명세서

발명의 명칭: 아데노연관바이러스용 안정화제 및 이를 이용한 아데노연관바이러스의 안정화 방법

기술분야

[1] 본 발명은 아데노연관바이러스(AAV)용 안정화제 및 이를 이용한 아데노연관바이러스의 안정화 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 계면활성제 또는 알부민을 포함하는 아데노연관바이러스용 안정화제, 아데노연관바이러스 및 상기 안정화제를 포함하는 아데노연관바이러스 액상 제제, 및 안정성이 증진된 아데노연관바이러스의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[2] 유전자 치료법(Gene therapy)은 유전자 전달 및 발현에 의해 질병을 치료하는 기술로서, 약물 치료와는 달리 질환을 유발시키는 특정 유전자를 표적으로 하여 유전적 결함을 교정하는 치료법이다. 유전자 치료의 궁극적인 목표는 살아있는 세포를 유전적으로 변형하여 유익한 치료효과를 얻는 것이다. 유전자 치료의 주 연구 분야는 특정 질병에 치료 효과를 나타내는 유전자를 도입하거나, 항암제 등에 저항성을 나타내도록 정상세포의 저항 기능을 증강시키거나, 각종 유전성 질환 환자에 있어서 변형되거나 소실된 유전자를 대체하는 분야로 요약할 수 있다.

[3] 유전자 치료를 위한 유전자 전달 기술은 크게 바이러스를 수송체로 사용하는 방법(viral vector-based transfer method), 합성 인지질이나 양이온성 고분자 등을 사용하는 비-바이러스성 방법(non-viral delivery method) 및 세포막에 일시적인 전기자극을 가하여 유전자를 도입하는 전기천공법(electroporation) 등의 물리적 방법으로 구분할 수 있다. 상기 전달 기술 중에서, 바이러스 수송체를 사용하는 방법은 치료유전자로 대체된 유전자를 지니는 일부 또는 전체의 복제 능력이 결손된 벡터로서 유전인자의 전달이 효율적으로 이루어질 수 있기 때문에 유전자 치료를 위해 선호되는 방법이다. 바이러스 수송체 또는 바이러스 벡터로 사용되는 바이러스로는 RNA 바이러스 벡터(레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 등)와 DNA 바이러스 벡터(아데노바이러스 벡터, 아데노연관바이러스 벡터 등)가 있으며, 이 외에도 단순포진 바이러스 벡터(herpes simplex viral vector), 알파 바이러스 벡터(alpha viral vector) 등이 있다. 이 중에서도 최근에는 렌티바이러스와 아데노연관바이러스에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(BRIC View 2016-T22).

[4] 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV)는 Parvoviridae과 Dependovirus속에 속하는 단일가닥의 원바이러스(Provirus)로서, 단독으로는 증식 능력을 갖지 못하여 복제를 위해 아데노바이러스(Adenovirus), 벡시니아바이러스(Vaccinia virus) 등의 보조바이러스와의 공존이 필요하다.

아데노연관바이러스의 제조시에는 rep 부분과 cap 부분을 발현시키는 다른 플라스미드 DNA와 함께 트랜스펙션(transfection)시키고 아데노바이러스는 보조바이러스로서 첨가한다.

[5] 아데노연관바이러스는 감염된 세포 내에서 재생산되지 않는다는 점과, 비교적 가벼운 면역반응을 유도한다는 점, 그리고 유전자를 삽입하는 위치가 어느 정도 예측 가능한 점 때문에, 유전자 치료에서 매우 광범위하게 쓰이는 벡터이다. 하지만 아데노연관바이러스의 경우 생산효율성 혹은 감염효율성 및 타겟 전달화 능력을 향상시키기 위해서 야생형 단백질껍질의 유전자변이형을 생산하는 경우가 많고, 이러한 바이러스 표면의 변화는 외부환경에 대한 안정성을 떨어트릴 수 있다. 특히 재조합 아데노연관바이러스의 경우 수용액 내에서 불안정하기 때문에 시간이 지남에 따라 응집 및 표면흡착 문제가 있어서 이를 장기간 보관하는 데에 문제가 있어왔다. 특히 이러한 불안정한 성질은 아데노연관바이러스의 표면에 기능성 분자들을 도입 할 때에도 문제가 되어서 도입과정에서 대부분의 아데노연관바이러스들이 응집되어버리는 현상이 일어난다. 이렇게 응집된 바이러스들은 결정 형태를 이루면서 10 um이상의 크기로 성장하게 되어 혈관을 막는 색전증(embolism)을 유도하고 결국 주입된 개체를 사망에 이르게 할 수 있는 문제점이 있다.

