrophobic amino acid selected from the group consisting of alanine, isoleucine, leucine, and valine.

(57) 요약서: 본 발명은 적어도 하나의 염기가 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기이거나; 적어도 하나의 염기가 세린, 아스파라긴 및 글루타민으로 이루어진 군에서 선택된 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이고, 적어도 하나의 염기가 알라닌, 이소루신, 루신 및 발린으로 이루어진 군에서 선택된 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기인, 핵산 구조체에 관한 것이다.

[다음 쪽 계속]



WO 2018/182054 A1

LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 기능성 핵산 구조체 및 그의 제조방법

기술분야

- [1] 본 발명은 얼음 결정의 형성 또는 성장을 억제하는 핵산 구조체에 관한 것이다.
[2]

배경기술

- [3] DNA의 정보는 뉴클레오타이드의 염기단위인 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C) 및 티민(T)에 의해서 코딩되어 있다. DNA의 단일 가닥은 하이브리다이제이션(혼성화)에 의해 그들의 상보 가닥을 인식해서 결합하여 이중 가닥의 핵산을 형성한다. 이것은 A가 T를 인식하고, G가 C를 인식하도록 핵산 고유의 염기쌍의 형성성에 의해서 일어날 수 있다. 이와 같은 구조적 특징으로 인해 프로그래밍된 자기 조립이 가능한 DNA는 유전정보를 저장하는 생체 고분자의 기능을 넘어 다양한 가능성을 가진 소재로 여겨지고 있다.
- [4] 염기서열을 배열하여 정밀한 구조로 자기 조립하는 DNA 구조체 제조기술은 우리가 원하는 복잡한 구조를 단순한 언어로 디자인 할 수 있고, 이렇게 디자인된 구조를 특정한 환경 안에서 제어할 수 있다. 다른 소재에 비해 DNA에 특히 주목할 만한 점은 앞서 언급한 정교한 기능, 구조적 프로그래밍 이외에도 근본적으로 우리 몸 속에 존재하고 있는 생체친화적인 소재라는 것이다. 또한, DNA 분자 자체가 생화학적, 화학적 합성이 가능한 고분자이며 생체조건 하에서도 상당히 안정적이다.

발명의 상세한 설명

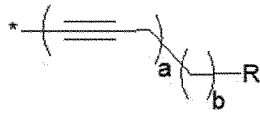
기술적 과제

- [5] 본 발명은 변형 염기를 갖는 핵산 구조체, 그의 제조방법 및 그의 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.
[6]

과제 해결 수단

- [7] 1. 적어도 하나의 염기가 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기이거나; 적어도 하나의 염기가 세린, 아스파라긴 및 글루타민으로 이루어진 군에서 선택된 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이고, 적어도 하나의 염기가 알라닌, 이소루신, 루신 및 발린으로 이루어진 군에서 선택된 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기인, 핵산 구조체.
- [8] 2. 위 1에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기와 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기는 3 bp 이내에 위치한, 핵산 구조체.
- [9] 3. 위 1에 있어서, 상기 트레오닌 유래 구조는 하기 화학식 1로 표시되는 것인 핵산 구조체:
- [10] [화학식 1]

[11]

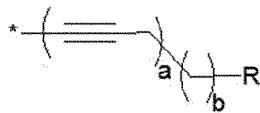


[12] 상기 화학식 1에서, 상기 R은 트레오닌의 잔기이고; 상기 a는 1 내지 5의 정수이고; 및 상기 b는 0 내지 5의 정수이다.

[13] 4. 위 1에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조는 하기 화학식 1로 표시되는 것인 핵산 구조체:

[14] [화학식 1]

[15]



[16] 상기 화학식 1에서, 상기 R은 세린, 아스파라긴 또는 글루타민의 잔기이고; 상기 a는 1 내지 5의 정수이고; 및 상기 b는 0 내지 5의 정수이다.

[17] 5. 위 1에 있어서, 상기 소수성 아미노산 유래 구조는 하기 화학식 1로 표시되는 것인 핵산 구조체:

[18] [화학식 1]

[19]

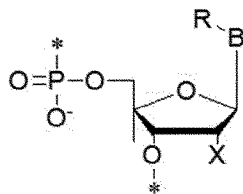


[20] 상기 화학식 1에서, 상기 R은 알라닌, 이소루신, 루신 또는 발린의 잔기이고; 상기 a는 1 내지 5의 정수이고; 및 상기 b는 0 내지 5의 정수이다.

[21] 6. 위 1에 있어서, 상기 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드는 하기 화학식 2로 표시되는 것인 핵산 구조체:

[22] [화학식 2]

[23]

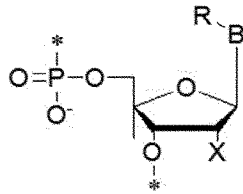


[24] 상기 화학식 2에서, 상기 X는 OH 또는 H이고; 상기 B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; 및 상기 R은 트레오닌의 잔기이다.

[25] 7. 위 1에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드는 하기 화학식 2로 표시되는 것인 핵산 구조체:

[26] [화학식 2]

[27]

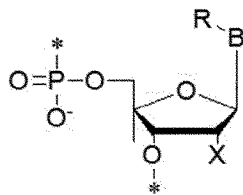


[28] 상기 화학식 2에서, 상기 X는 OH 또는 H이고; 상기 B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; 및 상기 R은 세린, 아스파라긴 또는 글루타민의 잔기이다.

[29] 8. 위 1에 있어서, 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드는 하기 화학식 2로 표시되는 것인 핵산 구조체:

[30] [화학식 2]

[31]



[32] 상기 화학식 2에서, 상기 X는 OH 또는 H이고; 상기 B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; 및 상기 R은 알라닌, 이소루신, 루신 또는 발린의 잔기이다.

[33] 9. 위 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 상보적으로 결합된 적어도 2개의 핵산 단일 가닥을 포함하는 것인 핵산 구조체.

[34] 10. 위 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 상보적으로 결합된 적어도 2개의 핵산 단일 가닥을 포함하고, 상기 상보적으로 결합된 염기 중 적어도 하나의 염기가 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기이거나; 적어도 하나의 염기가 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이고, 적어도 하나의 염기가 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기인 핵산 구조체.

[35] 11. 위 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 1개의 핵산 이중 가닥이 한 방향으로 배열된 4개의 제1 부분을 포함하도록 배열된 것인 핵산 구조체.

[36] 12. 위 11에 있어서, 상기 4개의 제1 부분은 그 종단면을 잇는 가상의 선이 사각형을 이루도록 배열된 것인 핵산 구조체.

[37] 13. 위 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 1개의 핵산 이중 가닥이 한 방향으로 배열된 6개의 제1 부분을 포함하도록 배열된 것인 핵산 구조체.

[38] 14. 위 13에 있어서, 상기 6개의 제1 부분은 그 종단면이 잇는 가상의 선이 육각형을 이루도록 배열된 것인 핵산 구조체.

[39] 15. 위 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 2개의 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하거나; 적어도 2개의 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기 및 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하고, 상기 염기 간의 최소 간격은 0.34 nm인 핵산 구조체.

- [40] 16. 적어도 하나의 뉴클레오티드의 염기에 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조가 결합된 복수개의 뉴클레오티드를 결합시키는 단계를 포함하는 핵산 구조체의 제조 방법.
- [41] 17. 위 16에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기와 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기는 3 bp 이내에 위치한, 핵산 구조체의 제조 방법.
- [42] 18. 위 1 내지 15의 핵산 구조체를 포함하는 얼음 결정의 형성, 성장 또는 재결정화를 억제하는 조성물.
- [43] 19. 위 1 내지 15의 핵산 구조체를 포함하는 생물학적 시료 보존제.
- [44] 20. 위 1 내지 15의 핵산 구조체를 포함하는 식품.
- [45]

발명의 효과

- [46] 본 발명에 따른 핵산 구조체는 적어도 하나의 염기가 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기이거나; 적어도 하나의 염기가 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이고, 적어도 하나의 염기가 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이므로, 얼음 결정의 형성, 성장 또는 재결정화를 억제할 수 있다.
- [47] 본 발명에 따른 핵산 구조체는 작용기를 갖는 변형 염기를 사용함으로써 핵산 구조체의 분해능 그대로 위치에 작용기를 직접 도입할 수 있어 제조방법 또한 간단하다.
- [48] 본 발명에 따른 핵산 구조체는 생체친화적 물질이므로 안전성 문제를 최소화할 수 있어 다양한 분야에 활용 가능하다.
- [49]

도면의 간단한 설명

- [50] 도 1은 트레오닌 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 핵산 구조체를 나타낸 것이다.
- [51] 도 2는 뉴클레오티드의 염기에 트레오닌 유래 구조를 결합하는 일 예시를 나타낸 것이다.
- [52] 도 3은 효소적 합성 방법에 적용하기 위한 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드의 일 예시를 나타낸 것이다.
- [53] 도 4는 얼음과 상호작용하는 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 핵산 구조체를 나타낸 것이다.
- [54] 도 5는 본 발명의 핵산 구조체의 일 예시를 나타낸 사시도이다.
- [55] 도 6은 본 발명의 핵산 구조체의 일 예시를 나타낸 사시도이다.
- [56] 도 7은 본 발명의 핵산 구조체의 일 예시를 나타낸 단면도이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [57] 이하, 본 발명의 구체적인 실시형태를 설명하기로 한다. 그러나 이는 예시에 불과하며 본 발명은 이에 제한되지 않는다.

[58]

[59] 본 발명은 적어도 하나의 염기가 작용기를 갖는 변형 염기인 핵산 구조체를 제공한다.

[60] 본 발명의 "핵산 구조체"는 적어도 2개의 단일 가닥의 핵산이 상보적으로 결합된 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 또한 본 발명의 핵산 구조체는 적어도 2개의 핵산 단일 가닥의 전체가 상보적으로 결합되거나 핵산 단일 가닥의 일부가 상보적으로 결합된 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 각 단일 가닥의 핵산은 서로 완전하게 상보적인 서열을 가질 필요는 없으며, 서로 혼성화되어 원하는 핵산의 구조를 유지할 수 있는 범위 내에서의 충분한 상보성을 가지면 충분하다.

[61] 본 발명에 있어서 "변형 염기"는 천연 염기가 아닌, 작용기를 갖는 염기를 말한다. 핵산을 이루는 뉴클레오티드는 염기-오탄당-인산의 결합으로 이루어져 있다. DNA의 경우 염기는 아데닌(Adenine, A), 구아닌(Guanine, G), 시토신(Cytosine, C), 또는 티민(Thymine, T) 중 하나이고, RNA의 경우 아데닌(Adenine, A), 구아닌(Guanine, G), 시토신(Cytosine, C), 또는 우라실(Uracil, U) 중 하나이다. 본 발명의 변형 염기는 뉴클레오티드의 구조 중 염기에 작용기가 도입된 것을 말한다. 상기 변형 염기의 작용기는 예를 들면 유기 화합물, 나노 물질, 아미노산 등으로부터 유래된 작용기 일 수 있다.

