



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0021733
(43) 공개일자 2019년03월06일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/115 (2010.01) G01N 33/543 (2006.01)
G01N 33/569 (2017.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C12N 15/115 (2013.01)
G01N 33/543 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-0106865
(22) 출원일자 2017년08월23일
심사청구일자 2017년08월23일</p> | <p>(71) 출원인
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50</p> <p>(72) 발명자
장재성
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
바르드와즈 조티
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50</p> <p>(74) 대리인
특허법인 무한</p> |
|--|---|

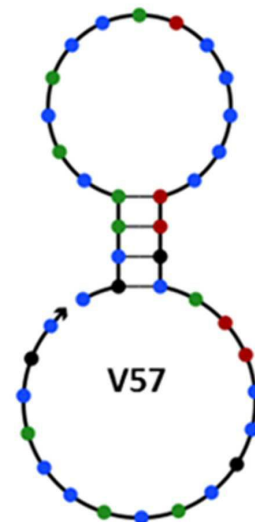
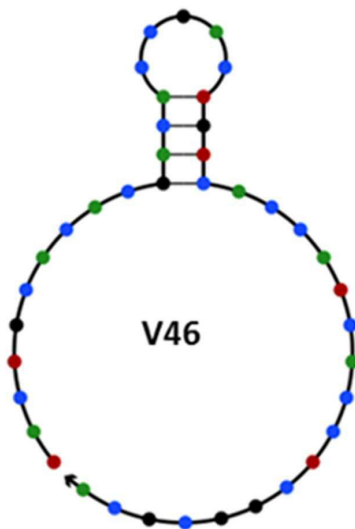
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머, 이를 포함하는 약학 조성물 및 키트

(57) 요약

본 발명은, 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머, 이를 포함하는 인플루엔자 바이러스를 예방하거나 치료하기 위한 약학 조성물, 인플루엔자 바이러스를 검출하거나 진단하기 위한 키트에 관한 것이다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

G01N 33/56983 (2013.01)

C12N 2310/16 (2013.01)

G01N 2333/11 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015R1A2A2A01006446

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 개인연구지원

연구과제명 공기필터 기반의 공기 중 바이러스의 신속 감지 센서 시스템 개발에 대한 연구

기 여 율 1/2

주관기관 울산과학기술원

연구기간 2016.05.01 ~ 2017.04.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 016생화학

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 울산과학기술원

연구사업명 생화학 및 화학재난 감시

연구과제명 생화학 및 화학재난 감시 긴급대응 기술 및 장비 개발

기 여 율 1/2

주관기관 울산과학기술원

연구기간 2016.01.01 ~ 2016.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1 및 서열번호 2로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열을 가지는, 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 H1N1 바이러스인 것인, 앵타머.

청구항 3

서열번호 1 및 서열번호 2로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열을 가지는 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머를 포함하는, 인플루엔자 바이러스를 예방하거나 치료하기 위한 약학 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 약학 조성물은, 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 더 포함하는, 약학 조성물.

청구항 5

서열번호 1 및 서열번호 2로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열을 가지는, 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스를 검출하거나 진단하기 위한 키트.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 앵타머는, 형광물질, 발색효소, 양자점, 방사능 동위원소, 금 나노입자, 전기화학적 작용기 (electrochemical functional group) 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 검출체에 부착된 것인, 키트.

청구항 7

제5항에 있어서,

둘 이상의 상기 앵타머가 고정화되어 있는 기판을 포함하는 것인, 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머 및 이를 포함하는 약학 조성물 및 키트에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 앵타머(Aptamer)는 그 자체로 안정된 삼차구조를 가지면서 표적분자에 높은 친화력과 특이성으로 결합할 수 있는 특징을 가진 단일가닥 핵산(DNA, RNA 또는 변형핵산)으로 'fitting'의 의미를 가지는 라틴어 'aptus'에서 그 어원이 유래했다. 앵타머는 1990년에 Colorado 대학의 Larry Gold 연구팀에 의해 SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment)라는 앵타머 발굴 기술이 처음 개발된 이후, 저분자 유기물, 펩타이드, 막 단백질까지 다양한 표적분자에 결합할 수 있는 많은 앵타머들이 계속해서 발굴되어 왔다.

[0003] 최근에는, 대상 물질에 대한 높은 특이성과 친화력을 갖는 앵타머를 이용하여 질병 진단이나 바이오센서 기술에 활용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 앵타머는 말단에 다양한 화학 작용기를 부여할 수 있고, 시험관 조건에서 선별되는 과정을 통해 특이성과 친화력을 극대화할 수 있다. 또한, 화학적 합성이 용이하여 고순도로 저비용으로 대량 생산이 가능하며, 열에 안정하여 실온에서 장기간 보존이 가능하다. 게다가, 앵타머는 선별과정에서 표적과 유사한 구조이거나 실제 샘플에 많이 존재하는 다양한 물질들에 대한 역선별법(counter selection)을 수행함으로써 표적물질에 대한 특이성을 증가시킬 수 있다.

[0004] 인플루엔자바이러스는 독감을 일으키는 원인 바이러스로서, 인플루엔자 바이러스 A형에 대한 내성이 광범위하게 퍼져 있어 인플루엔자 바이러스의 유행에 대한 면역학적 대응 방법으로 이에 대한 백신을 만들거나 항바이러스제제를 개발하는 연구가 전 세계적으로 활발히 진행 중이나 아직까지 바이러스의 유행 및 인체 감염에 대한 대비책은 충분히 마련되어 있지 못한 실정이다.

[0005] 현재 사용되는 인플루엔자 바이러스 백신은 주로 바이러스 표면에 발현되는 표면 당단백질인 헤마글루티닌(Hemagglutinin, HA)과 뉴라미니데이즈(Neuraminidase, NA) 단백질에 대한 항체 형성을 유도하고 있으나, 인플루엔자 바이러스에서 HA 및 NA의 아미노산 사슬에서 높은 가능성의 점 돌연변이로 인하여, 매년 새로운 전세계적 유행성 바이러스성 스트레인(pandemic viral strain)을 생산하고 있고, 새로운 돌연변이된 바이러스성 스트레인은, 기존의 항체가 효과적으로 결합하지 못하여, 다양한 종류의 돌연변이된 바이러스에 대해 효과적으로 대처하는 백신을 개발하는데 많은 한계가 있다.

[0006] 따라서, 인플루엔자바이러스에 대한 넓은 범위의 타겟에 결합할 수 있는 항체에 대한 대안으로 앵타머에 대한 개발이 이루어지고 있고, 현재 개발된 인플루엔자 바이러스 H1N1에 대한 앵타머들은 모든 H1N1 스트레인에 대해 특이성을 가지고 있지 못하고 있다. 이로 인해 이 바이러스의 진단센서 개발에 어려움이 있어 왔다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은, 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머, 이를 포함하는 인플루엔자 바이러스를 예방하거나 치료하기 위한 약학 조성물, 인플루엔자 바이러스를 검출하거나 진단하기 위한 키트를 제공하는 것이다.

[0008] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 해당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 일 실시예는, 서열번호 1 및 서열번호 2로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열을 가지는, 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머를 제공한다.

[0010] 일측에 따르면, 상기 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 H1N1 바이러스일 수 있다.

[0011] 본 발명의 다른 일 실시예는, 서열번호 1 및 서열번호 2로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열을 가지는 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머를 포함하는, 인플루엔자 바이러스를 예방하거나 치료하기 위한 약학 조성물을 제공한다.

