

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7158501号
(P7158501)

(45)発行日 令和4年10月21日(2022.10.21)

(24)登録日 令和4年10月13日(2022.10.13)

(51)国際特許分類 F I
C 1 2 N 15/115(2010.01) C 1 2 N 15/115 Z Z N A

請求項の数 2 (全12頁)

(21)出願番号	特願2020-565993(P2020-565993)	(73)特許権者	516296131 株式会社ネックスモス NEXMOS Co., Ltd. 大韓民国, キョンギド, ヨンギンシ, ス ジグ, シンスロ767, 2207番, 2 2階 22nd Fl., No. 2207, 7 67 Sinsu-ro, Suji-g u, Yongin-si, Gyeon ggi-do, Republic of Korea
(86)(22)出願日	平成30年9月6日(2018.9.6)	(74)代理人	110002262 T R Y 国際弁理士法人
(65)公表番号	特表2021-526018(P2021-526018 A)	(72)発明者	ソン インシク 大韓民国 13614 キョンギ-ド ソ ンナム-シ ブンダン-グ、ジェンザイ 最終頁に続く
(43)公表日	令和3年9月30日(2021.9.30)		
(86)国際出願番号	PCT/KR2018/010436		
(87)国際公開番号	WO2020/045718		
(87)国際公開日	令和2年3月5日(2020.3.5)		
審査請求日	令和2年11月25日(2020.11.25)		
(31)優先権主張番号	10-2018-0102964		
(32)優先日	平成30年8月30日(2018.8.30)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	韓国(KR)		
前置審査			

(54)【発明の名称】 L - アスコルビン酸に特異的に結合するアプタマー及びその用途

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

L - アスコルビン酸に結合して酸化を抑制する一本鎖DNAアプタマーであって、前記アプタマーは、配列番号17、22、23、26に記載された塩基配列のうちの1つからなることを特徴とする、一本鎖DNAアプタマー。

【請求項2】

請求項1に記載のアプタマーを有効成分として含む、抗酸化用組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、L - アスコルビン酸に特異的に結合するアプタマー及びその用途に関する。

【背景技術】

【0002】

抗酸化物質のうちの代表的な成分の一つであるL - アスコルビン酸(L - A s c o r b i c a c i d) (ビタミンC、以下、'AA'という)は、その遊離基の中性化を通じた抗酸化活性により、医薬、化粧品、食品及び飲料産業で広く使用されている。食品補助剤及び/又は医薬活性成分として使用されるときAAの利点は、産業災害(タイヤ及びゴム工場、化粧品製造工場)で発生し得るZnONPsの吸入により生じる急性肺細胞酸化過程で、AAを添加した飲用水を供給することで抑制することが報告されている。数十兆ウォン規模に達するこれらの産業では、主要な解決策として、ビタミンCが共通に使用され

ることが知られている。

【0003】

AAは、その抗酸化能力により、本質的に酸化によって容易に分解され得る。AAの酸化に影響を与える主要因子は、温度、pH、酸素、金属イオン、光及び酵素などである。AAを主成分として使用する産業では、このような酸化分解される特性により、製品の保存期間及び効果の両方に影響を与えるため、当面の問題として長い間認識されてきた。したがって、これらの産業において、AAの酸化的分解に対する理解だけでなく、新しくかつより優れた方法を開発し、発見することに多くの研究と費用が投じられている。

【0004】

一方、老化を促進する原因は様々であるが、その中でも活性酸素種(Reactive Oxygen species: ROS)が非常に主要な原因の一つとして受け入れられている。このような活性酸素は、エネルギー代謝過程、免疫反応などで必然的に生成され、外部の有害環境によっても誘発される、避けられない刺激である。活性酸素は、反応性が非常に高いため、体内でDNAの変性、過度の信号伝達の誘発及びタンパク質の変性などをもたらし、健康に有害な影響を累積する一連の反応を引き起こす。しかし、このような有害な反応は、生体内に存在する抗酸化物質(尿酸(uric acid)、ビタミンC(vit. C)、ビタミンE(vit. E)など)又は抗酸化酵素(グルタチオンペルオキシダーゼ(Glutathione peroxidase)、スーパーオキシドジスムターゼ(superoxide dismutase)、カタラーゼ(catalase)など)によって精巧にその恒常性を維持するようになっている。しかし、内因性老化による抗酸化システムの老衰及び持続的な有害な刺激による活性酸素の蓄積は、このような均衡を破って健康を害することになり、老化を促進させ、皮膚疾患、皮膚癌、動脈硬化及び血栓のような各種疾病を誘発することもある(Laure Rittie et al., Ageing Research Reviews, 1, 705 - 720, 2002; Cutler RG, Annals of the New York Academy of Sciences, 1055, 93 - 135, 2005)。

