



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2007년11월28일  
(11) 등록번호 10-0777249  
(24) 등록일자 2007년11월12일

(51) Int. Cl.

*C07H 21/00* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0014126  
(22) 출원일자 2006년02월14일  
심사청구일자 2006년02월14일  
(65) 공개번호 10-2007-0087936  
공개일자 2007년08월29일  
(56) 선행기술조사문헌  
JP07227284 A  
US6214621 B1  
US6262251 B1

(73) 특허권자

**(주)바이오니아**

대전광역시 대덕구 문평동 49-3

(72) 발명자

**박한오**

대전광역시 유성구 전민동 엑스포아파트 208동 601호

**김재하**

대전광역시 서구 월평동 황실아파트 107동 606호

(74) 대리인

**특허법인태평양**

전체 청구항 수 : 총 27 항

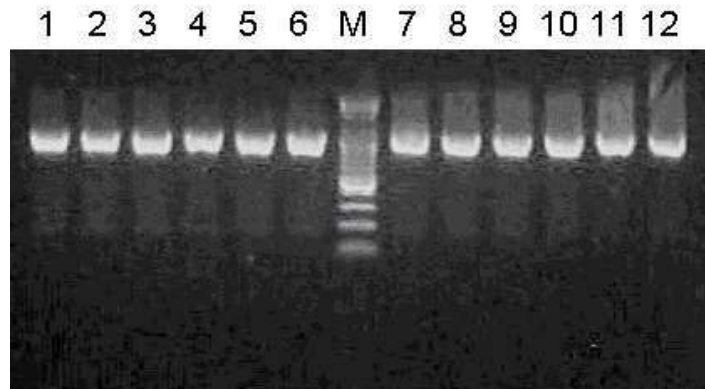
심사관 : 표재호

**(54) 건조 올리고뉴클레오타이드 조성물 및 이의 제조 방법**

**(57) 요약**

본 발명은 건조 올리고뉴클레오타이드 조성물 및 이의 제조 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 올리고뉴클레오타이드의 제조 및 유통과정에서 이탈손실을 방지하기 위해 올리고뉴클레오타이드 용액을 담고 있는 보관 용기에 대해 점착성을 가지는 이탈손실 방지 물질을 첨가하고, 선택적으로는 비반응성 염료 물질을 더 첨가하여 건조 공정을 수행함으로써 제조되는 건조 올리고뉴클레오타이드 조성물 및 이의 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명의 건조 올리고뉴클레오타이드 조성물은 제조 과정 중 또는 제품 포장 후 운송 중에 올리고뉴클레오타이드가 이탈손실 되는 것을 방지할 수 있을 뿐만 아니라, 올리고뉴클레오타이드가 보관 용기내에 존재하는지 여부를 육안으로 쉽게 확인할 수 있으므로, 실험시 올리고뉴클레오타이드의 이탈로 인해 발생할 수 있는 불필요한 인력 및 시간낭비를 해소할 수 있다.

**대표도** - 도1



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

단백질, 수용성 고분자, 비이온계 계면활성제, 올리고당 및 다가 알코올로 구성된 군으로부터 선택되며, 보관 용기에 점착성이 있으면서 올리고뉴클레오티드에는 화학적으로 반응성이 없고, PCR 반응에도 영향을 미치지 않는 이탈손실 방지 물질과 올리고뉴클레오티드를 포함하는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 단백질은 젤라틴, 알부민 및 아세틸레이트화 알부민으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

### 청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 단백질은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

### 청구항 4

제 2항에 있어서,

상기 알부민은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 0.5 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

### 청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 수용성 고분자는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐알코올, 폴리아크릴산, 폴리메타크릴산, 폴리아크릴아미드, 폴리비닐술폰산, 폴리디알릴디메틸 암모늄클로라이드, 폴리비닐피롤리돈, 폴리옥시에틸렌, 폴리비닐아세테이트, 폴리비닐시아노에틸에테르, 하이드록시에틸 셀룰로즈, 셀룰로즈 설페이트, 아밀로펙틴, 폴리에틸렌 글리콜 모노메틸에테르 및 폴리에틸렌 글리콜 터옥틸페닐에테르로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

### 청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 수용성 고분자는 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

### 청구항 7

제 5항에 있어서,

상기 폴리에틸렌 글리콜은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 0.1 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

### 청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 비이온계 계면활성제는 에틸렌글리콜 모노라우레이트, 프로필렌 글리콜 모노라우레이트, 트리글리세롤 모노스테레이트, 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트, 폴리옥시에틸렌소비탄 모노팔미테이트, 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노스테아레이트, 폴리옥시에틸렌소비탄 모노올리에이트, 메틸글루코시드, 옥틸글루코시드, 메틸글루코

시드 모노라우레이트, 및 솔비톨 모노라우레이트로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 9**

제 8항에 있어서,

상기 비이온계 계면활성제는 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 10**

제 8항에 있어서,

상기 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트는 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 0.1 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 11**

제 1항에 있어서,

상기 올리고당은 프락토올리고당, 말토올리고당, 이소말토올리고당, 갈락토올리고당 및 대두 올리고당으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 12**

제 11항에 있어서,

상기 올리고당은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 13**

제 11항에 있어서,

상기 이소말토올리고당은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 0.5 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 14**

제 1항에 있어서,

상기 다가 알코올은 에틸렌글리콜, 글리세린, 트레이톨, 아라비톨, 글루코스, 만니톨, 갈락시톨 및 솔비톨로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 15**

제 14항에 있어서,

상기 다가 알코올은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 16**

제 14항에 있어서,

상기 글리세린은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 0.1 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 17**

제 1항에 있어서,

상기 올리고뉴클레오티드는 DNA 올리고뉴클레오티드, RNA 올리고뉴클레오티드, siRNA 올리고뉴클레오티드 및 이들의 조합인 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 18**

제 1항에 있어서,

브로모페놀 블루, 자일렌시아놀, 브로모크레졸 레드 및 크레졸 레드로 구성된 군으로부터 선택되는 비반응성 염료 물질을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 19**

제 18항에 있어서,

상기 비반응성 염료 물질은 올리고뉴클레오티드에 대해 1 ppm 내지 10,000 ppm의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물.

**청구항 20**

- 1) 올리고뉴클레오티드 및 단백질, 수용성 고분자, 비이온계 계면활성제, 올리고당 및 다가 알코올로 구성된 군으로부터 선택되며, 보관 용기에 점착성이 있으면서 올리고뉴클레오티드에는 화학적으로 반응성이 없고, PCR 반응에도 영향을 미치지 않는 이탈손실 방지 물질을 포함하는 올리고뉴클레오티드 용액을 준비하는 단계; 및
- 2) 상기 결과물 용액을 건조시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 제 1항의 올리고뉴클레오티드 이탈방지 기능성 건조 올리고뉴클레오티드 조성물의 제조 방법.

**청구항 21**

제 20항에 있어서,

상기 1) 단계는

- i) 올리고뉴클레오티드 용액을 준비하는 단계;
- ii) 상기 올리고뉴클레오티드 용액에 이탈손실 방지 물질을 첨가하는 단계; 및
- iii) 이들 소정량을 합성수지 용기에 분주함으로써 수행되는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

**청구항 22**

제 20항에 있어서,

상기 1) 단계는

- i) 올리고뉴클레오티드 용액을 준비하는 단계;
- ii) 소정량의 올리고뉴클레오티드 용액을 합성수지 용기에 분주하는 단계; 및
- iii) 상기 합성수지 용기에 이탈손실 방지 물질을 첨가함으로써 수행되는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

**청구항 23**

제 20항 내지 제 22항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 합성수지 용기는 플레이트, 튜브 또는 병의 형태인 것을 특징으로 하는 제조 방법.