- [0012] 일측에 따르면, 상기 약학 조성물은, 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 더 포함할 수 있다.
- [0013] 본 발명의 다른 일 실시예는, 서열번호 1 및 서열번호 2로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열을 가지는, 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스를 검출하거나 진단하기 위한 키트를 제공한다.
- [0014] 일측에 따르면, 상기 앵타머는, 형광물질, 발색효소, 양자점, 방사능 동위원소, 금 나노입자, 전기화학적 작용기(electrochemical functional group) 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 검출체에 부착된 것일 수 있다.
- [0015] 일측에 따르면, 둘 이상의 상기 앵타머가 고정화되어 있는 기판을 포함하는 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0016] 본 발명의 인플루엔자 바이러스, 예를 들어, H1N1 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머, 이를 포함하는 약학 조성물 및 키트를 이용하여, 인플루엔자 바이러스에 대한 최적의 앵타머를 제공함으로써, 매년 새로 발생하는 돌연변이 인플루엔자 바이러스에 대한 검출 또는 진단능력 및 면역원성을 향상시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1은, 본 발명의 일 실시예에 따른 앵타머의 생체외 선별의 도식도를 나타낸 것이다.
- 도 2는, 본 발명의 일 실시예에 따른 효소 결합된 앵타머 결합 검정(Enzyme linked aptamer binding assay, ELASA)를 나타낸 것이다.
- 도 3은, 본 발명의 일 실시예에 따른 qPCR 분석에 의해 고-결합 앵타머의 분류(Sorting of high-binding aptamers by qPCR analysis)를 나타낸 것이다.
- 도 4는, 본 발명의 일 실시예에 따른 qPCR 분석으로부터 선택된 11개의 고-결합 앵타머에 대한 전기 영동상 변화 분석(Electrophoretic mobility shift assay, EMSA)을 나타낸 것이다.
- 도 5는, 본 발명의 일 실시예에 따른 qPCR 분석에 의해 선택된 앵타머의 결합-친화력(K_d)을 나타낸 것이다.
- 도 6은, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 및 V57 앵타머의 이차적인 구조를 나타낸 것이다.
- 도 7은, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 및 V57 앵타머의 결합 친화력에서의 qPCR 분석을 나타낸 것이다.
- 도 8은, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 및 V57 앵타머의 결합 친화력에서의 형광 검정을 나타낸 것이다.
- 도 9는, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 및 V57 앵타머의 결합 친화력에서의 전기화학적 특징을 나타낸 것이다.
- 도 10은, 본 발명의 일 실시예에 따른 미나-HA와 V46에 대한 농도 의존적인 EMSA를 나타낸 것이다.
- 도 11은, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 앵타머에 대한 온전한 세포 바이러스의 선택성 분석을 나타낸 것이다.
- 도 12는, 본 발명의 일 실시예에 따른 EMSA에 의한 V46 앵타머의 선택성 분석을 나타낸 것이다.
- 도 13은, 본 발명의 일 실시예에 따른 형광 이미지에 의해 나타낸 V46의 농도에 따른 형광 강도를 나타낸 것이다.
- 도 14은, 본 발명의 일 실시예에 따른 형광 이미지에 의해 나타낸 V46의 농도에 따른 결합 친화력(K_d)을 나타낸 것이다.
- 도 15는, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46의 농도에 따른 형광 이미지를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 각 도면에 제시된 동일한 참조 부호는 동일한 부재를 나타낸다. 아래 설명하는 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있다. 아래 설명하는 실시예들은 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 이들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이

해되어야 한다.

[0019] 실시예에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 실시예를 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 구성을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 구성들 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다. 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0020] 본 발명의 일 실시예는, 서열번호 1 내지 서열번호 44로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열, 바람직하게는 서열번호 1 및 서열번호 2 를 가지는, 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머를 제공한다:

표 1

서열 번호	앵타머 명칭	염기서열(5'-3')
1	V46	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATTACTGCACACGACACCGACTGTCACCATCACCTCGGCGCATTGACTAGTACATGACCACTTGA
2	V57	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATCGCAACACACCATCCCCCTTGCAATCCGCACACCACGCTTGACTAGTACATGACCACTTGA
3	V1	AGGGAAGAGAAGGACATATGATGGACCCACGACATCAGAGGCACACCGCACTTGCAGCGGATTGACTAGTACATGACCACTTGA
4	V2	CAAGTGGTCATGTACTAGTCAACGCGACAATGCCCTAGCGCACCAGCAGCCCCCGTCCACCATCATATGTCCTTCTCTTCCCT
5	V3	CAAGTGGTCATGTACTAGTCAACACCCAGGCGGTGTACAGAGCGTGGTCATGGTGGTCATGTATCATATGTCCTTCTCTTCCCT
6	V4	CAAGTGGTCATGTACTAGTCAAAATCGAGGTGGGTGGGTGGGCGGCATGCGGTGTGGTAAGGCATCATATGTCCTTCTCTTCCCT
7	V5	CAAGTGGTCATGTACTAGTCAACGCGCGCACCCACCCACACCGTGTCCCGTCCCTCGTCCGCATCATATGTCCTTCTCTTCCCT
8	V6	CAAGTGGTCATGTACTAGTCAACGTGAGGCAGGGCGGCAATGGGTAGGGGTACGTACGCGTGATCATATGTCCTTCTCTTCCCT
9	V8	AGGGAAGAGAAGGACATATGATGCCACGTGCGGCACACTATCGGATTCGATCCCGGTTTGTGTTGACTAGTACATGACCACTTGA
10	V9	CAAGTGGTCATGTACTAGTCAAGACGTGGTGACGGTGGGTGGAACGTGCCGTGTGCGTGGTATCATATGTCCTTCTCTTCCCT
11	V10	CAAGTGGTCATGTACTAGTCAAGAAGGGCACCCACGATTAGGAATGGCATGTCGTGCGTGATATCATATGTCCTTCTCTTCCCT
12	V12	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAACGCGCACGGCAGGGTTGCGTGCCGCAGGTGCGGGGGCGTATCATATGTCCTTCTCTTCCC
13	V13	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAAGGGGAGGGAGGGCGGGCCGGTGTGCGGAAAGCTGAACGGGATCATATGTCCTTCTCTTCCC
14	V16	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAATCGTTGGGCTGGGCTGCGATGGTTGGTGAGACTCGGCGTGATCATATGTCCTTCTCTTCCC
15	V18	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAAAATCGAGGTGGGTGGGTGGGCGGCATGCGGTGTGGTAAGGCATCATATGTCCTTCTCTTCCC
16	V19	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAATGTCGATATCGCTCGTGCCTGCGCTGTTGCGTGGAGATATCATATGTCCTTCTCTTCCC
17	V21	AGGGAAGAGAAGGACATATGATGATGCTGGCTGCTGCCCATGCGTGAGGCCGATGCGCGTGGACTAGTACTGGACCCCTTGAACC
18	V23	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAATCACCGACACCACCGCCGTTACCGCACACGCTCGCATGTATCATATGTCCTTCTCTTCCC
19	V24	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAACGTGCAGGACGGTTGTGGAGGGGATGTGTGGTCATGCGGATCATATGTCCTTCTCTTCCC
20	V26	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATGGTGACCACCACCTGCCTGACGCTACCACCGACCGTGCATTGACTAGTACATGACCACTTGA
21	V29	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAACACCCAGGCGGTGTACAGAGCGTGGTCATGGTGGTCATGTATCATATGTCCTTCTCTTCCC
22	V30	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATGCCACGTACGCCTCATCGCCACCCCTCACTGCACCTCGCTTGACTAGTACATGACCACTTG

23	V31	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATGGACACAGAGGGCAAGATGTGTGTAGGATGGGTAGGGTCATTGACTAGTACATGACCACTTGA
24	V32	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAACGCGAGAGCAGCTGGGGGGAGGGCGTGGCAGGTGGTGTGGATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
25	V33	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATCACGGACGACGGCACAGTGGAGGGAGGCACACCGCGGTGTTGACTAGTACATGACCACTTGA
26	V34	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAACACGCGCGGAACACCTCACGTCCTTCTCGCACCACCACATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
27	V35	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAATGGCCAAAGCGATCAGGACACCATAAGGGACAGGTGGATGATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
28	V37	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAACGCACACTCCCACCTCACAACGACACCACAACCCCGTACGCCACATCGGCCATCGCGATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
29	V38	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAAGGACACGTGCGGACTGTGGTCATGTGACGCATGGTGCAGGATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
30	V39	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATACAACGGGTGCCGTAAGGAAAGGGGTGGGCGAATGCGCTGTTGACTAGTACATGACCACTTGA
31	V40	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAACGCGAGAGCAGCTGGGGGGAGGGCGTGGCAGGTGGTGTGGATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
32	V41	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATGCCCTACTGTACGGCACCATTCTACGACCACACGCTGCGTTGACTAGTACATGACCACTTGA
33	V42	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAACAGATGTGTGGTCATGTCGTTCTGAGTGGAGCGGCACGCCATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
34	V44	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAATACGCCGTCACATCGCGAGCTGCTACTGGACCGGTGCGATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
35	V48	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATGTGGTCGGCATGATACGGCAGGAGGGCGTTACGCGGATTGACTAGTACATGACCACTTGAA
36	V49	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATGCACGAGGGAACGGCGGCATGCGAGGGTGCACAGGACGGATTGACTAGTACATGACCACTTGA
37	V50	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATGGACACAGAGGGCAAGATGTGTGTAGGATGGGTAGGGTCATTGACTAGTACATGACCACTTGA
38	V51	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAACGTGAGCGCGGGACGGTATGGCAGGGTAGGCGTGGTGTGATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
39	V52	AGGGAAGAGAAGGACATATGATAGCACAGAGTTGGAACATGACCCCGACCCCGCGTTGATTGACTAGTACATGACCACTTGA
40	V53	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATGGACACAGAGGGCAAGATGTGTGTAGGATGGGTAGGGTCATTGACTAGTACATGACCACTTGA
41	V54	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATGTTTGCCGATAGTCTACGCATTGTATGTCGACACCAATATTGACTAGTACATGACCACTTGA
42	V55	TAGGGAAGAGAAGGACATATGATACGCCACATCGCACTCCCATGCATGACCACGCTACGTCATTGACTAGTACATGACCACTTG
43	V58	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAAGGGTGCCAGGTCCGCAAGAGCCACGTGGTAATGGTCAGTATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA
44	V59	TCAAGTGGTCATGTACTAGTCAATCGTAGGACAGCATCGACGGTGGGGGGTTCGTGAGACGGGATCATATGTCCTTCTCTTCCCTA

[0022] 가장 바람직하게는, 앵타머는, 서열번호 1 및 2로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기 서열을 가지는 것으로 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 것이다.