[6] 기존의 아데노연관바이러스의 안정성을 향상시키는 기술은 아데노연관바이러스의 감염성을 최대한 잃지 않고 오래 보관하는 방법에 초점을 맞췄으며, 기능성 분자들을 표면에 도입할 때 야기되는 결정화 현상을 막기 위한 연구는 많이 진행되지 않았다. 따라서 아데노연관바이러스 자체의 안정성을 증진시키면서도 기능성 분자들을 도입하는 경우에도 안정성을 유지시키기 위한 기술의 개발이 필요한 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[7] 종래 유전자 전달체로 아데노연관바이러스(AAV)를 이용하는 경우 체내외 용액 내에서 AAV의 불안정한 특성 때문에 AAV간에 응집 및 표면 흡착이 일어나 안정성이 떨어지며, 더욱이 AAV를 폴리페놀과 같은 물질로 표면개질하는 경우 과도한 응집현상이 일어나 체내에서 색전증 등을 유발할 수 있는 결정형 입자가 형성되는 문제점이 있었는데, 본 발명자들은 계면활성제 또는 알부민 처리에 의해 AAV간의 응집 및 결정형 입자의 형성이 현저히 억제되고 장기간 안정성이 유지되는 것을 확인하였는바, 이로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[8] 이에, 본 발명은 계면활성제 또는 알부민을 포함하는, 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV)용 안정화제를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[9] 또한, 본 발명은 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV) 및

안정화제를 포함하며, 상기 안정화제는 계면활성제 또는 알부민을 함유하는 것을 특징으로 하는, 아데노연관바이러스 액상 제제를 제공하는 것을 다른 목적으로 한다.

[10] 또한, 본 발명은 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV)에 안정화제를 처리하는 단계를 포함하되, 상기 안정화제는 계면활성제 또는 알부민을 포함하는 것을 특징으로 하는, 안정성이 증진된 아데노연관바이러스의 제조방법을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.

[11]

[12] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결 수단

[13] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 계면활성제 또는 알부민을 포함하는, 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV)용 안정화제를 제공한다.

[14] 본 발명의 일구현예로, 상기 계면활성제는 5 내지 20의 친수성-친유성 밸런스(Hydrophile-Lipophile Balance; HLB) 값을 갖는 것일 수 있다.

[15] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 계면활성제는 음이온성(Anionic), 양이온성(Cationic), 비이온성(Nonionic) 및 양쪽성 이온형(Zwitter ionic)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.

[16] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 안정화제는 상기 아데노연관바이러스의 응집을 저해할 수 있다.

[17] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 아데노연관바이러스는 폴리페놀계 물질로 표면개질된 것일 수 있다.

[18] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 폴리페놀계 물질은 탄닌산(Tannic acid), 카테콜아민(Catecholamine) 또는 에피갈로카테킨 갈레이트(Epigallocatechin gallate; EGCG)인 것일 수 있다.

[19] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 알부민은 10 내지 0.01%(w/w)의 농도로 포함될 수 있다.

[20] 또한, 본 발명은 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV) 및 안정화제를 포함하며, 상기 안정화제는 계면활성제 또는 알부민을 함유하는 것을 특징으로 하는, 아데노연관바이러스 액상 제제를 제공한다.

[21] 본 발명의 일구현예로, 상기 액상 제제는 pH 3.0 내지 8.0로 유지되는 것일 수 있다.

[22] 또한, 본 발명은 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV)에 안정화제를 처리하는 단계를 포함하되, 상기 안정화제는 계면활성제 또는 알부민을 포함하는 것을 특징으로 하는, 안정성이 증진된