【0005】

したがって、活性酸素種の形成を抑制するか、または形成された活性酸素種を除去する抗酸化物質への関心が益々増加している。抗酸化物質は、体内に自然に存在するものと、外部から投与されるものとに分類することができ、体内に自然に存在する抗酸化物質としては、スーパーオキシドジスムターゼ(superoxide dismutase、SOD)、グルタチオン(glutathione)、ペルオキシダーゼ(peroxidase)及びカタラーゼ(catalase)などの酵素があり、外部から投与されるものとしては、ケンフェロール(kaempferol)、カテキン(catechin)及びゲニステイン(genistein)などのフィトケミカル(phytochemical); ビタミンE、ビタミンC及びベータカロチン; 及びセレンウムなどのミネラルがある。

【0006】

太陽光から照射される紫外線A(UVA)及び紫外線B(UVB)、公害物質、ストレス、喫煙、飲酒、脂肪性食物などにより発生する遊離基(free radical)と活性酸素(oxygen free radical)などによって細胞が攻撃を受けるが、このような物質から適切な保護が行われない場合、細胞は老化又は死滅することになる。皮膚の場合、このような物質によりコラーゲンやエラスチンなどの物質は、生産が減少したり、変性して、皮膚が弾力を失い、しわが生じる。これを防止するために、ビタミンA、C、Eなどの抗酸化物質を含む製剤を皮膚に塗布し、皮膚内に吸収させることによってこのような有害活性物質による酸化を防ぐことが、皮膚の老化を防止するのに重要であることが知られている。しかし、合成ビタミンCは、空気中で容易に酸化されてしまい、その抗酸化作用がなくなるという問題があるため、保存期間の長い様々な剤形を製造するのに問題がある。

【0007】

10

20

30

40

50

また、還元力が非常に高いビタミンCは、酸化電位の高い物質に非常に敏感に反応して、ビタミンCが急速に酸化される。ビタミンCは、酸化されることによってその効能が損なわれることは、公知の事実である。水は、酸化電位が高いため、ビタミンCが非常に敏感に反応して急速に酸化される。

【0008】

したがって、ビタミンCを含む抗酸化物質の酸化を抑制する新しい方法あるいは物質に対する必要性は、長い間存在してきている。

【0009】

また、アプタマーを用いて抗酸化物質の酸化を防止することは、既存の方法と比較して、安全でかつ革新的な新しい概念のアプローチであって、これを各種産業に適用して効果を最大化できるように製造可能である。特に、既存のケミカル(Chemical)ベースの化粧品、栄養補助剤、食品市場を、DNA(BIO)ベースの市場に大幅に変化させる起爆剤になるであろう。また、各種産業分野で多様に利用することができる。今後、DNA市場の爆発的な増加と革新的なソリューションを提供することが期待される。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0010】

【文献】大韓民国公開特許第10-2018-0054508号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

20

【0011】

本発明は、上記の必要性によって案出されたものであって、本発明の目的は、ビタミンCに特異的に結合して酸化を防止する新規なアプタマーを提供することである。

【0012】

本発明の他の目的は、前記新規なアプタマーの用途を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0013】

上記の目的を達成するために、本発明は、L-アスコルビン酸に結合して酸化を抑制する一本鎖DNAアプタマーであって、前記一本鎖DNAアプタマーは、1つ以上のステムループ(stem-loop)構造を有し、前記ステムループ構造におけるステム構造の末端にCG結合を有し、ループ構造の両側の開始部分がG又はCとして同一の塩基が互いに対向していることを特徴とする一本鎖DNAアプタマーを提供する。

30

【0014】

本発明のアプタマーは、前記ステムループ構造におけるステム構造の末端にCG結合を有し、ループ構造の開始部分における一方向のG又はC塩基がTに置換された二次構造を有する一本鎖DNAアプタマーを提供する。