[0023] 앵타머는 인플루엔자 바이러스의 정제된 재조합 혈구응집소의 축(purified recombinant hemagglutinin stem) (미니-HA) 단백질에 대한 특이성을 가지는 것으로, 상기 미니-HA 단백질이 인플루엔자 바이러스의 HA 단백질의 보존된 도메인을 가지도록 설계되었기 때문에, 상기 앵타머는 인플루엔자 H1N1 바이러스의 새로이 돌연변이된 형태에 특이적으로 결합할 수 있다. 이에 따라 본 발명의 앵타머는 유행성 인플루엔자 스트레인에서 발생하는 다양한 돌연변이(예를 들어, 점 돌연변이)가 발생하여도 이를 포함하여 포괄적으로 인플루엔자 바이러스 H1N1에 대한 높은 친화력 및 특이성을 가진다.

[0024] 서열번호 1 내지 서열번호 44로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열, 바람직하게는 서열번호 1 및 서열번호 2 는, 이들 염기서열을 구성하는 개별 뉴클레오타이드 중 어느 하나 이상이 화학적 또는 물리적으로 변형(modification)된 형태를 포함할 수도 있다.

[0025] 앵타머는, 인플루엔자 바이러스에 대한 결합성, 안정성 등을 높이기 위해, 각 뉴클레오타이드의 당 잔기(예, 리보오스나 디옥시리보스)가 결합될 수도 있다. 당잔기에서 결합되는 부위로서는, 예를 들어 당잔기의 2'부위, 3'부

위 및/또는 4' 부위의 산소원자를 다른 원자로 치환한 것 등을 들 수 있다. 치환의 종류로서는, 예를 들어 플루오로화, 0-알킬화(예, 0-메틸화, 0-에틸화), 0-알릴화, S-알킬화(예, S-메틸화, S-에틸화), S-알릴화, 아미노화(예, -NH)를 들 수 있다. 이러한 당잔기의 변형은, 자체 공지의 방법에 의해 행할 수 있다(예를 들어 Sproat et al., (1991) Nucle. Acid. Res. 19, 733-738; Cotton et al., (1991) Nucl. Acid. Res. 19, 2629-2635; Hobbs et al., (1973) Biochemistry 12, 5138-5145 참조).

[0026] 앵타머는 또한 인플루엔자 바이러스에 대한 결합성 등을 높이기 위해, 핵산염기(예, 푸린, 피리미딘)가 변형(예, 화학적 치환)될 수도 있다. 이러한 변형으로서, 예를 들어 5부위 피리미딘 변형, 6부위 및/또는 8부위 푸린 변형, 환외(環外) 아민에서의 변형, 4-티오우리딘으로의 치환, 5-브로모 또는 5-요오드-우리실으로의 치환을 들 수 있다. 또한 뉴클레아제 및 가수분해에 대하여 내성을 갖도록, 앵타머에 포함되는 인산기가 변형된 형태일 수도 있다. 예를 들어 P(O)O기가, P(O)S(티오에이트), P(S)S(디티오에이트), P(O)NR₂(아미데이트), P(O)R, R(O)OR', CO 또는 CH₂(포름아세탈) 또는 3'-아민(-NH-CH₂-CH₂-)으로 치환될 수도 있다(여기서, 각각의 R 또는 R'은 독립적으로, H이거나, 또는 치환되어 있거나, 또는 치환되어 있지 않은 알킬(예, 메틸, 에틸)이다). 연결기로서는, -O-, -N- 또는 -S-가 예시되고, 이들의 연결기를 통하여 인접하는 뉴클레오티드에 결합할 수 있다.

[0027] 또한 상기 변형은 또한, 캡핑과 같은 3' 및 5'의 변형을 포함할 수도 있다. 변형은 또한, 폴리에틸렌글리콜, 아미노산, 펩티드, inverted dT, 핵산, 뉴클레오시드, 미리스토일(Myristoyl), 리소콜릭-올레일(Lithocolic-oleyl), 도코사닐(Docosanyl), 라우로일(Lauroyl), 스테아로일(Stearoyl), 팔미토일(Palmitoyl), 올레오일(Oleoyl), 리놀레오일(Linoleoyl), 그 외 지질, 스테로이드, 콜레스테롤, 카페인, 비타민, 색소, 형광물질, 항암제, 독소, 효소, 방사성 물질, 비오틴 등을 말단에 부가함으로써 행해질 수 있다. 이러한 변형에 대해서는, 예를 들어 미국특허 제5,660,985호, 미국특허 제5,756,703호를 참조한다.

[0028] 또한, 앵타머는 서열번호 1 내지 서열번호 44로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열들의 변이체를 포함할 수 있다. 변이체는 상기 서열번호 1 내지 서열번호 44로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열과 일부 구체적인 서열에서 상이할 수 있지만, 보존적 염기 서열과 같은 상기 염기서열들과 유사한 기능적 특성을 갖는 염기 서열로서, 상기 서열번호 1 내지 44의 염기서열과 70% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성(homology)을 가지는 염기서열을 가질 수 있다.

[0029] 일측에 따르면, 상기 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 H1N1 바이러스일 수 있다. 상기 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 H1N1 바이러스인 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.

[0030] 본 발명의 다른 일 실시예는, 서열번호 1 내지 서열번호 44로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열, 바람직하게는 서열번호 1 및 서열번호 2 를 가지는 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머를 포함하는, 인플루엔자 바이러스를 예방하거나 치료하기 위한 약학 조성물을 제공한다.

[0031] 본 발명의 앵타머가 인플루엔자 바이러스 감염, 특히, 인플루엔자 H1N1 바이러스에 의한 감염을 앓는 개체를 치료하기 위해 투여될 수 있다. 본 발명의 앵타머는 또한 인플루엔자 유행 발생 시 또는 유행이 위협되는 경우, 예방적 조치로 개체에게 투여될 수 있다. 앵타머는 단일 투여량으로 또는 반복적인 투여로 투여될 수 있고, 선택적으로 서방형(slow release form)으로 투여될 수 있다. 투여는 앵타머가 치료 대상 개체의 신체 내의 작용 부위에 도달할 수 있게 하는 수단에 의해, 예를 들면, 정맥내로, 근육내로, 피내로(intradermally), 경구로 또는 비강으로 이루어질 수 있다. 개체의 개별적인 니즈에 따라, 개체의 연령, 체중, 전반적인 건강, 및 개체의 증상의 속성 및 정도 및 적용되는 치료 빈도와 같은 인자들을 고려하여, 정확한 투여 방법, 조성 및 특정한 투여량이 결정되고 적용시 조정될 것이다.

[0032] 일측에 따르면, 상기 약학 조성물은, 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 더 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 담체는, 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않으며 투여된 화합물의 성질 및 생물활성을 파괴하지 않는 담체 또는 희석제를 의미한다. 활탁제, 봉해제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수도 있으며 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 허용가능한 담체와 혼합하여 다양하게 제조할 수도 있다. 예를 들어 경구투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릴시르, 세스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 이외의 본 발명 약학 조성물은 각종 제형의 형태로 통용되는 기법에 따라 제조할 수 있다. 본 발명의 약학 조

성물은 경구적으로 또는 정맥내 피하, 비강내 또는 복강내 등에 비경구적으로 사람과 동물에게 투여된다. 비경구적 투여는 피하주사, 근육내 주사 및 정맥주사와 같은 주사법 및 점적법을 포함한다. 또한, 마이크로캡슐 또는 양이온성 지질과 같은 미립자가 본 발명의 이러한 일면의 약제학적으로 허용가능한 담체로서 사용될 수 있다.