[62]

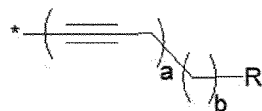
[63] 본 발명은 적어도 하나의 염기가 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기이거나; 적어도 하나의 염기가 세린, 아스파라긴 및 글루타민으로 이루어진 군에서 선택된 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이고, 적어도 하나의 염기가 알라닌, 이소루신, 루신 및 발린으로 이루어진 군에서 선택된 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기인, 핵산 구조체를 제공한다.

[64] 본 발명에 있어서, 아미노산 유래 구조는 아미노산 기본 골격 중에서 알파 탄소를 기준으로 알파 탄소와 결합된 수소, 카르복시기(carboxyl group), 아미노기(amino group), 잔기(side chain) 중에서 "잔기"부분을 말한다.

[65] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 트레오닌 유래 구조는 하기 화학식 1로 표시될 수 있다.

[66] [화학식 1]

[67]



[68] (상기 화학식 1에서, 상기 R은 트레오닌의 잔기이고; 상기 a는 1 내지 5의 정수이고; 및 상기 b는 0 내지 5의 정수이다.)

[69]

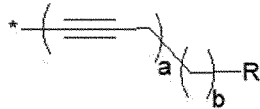
이다.



[70] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조는 하기 화학식 1로 표시될 수 있다.

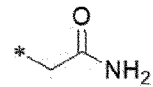
[71] [화학식 1]

[72]

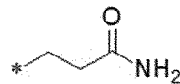


[73] (상기 화학식 1에서, 상기 R은 세린, 아스파라긴 또는 글루타민의 잔기이고; 상기 a는 1 내지 5의 정수이고; 및 상기 b는 0 내지 5의 정수이다.)

[74] 상기 세린의 잔기는 , 상기 아스파라진의 잔기는 ,



상기 글루타민의 잔기는 이다.



[75] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 소수성 아미노산 유래 구조는 하기 화학식 1로 표시될 수 있다.

[76] [화학식 1]

[77]

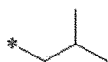


[78] (상기 화학식 1에서, 상기 R은 알라닌, 이소루신, 루신 또는 발린의 잔기이고; 상기 a는 1 내지 5의 정수이고; 및 상기 b는 0 내지 5의 정수이다.)

[79] 상기 알라닌의 잔기는 , 상기 이소루신의 잔기는 ,



, 상기 발린의 잔기는 이다.



[80] 상기 화학식 1은 삼중결합과 단일결합을 포함하여 구조의 유연성을 부여할 수 있고, 상기 화학식 1에서 a 및 b를 조절함으로써 구조의 유연성과 길이를 조절할 수 있다.

[81] 상기 트레오닌 유래 구조는 트레오닌 잔기, 를 가진다. 트레오닌



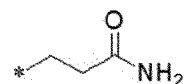
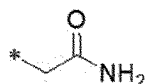
잔기는 수소 결합을 제공할 수 있는 하이드록실기(hydroxyl group, -OH)와 소수성 표면을 제공할 수 있는 메틸기(methyl group, -CH₃)가 있으므로, 수소결합을 제공하면서 동시에 소수성 표면을 제공하여 얼음 결정과 상호작용할 수 있고, 미소결정(microcrystal)이 큰 결정을 형성하는 것을 방지하여 액체 상태를 유지하는 것을 가능하게 한다. 또는 해동 시 얼음 결정의 재결정화를 억제할 수 있다.

[82] 적어도 하나의 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기인 경우, 필요에 따라, 나머지 염기 중 적어도 하나의 염기가 세린, 아스파라긴 및 글루타민으로 이루어진 군에서 선택된 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이고, 적어도 하나의 염기가 알라닌, 이소루신, 루신 및 발린으로 이루어진 군에서 선택된 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기일 수 있다.

[83] 상기 극성 아미노산 유래 구조는 세린, 아스파라긴 및 글루타민으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산의 잔기를 가진다. 상기 세린의 잔기는 ,



상기 아스파라진의 잔기는 , 상기 글루타민의 잔기는



이다. 상기 세린, 아스파라긴 및 글루타민의 잔기는 하이드록실기 또는 아미노기(amino group, -NH₂)를 가지므로, 물과 수소결합을 이룰 수 있다.

[84] 상기 소수성 아미노산 유래 구조는 알라닌, 이소루신, 루신 및 발린으로

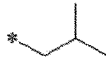
, 상기 이소루신의 잔기는



, 상기 루신의 잔기는



, 상기 발린의 잔기는



이다. 상기 알라닌, 이소루신,



루신 및 발린의 잔기는 알킬기만 포함하므로, 소수성 표면을 제공할 수 있다.

[85]

[86] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기와 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기는 3 bp(base pair) 이내에 위치할 수 있다. 극성 아미노산 유래 구조와 소수성 아미노산 유래 구조를 인접하게 위치시킴으로써 얼음 결정의 형성, 성장 또는 재결정화를 억제할 수 있다. 얼음 결정의 형성, 성장 또는 재결정화를 억제하기 위해서는 얼음 결정과 상호작용할 수 있는 수소결합과 소수성 표면이 동시에 요구되는데, 상기 극성 아미노산 유래 구조와 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 인접하게 위치하여 극성 부분과 소수성 부분을 동시에 가지는 작용기를 제공하는 것과 같은 효과를 낼 수 있다. 상기 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기는 소수성 부분과 극성 부분을 모두 제공하므로, 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기 간의 간격에는 제한이 없다.

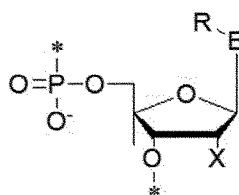
[87] 상기 트레오닌 유래 구조 또는 3 bp 이내에 위치한 극성 아미노산 유래 구조 및 소수성 아미노산 유래 구조는 얼음 결정의 형성, 성장 또는 재결정화를 억제시키는 효과를 가진다. 상기 트레오닌 유래 구조는 수소결합 및 소수성 표면을 모두 제공할 수 있고, 3 bp 이내에 위치한 상기 극성 아미노산 유래 구조 및 소수성 아미노산 유래 구조는 수소결합 및 소수성 표면을 제공하여 얼음 결정과 상호작용할 수 있고, 미소결정(microcrystal)이 큰 결정을 형성하는 것을 방지하여 액체 상태를 유지하는 것을 가능하게 한다. 또는 해동 시 얼음 결정의 재결정화를 억제할 수 있다.

[88]

[89] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 트레오닌 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 뉴클레오티드는 하기 화학식 2로 표시될 수 있다.

[90] [화학식 2]

[91]



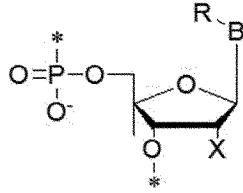
[92] (상기 화학식 2에서, 상기 X는 OH 또는 H이고; 상기 B는 아데닌, 티민, 구아닌,

시토신 또는 우라실이고; 및 상기 R은 트레오닌의 잔기이다.)

- [93] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 뉴클레오티드는 하기 화학식 2로 표시될 수 있다.

[94] [화학식 2]

[95]

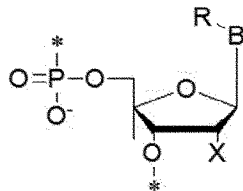


- [96] (상기 화학식 2에서, 상기 X는 OH 또는 H이고; 상기 B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; 및 상기 R은 세린, 아스파라긴 또는 글루타민의 잔기이다.)

- [97] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 뉴클레오티드는 하기 화학식 2로 표시될 수 있다.

[98] [화학식 2]

[99]



- [100] (상기 화학식 2에서, 상기 X는 OH 또는 H이고; 상기 B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; 및 상기 R은 알라닌, 이소루신, 루신 또는 발린의 잔기이다.)

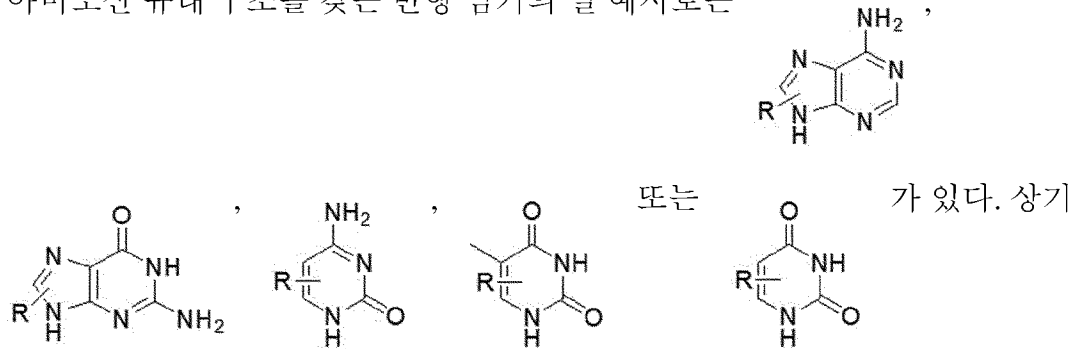
[101]

- [102] 본 발명의 핵산 구조체는 상기 트레오닌 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 또한 본 발명의 핵산 구조체는 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 뉴클레오티드 및 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 상기 핵산 구조체는 트레오닌 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 복수 개의 뉴클레오티드; 또는 극성 아미노산 유래 구조 및 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 복수개의 뉴클레오티드와 천연 염기를 포함하는 복수개의 뉴클레오티드가 결합된 것일 수 있다. 상기 핵산 구조체를 이루는 뉴클레오티드의 서열 순서를 정함에 따라 변형 염기를 핵산 구조체 내에서 원하는 위치에 배치할 수 있다.

[103]

- [104] 상기 화학식 2에서, 상기 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 변형 염기는 -B-R 부분으로, 상기 B는 핵산을 구성하는 염기인 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실일 수 있고, 상기 R은

화학식 1의 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조이다. 상기 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 변형 염기의 일 예시로는



R은 염기를 구성하는 어떠한 원자와도 결합될 수 있다.

[105] 상기 화학식 2에서, X가 OH일 경우 오탄당은 리보오스의 구조이고, X가 H일 경우 오탄당은 디옥시리보오스의 구조이다. 리보오스의 RNA를 구성하는 당이고, 디옥시리보오스는 DNA를 구성하는 당이다.