**청구항 24**

제 20항에 있어서,

상기 이탈손실 방지 물질은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

**청구항 25**

제 20항에 있어서,

상기 제 1) 단계의 올리고뉴클레오티드 용액에 수용성이며 PCR 반응에 영향을 미치지 않는 비반응성 염료 물질을 유효량 첨가하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

**청구항 26**

제 25항에 있어서,

상기 비반응성 염료 물질은 브로모페놀 블루, 자일렌시아놀, 브로모크레졸 레드 및 크레졸 레드로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

**청구항 27**

제 25항 또는 제 26항에 있어서,

상기 비반응성 염료 물질은 올리고뉴클레오티드에 대해 1 ppm 내지 1,000 ppm의 함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**발명의 목적**

**발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술**

- <30> 본 발명은 건조 올리고뉴클레오티드 조성물 및 이의 제조 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 건조 및/또는 운송 과정에서 올리고뉴클레오티드의 이탈손실을 방지할 수 있는 건조 올리고뉴클레오티드 조성물 및 이의 제조 방법에 관한 것이다.
- <31> 최근 인간 게놈 프로젝트가 완료된 이후 인간 유전자에 대한 연구가 급속히 진행되고 있다. 이에 따라 유전자 기능 연구, 유전자 단일염기다양성(SNP, single nucleotide polymorphism) 연구, 유전자 칩 연구, 유전자 신약 연구 등에 필수적으로 사용되는 올리고뉴클레오티드의 사용량도 크게 증가하고 있는 추세이다.
- <32> 올리고뉴클레오티드는 1967년도에 화학적 합성법이 최초 발표된 이후(Khorana, Proceedings of the Seventh International Congress of Biochemistry, Tokyo, 1967, p17) 그 합성 방법이 더욱 개선되어 왔다. 올리고뉴클레오티드의 상업적 생산 공정은 합성, 회수, 정제, 정량, 건조 및 포장 공정으로 이루어져 있는데, 첫 올리고뉴클레오티드 합성 공정은 고체 실리카 지지체를 이용하여 유전자를 구성하는 기초 염기 물질인 아데노신(adenosine), 구아노신(guanosine), 시티딘(cytidine), 티미딘(thymidine)을 순차적으로 붙여가며 합성하게 된다. 한 개의 염기를 순차적으로 붙일 때마다 디블로킹(de-blocking) 반응, 커플링(coupling) 반응, 캐핑(capping) 반응 및 산화 반응의 4단계를 거쳐 올리고뉴클레오티드를 합성하게 된다. 두 번째 공정은 합성된 올리고뉴클레오티드를 고체지지체(solid support)에서 떼어내는 회수반응 공정인데, 이때 90℃에서 2시간 이상 암모니아수와 반응시켜 올리고뉴클레오티드를 회수하게 된다. 세 번째 공정은 합성된 올리고뉴클레오티드를 역상 실리카 수지를 사용하여 크로마토그래프 원리를 이용하여 정제하게 된다. 정제 공정에 의해 올리고뉴클레오티드 외의 불순물들이 제거된다. 다음으로 정량 공정은 정제된 올리고뉴클레오티드를 UV 장비(UV spectrophotometer)를 사용하여 흡광도를 측정하고 이로부터 합성된 올리고뉴클레오티드의 몰수를 계산하여 얻어낸다. 이후, 합성된 전체 올리고뉴클레오티드에서 일정량의 몰수에 따른 분량을 튜브 또는 플레이트 등의 보관 용기에 분주한다. 분주된 올리고뉴클레오티드는 건조기를 사용하여 건조하는 공정을 거친 후, 건조된 올리고뉴클레오티드는 포장 공정에서 라벨을 붙이고 포장박스에 넣어 출고하게 되며, 운송과정을 거쳐 사용자에게 전달된다.
- <33> 올리고뉴클레오티드는 주로 PCR에 사용되는데, PCR은 게놈상에 증폭시키고자 하는 부분의 양 말단 염기서열을 주형(template)으로 하여 화학 합성된 2가지 올리고뉴클레오티드(통상 프라이머라 함)와 DNA 중합효소를 사용하여 원하는 DNA 서열을 증폭시키는 반응이다. 이러한 PCR에는 통상 매우 미량의 올리고뉴클레오티드만이 사용되므로, 미량의 단위로 올리고뉴클레오티드를 포장한 후 제품으로 판매되고 있다. 따라서, 판매되는 올리고뉴클

레오티드는 용기 내에 소량(ng 내지  $\mu\text{g}$ )을 넣기 때문에 그 양이 너무 미량이고, 성상도 무색투명하기 때문에 제조 및 판매하는 과정에서 육안으로는 그 존재 여부를 확인하는 것이 어렵다.

<34> 제조과정에서 미량의 올리고뉴클레오티드를 보관 용기에 분주한 후 건조시켜 제조된 올리고뉴클레오티드 제품을 유통하는 경우, 미량의 올리고뉴클레오티드를 건조하는 과정이나 또는 이렇게 건조된 올리고뉴클레오티드 제품을 운송하는 과정에서 올리고뉴클레오티드가 용기 밖 또는 용기 뚜껑에 이탈손실되는 경우가 발생하게 되어도 이의 유무를 확인할 길이 없다. 만일, 올리고뉴클레오티드가 제품의 건조, 저장 또는 운송 과정 중에 손실된 경우에는 실제 PCR을 수행하더라도 용기에 남아있는 프라이머의 양이 없거나 극히 적게되고, 사용자는 이러한 용기에 올리고뉴클레오티드가 정량으로 있는 것으로 착각하고 PCR을 수행하게 되므로, 이러한 경우에는 실질적으로 PCR 반응이 일어나지 않거나 강도가 약하게 되어 올바른 실험결과가 나오지 않게 된다. 이는 결과적으로 시간낭비, 비용낭비, 인력낭비를 초래하게 된다.

### 발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<35> 본 발명은 상기와 같은 종래 올리고뉴클레오티드의 건조, 보관 또는 운송상의 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 올리고뉴클레오티드의 건조, 보관 또는 운송 과정에서 상기 올리고뉴클레오티드가 이탈되어 손실되는 것을 방지하기 위한 건조 올리고뉴클레오티드 조성물 및 이의 제조 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

### 발명의 구성 및 작용

<36> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 올리고뉴클레오티드 용액을 담고 있는 보관 용기에 대해 점착성을 갖는 이탈손실 방지 물질과 상기 올리고뉴클레오티드를 포함하는 건조 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공한다.

<37> 또한, 본 발명은 올리고뉴클레오티드 용액에 하나 이상의 이탈손실 방지 물질을 첨가한 후 건조시킴으로써 제조되는 상기 건조 올리고뉴클레오티드 조성물의 제조 방법을 제공한다.

<38> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<39> 본 발명은 올리고뉴클레오티드 용액을 담고 있는 보관 용기에 대해 점착성을 갖는 이탈손실 방지 물질과 상기 올리고뉴클레오티드를 포함하는 건조 올리고뉴클레오티드 조성물을 제공한다.

<40> 본 발명에 있어서, "올리고뉴클레오티드"란 1 내지 수백 염기쌍의 길이를 갖는 비교적 짧은 길이의 핵산을 의미하는 것으로서, DNA 올리고뉴클레오티드, RNA 올리고뉴클레오티드, siRNA 올리고뉴클레오티드 등을 포함한다. 또한, "보관 용기"는 상기 올리고뉴클레오티드 제조 후 시판을 위하여 이를 담고 있는 용기를 의미하는 것으로, 폴리프로필렌 등의 합성수지 용기인 것이 바람직하나 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

<41> 먼저, 올리고뉴클레오티드 제품의 제조시 화학합성된 올리고뉴클레오티드 용액을 건조하는 과정에서 이탈손실되는 경우를 구체적 살펴보면 다음과 같다. 올리고뉴클레오티드를 화학적으로 합성한 후 적정량을 나노몰 정도의 단위로 보관 용기, 바람직하게는 폴리프로필렌 보관 용기, 예를 들면 2 ml 폴리프로필렌 튜브 또는 96-웰 폴리프로필렌 플레이트에 액체 상태로 녹아 있는 올리고뉴클레오티드 용액을 10  $\mu\text{l}$  내지 1,000  $\mu\text{l}$  양으로 분주한 후, 제조 공정의 마지막 단계인 올리고뉴클레오티드 용액의 건조 공정을 거치게 된다. 건조 공정에서는 올리고뉴클레오티드를 담고 있는 보관 용기, 바람직하게는 폴리프로필렌 보관 용기를 건조기, 바람직하게는 진공 건조기에 장착하여 건조시키게 되는데, 진공 건조기에서 3시간 이상 진공 건조하면 수분을 포함하는 버퍼 용액이 제거되게 된다. 건조기 내에서 버퍼 용액이 증발하게 되면 건조된 상태의 올리고뉴클레오티드가 남게 되는데, 이 경우 건조 과정 중에 올리고뉴클레오티드가 건조기 안에서 폴리프로필렌 보관 용기 밖으로 튀어나가 버리는 경우가 빈번히 일어나게 된다. 올리고뉴클레오티드는 무색투명하고 나노몰 단위의 소량이기 때문에 그 존재를 육안으로 확인하는 것이 실질적으로 불가능하므로, 만일 건조 과정에서 손실되었을 경우 이를 확인할 수 있는 방법이 전혀 없고, 올리고뉴클레오티드 제품의 존재 여부가 확인되지 않은 상태에서 시중에 판매되게 된다.