[0033] 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머를 함유하는 검출 또는 진단 센서 시스템의 하나의 예로서, 키트(kit)의 형태로 제공될 수 있다. 본 발명의 다른 일 실시예는, 서열번호 1 내지 서열번호 44로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 염기서열, 바람직하게는 서열번호 1 및 서열번호 2 를 가지는, 인플루엔자 바이러스에 특이적으로 결합하는 앵타머를 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스를 검출하거나 진단하기 위한 키트를 제공한다. 인플루엔자 바이러스 검출용 또는 키트는 병, 통(tub), 작은 봉지(sachet), 봉투(envelope), 튜브, 앰플(ampoule) 등과 같은 형태를 취할 수 있으며 이들은 부분적으로 또는 전체적으로 플라스틱, 유리, 종이, 호일, 왁스 등으로부터 형성될 수 있다. 용기는, 처음에는 용기의 일부이거나 또는 기계적, 접착성, 또는 기타 수단에 의해 용기에 부착될 수 있는, 완전히 또는 부분적으로 분리가 가능한 마개를 장착할 수 있다. 용기는 또한 주사바늘에 의해 내용물에 접근할 수 있는, 스톱퍼가 장착될 수 있다. 상기 키트는 외부 패키지를 포함할 수 있으며, 외부 패키지는 구성 요소들의 사용에 관한 사용설명서를 포함할 수 있다.

[0034] 일측에 따르면, 상기 앵타머는, 형광물질, 발색효소, 양자점, 방사능 동위원소, 금 나노입자, 전기화학적 작용기(electrochemical functional group) 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 검출체에 부착된 것일 수 있다.

[0035] 앵타머는 검출체에 부착됨으로써 표지될 수 있다. 검출체는 인플루엔자 바이러스에 앵타머가 결합하였는지 여부를 용이하게 확인, 검출 및 정량하기 위한 것으로, 인플루엔자 바이러스에 앵타머가 결합하였는지 여부를 확인할 수 있는 물질이라면 어느 것을 사용하여도 무방하나, 바람직하게는 형광물질, 발색효소, 양자점, 방사능 동위원소, 금 나노입자, 전기화학적 작용기(electrochemical functional group) 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나의 물질일 수 있다. 구체적으로는, 검출체는, 발색효소(퍼옥시다제(peroxidase), 알칼라인 포스파타제(alkaline phosphatase) 등), 형광물질(FITC, RITC, 로다민(rhodamine), 텍사스레드(Texas Red), 플루레신(fluorescein), 피코에리트린(phycoerythrin), 퀀텀닷(quantum dots)), 크로모포어(chromophore) 및 방사성 동위원소(^{124}I , ^{125}I , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{32}P , ^{35}S 등)로 구성된 군에서 선택되는 적어도 어느 하나일 수 있다. 검출체가 앵타머에 태깅(tagging)되는 경우, 상기 검출체는 상기 앵타머에서 표적에 대한 특이성 또는 선택성에 영향이 없도록 부착되는 것이 바람직하고, 이를 위하여 상기 앵타머에 링크(공유결합 또는 가교)되어 제공될 수 있다. 상기와 같은 검출체의 태깅 위치는 본 분야의 통상의 기술자가 반복 실험을 통하여 용이하게 결정할 수 있고, 특히 상기 검출체의 태깅 위치는 앵타머의 5'-말단일 수 있다.

[0036] 일측에 따르면, 둘 이상의 상기 앵타머가 고정화되어 있는 기판을 포함하는 것으로, 앵타머가 고정화될 수 있는 다른 물질, 예를 들어, 기판, 수지, 플레이트(예, 멀티웰 플레이트), 필터, 카트리지, 컬럼 또는 다공질재일 수 있거나, 또는 DNA 칩이나 단백질 칩 등에 사용되고 있는 것, 니켈-PTFE(폴리테트라플루오로에틸렌) 기판이나 유리 기판, 아파타이트(apatite) 기판, 실리콘 기판, 금, 은 또는 알루미늄 기판 등으로, 이들의 기판에 폴리머 등의 코팅한 것을 포함할 수 있다.

[0037] 앵타머는 공지의 방법에 의해 고상 담체에 고정할 수 있다. 예를 들어, 친화성 물질이나 소정의 관능기를 앵타머에 도입하고, 친화성 물질이나 소정의 관능기를 이용하여 고상 담체에 고정화하는 방법을 들 수 있다. 소정의 관능기는 커플링 반응에 제공하는 것이 가능한 관능기일 수 있고, 예를 들어 아미노기, 티올기, 히드록실기, 카르복실기를 들 수 있다. 예를 들어, 상기 앵타머의 말단에 바이오틴을 결합시켜 복합체를 형성하고, 상기 칩 등의 기판 표면에 스트렙타비딘을 고정화시켜, 상기 바이오틴과 기판 표면에 고정화된 스트렙타비딘의 상호작용에 의하여 상기 앵타머를 기판 표면에 고정화시킬 수 있다.

[0038] 상기 앵타머가 고정화된 기판을 포함하는 키트를 이용하여 인플루엔자 바이러스를 검출하는 방법은, 예를 들어, 앵타머를 바이오 칩 상에 형광물질, 발색물질 또는 항체 등과 함께 스팟팅 시킨 후 혈액샘플을 반응시킴으로써 검출 시료, 예를 들어, 혈액 중에 포함된 미량의 인플루엔자 바이러스의 수준을 신속하게 측정할 수 있다. 예를 들어, 형광물질을 표지물질로서 사용한 경우 타겟물질의 존재 시 발광 또는 색 변화가 발생하는 바, 이를 측정함으로써 타겟물질을 검출할 수 있다. 예시적으로 형광염료를 탐지할 수 있는 이미지 스캐너 등을 통하여 반응을 일으킨 웰을 스캔하여 타겟물질의 검출여부를 확인할 수 있고, 이미지를 소프트웨어를 통해 진하기 정도를 측정함으로써 검출량을 측정할 수 있다. 또 다른 방법으로는 자성 비드에 앵타머를 고정화시켜 인플루엔자 바이러스를 결합시키게 되면 결합된 앵타머-인플루엔자 바이러스 복합체를 자석을 이용하여 분리할 수 있게 되고,

이 복합체로부터 다시 인플루엔자 바이러스를 분리함으로써 인플루엔자 바이러스 바이러스만을 선택적으로 검출할 수 있게 된다. 본 발명의 실시예에 기술된 방법 이외에도 본 발명의 DNA 앵타머와 연결된 센서를 이용하여 혈액 중의 인플루엔자 바이러스를 검출하는 방법 등을 사용할 수 있다.

[0039] 이하, 본 발명에 따르는 실시예 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제시된 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0040] 앵타머 후보물질의 분리, 인플루엔자 바이러스 H1N1에 대한 친화력 및 항체용으로서의 사용가능성은 다음과 같이 확인하였다.

[0041] **실시예 1: 인플루엔자 바이러스에 H1N1에 특이적으로 결합하는 앵타머의 개발**

[0042] 본 발명의 앵타머는 SELEX에 의해 앵타머를 선별하였다. SELEX의 개략적인 도식도를 도 1에 나타내었다. 이의 방법을 대략적으로 살펴보면, DNA 라이브러리를 ssDNA로 변성하고, 여기에, 미니-HA(Mini-HA)를 첨가하고, 친화성 크로마토그래피(Affinity chromatography)와 같은 방법을 사용하여, 결합하지 않는 DNA를 세척하여 제거하고, 미니-HA와 결합한 DNA를 선별하여, 선별된 DNA를 PCR 증폭시키는, 이러한 과정을 5회(5 cycles) 진행하여 ssDNA generation를 수득하고, 이를 인플루엔자 H1N1 바이러스를 첨가하여 결합하는 DNA를 선별하고, 결합하지 않는 DNA를 세척으로 제거하고, 결합된 DNA를 다시 PCR 증폭하여 시퀀싱(sequencing)하고, 분석함으로써 앵타머를 획득한다.

[0043] 도 2는, 본 발명의 일 실시예에 따른 효소 결합된 앵타머 결합 검정(Enzyme linked aptamer binding assay, ELISA)을 나타낸 것이다.

[0044] 도 3은, 본 발명의 일 실시예에 따른 qPCR 분석에 의해 고-결합 앵타머의 분류(Sorting of high-binding aptamers by qPCR analysis)를 나타낸 것이다.

[0045] **실시예 2: 인플루엔자 바이러스에 H1N1에 특이적으로 결합 가능한 앵타머의 특이성 및 결합력 분석**

[0046] 도 4는, 본 발명의 일 실시예에 따른 qPCR 분석으로부터 선택된 11개의 고-결합 앵타머에 대한 전기 영동상 변화 분석(Electrophoretic mobility shift assay, EMSA)을 나타낸 것이다.

[0047] 도 5는, 본 발명의 일 실시예에 따른 qPCR 분석에 의해 선택된 앵타머의 결합-친화력(K_d)을 나타낸 것이다.