[106]

[107] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 핵산 구조체는 상보적으로 결합된 적어도 2개의 핵산 단일 가닥을 포함하고, 상기 상보적으로 결합된 염기 중 적어도 하나의 염기가 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기이거나; 적어도 하나의 염기가 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이고, 적어도 하나의 염기가 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 갖는 것일 수 있다. 상기 핵산 구조체에서 적어도 2개의 핵산 단일 가닥을 포함하고 있는 부분은 핵산 구조체의 전체일 수 있고 또는 일부일 수 있다. 상기 핵산 구조체의 일부는 핵산 단일 가닥을 포함할 수 있다.

[108] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 2개의 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하거나; 적어도 2개의 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기 및 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하고, 상기 염기 간의 최소 간격은 0.34 nm일 수 있다.

[109] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 핵산 구조체는 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하거나; 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기 및 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함한다; 적어도 2개의 이중 나선을 포함하고, 각 이중 나선에 위치한 염기 간의 최소 간격은 2.3 nm일 수 있다.

[110]

[111] 본 발명은 적어도 하나의 뉴클레오타이드의 염기에 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조가 결합된 복수개의 뉴클레오타이드를 결합시키는 단계를 포함하는 핵산 구조체의 제조 방법을 제공한다.

[112] 상기 복수개의 뉴클레오타이드를 결합시키는 단계는 화학적 방법 또는 효소적

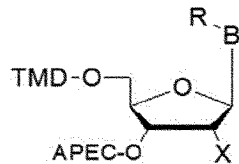
방법에 의해 수행될 수 있다. 어떠한 방법을 적용하는 지에 따라 변형 염기를 포함하는 뉴클레오타이드의 전구체 구조가 달라질 수 있다.

[113]

[114] 상기 복수개의 뉴클레오타이드를 화학적 방법에 의해 결합시키기 위한 변형 염기를 포함하는 뉴클레오타이드 전구체 일 예시는 하기 화학식 3과 같다.

[115] [화학식 3]

[116]



[117] 상기 화학식 3에서, X는 OH 또는 H 이고; B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; R은 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조이고; DMT는 4,4'-디메톡트리틸(4,4-dimethoxytrityl)이고; CEPA는 2-cyanoethyl- N,N-diisopropylphosphoramidite이고, L은 이탈기를 나타낸다. L은 예를 들면 할로젠일 수 있다.

[118] 상기 화학식 3에서, 상기 극성 아미노산 유래 구조는 구체적으로 세린, 아스파라긴 또는 글루타민의 잔기이고, 상기 소수성 아미노산 유래 구조는 구체적으로 알라닌, 이소루신, 루신 또는 발린의 잔기이다.

[119] 상기 복수개의 뉴클레오타이드를 결합시키는 단계에서, 상기 화학식 3의 DMT와 CEPA는 반응하여 포스포디에스터 결합(phosphodiester bond)을 형성한다. DMT 보호기가 이탈하여 하이드록시기(-OH)가 생기는데 CEPA는 하이드록시기와 반응 후, 산화(oxidation)를 거친 후 다시 탈보호(deprotection)하여 에스터(ester) 결합을 형성할 수 있다.

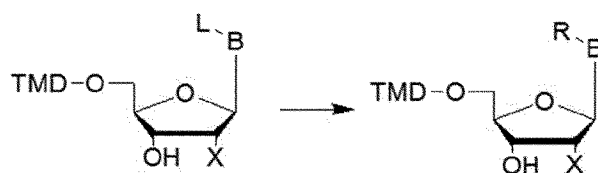
[120]

[121] 상기 화학식 3을 얻기 위한 과정의 일 예시는 다음과 같다. 뉴클레오타이드의 염기에 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 결합시키는 것은 예를 들면 뉴클레오타이드의 염기에 결합된 이탈기를 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조로 치환함으로써 수행할 수 있다.

[122] 뉴클레오타이드의 인산을 DMT(4,4'-디메톡트리틸(4,4-dimethoxytrityl))로 치환하고, 상기 반응식 1과 같이 상기 뉴클레오타이드의 염기에 결합된 이탈기를 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조로 치환할 수 있다.

[123] [반응식 1]

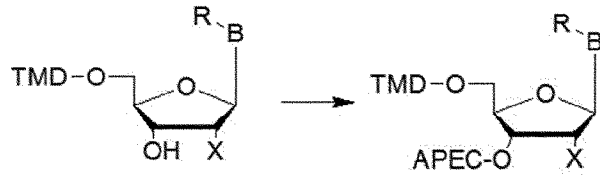
[124]



[125] 뉴클레오티드의 염기에 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 결합하는 과정은 하기 반응식 2와 같이 뉴클레오티드의 당 OH기를 O-CEPA로 치환하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[126] [반응식 2]

[127]



[128] 상기 반응식 1 및 2에서 X는 OH 또는 H 이고; B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; R은 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조이고; DMT는 4,4'-디메톡트리틸(4,4-dimethoxytrityl)이고; CEPA는 2-cyanoethyl- N,N-diisopropylphosphoramidite 이고, L은 이탈기를 나타낸다. L은 예를 들면 할로젠일 수 있다.

[129] 상기 반응식 1 및 2에서, 상기 극성 아미노산 유래 구조는 구체적으로 세린, 아스파라긴 또는 글루타민의 잔기이고, 상기 소수성 아미노산 유래 구조는 구체적으로 알라닌, 이소루신, 루신 또는 발린의 잔기이다.

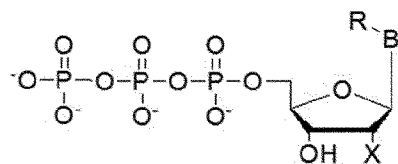
[130] 도 2는 뉴클레오티드의 염기에 트레오닌 유래 구조를 결합하는 일 예시를 나타낸 것이다. 도 2에 나타낸 뉴클레오티드의 염기는 우라실이고 당은 디옥시리보오스이다. 우라실은 아이오도(iodo, I) 이탈기를 포함하고 있고, 아이오도는 트레오닌 유래 구조인 BnThr로 치환될 수 있다. 이는 상기 반응식 1과 동일한 반응 과정이다. 이 후 반응식 2의 과정과 같이 디옥시리보오스의 OH기를 O-CEPA로 치환하여 화학식 3을 얻을 수 있다. 변형 염기를 포함한 화학식 3의 뉴클레오티드는 뉴클레오티드 합성기(oligo synthesizer)를 이용하여 화학적 방법에 의해 추가의 뉴클레오티드와 결합될 수 있다.

[131]

[132] 상기 복수개의 뉴클레오티드를 효소적 방법에 의해 결합시키기 위한 변형 염기를 포함하는 뉴클레오티드의 전구체의 일 예시는 하기 화학식 4와 같다.

[133] [화학식 4]

[134]



[135] 상기 화학식 4에서, X는 OH 또는 H 이고; B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; 및 R은 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조이다.

[136] 상기 화학식 4에서, 상기 극성 아미노산 유래 구조는 구체적으로 세린, 아스파라긴 또는 글루타민의 잔기이고, 상기 소수성 아미노산 유래 구조는

구체적으로 알라닌, 이소루신, 루신 또는 발린의 잔기이다.

- [137] 상기 복수개의 뉴클레오티드를 효소적 방법에 의해 결합시키기 위한 변형 염기를 포함하는 화학식 4는 삼인산기(triphosphate)를 가질 수 있다. 상기 복수개의 뉴클레오티드를 결합시키는 단계에서, 상기 화학식 4는 중합효소에 의해 포스포디에스터 결합(phosphodiester bond)을 형성할 수 있다. 포스포디에스터 결합을 형성하는 과정에서 상기 화학식 4의 삼인산기에서 두 개의 인산기가 이탈된다.
- [138] 도 3은 효소적 결합 방법에 적용하기 위한 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드의 일 예시를 나타낸 것이다. 도 3의 (A)는 삼인산을 가진 디옥시아데노신 삼인산(deoxyadenosine triphosphate, dATP)를 나타낸 것이고, (B)는 디옥시우리딘 삼인산(deoxyuridine triphosphate, dUTP)를 나타낸 것이다.
- [139]
- [140] 상기 단계를 거쳐 뉴클레오티드의 염기에 트레오닌 유래 구조가 결합된 뉴클레오티드, 극성 아미노산 유래 구조 및 소수성 아미노산 유래 구조가 결합된 복수 개의 뉴클레오티드를 추가의 뉴클레오티드와 결합시켜 핵산 구조체를 제조할 수 있다. 제조된 상기 핵산 구조체 내에, 적어도 하나의 염기가 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 포함하는 뉴클레오티드는 화학적 방법 또는 효소적 방법에 의한 결합 여부와 관계없이 상기 [화학식 2]의 구조를 가진다.
- [141] 추가로 결합되는 뉴클레오티드는 염기에 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 가질 수도 있고, 그렇지 않을 수도 있다.
- [142]
- [143] 상기 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 핵산 구조체 또는 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기 및 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 핵산 구조체를 얻기 위해서, 상기 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기, 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기 또는 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드로 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드를 합성하는 과정을 포함한다. 상기 올리고 또는 폴리뉴클레오티드로 합성하는 과정에서는 상기 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드와 변형 염기를 가지지 않는 뉴클레오티드를 혼합하여 결합할 수 있다. 또한 상기 결합 방법은 화학적 방법일 수 있고 또는 효소적 방법일 수 있다. 도 2를 참조하면, 뉴클레오티드 합성기(oligo synthesizer)를 거쳐 결합된 올리고뉴클레오티드는 트레오닌 유래 구조를 갖는 변형 염기를 포함하는 뉴클레오티드와 트레오닌 유래 구조를 갖지 않는 염기를 포함하는 뉴클레오티드가 혼합된 것일 수 있다.
- [144] 도 2는 화학적 결합 방법에 적용하기 위한 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를

포함하는 뉴클레오티드의 일 예시를 나타낸 것이고, 도 3은 효소적 결합 방법에 적용하기 위한 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드의 일 예시를 나타낸 것이다. 효소적 결합 방법을 위해서는 뉴클레오티드의 인산기가 삼인산(triphosphate)일 수 있다. 도 3의 (A)는 삼인산을 가진 디옥시아데노신 삼인산(deoxyadenosine triphosphate, dATP)를 나타낸 것이고, (B)는 디옥시우리딘 삼인산(deoxyuridine triphosphate, dUTP)를 나타낸 것이다.