<42> 또한, 올리고뉴클레오티드는 건조 공정 후 보관 또는 운송 과정에서도 이탈손실되는 경우가 있는데, 건조된 올리고뉴클레오티드를 보관 용기에 넣어 제품이 출하된 후, 운송 중에 건조된 올리고뉴클레오티드가 폴리프로필렌 보관 용기 바닥에 고정되어 붙어있지 않고 떨어져서 보관 용기의 윗부분 뚜껑에 붙어버리게 되는 경우가 있다. 이 경우, 사용자는 튜브나 플레이트 내부에 올리고뉴클레오티드가 있을 것으로 믿고 버퍼 용액을 넣어 올리고뉴클레오티드를 녹여 PCR 등의 실험에 사용하게 되어, 결국 프라이머 없이 PCR 등의 실험을 하게 되므로 원하는 실험 결과를 얻지 못하는 경우가 발생하게 된다.

<43> 따라서, 본 발명에서는 건조, 보관 또는 운송 과정에서 올리고뉴클레오티드가 이탈손실되는 문제를 해결하기 위

하여, 건조 공정 전에 이탈손실 방지 물질을 올리고뉴클레오티드 용액에 일정량을 첨가한 후 건조공정을 수행함으로써 올리고뉴클레오티드의 건조 과정 중에 올리고뉴클레오티드가 이탈손실되는 것을 방지하였다.

- <44> 이때, "이탈손실 방지 물질"은 보관 용기, 바람직하게는 합성수지 용기, 더욱 바람직하게는 폴리프로필렌 보관 용기에 점착성이 있으면서 올리고뉴클레오티드에는 화학적으로 반응성이 없고, PCR 반응에도 영향을 미치지 않는 것이어야 한다. 본 발명자들은 이러한 조건을 만족시키는 물질을 찾기 위해 노력한 결과, 단백질, 수용성 고분자, 비이온계 계면활성제, 올리고당 또는 다가 알코올이 이러한 조건을 만족시킨다는 것을 발견하고 본 발명을 완성하였다. 이중에서도 다가 알코올을 사용하는 것이 바람직하다.
- <45> 상기 단백질은 젤라틴, 알부민(albumin) 또는 아세틸레이트화 알부민인 것이 바람직하지만, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 단백질은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함될 수 있으며, 0.01 내지 0.5 중량부의 함량으로 포함되는 것이 바람직하다. 만일, 5 중량부를 초과하게 되면 올리고뉴클레오티드 물질에 영향을 미치는 문제점이 있고, 0.01 중량부 미만이면 이탈손실 방지제로 기능을 못하는 문제점이 있다.
- <46> 또한, 상기 수용성 고분자는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐알코올(polyvinyl alcohol), 폴리아크릴산(polyacrylic acid), 폴리메타크릴산(polymethacrylic acid), 폴리아크릴아미드(polyacrylamide), 폴리비닐술포산(polyvinyl sulfonic acid), 폴리디알릴디메틸 암모늄클로라이드(polydiallyldimethyl ammonium chloride), 폴리비닐피롤리돈(polyvinyl pyrrolidone), 폴리옥시에틸렌(polyoxyethylene), 폴리비닐아세테이트(polyvinyl acetate), 폴리비닐시아노에틸에테르(polyvinylcyanoethyl ether), 하이드록시에틸 셀룰로즈(hydroxyethyl cellulose), 셀룰로즈 설페이트(cellulose sulfate), 아밀로펙틴(amylopectin), 폴리에틸렌 글리콜 모노메틸에테르(polyethylene glycol monomethyl ether) 또는 폴리에틸렌 글리콜 터옥틸페닐에테르(polyethylene glycol tert-octylphenyl ether)인 것이 바람직하지만, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 수용성 고분자는 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함될 수 있으며, 0.01 내지 0.1 중량부의 함량으로 포함되는 것이 바람직하다. 만일, 5 중량부를 초과하게 되면 올리고뉴클레오티드 물질에 영향을 미치는 문제점이 있고, 0.01 중량부 미만이면 이탈손실 방지제로 기능을 못하는 문제점이 있다.
- <47> 상기 비이온계 계면활성제는 에틸렌글리콜 모노라우레이트(ethylene glycol monolaurate), 프로필렌 글리콜 모노라우레이트(propylene glycol monolaurate), 트리글리세롤 모노스테레이트(triglycerol monostearate), 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트, 폴리옥시에틸렌소비탄 모노팔미테이트(polyoxyethylene sorbitan monopalmitate), 폴리옥시에틸렌소비탄 모노스테아레이트(polyoxyethylene sorbitan monostearate), 폴리옥시에틸렌소비탄 모노올리레이트(polyoxyethylene sorbitan monooleate), 메틸글루코시드(methyl glucoside), 옥틸글루코시드(octyl glucoside), 메틸글루코시드 모노라우레이트(methyl glucoside monolaurate) 또는 솔비톨 모노라우레이트(sorbitol monolaurate)인 것이 바람직하지만, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 비이온계 계면활성제는 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함될 수 있으며, 0.01 내지 0.1 중량부의 함량으로 포함되는 것이 바람직하다. 만일, 5 중량부를 초과하게 되면 올리고뉴클레오티드 물질에 영향을 미치는 문제점이 있고, 0.01 중량부 미만이면 이탈손실 방지제로 기능을 못하는 문제점이 있다.
- <48> 상기 올리고당은 프락토올리고당(fructo oligosaccharide), 말토올리고당(malto oligosaccharide), 이소말토올리고당, 갈락토올리고당(galacto oligosaccharide) 또는 대두 올리고당(soybeen oligosaccharide)인 것이 바람직하지만, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 올리고당은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함될 수 있으며, 0.01 내지 0.5 중량부의 함량으로 포함되는 것이 바람직하다. 만일, 5 중량부를 초과하게 되면 올리고뉴클레오티드 물질에 영향을 미치는 문제점이 있고, 0.01 중량부 미만이면 이탈손실 방지제로 기능을 못하는 문제점이 있다.
- <49> 상기 다가 알코올은 에틸렌글리콜, 글리세린, 트레itol(threitol), 아라비톨(arabitol), 글루코스(glucose), 만니톨(mannitol), 갈락시톨(galactitol), 솔비톨(sorbitol)인 것이 바람직하지만, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 다가 알코올은 올리고뉴클레오티드 100 중량부에 대해 0.01 내지 5 중량부의 함량으로 포함될 수 있으며, 0.01 내지 0.1 중량부의 함량으로 포함되는 것이 바람직하다. 만일, 5 중량부를 초과하게 되면 올리고뉴클레오티드 물질에 영향을 미치는 문제점이 있고, 0.01 중량부 미만이면 이탈손실 방지제로 기능을 못하는 문제점이 있다.
- <50> 한편, 본 발명은 건조 올리고뉴클레오티드에 색깔을 부여하기 위해 올리고뉴클레오티드에 대해 반응성이 없는 염료 물질을 더 첨가할 수도 있다.