[0048] 도 6은, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 및 V57 앵타머의 이차적인 구조를 나타낸 것이다.

[0049] 도 7은, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 및 V57 앵타머의 결합 친화력에서의 qPCR 분석을 나타낸 것이다.

[0050] 도 8은, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 및 V57 앵타머의 결합 친화력에서의 형광 검정을 나타낸 것이다.

[0051] 도 9는, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 및 V57 앵타머의 결합 친화력에서의 전기화학적 특징을 나타낸 것이다.

[0052] 도 10은, 본 발명의 일 실시예에 따른 미니-HA와 V46에 대한 농도 의존적인 EMSA를 나타낸 것이다.

[0053] 도 11은, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46 앵타머에 대한 온전한 세포 바이러스의 선택성 분석을 나타낸 것이다.

[0054] 도 12는, 본 발명의 일 실시예에 따른 EMSA에 의한 V46 앵타머의 선택성 분석을 나타낸 것이다.

[0055] 도 13은, 본 발명의 일 실시예에 따른 형광 이미지에 의해 나타낸 V46의 농도에 따른 형광 강도를 나타낸 것이다.

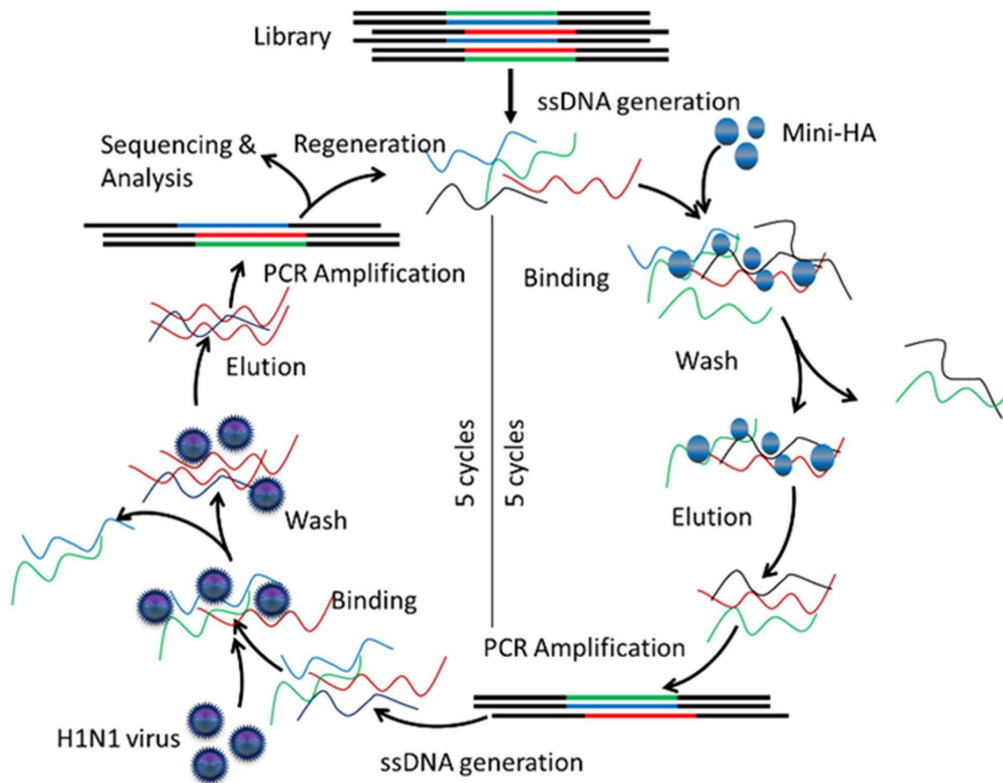
[0056] 도 14은, 본 발명의 일 실시예에 따른 형광 이미지에 의해 나타낸 V46의 농도에 따른 결합 친화력(K_d)을 나타낸 것이다.

[0057] 도 15는, 본 발명의 일 실시예에 따른 V46의 농도에 따른 형광 이미지를 나타낸 것이다.

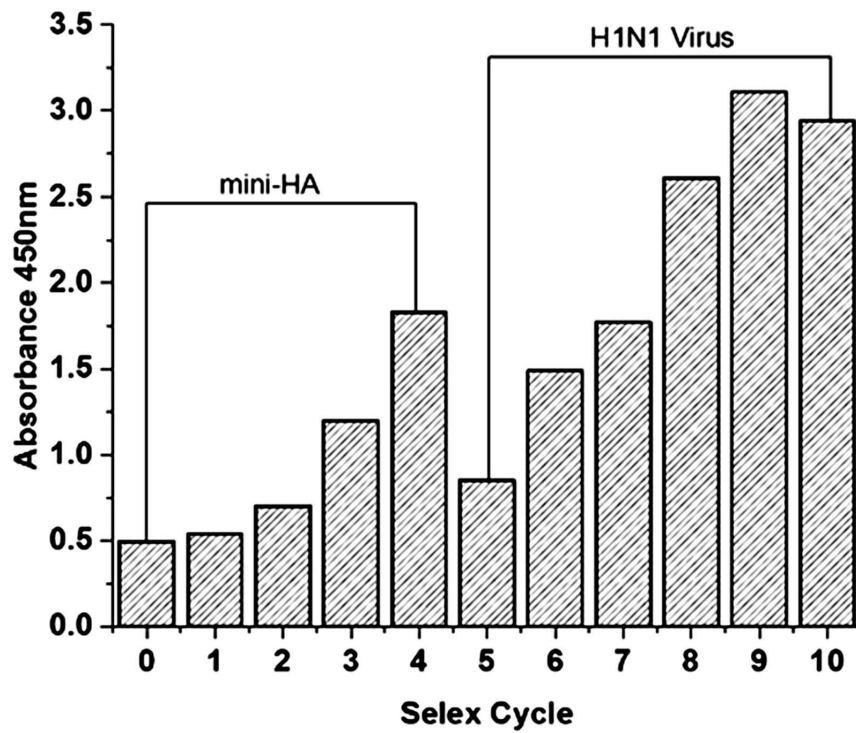
[0058] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 본 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예 일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