【0015】

本発明の実施例において、前記アプタマーは、配列番号1~29に記載された塩基配列のうちの1つからなることが好ましく、前記アプタマーは、配列番号1、配列番号4、配列番号5、及び配列番号17~29に記載された塩基配列のうちの1つからなることがより好ましいが、それに限定されない。

40

【0016】

また、本発明は、前記本発明のアプタマーを有効成分として含む抗酸化用組成物を提供する。

【0017】

また、本発明は、ビタミンCに前記本発明のアプタマーを処理して前記ビタミンCの酸化を抑制する方法を提供する。

【発明の効果】

【0018】

本発明から分かるように、本発明のアプタマーは、ビタミンCの酸化防止効果を有し、

50

ビタミンC (ascorbic acid) に選択的に結合するアプタマーを用いてビタミンCの還元状態を維持することで、その抗酸化機能を長期間維持するようにして、様々な剤形の機能性化粧品及び経口用栄養補助剤 (dietary supplements) などに用いることができ、ビタミンCに選択的に結合するアプタマーを用いることで、少量のビタミンCでも持続的かつ最大化された抗酸化効果を期待することができ、ビタミンC (ascorbic acid) に選択的に結合するアプタマーを用いてビタミンCなどの生理活性成分の還元状態を維持することで、その抗酸化機能を長期間維持するようにして、様々な健康飲料、抗酸化飲料及び抗酸化食品などに用いることができる。

【0019】

また、アプタマーを用いて抗酸化物質の酸化を防止することは、既存の方法と比較して、安全かつ革新的な新しい概念のアプローチであって、これを各種産業に適用して効果を得ることができるように製造可能である。特に、既存のケミカル (Chemical) ベースの化粧品、栄養補助剤、食品市場を、DNA (BIO) ベースの市場に大幅に変化させる起爆剤になるであろう。今後、DNA市場の爆発的な増加及び革新的なソリューションを提供することが期待される。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】一本鎖DNAライブラリーの分離に用いた12%ネイティブゲル (native gel) 電気泳動の写真である。青色の四角形で表示されたバンドを切断してクラッシュ・アンド・ソーク法で精製した。

【図2】一本鎖DNAのアスコルビン酸 (ascorbic acid) の酸化防止効果の確認のためのOPDA測定グラフである。配列番号1、配列番号4、及び配列番号5の一本鎖DNAで酸化防止効果が観察された。

【図3】選別された一本鎖DNAのMST (Microscale Thermophoresis) 測定結果のグラフである。Kd (結合解離定数) の測定結果、配列番号1、配列番号4、配列番号5の一本鎖DNAからナノモル (nanomolarity、nM) レベルで結合力が確認された。

【図4】M-foldプログラムを用いたアプタマーの二次折り畳み構造である。配列番号1、配列番号4、配列番号5のステムループ (stem-loop) 構造であって、ステム (stem) 構造の末端にCG結合を有し、ループ (loop) 構造の両側の開始部分がG又はCとして互いに対向している、共通の特徴を有する (赤色の四角形)。

【図5】ステムループ構造を含む任意の配列13個のOPDA測定グラフである。特定のステムループ構造を含む13個の配列でアスコルビン酸 (ascorbic acid) の酸化防止効果が観察された。

【図6】酸化防止効果が確認された配列番号1、4、17、18のOPDA測定比較グラフである。任意の配列で合成した配列番号17のアプタマー配列が、酸化防止効果が最も大きいものと観察された。

【図7】酸化防止効果が確認された配列番号17及び18のMST測定結果のグラフである。

【発明を実施するための最良の形態】

【0021】

以下、本発明を非限定的な実施例により詳細に説明する。但し、下記の実施例は、本発明を例示するための意図で記載されたものであって、本発明の範囲は、下記の実施例によって制限されるものと解釈されてはならない。

【0022】

実施例1：一本鎖DNAライブラリーの作製

SELEX法を用いて、L-アスコルビン酸 (L-Ascorbic acid) に特異的に結合する一本鎖DNAアプタマーを選別するために、一本鎖DNAライブラリーを作製した。一本鎖DNAライブラリー配列は、5' と 3' にそれぞれ15個の特定のプライマー配列を含み、30個のランダム配列を有するように設計して、計60個の塩基で構成

10

20

30

40

50

した。

【0023】

設計された前記一本鎖DNAライブラリーは、以下の通りである。

【0024】

5' - A T G C G G A T C C C G C G C - N 3 0 - G C G C G A A G C T T G C G C - 3'
' (一本鎖DNAライブラリー配列；配列番号30)