- <51> 상기에서 설명한 바와 같이 올리고뉴클레오타이드는 무색투명하므로 폴리프로필렌 보관 용기 내에 존재하는지 여부를 육안으로 확인할 수 없다. 그러므로, 본 발명에서는 이러한 건조 올리고뉴클레오타이드가 폴리프로필렌 용기에 존재하는지 여부를 육안으로 용이하게 확인할 수 있게 하기 위해 상기 올리고뉴클레오타이드 및 이탈손실 방지 물질에 대해 비반응성 염료 물질을 건조 공정 전에 올리고뉴클레오타이드 용액에 일정량을 추가로 첨가하여 건조함으로써 올리고뉴클레오타이드가 폴리프로필렌 보관 용기에 있는지 여부를 용이하게 식별할 수 있다.
- <52> 상기에서, "비반응성 염료 물질"은 올리고뉴클레오타이드 및 이탈손실 방지 물질과 화학적 반응성이 없고 PCR 반응에도 영향을 미치지 않는 물질로부터 선택되어야 하며, 이러한 조건을 만족시키는 물질로는 브로모페놀 블루(bromophenol blue), 자일렌시아놀(xylene cyanole), 브로모크레졸 레드(bromocresol red), 크레졸 레드(cresol red) 등의 수용성 염료를 들 수 있고, 이 중에서도 자일렌시아놀을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 비반응성 염료 물질은 올리고뉴클레오타이드에 대해 1 ppm 내지 10,000 ppm의 함량으로 포함될 수 있으며, 1 ppm 내지 1,000 ppm의 함량으로 포함되는 것이 바람직하다. 만일, 비반응성 염료 물질이 10,000 ppm을 초과하게 되면 올리고뉴클레오타이드 물성에 영향을 주는 문제점이 있고, 1 ppm 미만이면 보관 용기에 있는지의 식별을 할 수 없는 문제점이 있다.
- <53> 또한, 본 발명은
- <54> 1) 올리고뉴클레오타이드에 단백질, 수용성 고분자, 비이온계 계면활성제, 올리고당 및 다가 알코올로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 이탈손실 방지 물질을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 용액을 준비하는 단계; 및
- <55> 2) 상기 결과물 용액을 건조시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 상기 건조 올리고뉴클레오타이드 조성물의 제조 방법을 제공한다.
- <56> 상기에서, 이탈손실 방지 물질은 상기에서 언급한 바와 같이 단백질, 수용성 고분자, 비이온계 계면활성제, 올리고당 및 다가 알코올로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 물질이 단독 또는 조합으로 사용될 수 있다. 이 중에서도 다가 알코올을 사용하는 것이 바람직하다.
- <57> 본 발명에 있어서, 건조 올리고뉴클레오타이드 조성물은 상기 1) 단계 후 또는 상기 2) 단계 후에 보관 용기에 분주될 수 있다. 즉, 1) 단계 후에 보관용기에 분주하는 경우에는 상기 올리고뉴클레오타이드 용액을 합성수지 용기, 바람직하게는 폴리프로필렌 용기에 소정량으로 분주한 후 각 용기에 이탈손실 방지 물질을 첨가하고, 이어서 각 용기를 건조시키는 단계를 거친다. 또, 2) 단계 후에 보관 용기에 분주하는 경우에는 올리고뉴클레오타이드 용액에 하나 이상의 이탈손실 방지 물질을 첨가한 혼합 용액을 먼저 제조한 후 이를 합성수지 용기에 분주한 후 건조시키는 단계를 거친다. 상기에서, 합성수지 용기는 플레이트, 튜브 또는 병과 같은 다양한 형태일 수 있으며, 특별한 형태에 한정되는 것은 아니다.
- <58> 또한, 본 발명의 건조 올리고뉴클레오타이드 조성물은 상기 올리고뉴클레오타이드 용액에 비반응성 염료 물질을 유효량 첨가한 후 건조시켜 제조할 수도 있다. 상기에서, 비반응성 염료 물질은 브로모페놀 블루, 자일렌시아놀, 브로모크레졸 레드, 크레졸 레드 등의 수용성 염료가 사용될 수 있는데, 이 중에서도 자일렌시아놀을 사용하는 것이 바람직하다.
- <59> 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.
- <60> 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- <61> 이탈손실 방지 물질이 건조 DNA 올리고뉴클레오타이드에 미치는 영향
- <62> 다가알코올이 미치는 영향
- <63> <실시예 1> 글리세린
- <64> 서열번호 1로 기재되는 염기서열을 가지는 정방향(forward) 올리고뉴클레오타이드 프라이머(5'-AAT ATG AGC CAG CGG GGA TT-3') 및 서열번호 2로 기재되는 염기서열을 가지는 역방향(reverse) 올리고뉴클레오타이드 프라이머(5'-CAT CCA GAA AAC GGG CGT AA-3')를 화학적으로 합성한 후, UV-분광계(spectrophotometer)를 사용하여 OD(optical density) 값이 2가 되도록 각각 5개씩 2세트 합계 10개를 정량한 후 폴리프로필렌 보관 용기에 200  $\mu$ l 씩 분주하였다. 여기에 이탈손실 방지 물질로 글리세린 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu$ l를 첨가하고, 진공 원심분리기에 장착한 후 할로젠 램프를 사용하여 가열하며, 1토르 이하 진공 상태로 4시간 이상 건조 공정을 수행하여 건조 올리고뉴클레오타이드를 제조하였다. 올리고뉴클레오타이드의 존재 여부를 확인하기 위해, 상기 건조 올리고뉴



클레오티드 10개를 다시 200  $\mu\text{l}$ 의 초순수를 사용하여 녹여 UV-분광계를 사용하여 정량한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 1).

**표 1**

<65> 글리세린을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.99	없음
2	2	1.92	없음
3	2	2.00	없음
4	2	2.06	없음
5	2	2.02	없음
6	2	1.88	없음
7	2	1.92	없음
8	2	2.13	없음
9	2	2.00	없음
10	2	1.94	없음
평균	2	1.98	

<66> <실시예 2~5> 글리세린 이외의 다가알코올

<67> 글리세린 이외의 다른 다가알코올인 에틸렌글리콜 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu\text{l}$ , 글루코스 0.1%(w/v) 희석액 10  $\mu\text{l}$ , 솔비톨 0.1%(w/v) 희석액 10  $\mu\text{l}$ , 만니톨 0.1%(w/v) 희석액 10  $\mu\text{l}$ 을 사용하여 상기 실시예 1과 동일한 방식으로 실험을 수행한 결과, 글리세린을 사용한 경우와 동일하게 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 2 내지 표 5).

**표 2**

<68> 에틸렌글리콜을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.99	없음
2	2	1.97	없음
3	2	2.02	없음
4	2	1.79	없음
5	2	2.00	없음
6	2	1.88	없음
7	2	1.95	없음
8	2	1.91	없음
9	2	1.90	없음
10	2	2.01	없음
평균	2	1.94	

**표 3**

<69> 글루코스를 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	2.00	없음
2	2	2.02	없음
3	2	2.01	없음

4	2	2.06	없음
5	2	1.88	없음
6	2	1.83	없음
7	2	1.88	없음
8	2	1.99	없음
9	2	1.92	없음
10	2	2.05	없음
평균	2	1.96	

표 4

<70> 술비틀을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	2.01	없음
2	2	2.02	없음
3	2	1.82	없음
4	2	1.97	없음
5	2	1.77	없음
6	2	1.83	없음
7	2	1.82	없음
8	2	1.88	없음
9	2	1.96	없음
10	2	1.71	없음
평균	2	1.88	

표 5

<71> 만니톨을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.82	없음
2	2	1.87	없음
3	2	1.85	없음
4	2	1.82	없음
5	2	1.95	없음
6	2	1.79	없음
7	2	1.79	없음
8	2	1.89	없음
9	2	1.77	없음
10	2	1.91	없음
평균	2	1.85	

<72> 올리고당이 미치는 영향

<73> <실시예 6> 이소말토올리고당

<74> 이탈손실 방지 물질로 이소말토올리고당 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu$ l를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실험을 수행한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 6).

**표 6**

<75> 이소말토올리고당을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No1.	분주 OD	건조후 OD	손실
1	2	1.93	없음
2	2	1.95	없음
3	2	1.91	없음
4	2	1.98	없음
5	2	1.94	없음
6	2	1.97	없음
7	2	1.96	없음
8	2	1.99	없음
9	2	1.92	없음
10	2	2.05	없음
평균	2	1.96	

<76> <실시예 7> 이소말토올리고당 이외의 올리고당

<77> 이소말토올리고당 이외의 다른 올리고당인 말토올리고당 0.05%(w/v) 희석액 10  $\mu$ l을 사용하여 상기와 동일한 방식으로 실험을 수행한 결과, 이소말토올리고당을 사용한 경우와 동일하게 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 7).