[145]

[146] 상기 핵산 구조체는 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드를 합성하여 얻을 수 있다. 또는 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드 및 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드를 합성하여 얻을 수 있다. 따라서 핵산 구조체 조립 이후에 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 도입하는 것보다 제조 공정이 간단하고 정확한 위치에 도입할 수 있다. 또한, 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드를 이용하여 핵산 구조체를 제조하기 때문에 이중 나선을 구성하는 뉴클레오티드의 염기에 직접 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조가 도입된다. 따라서 핵산 구조체에 변형 염기를 도입하기 위한 별도의 핵산 가닥을 결합할 필요가 없다.

[147] 별도의 핵산 가닥을 핵산 구조체에 도입하는 경우 뺏어 나오는 핵산 가닥 및 작용기의 유연성 때문에 분해능이 떨어지게 되는데, 본 발명의 핵산 구조체는 이러한 문제를 해결하여 고 분해능을 가진다. 예를 들어, 본 발명의 핵산 구조체에서 인접한 염기가 트레오닌 유래 구조를 갖는 경우, 두 트레오닌 유래 구조의 최소 간격은 0.34 nm일 수 있다. 또한 인접한 이중나선에 트레오닌 유래 구조를 갖는 경우, 두 트레오닌 유래 구조의 최소 간격은 2.3 nm일 수 있다.

[148]

[149] 상기 핵산 구조체를 제조하기 이전에 뉴클레오티드의 염기서열을 디자인하여 원하는 위치에 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기, 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 배치할 수 있다.

[150] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기와 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기는 3 bp 이내에 위치하도록 제조될 수 있다. 극성 아미노산 유래 구조와 소수성 아미노산 유래 구조를 인접하게 위치시킴으로써, 얼음 결정의 형성, 성장 또는 재결정화를 억제할 수 있다. 얼음 결정의 형성, 성장 또는 재결정화를 억제하기 위해서는 얼음 결정과 상호작용할 수 있는 수소결합과 소수성 표면이 동시에 요구되는데, 상기 극성 아미노산 유래 구조와 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 인접하게 위치하여 극성 부분과 소수성 부분을 동시에 가지는 작용기를 제공하는 것과 같은 효과를 낼 수 있다. 상기 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기는 소수성 부분과 극성 부분을 모두

제공하므로, 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기 간의 간격에는 제한이 없다.

[151]

[152] 본 발명에 따른 핵산 구조체는 트레오닌 유래 구조를 포함하거나; 극성 아미노산 유래 구조 및 소수성 아미노산 유래 구조를 포함하여, 얼음 결정의 형성 또는 성장을 억제시키는 효과를 가질 수 있고, 얼음의 재결정화 또한 억제할 수 있다. 상기 핵산 구조체는 일면에 복수의 트레오닌 유래 구조를 가지거나, 극성 아미노산 유래 구조 및 소수성 아미노산 유래 구조를 가질 수 있고, 핵산 구조체 당 변형 염기의 개수는 임의로 조절할 수 있다. 이는 구조체의 면적 또는 부피에 따라 조절할 수 있다. 상기 핵산 구조체 내 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조의 위치, 개수, 간격은 얼음과 상호작용하여 얼음 결정의 형성 또는 성장을 억제시킬 수 있는 효과를 갖는 한, 제한되지 않는다.

[153]

[154] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기, 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기는 핵산 구조체의 한쪽 면에 위치할 수 있다. 핵산 구조체의 한쪽 면에 트레오닌 유래 구조 또는 극성 아미노산 유래 구조 및 소수성 아미노산 유래 구조의 밀도를 높여 얼음과 상호작용하기 용이한 구조를 가질 수 있다. 보다 구체적으로 도 8에 예시된 바와 같이 외측면으로 돌출되는 부위(예를 들면, 나선상 외측면으로 돌출되는 최고점의 3bp 이내)에 있을 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[155] 도 4는 얼음과 상호작용하는 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 핵산 구조체를 나타낸 것이다.

[156]

[157] 상기 핵산 구조체는 일면에 많은 양의 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 위치시킬 수 있는 형태일 수 있다. 일면에 많은 양의 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 핵산 구조체를 제공하는 한, 특별히 핵산 구조체의 형태는 제한되지 않는다.

[158]

본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 1개의 핵산 이중 가닥이 한 방향으로 배열된 복수 개의 제1 부분을 포함하도록 배열된 것일 수 있다. 도 5 및 도 6은 본 발명의 핵산 구조체의 일 예시를 나타낸 사시도이다. 도 5 및 6를 참조하면, 핵산 구조체(100, 200)는 제1 부분(101a, 101b, 101c 및 101d; 201a, 201b, 201c, 201d, 201e 및 201f) 및 제2 부분(102a, 102b, 102c 및 102d; 202a, 202b, 202c, 202d, 202e 및 202f)를 포함할 수 있다. 상기 제1 부분 및 제2 부분은 2개의 핵산 단일 가닥이 상보적으로 결합된 핵산 이중 가닥일 수 있고, 핵산 단일 가닥일 수도 있다. 또는 부분적으로 핵산 이중 가닥일 수 있고, 핵산 단일 가닥일 수 있다.

- [159] 상기 핵산 구조체는 복수 개의 제1 부분을 포함할 수 있고, 바람직하게는 4개 또는 6개일 수 있다. 도 5 및 6을 참조하면, 상기 복수 개의 제1 부분은 한 방향으로 배열된 것일 수 있다. 상기 제2 부분은 상기 한 방향으로 배열된 2개의 제1 부분을 연결하는 것으로, 각 제1 부분의 말단과 말단을 연결하는 것일 수 있다. 또한, 상기 제2 부분은 각 제1 부분의 말단과 말단을 최단거리로 연결하는 것일 수 있다. 상기 제2 부분은 한 방향으로 배열되지 않을 수 있다. 또한 2개의 제1 부분의 각 말단과 말단이 상기 제2 부분으로 연결된 이상, 각 제1 부분의 또 다른 말단과 말단과는 또 다른 제2 부분으로 연결되지 않을 수 있다. 예를 들어, 도 5의 제1 부분 101a와 제1 부분 101b의 각 말단은 제2 부분 102a와 연결된 경우, 제1 부분 101a, 101b의 또 다른 말단은 또 다른 제2 부분에 의해 서로 연결되지 않을 수 있다.
- [160] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 1개의 핵산 이중 가닥이 한 방향으로 배열된 4개의 제1 부분을 포함하도록 배열된 것일 수 있다.
- [161] 상기 4개의 제1 부분은 그 종단면을 잇는 가상의 선이 사각형을 이루도록 배열된 것일 수 있다. 도 7은 본 발명 핵산 구조체의 일 예시를 나타낸 단면도이다. 도 7의 (A)는 핵산 구조체의 종단면으로, 핵산 구조체를 이루는 4개의 제1 부분은 그 종단면을 잇는 가상의 선은 사각형을 이룬다. 상기 가상의 선은 상기 제1 부분의 중앙 부분을 이은 선일 수 있다.
- [162] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 1개의 핵산 이중 가닥이 한 방향으로 배열된 6개의 제1 부분을 포함하도록 배열된 것일 수 있다.
- [163] 상기 6개의 제1 부분은 그 종단면을 잇는 가상의 선이 육각형을 이루도록 배열된 것일 수 있다. 도 7의 (B)는 핵산 구조체의 종단면으로, 핵산 구조체를 이루는 6개의 제1 부분은 그 종단면을 잇는 가상의 선은 육각형을 이룬다. 상기 가상의 선은 상기 제1 부분의 중앙 부분을 이은 선일 수 있다.
- [164]
- [165] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 트레오닌 유래 구조는 핵산 이중 가닥의 중심축으로부터 높은 위치(예를 들면 나선상 외측면으로 돌출되는 최고점의 3bp 이내)에 있는 뉴클레오티드에 결합된 것일 수 있다. 도 8은 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 핵산 이중 가닥을 나타낸 것이다. 도 8을 참조하면, 트레오닌 유래 구조(Thr)는 핵산 이중 가닥의 중심축으로부터 높은 위치에 있는 뉴클레오티드에 결합하여, 염음 결정과 상호작용할 수 있는 확률을 높일 수 있다. 핵산 이중 가닥의 중심축으로부터 높은 위치에 있는 뉴클레오티드는 핵산 이중 가닥이 한 번 회전(turn)할 때마다 나타난다. DNA 이중 나선이 한 번 회전하는 주기는 10.5 bp이며, 그 거리는 3.4 nm 이다. 핵산 구조체 내에서 트레오닌 유래 구조는 적어도 10.5 bp 마다 위치할 수 있다. DNA 이중 나선이 한 번 회전하는 주기는 핵산 구조체의 모양, 배열에 따라 달라질 수 있다.
- [166] 핵산 구조체에서 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기와 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기는 3 bp 이내에 위치할 수 있고, 극성 아미노산

유래 구조와 소수성 아미노산 유래 구조 중 어느 하나가 핵산 이중 가닥의 중심축으로부터 높은 위치(예를 들면 나선상 외측면으로 돌출되는 최고점의 3bp 이내)에 있는 뉴클레오티드에 결합된 것일 수 있다. 극성 또는 소수성 아미노산 유래 구조는 핵산 이중 가닥의 중심으로부터 높은 위치에 있는 뉴클레오티드에 결합하여, 얼음 결정과 상호작용할 수 있는 확률을 높일 수 있다.

- [167] 핵산 이중 가닥의 중심축으로부터 높은 위치에 있는 뉴클레오티드는 핵산 이중 가닥이 한 번 회전(turn)할 때마다 나타난다. DNA 이중 나선이 한 번 회전하는 주기는 10.5 bp이며, 그 거리는 3.4 nm 이다. 이에, 바람직하게는 핵산 구조체 내에서 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조는 10.5 bp(10~11bp) 마다 위치할 수 있다. DNA 이중 나선이 한 번 회전하는 주기는 핵산 구조체의 모양, 배열에 따라 달라질 수 있다.

[168]

- [169] 본 발명은 본 발명의 핵산 구조체를 포함하는 얼음 결정 형성, 성장 또는 재결정화를 억제하는 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 핵산 구조체는 트레오닌 유래 구조를 포함하거나; 극성 아미노산 유래 구조 및 소수성 아미노산 유래 구조를 포함하여, 얼음 결정의 형성 또는 성장을 억제시키는 효과를 가질 수 있고, 얼음의 재결정화 또한 억제할 수 있다.

- [170] 상기 조성물은 안정화제, 유화제, 계면활성제, 용매 등을 더 포함할 수 있다. 상기 조성물에 포함된 첨가제들은 멸균 상태인 것이 바람직하다. 이들 화합물은 핵산 분해 억제, 부패 억제, 산화 억제, 미생물 성장 억제, 에멀전 안정화 등의 역할을 할 수 있다. 또한 본 발명의 핵산 구조체 외에 동결보존제를 추가로 포함할 수 있으며, 상기 동결보존제는 화학물질, 생물유래 물질을 모두 제한 없이 포함할 수 있다. 상기 조성물은 건조된 조성물일 수 있고, 건조된 조성물은 동결 건조 형태일 수 있다.