【0025】

合成された前記配列番号30の塩基配列の単一のオリゴヌクレオチド断片を鋳型として用いて、非対称PCR過程で一本鎖DNAライブラリーを増幅した。非対称PCRを実施するためにプライマー1及び2を作製した。

【0026】

前記プライマー1及び2の塩基配列は、以下の通りである。

【0027】

5' - A T G C G G A T C C C G C G C - 3' (プライマー1；配列番号31)

5' - G C G C A A G C T T C G C G C - 3' (プライマー2；配列番号32)

【0028】

一本鎖DNAを大量に増幅するために、10：1の比率でプライマー1とプライマー2を混合して非対称PCRを実施した。非対称PCR反応は、94℃で5分間反応させた後、94℃で40秒、55℃で40秒、72℃で30秒の条件で45サイクルを繰り返して実行した後、72℃で10分間反応させて増幅した。増幅されたPCR産物は、2.5%のアガロースゲルに電気泳動し、目視でバンドを先に確認した後、クラッシュ・アンド・ソーク(Crush and Soak)法で分離した。PCR産物は、12%のネイティブゲル(native gel)に電気泳動して一本鎖DNAバンドを切断した後、クラッシュ・アンド・ソークバッファー(Crush and Soak buffer)(500mMのNH₄OAc、0.1%のSDS、0.1mMのEDTA)に溶解させ、エタノール沈殿法によりDNAを精製した(図1)。精製された一本鎖DNAライブラリーは、95℃で5分間加熱した後、常温で10分間折り畳み構造を形成させた後、SELEXに使用した。

【0029】

実施例2：L-アスコルビン酸に特異的に結合するアプタマーの選別のためのSELEX

L-アスコルビン酸に特異的に結合して酸化を抑制する一本鎖DNAアプタマーを選別するために、グラフェンを用いたSELEX(rGO-SELEX)技術を活用した。(Lee, A. Y., Ha, N. R., Jung, I. P., Kim, S. H., Kim, A. R., & Yoon, M. Y. (2017). Development of a ssDNA aptamer for detection of residual benzylpenicillin. Analytical biochemistry, 531, 1-7.)

【0030】

以下、グラフェンを活用したSELEX法は、以下の通りである。

【0031】

まず、グラフェンと1.5mlのチューブに非特異的に結合する一本鎖DNAを除去するために200pmolの一本鎖DNAライブラリーと4mg/mlのグラフェンを結合バッファー(Binding buffer)(20mMのTris、pH8.0)に混合して、30分間反応させた後、2回の遠心分離で上層液を除去した。残存する一本鎖DNAとグラフェンの混合物をアスコルビン酸(ascorbic acid)で処理して30分間反応させ、アスコルビン酸に結合した一本鎖DNAを非対称PCR過程により増幅した。増幅された一本鎖DNAは、12%のネイティブゲルでクラッシュ・アンド・ソーク(Crush and Soak)法により分離して、1番目のSELEX産物として得た。前記の過程を5回繰り返し、5回目のSELEX産物を鋳型として使用して対称PCRを実施した。増幅された二本鎖DNA断片は、NGS(Next Generati

10

20

30

40

50

on Sequencing) 技術で配列を分析し、高い頻度数で分析される配列番号 1 ~ 16 の 16 個の配列を確認した。

【0032】

実施例 3 : アスコルビン酸 (Ascorbic acid) の酸化抑制効果の分析

アプタマーによる L - アスコルビン酸の酸化防止効果を分析するために、OPDA (O - phenylenediamine) 分析法を実施した。L - アスコルビン酸の酸化された構造である DHA が OPDA に結合して蛍光発色が現れる原理を用いて、アプタマーによるアスコルビン酸の酸化防止効果を分析した。(Vislissel, J. M., Schaffer, F. Q., & Buettner, G. R. (2007). A simple and sensitive assay for ascorbate using a plate reader. Analytical biochemistry, 365 (1), 31 - 39.)