**표 7**

<78> 말토올리고당을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.74	없음
2	2	1.77	없음
3	2	2.04	없음
4	2	2.06	없음
5	2	1.98	없음
6	2	1.78	없음
7	2	1.90	없음
8	2	2.00	없음
9	2	2.01	없음
10	2	1.97	없음
평균	2	1.92	

<79> 비이온계 계면활성제가 미치는 영향

<80> <실시예 8> 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트

<81> 이탈손실 방지 물질로 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu$ l를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실험을 수행한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 8).

**표 8**

<82> 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 함유 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조후 OD	손실
1	2	2.01	없음
2	2	1.94	없음
3	2	1.69	없음
4	2	2.00	없음
5	2	1.94	없음
6	2	2.05	없음
7	2	1.94	없음
8	2	1.89	없음
9	2	2.06	없음
10	2	1.91	없음
평균	2	1.94	

<83> <실시에 9~11> 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 이외의 비이온계 계면활성제

<84> 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 이외의 다른 비이온계 계면활성제인 소비탄 모노라우레이트 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu$ l, 메틸 글루코시드 0.1%(w/v) 희석액 10  $\mu$ l, 옥틸 글루코시드 0.1%(w/v) 희석액 10  $\mu$ l를 사용하여 상기와 동일한 방식으로 실험을 수행한 결과, 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트를 사용한 경우와 동일하게 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 9 내지 표 11).

**표 9**

<85> 소비탄 모노라우레이트를 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.98	없음
2	2	2.00	없음
3	2	1.91	없음
4	2	1.86	없음
5	2	1.82	없음
6	2	1.83	없음
7	2	1.85	없음
8	2	1.75	없음
9	2	1.92	없음
10	2	2.01	없음
평균	2	1.89	

**표 10**

<86> 메틸 글루코시드를 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.99	없음
2	2	2.13	없음
3	2	1.91	없음
4	2	1.75	없음
5	2	1.75	없음
6	2	1.79	없음

7	2	1.89	없음
8	2	1.83	없음
9	2	1.77	없음
10	2	1.86	없음
평균	2	1.87	

**표 11**

<87> 옥틸 글루코시드를 포함하는 올리고뉴클레오타드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.94	없음
2	2	1.90	없음
3	2	1.78	없음
4	2	1.77	없음
5	2	1.73	없음
6	2	1.87	없음
7	2	1.87	없음
8	2	1.86	없음
9	2	1.96	없음
10	2	1.90	없음
평균	2	1.86	

<88> 수용성 고분자가 미치는 영향

<89> <실시예 12> 폴리에틸렌 글리콜

<90> 이탈손실 방지 물질로 폴리에틸렌 글리콜(MW: 8,000) 0.1%(w/v) 희석액 10  $\mu$ l를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실험을 수행한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오타드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 12).

**표 12**

<91> 폴리에틸렌 글리콜을 포함하는 올리고뉴클레오타드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	2.14	없음
2	2	1.93	없음
3	2	2.01	없음
4	2	2.06	없음
5	2	2.00	없음
6	2	2.06	없음
7	2	2.03	없음
8	2	1.98	없음
9	2	1.94	없음
10	2	2.03	없음
평균	2	2.02	

<92> <실시예 13~15> 폴리에틸렌 글리콜 이외의 수용성 고분자

<93> 폴리에틸렌 글리콜 이외의 다른 수용성 고분자인 폴리비닐알코올 0.01%(w/v) 희석액 10  $\mu$ l, 폴리아크릴산 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu$ l, 폴리메타크릴산 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu$ l을 사용하여 상기와 동일한 방식으로 실험을

수행한 결과, 폴리폴리에틸렌 글리콜을 사용한 경우와 동일하게 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 13 내지 표 15).

**표 13**

<94> 폴리비닐알코올을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.97	없음
2	2	1.91	없음
3	2	1.74	없음
4	2	1.84	없음
5	2	1.81	없음
6	2	1.73	없음
7	2	1.94	없음
8	2	2.08	없음
9	2	2.11	없음
10	2	1.13	없음
평균	2	1.93	

**표 14**

<95> 폴리아크릴산을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	2.00	없음
2	2	1.97	없음
3	2	2.00	없음
4	2	1.96	없음
5	2	1.94	없음
6	2	1.67	없음
7	2	1.83	없음
8	2	1.88	없음
9	2	1.95	없음
10	2	2.02	없음
평균	2	1.92	

**표 15**

<96> 폴리메타크릴산을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.83	없음
2	2	2.07	없음
3	2	2.00	없음
4	2	2.08	없음
5	2	1.87	없음
6	2	1.91	없음
7	2	1.92	없음
8	2	1.85	없음
9	2	1.82	없음

10	2	1.91	없음
평균	2	1.93	

<97> 단백질이 미치는 영향

<98> <실시예 16> 소혈청알부민

<99> 이탈손실 방지 물질로 소혈청알부민(BSA) 0.05%(w/v) 희석액 10  $\mu$ l를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실험을 수행한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 16).

**표 16**

<100> 소혈청알부민(BSA)을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.88	없음
2	2	1.83	없음
3	2	2.00	없음
4	2	2.10	없음
5	2	2.08	없음
6	2	1.99	없음
7	2	2.07	없음
8	2	1.92	없음
9	2	1.88	없음
10	2	1.78	없음
평균	2	1.95	

<101> <실시예 17> 소혈청알부민 이외의 단백질

<102> 소혈청알부민 이외의 다른 단백질인 젤라틴 0.01%(w/v) 희석액 10  $\mu$ l을 사용하여 상기와 동일한 방식으로 실험을 수행한 결과, 소혈청알부민을 사용한 경우와 동일하게 건조 공정을 거친 후에도 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 17).

**표 17**

<103> 젤라틴을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조 후 OD	손실
1	2	1.74	없음
2	2	1.89	없음
3	2	1.95	없음
4	2	1.95	없음
5	2	1.83	없음
6	2	1.90	없음
7	2	1.88	없음
8	2	1.82	없음
9	2	1.98	없음
10	2	1.79	없음
평균	2	1.87	

<104> 비교예 1

<105> 비교를 위하여 이탈손실 방지 물질을 포함하지 않은 올리고뉴클레오타이드를 OD 값이 2가 되도록 10개의 보관 용기에 200  $\mu$ l씩 분주한 후 건조기에서 4시간 건조 과정을 거쳐서 제품을 제조하였다. 이렇게 제조된 제품 10개를 다시 200  $\mu$ l의 초순수를 사용하여 녹이고 UV-분광계를 사용하여 정량한 결과, 올리고뉴클레오타이드가 부분적으로 손실된 것을 확인하였다(표 18).

**표 18**

<106> 글리세린을 포함하지 않는 올리고뉴클레오타이드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조후 OD	손실
1	2	0.11	손실
2	2	2.06	없음
3	2	1.94	없음
4	2	2.13	없음
5	2	0.07	손실
6	2	2.06	없음
7	2	0.95	손실
8	2	1.44	손실
9	2	0.22	손실
10	2	1.88	없음
평균	2	1.28	

<107> 이탈손실 방지 물질이 건조 RNA 올리고뉴클레오타이드에 미치는 영향

<108> <실시예 18> 다가알코올이 미치는 영향

<109> 서열번호 3으로 기재되는 염기서열을 가지는 센스(sense)방향 siRNA 올리고뉴클레오타이드(5'-CCA AGU AAC UCU CCU CAA AUA dTdT-3') 및 서열번호 4로 기재되는 염기서열을 가지는 안티센스(antisense)방향 siRNA 올리고뉴클레오타이드(5'-UAU UUG AGG AGA GUU ACU UGG dTdT-3')를 화학적으로 합성한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 글리세린 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu$ l를 첨가하여 실험을 수행한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 siRNA 올리고뉴클레오타이드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 19). 또한, 글리세린 대신 다른 다가알코올인 에틸렌글리콜, 글루코스, 솔비톨 또는 만니톨을 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.