아데노연관바이러스의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

[23] 본 발명에 따르면, 유전자 전달을 위한 아데노연관바이러스(AAV)는 그 자체로 불안정하고 바이러스간에 쉽게 응집이 일어나며, 더욱이 추가적인 기능성 부여를 위해 폴리페놀로 표면개질하는 경우 AAV간에 과도한 응집이 일어나 색전증 등을 유발할 수 있는 결정형의 입자가 형성될 수 있다. 그러나 계면활성제 및/또는 알부민을 함께 처리하는 경우 이러한 AAV간의 응집이 현저히 억제되어 결정형 입자가 형성되지 않으며 AAV의 체외 안정성을 증진시키고 계면활성제와 알부민을 조합하여 처리하는 경우에는 현저한 상승효과가 나타나는 것을 확인하였다. 따라서 본 발명에 따른 기술은 아데노연관바이러스를 이용하여 유전자 전달 바이러스 및 치료용 나노입자를 제조하고 이를 위한 추가적인 폴리페놀 결합체를 형성할 때 바이러스간의 지나친 응집을 저해하여 입자의 크기를 약물전달에 효과적인 크기로 유지시키고 액상에서의 안정성을 높여주는 바, 유전자 치료를 위한 약물전달 기술 분야에서 매우 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[24] 도 1a는 계면활성제 종류에 따른 아데노연관바이러스(AAV)의 안정성 변화를 검증하기 위하여, 비이온성(Nonionic) 계면활성제인 Tween 80 및 Triton X, 양쪽성 이온(Zwitterionic) 계면활성제인 CHAPS, 양이온성(Cationic) 계면활성제인 CTAB 및 음이온성(Anionic) 계면활성제인 소듐 데옥시콜레이트(Sodium deoxycholate) 각각이 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 동적 광산란법을 통한 평균 입자 크기 측정 및 현미경으로 결정 형성여부를 관찰한 결과이다.

[25] 도 1b는 CTAB, Tween 80 및 CHAPS 각각이 포함된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 FBS를 혼합하여 결정 형성 여부를 관찰하여 혈청 혼합에 의한 잠재적 결정형 입자의 형성유무를 확인한 결과이다.

[26] 도 2a는 각 계면활성제의 처리 농도에 따른 AAV의 안정성 변화를 검증하기 위하여, Tween 80이 각각 0.2%, 0.05%, 0.0125% 및 0.003% 농도로 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 산란도 측정을 위해 UV 흡광도를 측정한 결과이다.

[27] 도 2b는 Triton X가 각각 0.05%, 0.0125%, 0.003% 및 0.0008% 농도로 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 산란도 측정을 위해 UV 흡광도를 측정한 결과이다.

[28] 도 2c는 CHAPS이 각각 0.4%, 0.1%, 0.025% 및 0.006% 농도로 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 산란도 측정을 위해 UV 흡광도를 측정한 결과이다.

[29] 도 2d는 CTAB가 각각 0.4%, 0.1%, 0.025% 및 0.006% 농도로 처리된 AAV

용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 산란도 측정을 위해 UV 흡광도를 측정한 결과이다.

[30] 도 2e는 Sodium deoxycholate가 각각 0.2%, 0.05%, 0.0125% 및 0.0003% 농도로 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 산란도 측정을 위해 UV 흡광도를 측정한 결과이다.

[31] 도 3은 pH 조건에 따른 AAV의 안정성 변화를 검증한 결과로서, pH가 상이한 각각의 완충용액을 이용해 Tween 80 및 CHAPS가 각각 존재하는 AAV 용액을 제조하고 탄닌산 용액과 혼합한 후 평균 입자 크기를 측정하고 결정형 입자의 형성유무를 관찰한 결과이다.

[32] 도 4a는 계면활성제 처리에 따른 AAV의 체외안정성을 검증하기 위한 것으로, Tween 80이 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 평균 입자 크기를 측정하고 결정형 입자의 형성유무를 관찰한 것이며, 각각 0분, 20분, 1일째 평균 입자 크기를 측정한 결과이다.

[33] 도 4b는 Tween 80, CHAPS 및 Sodium deoxycholate가 각각 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 0 min, 30min, 및 1일(day)째에 각각 UV 흡광도를 측정하고 초기 값 대비 산란도의 증가 양상을 통해 시간 경과에 따른 입자의 크기 변화를 확인한 결과이다.

[34] 도 5는 알부민 처리에 따른 AAV의 안정성 증진 효과를 검증한 결과로서, 알부민이 다양한 농도(10%, 1%, 0.1%, 0.01%)로 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 평균 입자 크기를 측정하고 결정형 입자의 형성유무를 관찰한 결과이다.

[35] 도 6은 계면활성제와 알부민의 조합에 의한 AAV의 안정성 증진 효과를 검증한 결과로서, Tween 80, CHAPS 및 CTAB 각각이 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 다음 알부민 용액을 추가적으로 첨가한 후 평균 입자 크기를 측정하고 결정형 입자의 형성유무를 관찰한 결과이다.