10

【0033】

OPDA 分析過程は、以下の通りである。

【0034】

SELEX 産物で NGS 技術により分析された配列の頻度数及び折り畳み構造に基づいて 16 個の配列を合成した。合成された一本鎖 DNA は、95 °C で 5 分間加熱し、常温で 10 分間反応させて折り畳み構造を形成させた後、1 μM の一本鎖 DNA と 5 mM のアスコルビン酸を混合して 30 分間反応させた。その後、過酸化水素水 (H₂O₂) を添加して酸化を促進させた後、OPDA 蛍光染料を添加して、蛍光の強度を測定した (非特許文献 3)。対照群 (Control) は、合成された一本鎖 DNA を添加せずに、ビタミン C のみを添加した試料であって、16 個の配列 (配列番号 1 ~ 16) の一本鎖 DNA をそれぞれ処理した試料よりも早く酸化した。16 個の配列のうち、配列番号 1、配列番号 4、及び配列番号 5 の 3 つの一本鎖 DNA で L - アスコルビン酸の酸化が防止されることを観察した (図 2)。

20

【0035】

実施例 4 : L - アスコルビン酸とアプタマー配列の結合力の測定

L - アスコルビン酸に結合するアプタマーの結合力を確認するために、MST (Microscale Thermophoresis) 法を用いて結合解離定数 (K_d) を測定した。一本鎖 DNA の 5' に Cy5 の蛍光を付着させ、熱勾配条件で結合力によって現れる信号の差を分析して結合の強度を測定した。(Entzian, C., & Schubert, T. (2016). Studying small molecule - aptamer interactions using MicroScale Thermophoresis (MST). Methods, 97, 27 - 34.)

30

【0036】

一本鎖 DNA アプタマーの濃度は 5 nM で固定し、アスコルビン酸の濃度を 50 μM から 1.53 nM の範囲で濃度勾配をなすように 16 個のチューブに挿入した後、15 分間反応させた。反応した一本鎖 DNA と L - アスコルビン酸をスキャニング毛細管チューブ (4 μl / チューブ) に吸入させた後、Mnolith NT. 11 機器を用いて測定した。前記 OPDA 法で確認された配列番号 1、配列番号 4、配列番号 5 のアプタマーは、それぞれ 280 nM、149 nM、685 nM の K_d 値で測定され、ナノモル (Nanomolarity, nM) レベルの結合力を有することが確認された (図 3)。

40

【0037】

実施例 5 : ビタミン C に特異的に結合する一本鎖 DNA アプタマーの構造類似性の分析

結合力が確認された配列番号 1、配列番号 4、配列番号 5 の一本鎖 DNA アプタマーの二次構造 (Secondary structure) を確認するために、M-fold プログラムを用いた。配列番号 1 の場合、2 つの形態で二次構造を形成でき、配列番号 4 及び配列番号 5 は、それぞれ 3 つ、2 つの形態でステムループ (Stem-loop) 構造を形成できることを確認した。

【0038】

50

この3つ(配列番号1、配列番号4、配列番号5)の一本鎖DNAアプタマーは、ステムループ構造におけるステム構造の末端にCG結合を有し、ループ構造の両側の開始部分がG又はCとして互いに対向している、共通の特徴がある(図4、赤色の四角形)。確認された3つのアプタマーの構造は、 -3.65 、 -1.64 、 -0.86 (kcal/mol)のギブス自由エネルギー値を有する安定した構造をなしている。

【0039】

実施例6：13種の変形配列の酸化防止効果の測定

アプタマーの折り畳み構造の分析を通じて確認された特定の構造配列に基づいて、32個の塩基配列を有する任意の配列を設計して一本鎖DNAを合成した。ステムループ構造で10個の塩基配列を単位体として構成して、5'と3'の両端に1個~2個ずつ含むように任意の一本鎖DNAを作製した。計13種作製した配列番号17~29の一本鎖DNAの酸化防止効果を、OPDA測定法を通じて確認した(図5)。

【0040】

13個の任意の配列は、いずれも、L-アスコルビン酸に対して酸化防止効果があり、5'と3'の両端にステムループ構造を有する配列番号17の一本鎖DNAアプタマーが、計29種の配列(任意に合成して確認した13個の配列及びSELEX過程で選別した16個の配列)の中で酸化防止効果が最も大きいものと示された(図6)。

【0041】

実施例7：変形された2つの配列のKdの測定及び比較

任意の配列(配列番号17~29)のうち酸化防止効果が大きいと確認された2つの配列に対して、MST(Microscale Thermophoresis)分析でアプタマーの結合力を確認した。OPDA法で確認された配列番号17と18の配列は、それぞれ729nMと289nMのKd値で測定値を得た(図7)。OPDA測定法で確認されたものとは異なり、配列番号17のKd値が高く測定されるのは、配列番号17のアプタマーが結合力自体は低い、-OH作用基にはさらに特異的に結合するものと考えられる。