**표 19**

<110> 글리세린을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오타이드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조후 OD	손실
1	2	1.83	없음
2	2	1.91	없음
3	2	1.94	없음
4	2	1.90	없음
5	2	1.97	없음
6	2	1.94	없음
7	2	1.99	없음
8	2	2.03	없음
9	2	1.84	없음
10	2	1.90	없음
평균	2	1.93	

<111> <실시예 19> 올리고당이 미치는 영향



<112> 이탈손실 방지 물질로 이소말토올리고당 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu$ l를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 18과 동일한 방법으로 실험을 수행한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 siRNA 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 20). 또한, 이소말토올리고당 대신 다른 올리고당인 말토올리고당을 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.

**표 20**

<113> 이소말토올리고당을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No1.	분주 OD	건조후 OD	손실
1	2	1.68	없음
2	2	1.91	없음
3	2	1.86	없음
4	2	2.03	없음
5	2	2.16	없음
6	2	1.72	없음
7	2	1.78	없음
8	2	1.77	없음
9	2	1.73	없음
10	2	1.85	없음
평균	2	1.85	

<114> <실시예 20> 비이온계 계면활성제가 미치는 영향

<115> 이탈손실 방지 물질로 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 0.25%(v/v) 희석액 10  $\mu$ l를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 18과 동일한 방법으로 실험을 수행한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 siRNA 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 21). 또한, 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 대신 다른 비이온계 계면활성제인 소비탄 모노라우레이트, 메틸 글루코시드 또는 옥틸 글루코시드를 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.

**표 21**

<116> 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 함유 siRNA 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조후 OD	손실
1	2	2.11	없음
2	2	2.00	없음
3	2	2.05	없음
4	2	2.03	없음
5	2	1.83	없음
6	2	1.82	없음
7	2	1.75	없음
8	2	1.77	없음
9	2	2.05	없음
10	2	1.80	없음
평균	2	1.92	

<117> <실시예 21> 수용성 고분자가 미치는 영향

<118> 이탈손실 방지 물질로 폴리에틸렌 글리콜(MW: 8,000) 0.1%(w/v) 희석액 10  $\mu$ l를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 18과 동일한 방법으로 실험을 수행한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 siRNA 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 22). 또한, 폴리에틸렌 글리콜 대신 다른 수용성 고분

자인 폴리비닐알코올, 폴리아크릴산 또는 폴리메타크릴산을 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.

**표 22**

<119> 폴리에틸렌 글리콜을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조후 OD	손실
1	2	1.93	없음
2	2	2.08	없음
3	2	1.86	없음
4	2	1.83	없음
5	2	1.93	없음
6	2	1.72	없음
7	2	1.65	없음
8	2	1.73	없음
9	2	1.67	없음
10	2	1.72	없음
평균	2	1.81	

<120> <실시예 2> 단백질이 미치는 영향

<121> 이탈손실 방지 물질로 소혈청알부민(BSA) 0.05%(w/v) 희석액 10  $\mu$ l를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 18과 동일한 방법으로 실험을 수행한 결과, 건조 공정을 거친 후에도 siRNA 올리고뉴클레오티드가 손실됨이 없이 약 2의 OD 값을 보이고 있음을 확인하였다(표 23). 또한, 소혈청알부민 대신 다른 단백질인 젤라틴을 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.

**표 23**

<122> 소혈청알부민을 포함하는 siRNA 올리고뉴클레오티드의 이탈손실 양

No.	분주 OD	건조후 OD	손실
1	2	1.98	없음
2	2	2.03	없음
3	2	1.82	없음
4	2	1.88	없음
5	2	1.78	없음
6	2	1.70	없음
7	2	1.67	없음
8	2	1.86	없음
9	2	1.70	없음
10	2	1.67	없음
평균	2	1.81	

<123> 이탈손실 방지 물질 및 비반응성 염료물질이 PCR에 미치는 영향 측정

<124> <실시예 2> 다가알코올이 미치는 영향 측정

<125> 이탈손실 방지 물질이 PCR 과정에 영향을 미치는지 여부를 확인하기 위하여, 람다(lambda) DNA를 주형으로 하여 1 kb 크기의 반응 산물을 얻을 수 있는 서열번호 1로 기재되는 염기서열을 가지는 정방향 올리고뉴클레오티드 프라이머 및 서열번호 2로 기재되는 염기서열을 가지는 역방향 올리고뉴클레오티드 프라이머를 화학적으로 합성하여 각각 10 pmol을 혼합하고, 여기에 이탈손실 방지 물질로 0.25%(v/v) 글리세린 10  $\mu$ l 첨가하고, 비반응성 염료 물질로 자일렌시아놀 0.01% 희석액 2  $\mu$ l를 첨가한 후 이를 건조하여 건조 올리고뉴클레오티드 조성물을 제조하였다. 이때, 이탈손실 방지 물질 및 비반응성 염료 물질을 포함하지 않는 경우를 대조군으로 사용하였다. 여

기에 10 mM 트리스-HCl(pH 8.3), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM DTT, 50 mg/ml BSA, 각각 250 μM인 4종류의 dNTP 및 1 ng 람다 DNA 주형(러시아 SIB사에서 구입)과 PCR용 DNA 중합효소(Taq DNA polymerase) 1 unit을 혼합한 후 PCR을 수행하였다. 이때, 구성성분의 농도 및 양은 반응액 0.05 ml에 포함된 각 구성성분의 최종 농도 및 양을 나타낸다. PCR은 변성(94°C에서 1분), 결합(54°C에서 1분) 및 연장(72°C에서 1분)의 각 사이클을 30회 진행시켜 DNA를 증폭하였다.

<126> 이렇게 증폭된 PCR 반응산물을 3세트로 나누어 1%(w/v) 아가로스 겔에서 각각 전기영동한 결과, 이탈손실 방지 물질 및 비반응성 염료물질이 첨가되지 않은 제1,2,3 레인과 0.25%(v/v) 글리세린 희석액을 첨가한 제4,5,6 레인 모두 1 kb 크기의 DNA만 정확히 증폭되었다(도 1). 따라서, 이탈손실 방지 물질로 글리세린과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 조성물의 경우 PCR에 전혀 영향을 미치지 않음을 확인하였다. 또한, 글리세린 대신 다른 다가알코올인 에틸렌글리콜, 글루코스, 솔비톨 또는 만니톨과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 경우에도 상기 글리세린의 경우와 유사하게 PCR에 전혀 영향을 미치지 않았다.

<127> <실시예 24> 비이온계 계면활성제가 미치는 영향 측정

<128> 이탈손실 방지 물질로 글리세린 대신 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트를 10 μl 첨가한 것을 제외하고는 상기 실시예 23과 동일한 조건으로 PCR을 수행하였다. 이렇게 하여 제조된 PCR 산물을 전기영동한 결과, 이탈손실 방지 물질 및 비반응성 염료물질이 첨가되지 않은 제7,8,9 레인과 0.25%(v/v) 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 희석액과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀을 첨가한 제10,11,12 레인 모두 1 kb 크기의 DNA만 정확히 증폭되었다(도 1). 따라서, 이탈손실 방지 물질로 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트와 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 조성물의 경우 PCR에 전혀 영향을 미치지 않음을 확인하였다. 또한, 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 대신 다른 비이온계 계면활성제인 소비탄 모노라우레이트, 메틸 글루코시드 또는 옥틸 글루코시드와 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 경우에도 상기 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트의 경우와 유사하게 PCR에 전혀 영향을 미치지 않았다.

<129> <실시예 25> 올리고당이 미치는 영향 측정

<130> 이탈손실 방지 물질로 글리세린 대신 이소말토올리고당을 10 μl 첨가한 것을 제외하고는 실시예 23과 동일한 조건으로 PCR을 수행하였다. 이렇게 하여 제조된 PCR 산물을 전기영동한 결과, 이탈손실 방지 물질 및 비반응성 염료물질이 첨가되지 않은 제1,2,3 레인과 0.25%(v/v) 이소말토올리고당 희석액과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀을 첨가한 제4,5,6 레인 모두 1 kb 크기의 DNA만 정확히 증폭하였다(도 2). 따라서, 이탈손실 방지 물질로 이소말토올리고당과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 조성물의 경우 PCR에 전혀 영향을 미치지 않음을 확인하였다. 또한, 이소말토올리고당 대신 다른 올리고당인 말토올리고당과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 경우에도 상기 이소말토올리고당의 경우와 유사하게 PCR에 전혀 영향을 미치지 않았다.