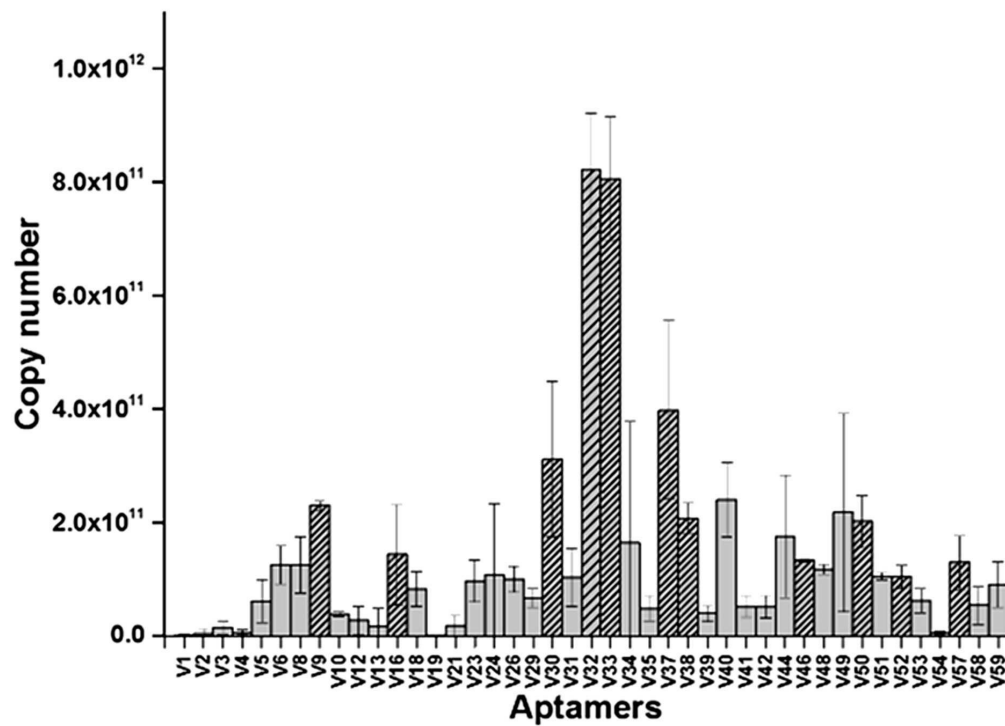
도면1



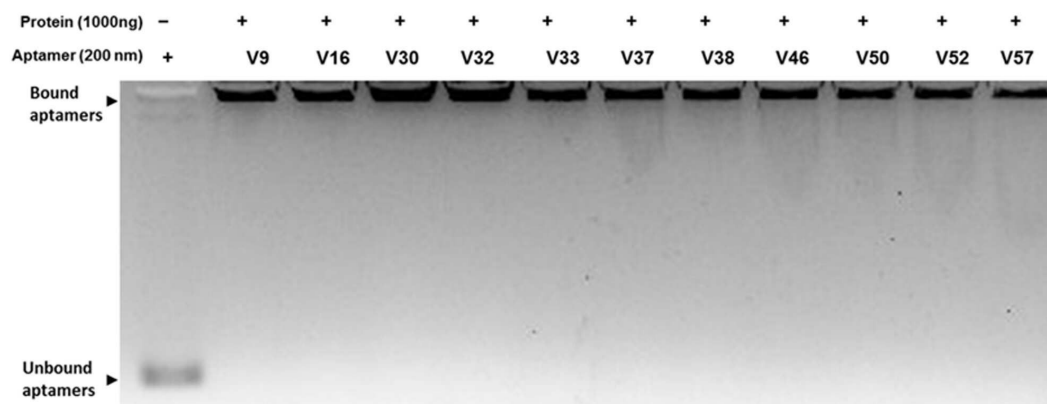
도면2



도면3



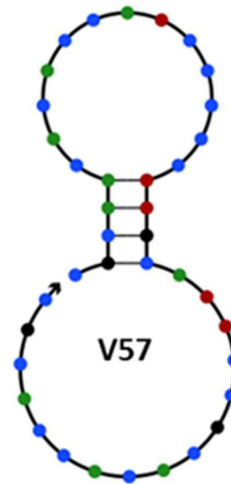
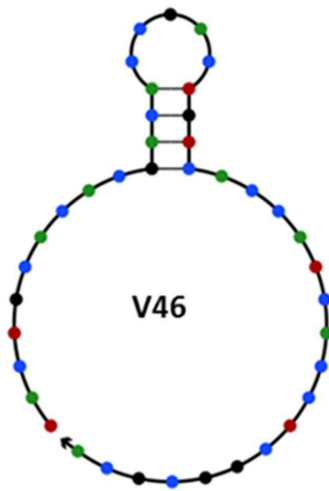
도면4



도면5

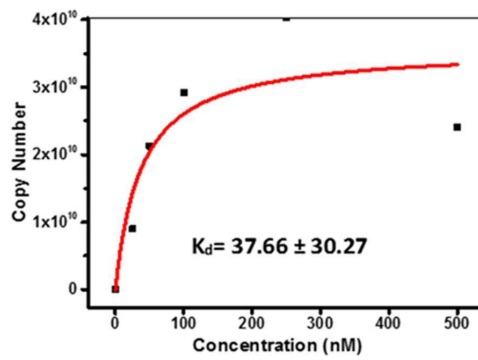
Aptamers	V9	V16	V30	V32	V33	V37	V38	V46	V50	V52	V57
K_d	NA	NA	99.81 ± 137.65	NA	NA	835.87 ± 687.48	118.47 ± 36.03	37.66 ± 30.17	NA	311.58 ± 151.96	57.58 ± 40.70