- [171] 상기 조성물은 물이 빙결정화함으로써 장애가 발생하는 다양한 분야에 이용 가능하다. 예를 들면 식품 분야, 기계 분야, 토목 분야, 화장품 분야, 생체 재료를 이용하는 의료 분야 등에서 이용 가능하다. 식품 분야에서는 식품에 포함되는 물의 빙결정화를 억제함으로써, 식품의 맛 또는 질감 등의 변화를 방지할 수 있다. 예를 들면 전분 노화를 방지하거나 식품 중의 수분이 빙결정 화하여 단백질이나 유지 성분 등을 물리적으로 압박해, 그 구조를 변화시키는 것에 의한 맛이나 품질 등의 열화를 억제함으로써, 냉동식품 등의 품질의 개선이 가능하게 된다. 기계 분야, 토목 분야에서는 기계의 가동부, 도로, 지반 등의 결빙 방지제로 이용할 수 있다. 화장품 분야에서는 화장품의 품질 열화 등을 방지하기 위한 첨가제로 이용할 수 있다. 예를 들면 유지 성분을 포함한 화장품을 동결시키면, 화장품에 포함되는 물이 빙결정화해 유지 성분을 물리적으로 압박해 그 구조를 파괴하여 품질과 사용감이 떨어진다. 본 발명에 따른 조성물을 이용하면, 수분의 빙결정화를 방지함으로써 유지 성분의 구조가 지지되기 때문에, 품질의 열화 등을 억제할 수 있다. 의료 분야에서는 생물학적 시료를 동결 보존할 때의

보호제로 이용할 수 있다. 예를 들면 세포, 혈액, 장기 등의 생체 시료를 종래 공지의 저장액에 넣어 동결 보존하면, 저장액 중의 수분이 동결해 빙결정을 일으켜서 걸리는 빙결정에 의해 생체 시료가 손상되는 일이 있다. 그러나 본 발명에 따른 조성물을 첨가하면, 빙결정의 발생이나 성장을 억제할 수 있으므로, 생물학적 시료를 빙결정에 의한 손상에서 보호할 수 있다.

[172]

[173] 본 발명은 본 발명의 핵산 구조체를 포함하는 생물학적 시료 보존제를 제공한다. 본 발명에 있어서 "생물학적 시료"는 박테리아 세포, 효모 세포, 식물 세포, 동물 세포, 곤충 세포, 파충류 세포, 어류 세포, 포유동물 세포, 아세포 샘플 및 세포 추출물 등일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[174] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 생물학적 시료는 포유동물 세포일 수 있으며, 난모세포, 배아, 백혈구, 적혈구, 혈소판, 채장섬 및 간세포 등의 광범위한 타입의 세포; 피부 조직, 골수 조직, 각막 조직 및 다른 광범위한 타입의 조직; 그리고 간, 신장, 심장, 뇌, 폐, 췌장, 비장, 난소 및 위 등 광범위한 타입의 장기;를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[175] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 박테리아 등의 미생물, 동물, 식물, 곤충 등의 연조직은 본 발명의 생물학적 시료 보존제의 존재 하에 냉동 또는 해동될 때 더 적은 손상을 나타낼 수 있으며, 상기 생물학적 시료 보존제의 첨가는 냉동 전과 후의 해동시 세포 완전성이 중요하거나 바람직한 상황 (예를 들어, 조직 배양물 기탁)에서 유용할 수 있다. 즉, 냉동-해동 과정으로 인한 고유 특성 또는 고유 형태의 손실을 최소화시킬 수 있다.

[176] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따르면, 핵산 구조체를 포함하는 생물학적 시료 보존제는 얼음 결정의 성장을 억제할 수 있고, 이를 통해 생물학적 시료 (예컨대, 세포)의 냉동 및 해동 시 생존률을 크게 향상시킬 수 있다.

[177] 본 발명의 생물학적 시료 보존제는 고체, 반고체, 유체, 기체 등 다양한 형태일 수 있다. 예컨대, 유체일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[178] 본 발명의 생물학적 시료 보존제는 생물학적 체제를 보존하는데 유용하다고 공지된 전해질 용액에 포함되는 염, 당, 이온 및 다른 영양물의 광범위한 혼합물 중 어느 것을 더 함유할 수 있다. 이들은 조직 배양 배지, 장기 관류액 등을 포함한다.

[179] 본 발명의 핵산 구조체는 생물학적 시료를 저온 보존 또는 동결 보존할 때의 보호제로 이용할 수 있다. 생물학적 시료 보관 후 결빙소재 제거를 위해 효소 및 열처리 방법을 사용할 수 있다.

[180]

[181] 본 발명은 본 발명의 핵산 구조체를 포함하는 식품을 제공한다. 식품에서의 수분 재결정화는 음식들의 맛과 질감을 나쁘게 한다. 본 발명에 따른 핵산 구조체를 사용하여 냉동 식품이나 냉동될 식품을 처리함으로써 얼음 결정의 형성 또는 성장을 방지하고 재결정화를 방지할 수 있다. 식품은 제한되지는

않지만, 아이스크림, 냉동 요구르트, 수프, 푸딩, 셔벗, 아이스크림바, 냉동 디저트, 예를 들어 커스터드, 푸딩 등과 냉동되는 기타 액체 또는 반액체를 포함한다. 셀러리, 감자, 아스파라거스, 완두콩, 당근, 콩, 브로콜리, 사탕옥수수, 시금치, 강낭콩 등과 같은 냉동 야채와 돼지고기, 소고기 등의 냉동 육류도 본 발명에 포함된다.

- [182] 상기 식품은 저지방 스프레드, 마요네즈, 요구르트, 제과소, 마가린, 재구성 과일, 잼, 과일 제조물, 과일소, 리플, 과일 소스, 과일 스튜, 커피 표백제, 인스턴트 과일 디저트, 당과(예를 들어, 마쉬멜로우), 감자 베이스 식품(예를 들어, 칩, 프렌치 프라이 및 크로켓), 가공 식품(예를 들어, 캐서롤 및 스튜) 및 파인푸드(예를 들어, 셀러드 드레싱을 비롯한 드레싱; 케찹, 비네그레트 드레싱 및 수프) 등일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [183] 또한, 상기 식품은 음료, 생고기, 요리된 고기, 생 가금류 제품, 요리된 가금류 제품, 생 해산물 제품, 요리된 해산물 제품을 포함하는 생, 가공된 또는 저온살균된 식품[생 또는 요리된 고기, 가금류 및 해산물 제품], 소시지, 프랑크프루트, 바로 먹을 수 있는 음식, 파스타 소스, 저온살균된 수프, 매리네이드, 수증유 에멀전, 유증수 에멀전, 치즈 스프레드, 가공 치즈, 유제품 디저트, 향을 가한 밀크, 크림, 발효된 유제품, 치즈, 버터, 응축 밀크 제품, 치즈 스프레드, 저온살균된 액체 난, 아이스크림 믹스, 대두 제품, 저온살균된 액체 난, 당과 제품, 과일 제품, 및 지방 베이스 또는 물-함유 소를 채운 식품 등일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [184] 또한, 상기 식품은 빵, 케이크, 파인 베이커리 및 도우와 같은 제과 제품일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [185] 본 발명의 식품은 핵산 구조체가 상기 식품 전체에 혼입된 형태 및/또는 식용품의 표면에 적용된 형태일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [186] 본 발명의 식품은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환, 분말, 편상, 페이스트상, 시럽, 젤, 젤리, 바 등 다양한 형태로 제조될 수 있으며, 가공 식품뿐만 아니라 가공되지 않은 식품의 형태로도 제조될 수 있다.
- [187] 본 발명의 식품은 본 발명의 목적 범위 내에서 식품 제조 시 통상적으로 첨가되는 성분을 더 포함할 수 있으며, 예컨대, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제 등을 더 포함할 수 있다.
- [188] 상기 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [189] 상기 향미제로서 타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드A, 글리시르히진 등) 등의 천연 향미제 및 사카린, 아스파탐 등의 합성 향미제를 더 포함할 수도 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [190] 상기 외에 본 발명의 식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제,

펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.

[191] 그 밖에 본 발명의 식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 식품 조성물 100 중량부 당 0.01~0.20 중량부의 범위로 첨가될 수 있다.

[192] 그 외의 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에는, 원료의 전체중량에 대하여 0.0001 내지 30중량%, 바람직하게는 0.0001 내지 10 중량%, 더욱 바람직하게는 0.1 내지 5 중량%의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하로 조절할 수 있다.

[193] 본 발명의 식품은 안정제를 더 포함할 수 있다. 안정제로는 폴리펩티드, 예를 들어 젤라틴; 식물 추출물, 예를 들어 아라비아 검, 가티 검, 카라야 검, 트래거캔스 검; 종자 검, 예를 들어 로커스트빈 검, 구아 검, 타라검, 피실리움씨 검, 모과씨 검 또는 타마린드씨 검; 곤약 만난; 해초 추출물, 예를 들어 아가, 알가네이트, 카라게난 또는 푸르셀레란; 펙틴, 예를 들어 저급 메톡실 또는 고급 메톡실-타입 펙틴; 셀룰로오스 유도체, 예를 들어 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 미세결정 셀룰로오스, 메틸 및 메틸에틸 셀룰로오스, 또는 히드록실프로필 및 히드록시프로필메틸 셀룰로오스; 및 미생물 검, 예를 들어 덱스트란, 크산탄 또는 β -1,3-글루칸; 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[194] 또한, 본 발명의 식품은 당분, 예를 들어 수크로오스, 프럭토스, 덱스트로스, 락토스, 옥수수시럽, 당 알코올; 또는 다른 원료들, 예를 들어 색소와 향료 등을 함유할 수 있다.

[195]

[196] 또한, 본 발명은 본 발명의 핵산 구조체를 포함하는 화장료 조성물 또는 피부과용 제제를 제공한다.

[197] 화장료 조성물이나 국소 피부과용 제제에 본 발명의 핵산 구조체를 포함시킴으로써, 극명한 기후- 및 날씨-유도 온도 강하에 의해 세포 효소의 최적 온도가 손실됨으로써 세포 및 세포외 공간에서 세포 생리학에 변화가 야기되어 손상되는 추위로 인한 피부 구조 및 세포 손상을 예방 또는 개선시킬 수 있다.