10

20

30

40

50

【表 1】

配列番号	5' to 3'	塩基数 (mer)	備考
配列番号 1	GCACCGACAGGGGAGCGCCTCGCACTGACT	30	ABA1
配列番号 2	GGTGCAAACCAGCGCGCCTCTCTGACGTCG	30	ABA2
配列番号 3	ACGCATGCCGGGCGCGCTCCCTGTCGTCCG	30	ABA3
配列番号 4	CGAGTCAGTGCAGGCGCTCCCTGTCCGT	30	ABA4
配列番号 5	GGGTCTGAGGAGTGCGCGGTGCCAGTGAGT	30	AA-001
配列番号 6	GAACCAACGGAAGCGCGGCACCACAACGGT	30	AA-002
配列番号 7	CGCAACCTGTTCGGCAGTGGGCCTCCGGT	30	AA-003
配列番号 8	GAACTTGCCTACTAGGTGATGCGGATCCCG	30	AA-005
配列番号 9	GAAGCTTGCCTACTAGGTGATGCGGATCCCG	30	AA-006
配列番号 10	GATCAACGGAAGCGCGGCACCACAACGGTA	30	AA-014
配列番号 11	CGAGTCAGGTGGGATGATGTTCCGGGAAGG	30	AA-035
配列番号 12	GGCACAACGGGCGCGCCTCCATGCTGTTCG	30	AAL-001
配列番号 13	TGAACGACGAGGCGCGTCACTGCGTGCC	30	AAL-002
配列番号 14	CGCAGTGTACGCGCCTCGTCTCACTCG	30	AAL-003
配列番号 15	CACAATCGGGGCGCGCTCGTCTCTGGCCG	30	AAL-004
配列番号 16	GGAACAACGGGCGCGCCTCCATGCTGTTCG	30	AAL-005
配列番号 17	GTGGAGGCGGTGGCCAGTCTCGCGGTGGCGGC	32	332-2
配列番号 18	GTGGAGGCGGTGGCCAGTCTCGCGGTGGCGGC	32	332-4
配列番号 19	GTGGAGGCGGTGGCCAGTCTCGCGGTGGCGGC	32	332-8
配列番号 20	GGCGGTGGCCCTGCAAGTCTCGCGGTGGCGGC	32	332-11
配列番号 21	GGCGGTGGCCCTGCAAGTCTCGCGGTGGCGGC	32	332-12
配列番号 22	GCGGCGGTGGCCAGAAGTCTCGCGGTGGCGGC	32	332-13
配列番号 23	CGGGCGGTGGCCAGAAGTCTCGCGGTGGCGGC	32	332-14
配列番号 24	GCGGCGGTGGCCCTGAAGTCTCGCGGTGGCCCG	32	332-15
配列番号 25	GCGGCGGTGGCCCTGAAGTCTCGCGGTGGCCCG	32	332-16
配列番号 26	GCGGCGGTGGCCCTGAAGTCTCGCGGTGGCCCA	32	332-17
配列番号 27	GGCGGTGGCCCTGGAAGTCTCATGGCGGTGGCC	32	332-18
配列番号 28	GTGGCGGTGGCCAGCATAAGGCGGTGGCCAG	32	332-19
配列番号 29	GTGGCGGTGGCCAGCATAAGTGGCGGTGGCCAG	32	332-20