도면6

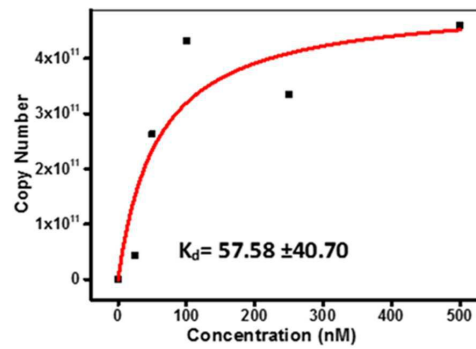


도면7

V46

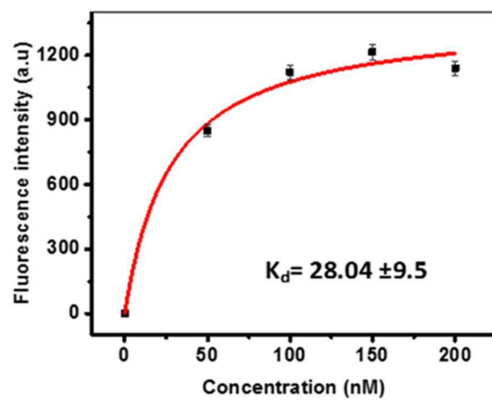


V57

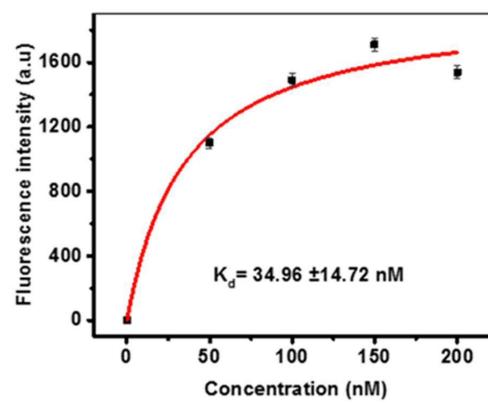


도면8

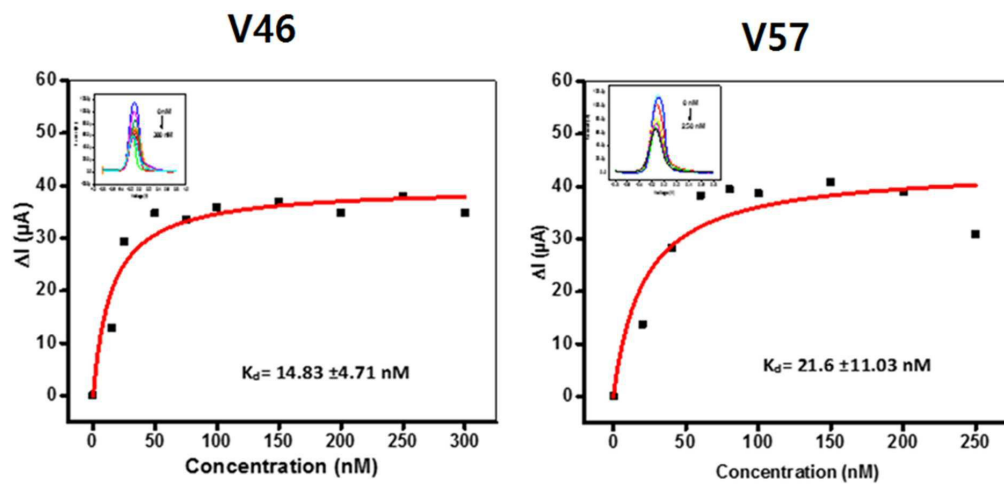
V46



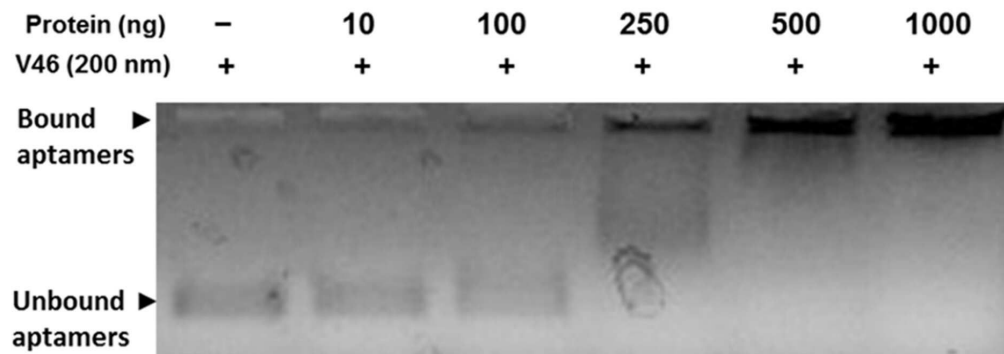
V57



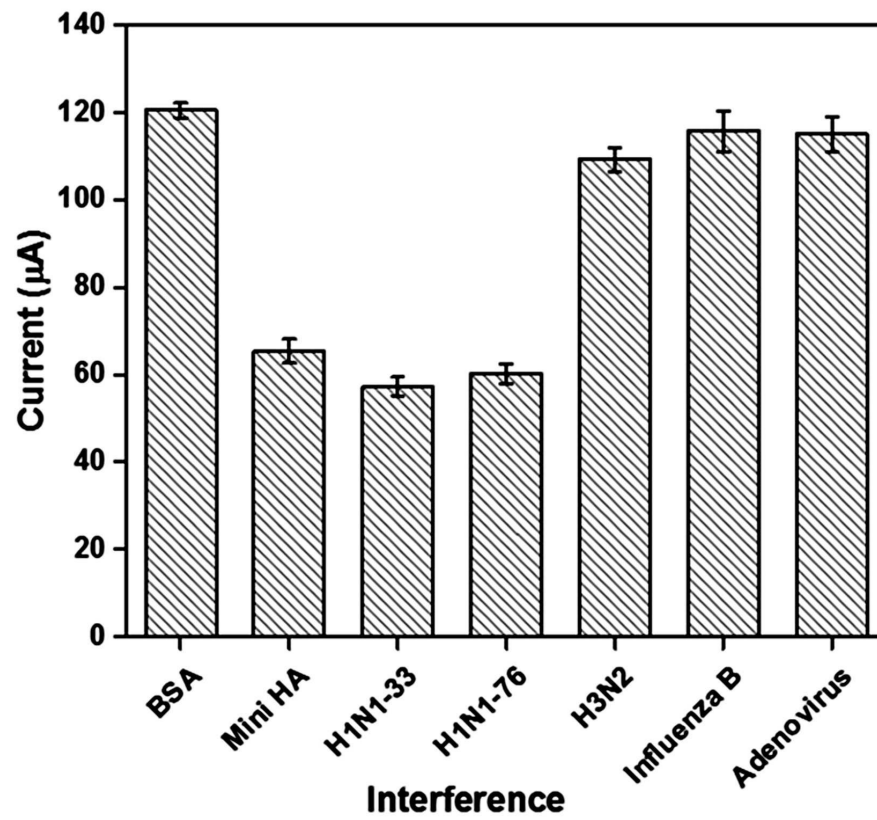
도면9



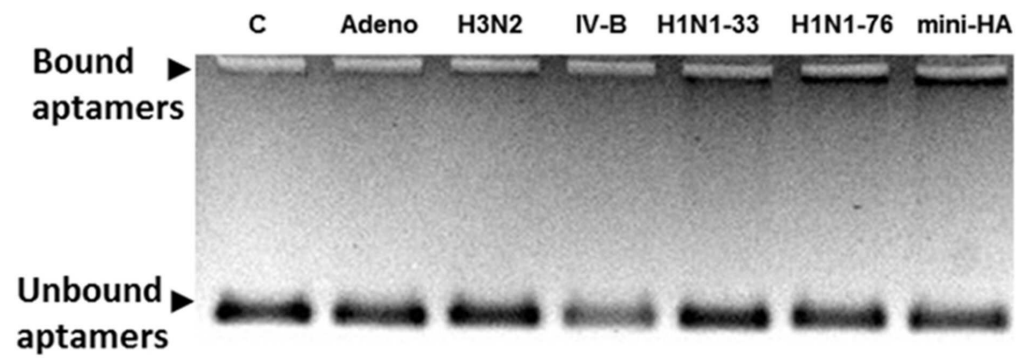
도면10



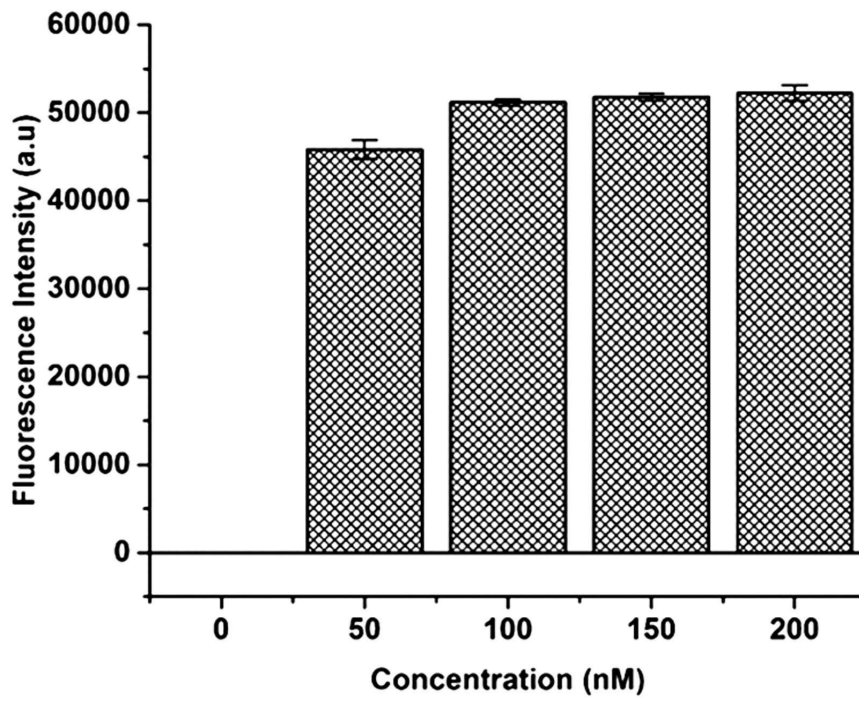
도면11



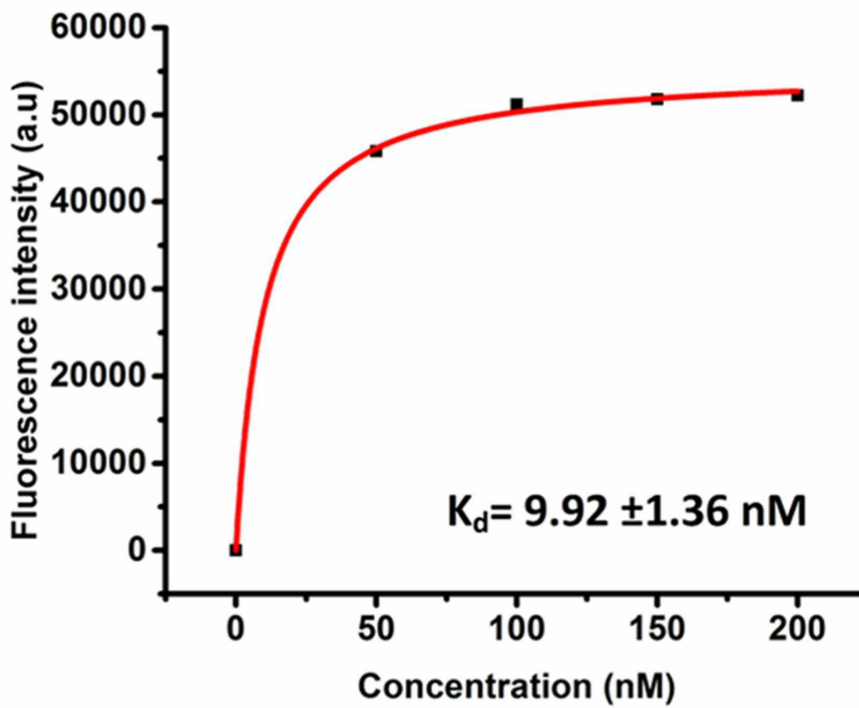
도면12



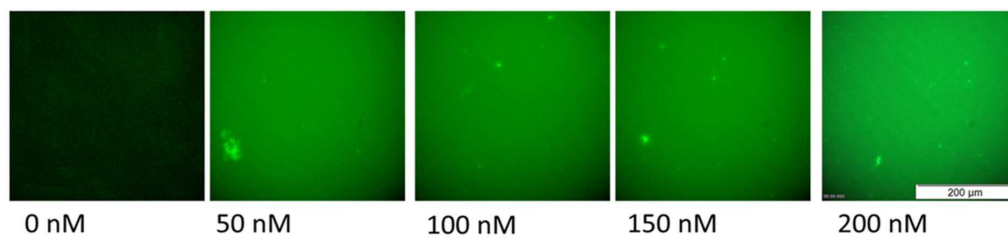
도면13



도면14



도면15



서열 목록

<110> UNIST (ULSAN NATIONAL INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY)

<120> APTAMER WITH SPECIFIC BINDING FOR INFLUENZA VIRUS AND
PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND KIT COMPRISING THE SAME

<130> APC-2017-0169

<160> 44

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V46 aptamer

<400> 1

tagggaagag aaggacatat gattactgca cagcacaccg actgtcacca tcacctcggc 60

gcattgacta gtacatgacc acttga 86

<210> 2

<211> 84

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V57 aptamer

<400> 2

tagggaagag aaggacatat gatcgcaaca caccatcccc cttgcattcc gcacaccacg 60

cttgactagt acatgaccac ttga 84

<210> 3

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V1 aptamer

<400>	3	
agggaagaga aggacatatg atggaccac gacatcacga ggcacaccgc acttgcgacg	60	
gattgactag tacatgacca cttga	85	
<210>	4	
<211>	84	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	V2 aptamer	
<400>	4	
caagtgggtca tgiactagtc aacgcgacaa tgccttagcg caccagcacg ccccggtcca	60	
ccatcatatg tccttctctt ccct	84	
<210>	5	
<211>	85	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	V3 aptamer	
<400>	5	
caagtgggtca tgiactagtc aacacccagg cgggtgtacag agcgtgggtca tgggtggcat	60	
glatcatatg tccttctctt cccta	85	
<210>	6	
<211>	84	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	V4 aptamer	
<400>	6	
caagtgggtca tgiactagtc aaatcgaggt ggggtgggtgg gcgcatgcg gtgtggtaag	60	
gcatcatatg tccttctctt ccct	84	
<210>	7	
<211>	85	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	V5 aptamer	
<400>	7	

caagtgggtca tgtactagtc aacgcgcgca ccacccacac cgtgtcccg tccctcgcc 60
gcatcatatg tccttctctt cccta 85