[198] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 피부 구조 및 세포 손상은 추위, 바람 및/또는 UV 광에 의해 유도된 피부 손상, 피부 홍반 및 피부가 당기는 느낌 및 증가된 감각 감수성, 온도-민감성 피부, 환경 스트레스(온도 변화 및 UV 빛, 흡연, 스모그, 반응성 산소 종, 자유 라디칼로 인한)로 인한 피부, 입술 및 코와 구강 점막 그리고 피부 부속기관들의 부정적인 변화를 포함하나, 이에 제한되지

않는다.

- [199] 또한, 본 발명의 조성물, 화장료 조성물 및 국소 피부과용 제제는 당업자에게 공지된 안정제, 유화제, 계면활성제 및 다른 첨가제 중 적어도 하나를 더 포함할 수 있다.
- [200] 다른 첨가제로 향부패제, 항산화제, 변색 방지제, 향미생물제, 에멀전 안정화제 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [201]
- [202]

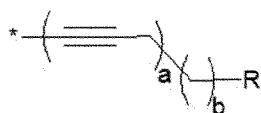
청구범위

- [청구항 1] 적어도 하나의 염기가 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기이거나;
적어도 하나의 염기가 세린, 아스파라긴 및 글루타민으로 이루어진
군에서 선택된 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이고, 적어도 하나의
염기가 알라닌, 이소루신, 루신 및 발린으로 이루어진 군에서 선택된
소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기인, 핵산 구조체.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기와 상기
소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기는 3 bp 이내에 위치한, 핵산
구조체.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서, 상기 트레오닌 유래 구조는 하기 화학식 1로 표시되는
것인 핵산 구조체:
[화학식 1]



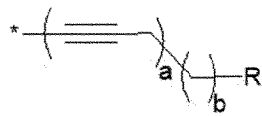
상기 화학식 1에서,
상기 R은 트레오닌의 잔기이고;
상기 a는 1 내지 5의 정수이고; 및
상기 b는 0 내지 5의 정수이다.

- [청구항 4] 청구항 1에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조는 하기 화학식 1로
표시되는 것인 핵산 구조체:
[화학식 1]



상기 화학식 1에서,
상기 R은 세린, 아스파라긴 또는 글루타민의 잔기이고;
상기 a는 1 내지 5의 정수이고; 및
상기 b는 0 내지 5의 정수이다.

- [청구항 5] 청구항 1에 있어서, 상기 소수성 아미노산 유래 구조는 하기 화학식 1로
표시되는 것인 핵산 구조체:
[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

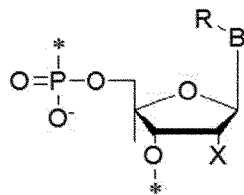
상기 R은 알라닌, 이소루신, 루신 또는 발린의 잔기이고;

상기 a는 1 내지 5의 정수이고; 및

상기 b는 0 내지 5의 정수이다.

[청구항 6] 청구항 1에 있어서, 상기 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드는 하기 화학식 2로 표시되는 것인 핵산 구조체:

[화학식 2]



상기 화학식 2에서,

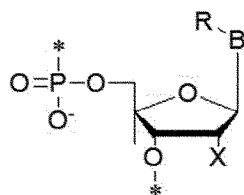
상기 X는 OH 또는 H이고;

상기 B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; 및

상기 R은 트레오닌의 잔기이다.

[청구항 7] 청구항 1에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드는 하기 화학식 2로 표시되는 것인 핵산 구조체:

[화학식 2]



상기 화학식 2에서,

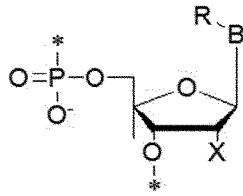
상기 X는 OH 또는 H이고;

상기 B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; 및

상기 R은 세린, 아스파라긴 또는 글루타민의 잔기이다.

[청구항 8] 청구항 1에 있어서, 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하는 뉴클레오티드는 하기 화학식 2로 표시되는 것인 핵산 구조체:

[화학식 2]



상기 화학식 2에서,

상기 X는 OH 또는 H이고;

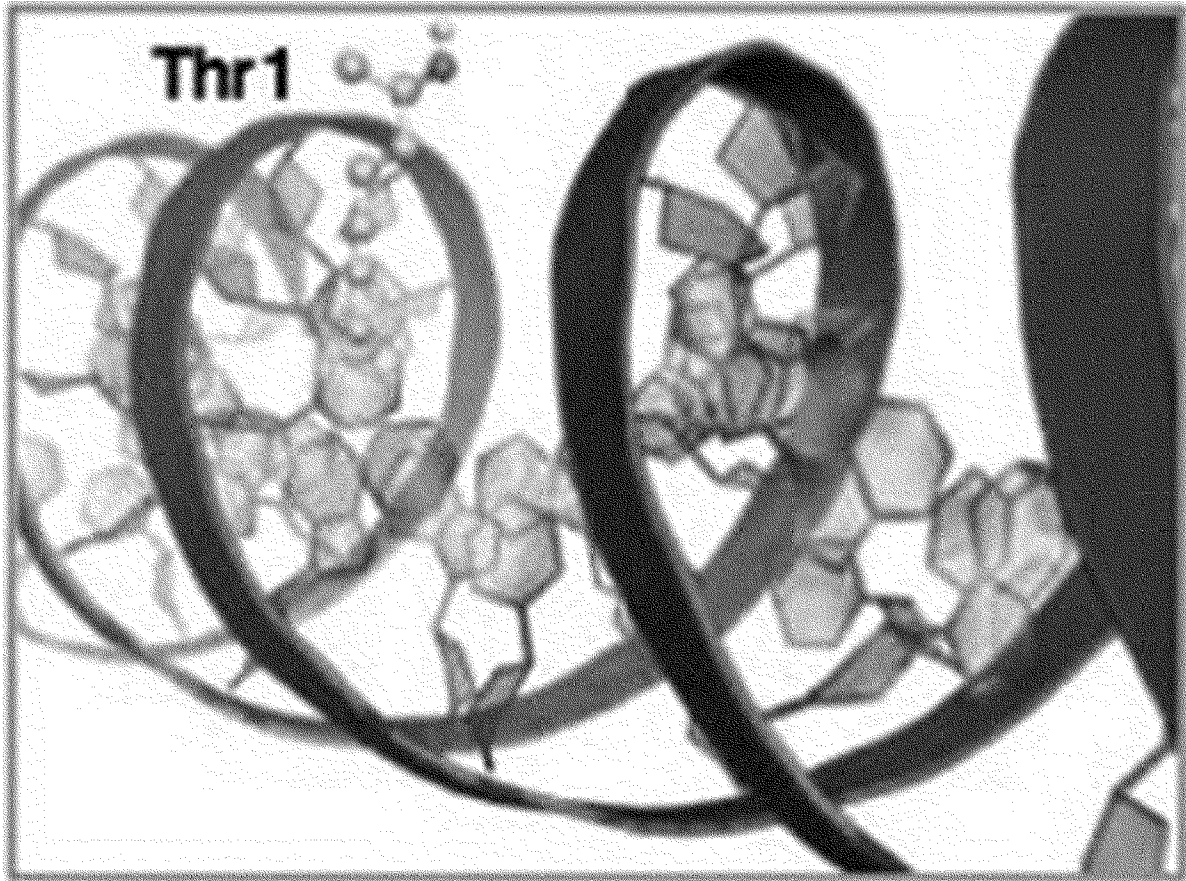
상기 B는 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신 또는 우라실이고; 및

상기 R은 알라닌, 이소루신, 루신 또는 발린의 잔기이다.

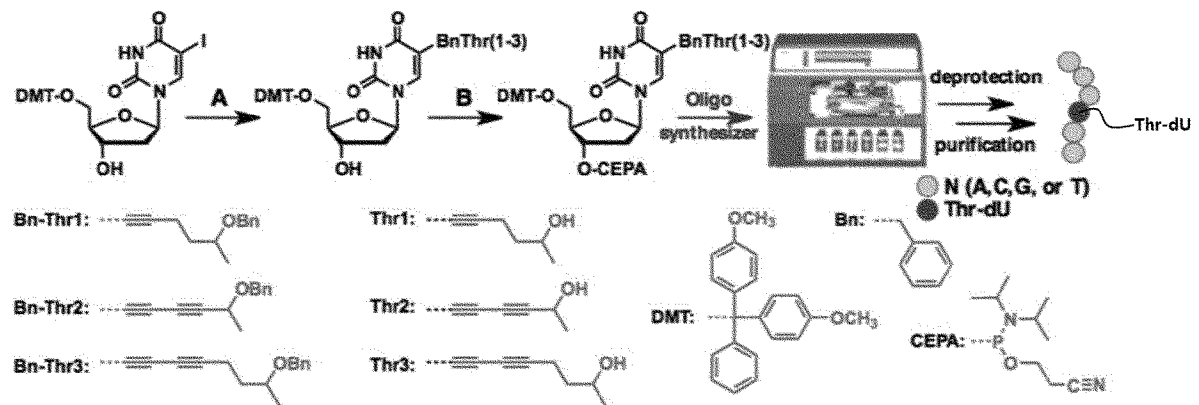
- [청구항 9] 청구항 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 상보적으로 결합된 적어도 2개의 핵산 단일 가닥을 포함하는 것인 핵산 구조체.
- [청구항 10] 청구항 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 상보적으로 결합된 적어도 2개의 핵산 단일 가닥을 포함하고, 상기 상보적으로 결합된 염기 중 적어도 하나의 염기가 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기이거나; 적어도 하나의 염기가 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기이고, 적어도 하나의 염기가 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기인 핵산 구조체.
- [청구항 11] 청구항 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 1개의 핵산 이중 가닥이 한 방향으로 배열된 4개의 제1 부분을 포함하도록 배열된 것인 핵산 구조체.
- [청구항 12] 청구항 11에 있어서, 상기 4개의 제1 부분은 그 종단면을 잇는 가상의 선이 사각형을 이루도록 배열된 것인 핵산 구조체.
- [청구항 13] 청구항 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 1개의 핵산 이중 가닥이 한 방향으로 배열된 6개의 제1 부분을 포함하도록 배열된 것인 핵산 구조체.
- [청구항 14] 청구항 13에 있어서, 상기 6개의 제1 부분은 그 종단면이 잇는 가상의 선이 육각형을 이루도록 배열된 것인 핵산 구조체.
- [청구항 15] 청구항 1에 있어서, 상기 핵산 구조체는 적어도 2개의 트레오닌 유래 구조를 갖는 염기를 포함하거나; 적어도 2개의 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기 및 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기를 포함하고, 상기 염기 간의 최소 간격은 0.34 nm인 핵산 구조체.
- [청구항 16] 적어도 하나의 뉴클레오타이드의 염기에 트레오닌 유래 구조, 극성 아미노산 유래 구조 또는 소수성 아미노산 유래 구조가 결합된 복수개의 뉴클레오타이드를 결합시키는 단계를 포함하는 핵산 구조체의 제조 방법.
- [청구항 17] 청구항 16에 있어서, 상기 극성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기와 상기 소수성 아미노산 유래 구조를 갖는 염기는 3 bp 이내에 위치한, 핵산 구조체의 제조 방법.
- [청구항 18] 청구항 1 내지 15의 핵산 구조체를 포함하는 얼음 결정의 형성, 성장 또는 재결정화를 억제하는 조성물.