表 1 は、本発明のアプタマー配列を示した表である。

10

20

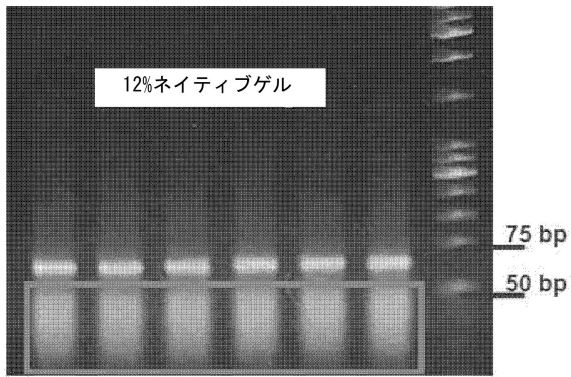
30

40

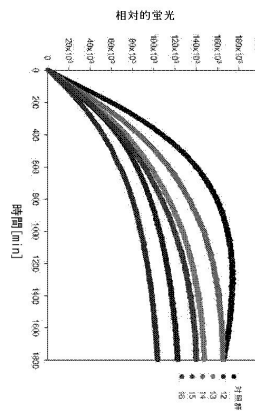
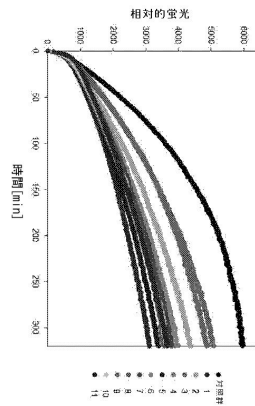
50

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

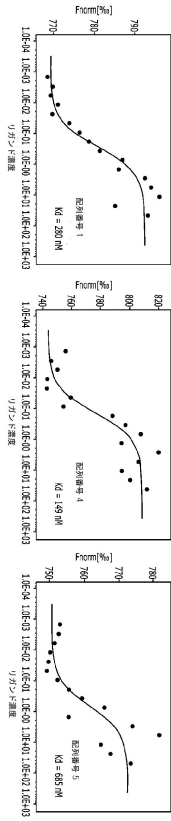
20

30

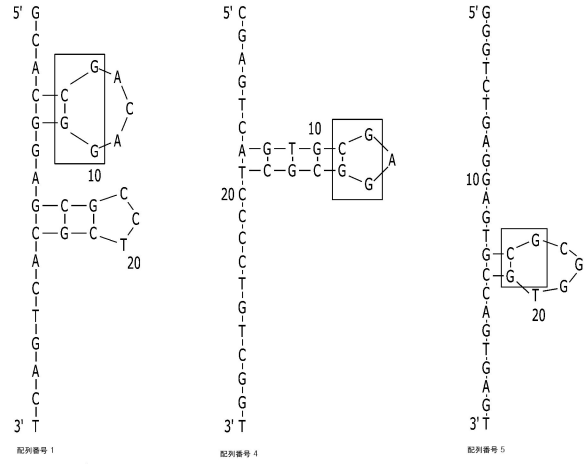
40

50

【 図 3 】



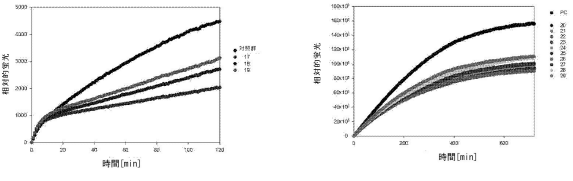
【 図 4 】



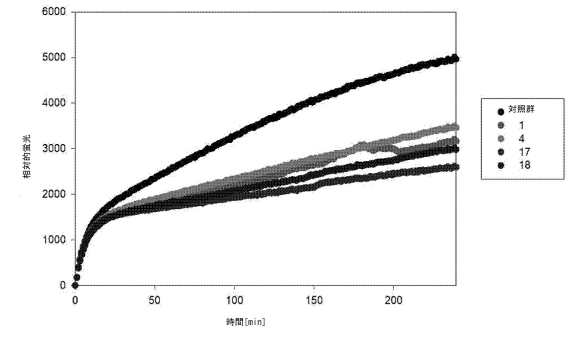
10

20

【 図 5 】



【 図 6 】

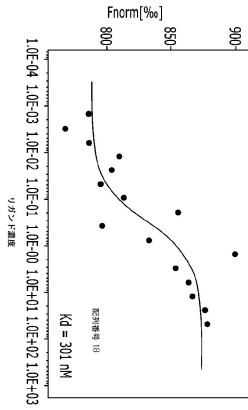
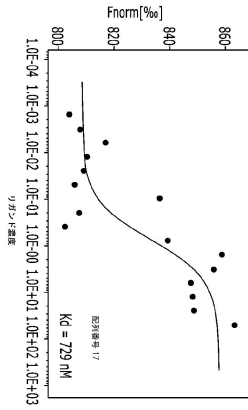


30

40

50

【 7 】



【 配列表 】

[0007158501000001.app](#)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

ル - 口、 72、 チョンソルマウルハンラ アパート、 ハッシュ304 - 1104

審査官 木原 啓一郎

(56)参考文献 国際公開第2018/074763 (WO, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAplus/REGISTRY (STN)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)