<131> <실시예 26> 수용성 고분자가 미치는 영향 측정

<132> 이탈손실 방지 물질로 글리세린 대신 0.1%(w/v) 폴리에틸렌 글리콜을 10 μl 첨가한 것을 제외하고는 실시예 23과 동일한 조건으로 PCR을 수행하였다. 이렇게 하여 제조된 PCR 산물을 전기영동한 결과, 이탈손실 방지 물질 및 비반응성 염료물질이 첨가되지 않은 제7,8,9 레인과 0.1%(w/v) 폴리에틸렌 글리콜 희석액과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀을 첨가한 제10,11,12 레인 모두 1 kb 크기의 DNA만 정확히 증폭하였다(도 2). 따라서, 이탈손실 방지 물질로 폴리에틸렌 글리콜과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 조성물의 경우 PCR에 전혀 영향을 미치지 않음을 확인하였다. 또한, 폴리에틸렌 글리콜 대신 다른 수용성 고분자인 폴리비닐알코올, 폴리아크릴산 또는 폴리메타크릴산과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 경우에도 상기 폴리에틸렌 글리콜의 경우와 유사하게 PCR에 전혀 영향을 미치지 않았다.

<133> <실시예 27> 단백질이 미치는 영향 측정

<134> 이탈손실 방지 물질로 글리세린 대신 0.05%(w/v) 소혈청알부민(BSA)을 10 μl 첨가한 것을 제외하고는 실시예 23과 동일한 조건으로 PCR을 수행하였다. 이렇게 하여 제조된 PCR 산물을 전기영동한 결과, 이탈손실 방지 물질 및 비반응성 염료물질이 첨가되지 않은 제1,2,3 레인과 0.1%(w/v) 소혈청알부민(BSA) 희석액과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀을 첨가한 제4,5,6 레인 모두 1 kb 크기의 DNA만 정확히 증폭하였다(도 3). 따라서, 이탈손실 방지 물질로 소혈청알부민(BSA)과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 조성물의 경우 PCR에 전혀 영향을 미치지 않음을 확인하였다. 또한, 소혈청알부민 대신 다른 단백질인 젤라틴과 비반응성 염료물질인 자일렌시아놀이 첨가된 경우에도 상기 소혈청알부민의 경우와 유사하게 PCR에 전혀 영향을 미치지 않았다.

- <135> 이탈손실 방지 물질의 함량이 미치는 영향 측정
- <136> 다가알코올이 미치는 영향 측정
- <137> <실시예 28> 글리세린
- <138> 이탈손실 방지 물질인 글리세린의 첨가량이 PCR에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 실시예 1의 조성물에서 프라이머에 글리세린을 첨가하지 않은 경우와, 소정량 첨가한 경우 및 과량 첨가한 경우에 대한 비교 실험을 실시하였다. 구체적으로, 6개의 실험 용기를 준비한 후, 글리세린을 2개 용기에는 첨가하지 않고, 2개 용기에는 0.25%(v/v) 글리세린 희석액 10  $\mu$ l를 첨가하고, 나머지 2개 용기에는 1.0%(v/v) 글리세린 희석액 10  $\mu$ l를 각각 첨가한 후, 실시예 23과 동일한 조건으로 PCR 반응을 수행하였다. 이렇게 하여 제조된 PCR 산물 6세트를 전기영동한 결과, 글리세린이 과량 첨가된 경우(1.0%(v/v) 글리세린 희석액 10  $\mu$ l 첨가)에는 1 kb 크기 이외의 다른 밴드가 나타나 DNA 중합효소 연쇄 반응에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다(도 4). 또한, 글리세린 대신 다른 다가알코올인 에틸렌글리콜, 글루코스, 솔비톨 또는 만니톨을 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.
- <139> 비이온계 계면활성제가 미치는 영향 측정
- <140> <실시예 29> 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트
- <141> 이탈손실 방지 물질인 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트의 첨가량이 PCR에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 실시예 1의 조성물에서 프라이머에 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트를 소정량 첨가한 경우 및 과량 첨가한 경우에 대한 비교 실험을 실시하였다. 구체적으로, 6개의 실험 용기를 준비한 후, 글리세린을 3개 용기에는 0.25%(v/v) 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 희석액 10  $\mu$ l를 첨가하고, 나머지 3개 용기에는 1.0%(v/v) 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 희석액 10  $\mu$ l를 각각 첨가한 후, 실시예 23와 동일한 조건으로 PCR 반응을 수행하였다. 이렇게 하여 제조된 PCR 산물 6세트를 전기영동한 결과, 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트가 과량 첨가된 경우(1.0%(v/v) 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 희석액 10  $\mu$ l 첨가)에는 1 kb 크기 이외의 다른 밴드가 나타나고 메인 밴드의 크기도 작게 나타나 DNA 중합효소 연쇄 반응에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다(도 5). 또한, 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 대신 다른 비이온계 계면활성제인 소비탄 모노라우레이트, 메틸 글루코시드 또는 옥틸 글루코시드를 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.
- <142> 수용성 고분자가 미치는 영향
- <143> <실시예 30> 폴리에틸렌 글리콜
- <144> 이탈손실 방지물질로 폴리에틸렌 글리콜을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 28과 동일한 방식으로 실험을 수행한 결과, 폴리에틸렌 글리콜이 과량 첨가된 경우(1.0%(w/v) 폴리에틸렌 글리콜 희석액 10  $\mu$ l 첨가)에는 1 kb 크기 이외의 다른 밴드가 메인 밴드 위에 나타나 DNA 중합효소 연쇄 반응에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다(도 6). 또한, 폴리에틸렌 글리콜 대신 다른 수용성 고분자인 폴리비닐알코올, 폴리아크릴산 또는 폴리메타크릴산을 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.
- <145> 올리고당이 미치는 영향
- <146> <실시예 31> 이소말토올리고당
- <147> 이탈손실 방지물질로 이소말토올리고당을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 28과 동일한 방식으로 실험을 수행한 결과, 이소말토올리고당이 과량 첨가된 경우(1.0%(v/v) 이소말토올리고당 희석액 10  $\mu$ l 첨가)에는 1 kb 크기 이외의 다른 밴드가 나타나 DNA 중합효소 연쇄 반응에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 또한, 이소말토올리고당 대신 다른 올리고당인 말토올리고당을 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.
- <148> 단백질이 미치는 영향
- <149> <실시예 32> 소혈청 알부민
- <150> 이탈손실 방지물질로 소혈청알부민을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 28과 동일한 방식으로 실험을 수행한 결과, 소혈청알부민이 과량 첨가된 경우(1.0%(w/v) 소혈청알부민 희석액 10  $\mu$ l 첨가)에는 1 kb 크기 이외의 다른 밴드가 나타나 DNA 중합효소 연쇄 반응에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 또한, 소혈청알부민 대신 다른 단백질인 젤라틴을 사용한 경우에도 이와 유사한 결과가 나타났다.

**발명의 효과**

<151> 상기에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 의하면 올리고뉴클레오티드의 건조 공정에서 올리고뉴클레오티드가 이탈 손실되는 것을 줄일 수 있으며, 만일 올리고뉴클레오티드가 이탈 손실되는 경우에도 그 여부를 육안으로 쉽게 판별할 수 있으므로, 제품생산시의 불량률을 획기적으로 개선할 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

<1> 도 1은 올리고뉴클레오티드에 이탈손실 방지 물질을 첨가하지 않은 경우와 글리세린 또는 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트(ployoxyethylene sorbitan monolaurate)를 첨가한 경우에 대하여, PCR (polymerase chain reaction)에 의해 증폭된 반응산물을 아가로스 젤 전기영동한 결과를 보여주는 사진이다.