- [청구항 19] 청구항 1 내지 15의 핵산 구조체를 포함하는 생물학적 시료 보존제.
- [청구항 20] 청구항 1 내지 15의 핵산 구조체를 포함하는 식품.

[도1]

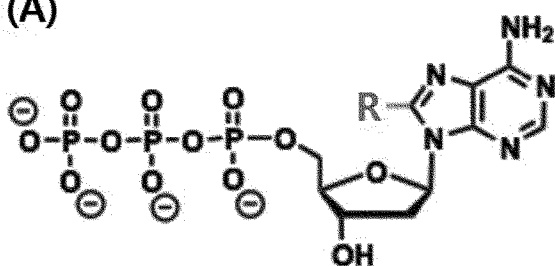


[도2]

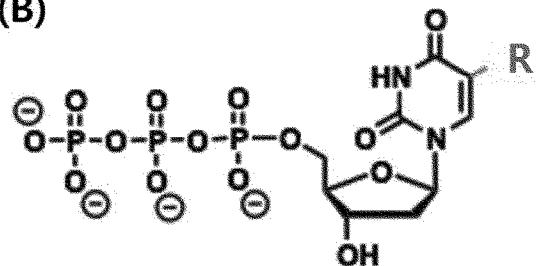


[도3]

(A)

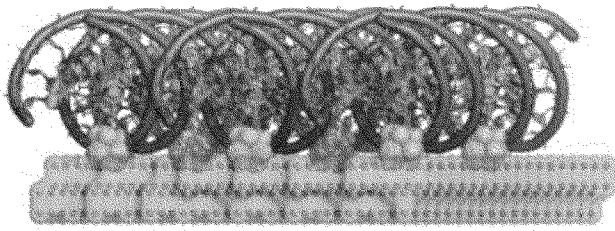


(B)

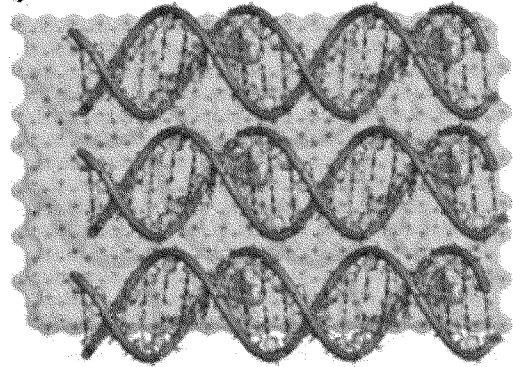


[도4]

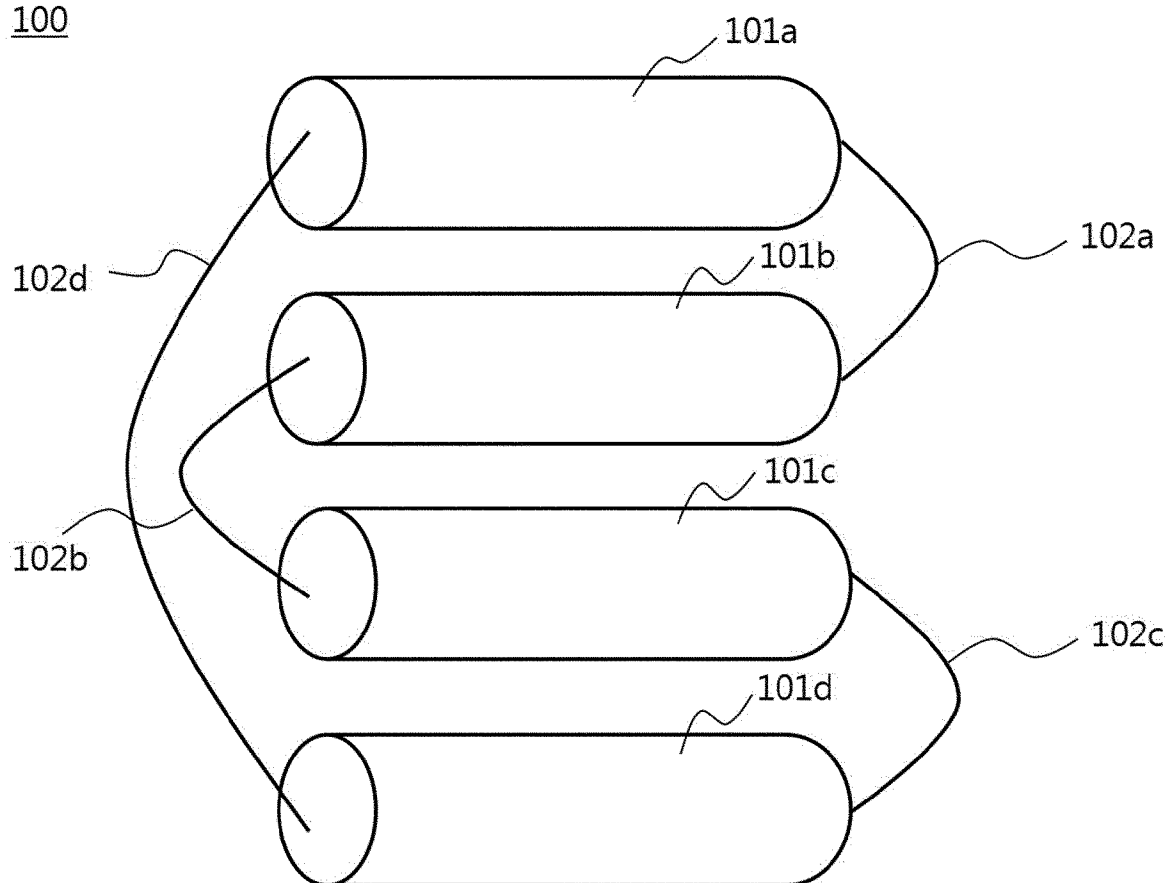
(A)



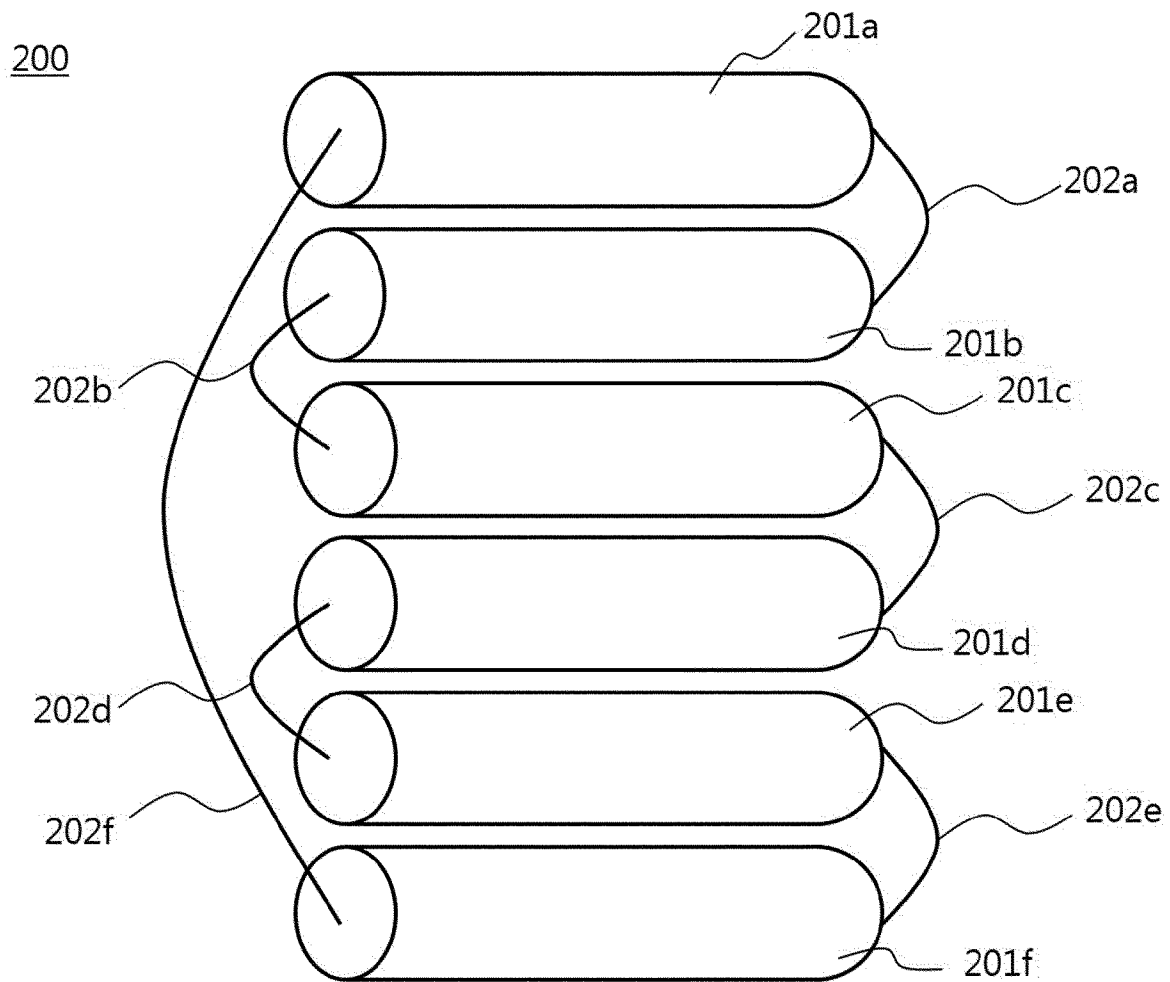
(B)