<210> 8
<211> 85
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> V6 aptamer

<400> 8
caagtgggtca tgtactagtc aacgtgaggc agggcggcaa tgggtagggg tacgtacgcg 60
tgatcatatg tccttctctt cccta 85

<210> 9
<211> 85
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> V8 aptamer

<400> 9
agggaagaga aggacatag atgccacgtc gcgcacacta tcggattcga tcccgtttg 60
tgttgactag tacatgacca ctgta 85

<210> 10
<211> 85
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> V9 aptamer

<400> 10
caagtgggtca tgtactagtc aagacgtggt gacggtgggg tggaacgtgc cgtgtgcgtg 60
gtatcatatg tccttctctt cccta 85

<210> 11
<211> 84
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> V10 aptamer

<400> 11
caagtgggtca tgtactagtc aagaagggtca cccacgatta ggaatggcat gtcgtgcgtg 60

atatcatatg tcctttctctt ccct

84

<210> 12

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V12 aptamer

<400> 12

tcaagtggtc atgtactagt caacgcgcac ggcaggggtt gcgtgccgca ggtcgcgggg

60

cgtatcatat gtcctttctct tcccta

86

<210> 13

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V13 aptamer

<400> 13

tcaagtggtc atgtactagt caaggggagg gagggcgggc cggtgtcggg aaagctgaac

60

gggatcatat gtcctttctct tcccta

86

<210> 14

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V16 aptamer

<400> 14

tcaagtggtc atgtactagt caatcggttg gctgggctgc gatggttggg gagactcggc

60

gtgatcatat gtcctttctct tcccta

86

<210> 15

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V18 aptamer

<400> 15

tcaagtggtc atgtactagt caaatcgagg tgggtgggtg ggcggcatgc ggtgtggtaa

60

ggcatcatat gtccttctct tcccta

86

<210> 16

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V19 aptamer

<400> 16

tcaagtggc atgtactagt caatgtcgat atcgctcgtg cgtgcgcctg ttgcgctgga

60

gatatcatat gtccttctct tcccta

86

<210> 17

<211> 89

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V21 aptamer

<400> 17

agggaagaga aggacatatg atgatgctgg ctgctgcca tgcgtgcgtg aggccgatgc

60

gcgtggacta gtactggacc ctttgaacc

89

<210> 18

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V23 aptamer

<400> 18

tcaagtggc atgtactagt caatcacga caccaccgcc gttaccgcac cagctcgca

60

tgtatcatat gtccttctct tcccta

86

<210> 19

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V24 aptamer

<400> 19

tcaagtggc atgtactagt caacgtgcag gacggttgag gaggggatgt gtggcatgc

60

gcgatcatat gtccttctct tcccta

86

<210> 20

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V26 aptamer

<400> 20

tagggaagag aaggacatat gatggtgacc accaccctgc ctgacgtac caccgaccgt

60

gcattgacta gtacatgacc acttga

86

<210> 21

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V29 aptamer

<400> 21

tcaagtggc atgtactagt caacaccag gcggtgtaca gagcgtggc atggtggc

60

tgtatcatat gtccttctct tcccta

86

<210> 22

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V30 aptamer

<400> 22

tagggaagag aaggacatat gatgccacgt acgcctcacc gccaccctc actgcacctc

60

gccttgacta gtacatgacc acttg

85

<210> 23

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V31 aptamer

<400> 23

tagggaagag aaggacatat gatggacaca gagggcaaga tgtgtgtagg atgggtaggg

60

tcattgacta gtacatgacc acttga	86
<210> 24	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V32 aptamer	
<400> 24	
tcaagtggtc atgtactagt caacgcgaga gcagctgggg ggagggcgtg gcaggtggtg	60
tggatcatat gtcctttctt tcccta	86
<210> 25	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V33 aptamer	
<400> 25	
tagggaagag aaggacatat gatcacggac ggacggcaca gtggaggag gcacaccgcg	60
gtgttgacta gtacatgacc acttga	86
<210> 26	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V34 aptamer	
<400> 26	
tcaagtggtc atgtactagt caacacgcgc ggaaccacc tcagtcctt ctgcaccac	60
cacatcatat gtcctttctt tcccta	86
<210> 27	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V35 aptamer	
<400> 27	
tcaagtggtc atgtactagt caatggccaa agcgatcagg acaccataag ggacaggtgg	60

atgatcatat gtcctttctt tcccta	86
<210> 28	
<211> 104	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V37 aptamer	
<400> 28	
tcaagtggtc atgtactagt caacgcacac tcccacctca caacgacacc acaaccccgt	60
acgccacatc ggcccatcgc gatcatatgt ccttctcttc ccta	104
<210> 29	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V38 aptamer	
<400> 29	
tcaagtggtc atgtactagt caaggacacg tgcggactgt ggtcatgtga cgcattgggc	60
aggatcatat gtcctttctt tcccta	86
<210> 30	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V39 aptamer	
<400> 30	
tagggaagag aaggacatat gatacaacgg gtgccctaag gaaaggggtg ggcgaatgcg	60
ctgttgacta gtacatgacc acttga	86
<210> 31	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V40 aptamer	
<400> 31	
tcaagtggtc atgtactagt caacgcgaga gcagctgggg ggagggcgtg gcaggtgggtg	60

tggatcatat gtccttctct tcccta	86
<210> 32	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V41 aptamer	
<400> 32	
tagggaagag aaggacatat gatgccttac tgtacggcac cattcctacg accacacgct	60
gcgttgacta gtacatgacc acttga	86
<210> 33	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V42 aptamer	
<400> 33	
tcaagtggtc atgtactagt caaacgatgt gtggatcatgt cgttcgtagt ggagcggcac	60
gccatcatat gtccttctct tcccta	86
<210> 34	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V44 aptamer	
<400> 34	
tcaagtggtc atgtactagt caatacgccg tcatctatcg cgagctgcta ctggaccggt	60
gcgatcatat gtccttctct tcccta	86
<210> 35	
<211> 87	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V48 aptamer	
<400> 35	
tagggaagag aaggacatat gatgtggtcg gcatgatacg gcacgaggag ggcgttacgc	60

ggattgacta gtacatgacc acttgaa

87

<210> 36

<211> 87

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V49 aptamer

<400> 36

tagggaagag aaggacatat gatgcacgag ggaacggcgg catgagagg tgcgacagga

60

cggattgact agtacatgac cacttga

87

<210> 37

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V50 aptamer

<400> 37

tagggaagag aaggacatat gatggacaca gagggcaaga tgtgtgtagg atgggtaggg

60

tcattgacta gtacatgacc acttga

86

<210> 38

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V51 aptamer

<400> 38

tcaagtggtc atgtactagt caacgtgagc gcgggacggt atggcagggt aggcgtggtg

60

tcgatcatat gtccttctct tcccta

86

<210> 39

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V52 aptamer

<400> 39

agggaagaga aggacatatg atagcacaga gttggaaaca tgaccccgac ccgcccggtt

60

gattgactag tacatgacca cttga	85
<210> 40	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V53 aptamer	
<400> 40	
tagggaagag aaggacatat gatggacaca gagggcaaga tgtgtgtagg atgggtaggg	60
tcattgacta gtacatgacc acttga	86
<210> 41	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V54 aptamer	
<400> 41	
tagggaagag aaggacatat gatgtttgcc ggatagtcta cgcatgtgat gtcgacacca	60
atattgacta gtacatgacc acttga	86
<210> 42	
<211> 85	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V55 aptamer	
<400> 42	
tagggaagag aaggacatat gataccgccca catcgactc ccatgcatga ccacgctacg	60
tcattgacta gtacatgacc acttg	85
<210> 43	
<211> 86	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> V58 aptamer	
<400> 43	
tcaagtggtc atgtactagt caagggtgcc aggtccgcaa agagccacgt ggtaatggtc	60

agtatcatat gtccttctct tcccta

86

<210> 44

<211> 86

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> V59 aptamer

<400> 44

tcaagtggc atgtactagt caatcgtagg acagcatcga cggtagggggg ttcgtgagac

60

gggatcatat gtccttctct tcccta

86