<2> M 라인 ; 1 kb 래더(ladder)의 표준 분자량,

<3> 제1,2,3 라인 ; 이탈손실 방지 물질이 첨가되지 않은 대조군(control) 조성물,

<4> 제4,5,6 라인 ; 0.25%(v/v) 글리세린 희석액을 첨가한 조성물,

<5> 제7,8,9 라인 ; 이탈손실 방지 물질이 첨가되지 않은 대조군 조성물,

<6> 제10,11,12 라인 ; 0.25%(v/v) 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트 희석액을 첨가한 조성물

<7> 도 2는 올리고뉴클레오티드에 이탈손실 방지 물질을 첨가하지 않은 경우와 이소말토올리고당(isomalto oligosaccharide) 또는 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycol, PEG)을 첨가한 경우에 대하여, PCR에 의해 증폭된 반응산물을 아가로스 젤 전기영동한 결과를 보여주는 사진이다.

<8> M 라인 ; 1 kb 래더의 표준 분자량,

<9> 제1,2,3 라인 ; 이탈손실 방지 물질이 첨가되지 않은 대조군 조성물,

<10> 제4,5,6 라인 ; 0.25%(v/v) 이소말토올리고당 희석액을 첨가한 조성물,

<11> 제7,8,9 라인 ; 이탈손실 방지 물질이 첨가되지 않은 대조군 조성물,

<12> 제10,11,12 라인 ; 0.1%(w/v) 폴리에틸렌 글리콜 희석액을 첨가한 조성물

<13> 도 3은 올리고뉴클레오티드에 이탈손실 방지 물질인 소혈청알부민(BSA)에 대하여 이탈손실 방지 물질을 첨가하지 않은 경우와 첨가한 경우에 대하여, PCR에 의해 증폭된 반응산물을 아가로스 젤 전기영동한 결과를 보여주는 사진이다.

<14> M 라인 ; 1 kb 래더의 표준 분자량,

<15> 제1,2,3 라인 ; 이탈손실 방지 물질이 첨가되지 않은 대조군 조성물,

<16> 제4,5,6 라인 ; 0.05%(w/v) 소혈청알부민(BSA) 희석액을 첨가한 조성물

<17> 도 4는 올리고뉴클레오티드에 이탈손실 방지 물질인 글리세린을 첨가하지 않거나 또는 첨가량을 다르게 한 경우에 대하여, PCR에 의해 증폭된 반응산물을 아가로스 젤 전기영동한 결과를 보여주는 사진이다.

<18> M 라인 ; 1 kb 래더의 표준 분자량,

<19> 제1,2 라인 ; 이탈손실 방지 물질이 첨가되지 않은 대조군 조성물,

<20> 제3,4 라인 ; 1.0%(v/v) 글리세린 희석액을 첨가한 조성물,

<21> 제5,6 라인 ; 0.25%(w/v) 글리세린 희석액을 첨가한 조성물

<22> 도 5는 올리고뉴클레오티드에 이탈손실 방지 물질인 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트(ployoxyethylene sorbitan monolaurate)에 대하여 첨가량을 다르게 한 경우에 대하여, PCR에 의해 증폭된 반응산물을 아가로스 젤 전기영동한 결과를 보여주는 사진이다.

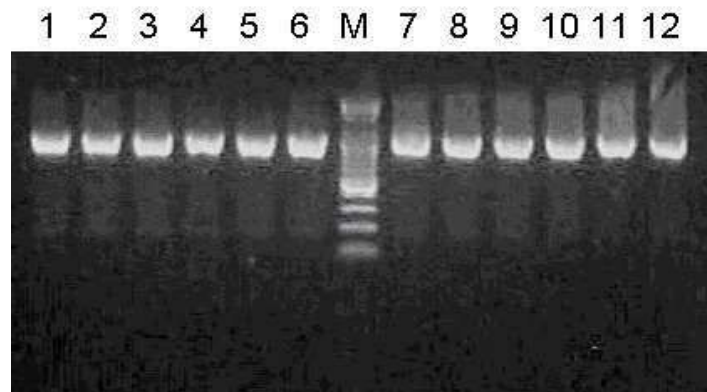
<23> M 라인 ; 1 kb 래더의 표준 분자량,

<24> 제1,2,3 라인 ; 0.25%(v/v) 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트(ployoxyethylene sorbitan monolaurate) 희석액을 첨가한 조성물,

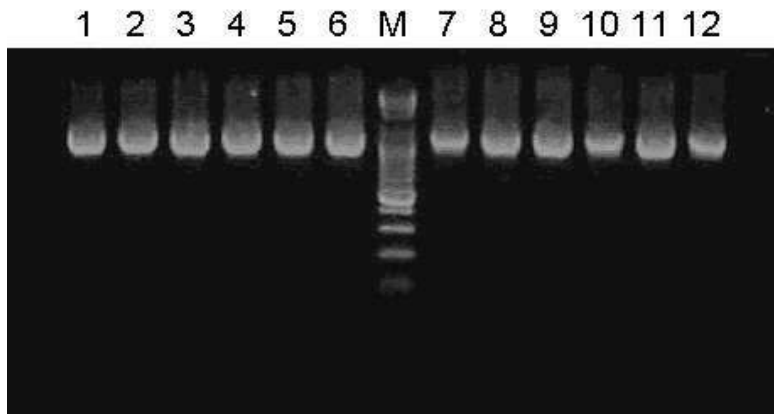
- <25> 제4,5,6 라인 ; 1.0%(v/v) 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노라우레이트(polyoxyethylene sorbitan monolaurate) 희석액을 첨가한 조성물
- <26> 도 6은 올리고뉴클레오티드에 이탈손실 방지 물질인 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycol, PEG)에 대하여 첨가량을 다르게 한 경우에 대하여, PCR에 의해 증폭된 반응산물을 아가로스 젤 전기영동한 결과를 보여주는 사진이다.
- <27> M 라인 ; 1 kb 래더의 표준 분자량,
- <28> 제1,2,3 라인 ; 0.1%(w/v) 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycol, PEG) 희석액을 첨가한 조성물,
- <29> 제4,5,6 라인 ; 1.0%(w/v) 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycol, PEG) 희석액을 첨가한 조성물

**도면**

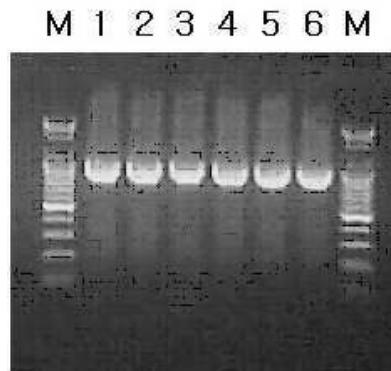
**도면1**



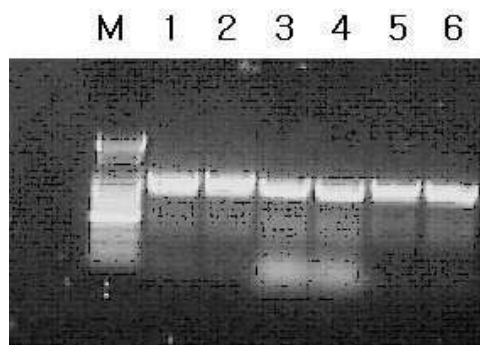
**도면2**



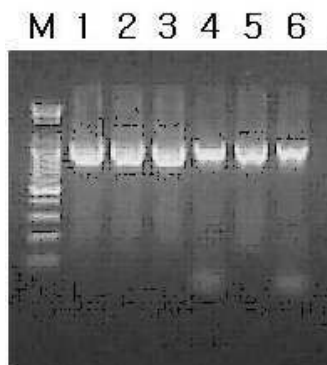
도면3



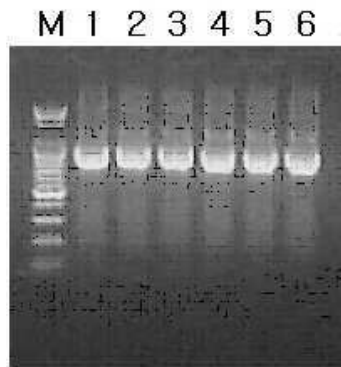
도면4



도면5



도면6



서열목록

[서열목록 전자파일 첨부](#)