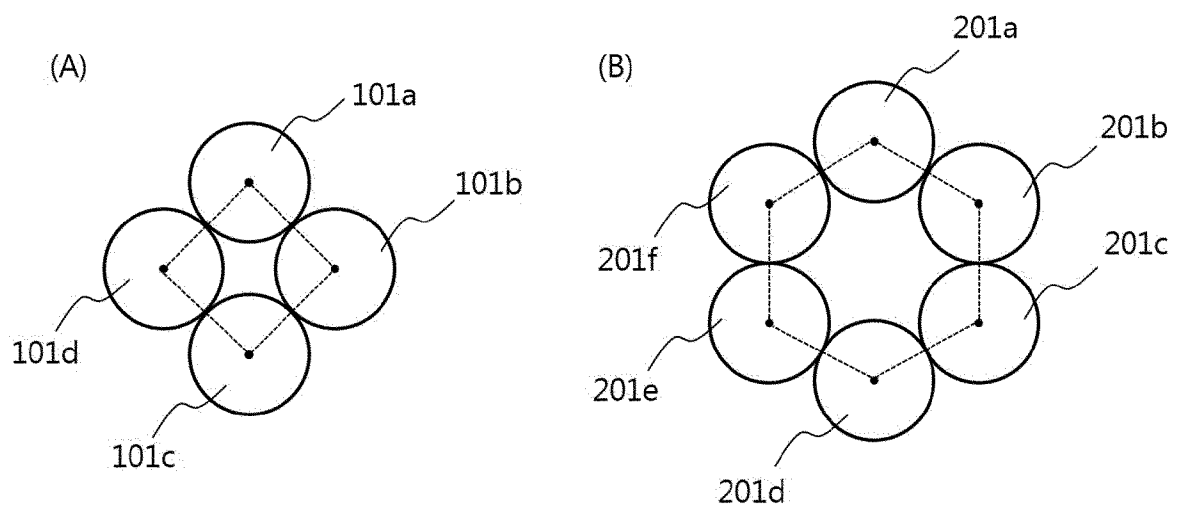
[도5]

100

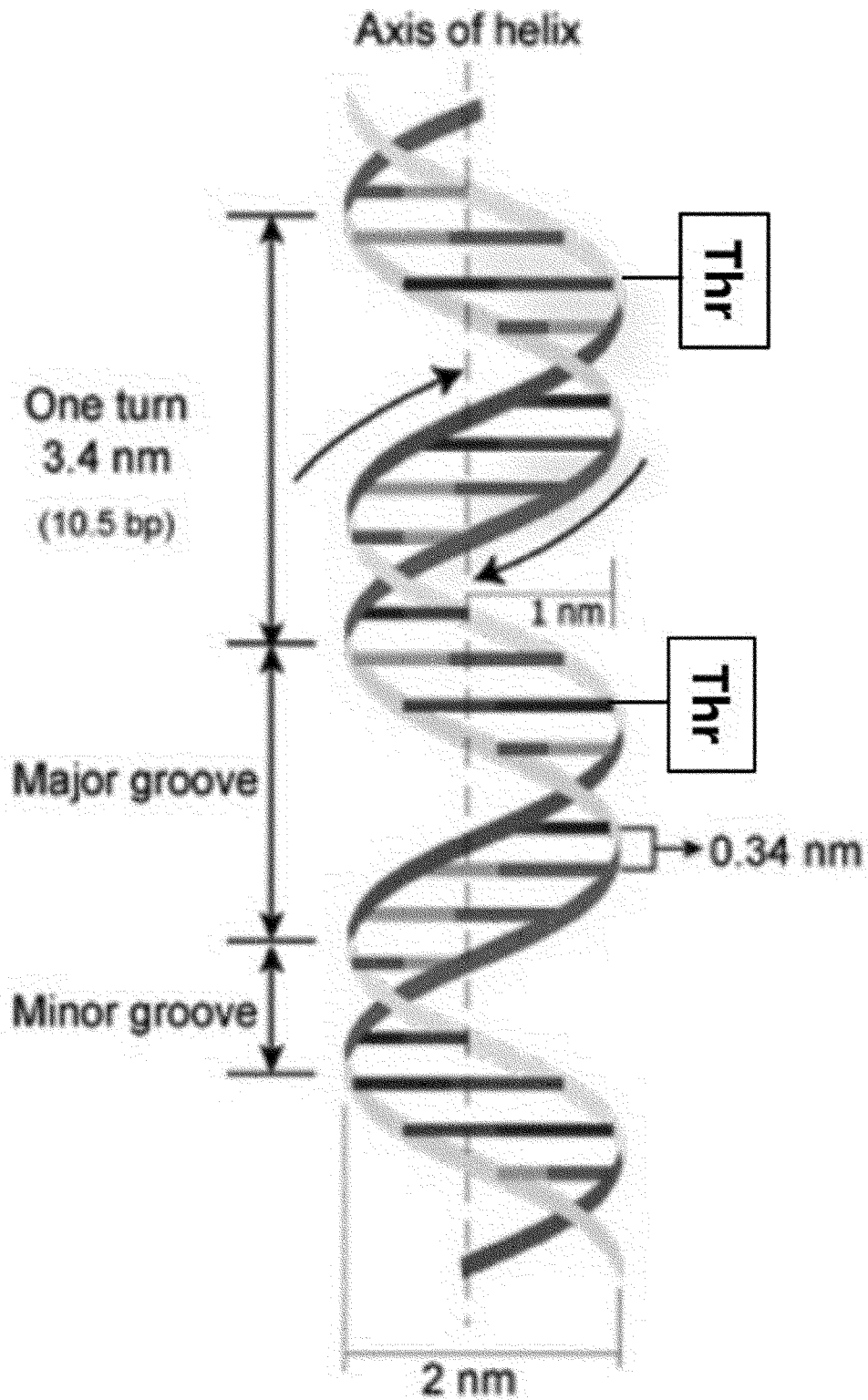
[도6]



[도7]



[도8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/003274**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER***C07H 21/02(2006.01)i, A01N 1/02(2006.01)i, A23L 3/3463(2006.01)i, C09K 3/18(2006.01)i, C09K 5/20(2006.01)i*

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07H 21/02; C07K 19/00; C07K 1/00; C07H 15/18; C07H 19/00; A01N 1/02; A23L 3/3463; C09K 3/18; C09K 5/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: nucleic acid structure, amino acid, residue, threonine, ice, determination

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5091519 A (CRUICKSHANK, Kenneth) 25 February 1992 See claims 1-4; figure 2.	1-17
A	US 2008-0221303 A1 (KATZHENDLER, Jehoshua et al.) 11 September 2008 See claims 1-2, 15 and 17-18.	1-17
A	KR 10-2015-0131045 A (CHIMEROCHEM LLC.) 24 November 2015 See claims 1-2 and 8.	1-17
A	DIEDERICHSEN, Ulf et al., "Phe and Asn Side Chains in DNA Double Strands", Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2000, vol. 10, pages 1417-1420 See the entire document.	1-17
A	WANG, Sen et al., "Arginine, a Key Residue for the Enhancing Ability of an Antifreeze Protein of the Beetle Dendroides Canadensis", Biochemistry, (Electronic publishing) 11 September 2009, vol. 48, pages 9696-9703 See the entire document.	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 DECEMBER 2017 (27.12.2017)

Date of mailing of the international search report

27 DECEMBER 2017 (27.12.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

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

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/003274

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

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

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

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

3. ☒ Claims Nos.: **18-20**
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

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

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/003274

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ETHEVE, Loic et al., "Protein-DNA Interfaces: a Molecular Dynamics Analysis of Time-dependent Recognition Processes for Three Transcription Factors", Nucleic Acids Research, (Electronic publishing) 21 September 2016, vol. 44, no. 20, pages 9990-10002 See the entire document.	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/003274

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 5091519 A	25/02/1992	NONE	
US 2008-0221303 A1	11/09/2008	EP 1725250 A2	29/11/2006
		WO 2005-076744 A2	25/08/2005
		WO 2005-076744 A3	08/09/2006
KR 10-2015-0131045 A	24/11/2015	AU 2014-241483 A1	03/09/2015
		CA 2904011 A1	02/10/2014
		EP 2970362 A1	20/01/2016
		IL 240715 A	29/10/2015
		JP 2016-519055 A	30/06/2016
		US 2016-0016989 A1	21/01/2016
		WO 2014-158954 A1	02/10/2014

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C07H 21/02(2006.01)i, A01N 1/02(2006.01)i, A23L 3/3463(2006.01)i, C09K 3/18(2006.01)i, C09K 5/20(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C07H 21/02; C07K 19/00; C07K 1/00; C07H 15/18; C07H 19/00; A01N 1/02; A23L 3/3463; C09K 3/18; C09K 5/20

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 핵산 구조체, 아미노산, 잔기, 트레오닌, 얼음, 결정

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	US 5091519 A (CRUICKSHANK, KENNETH) 1992.02.25 청구항 1-4; 도면 2 참조.	1-17
A	US 2008-0221303 A1 (KATZENDLER, JEHOHUA 등) 2008.09.11 청구항 1-2, 15 및 17-18 참조.	1-17
A	KR 10-2015-0131045 A (키메로켄 엘엘씨) 2015.11.24 청구항 1-2 및 8 참조.	1-17
A	DIEDERICHSEN, ULF 등, 'Phe and Asn side chains in DNA double strands', Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2000, 제10권, 1417-1420 페이지 전체 문헌 참조.	1-17
A	WANG, SEN 등, 'Arginine, a key residue for the enhancing ability of an antifreeze protein of the beetle Dendroides canadensis', Biochemistry, (전자공개)2009.09.11, 제48권, 9696-9703 페이지 전체 문헌 참조.	1-17

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

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

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

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

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

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

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

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 12월 27일 (27.12.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 12월 27일 (27.12.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



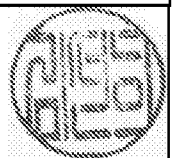
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

김선희

전화번호 +82-42-481-5405



C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	ETHEVE, LOIC 등, 'Protein-DNA interfaces: a molecular dynamics analysis of time-dependent recognition processes for three transcription factors' , Nucleic Acids Research, (전자공개)2016.09.21, 제44권, 제20호, 9990-10002 페이지 전체 문헌 참조.	1-17

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

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

1. ☐ 청구항:
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☒ 청구항: 18-20
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 5091519 A	1992/02/25	없음	
US 2008-0221303 A1	2008/09/11	EP 1725250 A2 WO 2005-076744 A2 WO 2005-076744 A3	2006/11/29 2005/08/25 2006/09/08
KR 10-2015-0131045 A	2015/11/24	AU 2014-241483 A1 CA 2904011 A1 EP 2970362 A1 IL 240715 A JP 2016-519055 A US 2016-0016989 A1 WO 2014-158954 A1	2015/09/03 2014/10/02 2016/01/20 2015/10/29 2016/06/30 2016/01/21 2014/10/02