[36] 도 7은 계면활성제와 탄닌산과의 결합 효과를 통해 AAV 외에 무기나노입자인 금나노입자의 안정성 또한 유지되는지 여부를 검증한 결과로서, Tween 80, CHAPS 및 CTAB 각각이 처리된 금나노입자 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 평균 입자 크기를 측정하고 결정형 입자의 형성유무를 관찰한 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[37] 본 발명자들은 유전자 전달체로 아데노연관바이러스(AAV)를 이용하는 경우 체외 용액 내에서 AAV의 불안정한 특성 때문에 AAV간에 응집 및 표면 흡착이 일어나 안정성이 떨어지며, 더욱이 AAV를 폴리페놀과 같은 물질로 표면개질하는 경우 과도한 응집현상이 일어나 체내에서 색전증 등을 유발할 수 있는 결정형 입자가 형성될 수 있는데, 계면활성제 또는 알부민 처리에 의해 AAV간의 응집 및 결정형 입자의 형성이 현저히 억제되고 장기간 안정성을 높여주는 것을 확인하였는바, 이로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[38] 이에, 본 발명은 계면활성제 또는 알부민을 포함하는, 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV)용 안정화제를 제공한다.

[39] 본 발명에서 사용되는 용어, "안정화제(Stabilizer)"는 물질을 제조, 방치 또는 보존할 때 상태변화나 화학적 변화를 방지하기 위하여 첨가하는 물질을 의미한다. 본 발명에 있어서 안정화제는 AAV간의 응집을 저해하고 폴리페놀과 같은 물질로 표면개질할 때 과도한 응집으로 인한 결정형 입자의 형성을 억제하며, 나아가 AAV의 체내 투여 시까지 수용액 내에서 장기간 크기와 형태를 유지할 수 있도록 안정화시키는 기능을 갖는 것일 수 있다.

[40] 본 발명에 있어서, "계면활성제(detergent)"는 묽은 용액 속에서 계면에 흡착하여 그 표면장력을 감소시키는 물질로서, 보통 1분자 속에 친유기와 친수기가 함께 들어 있는 양쪽 친매성(親媒性)인 물질은 계면활성제가 될 수 있다. 본 발명에 있어서, 계면활성제는 친수성-친유성 밸런스(Hydrophile-Lipophile Balance; HLB) 값이 5 내지 20인 것을 포함할 수 있으며, 보다 바람직하게는 음이온성(Anionic), 양이온성(Cationic), 비이온성(Nonionic) 및 양쪽성 이온형(Zwitter ionic)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.

[41] 상기 HLB 값은 계면활성제의 친수성 및 친유성 정도를 나타내는 척도로서, 1954년 개발된 비이온성 계면활성제에 대한 그리핀의 계산식을 통해 계산하면 0부터 20 사이의 HLB 값이 나오며, 값이 0인 경우 완전한 친유성/소수성 분자이며, HLB 값이 20이면 완전한 친수성/소유성 분자임을 의미한다. HLB 값을 통해 계면활성제 분자의 특성을 어느 정도 추측 가능하다.

[42] 상기 음이온성 계면활성제는 물에 녹이면 전리하여 계면활성을 나타내는 원자단이 음이온으로 되는 계면활성제를 의미한다. 그 종류가 매우 다양하며 비누, 고급 알코올의 황산 에스테르형과, 알킬아릴술폰산염형으로 크게 분류할 수 있고, 본 발명에서는 소듐 데옥시콜레이트(Sodium deoxycholate)를 이용하였으나 사용 가능한 종류가 이것으로 한정되는 것은 아니다. 본 발명에서 음이온 계면활성제는 전체 용액의 0.1 내지 0.01%(w/w)의 농도범위로 포함될 수 있고, 바람직하게는 0.07 내지 0.03%(w/w)의 농도로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[43] 상기 양이온성 계면활성제는 음이온성 계면활성제와 반대로 물에 녹이면 전리하여 계면활성을 나타내는 원자단이 양이온이 되는 계면활성제를 말한다. 친수 및 친유 원자단을 가지며 강력한 살균제, 소독제, 침강 촉진제, 대전방지제 등 다방면에 이용되고, 대부분은 질소화합물(아민염, 제4급안모늄염)이지만 그밖에 황의 제삼(三)급설포늄염(ulphonium salt) 또는 제사(四)급설포늄염도 있으며, 본 발명에서는 세트리모늄 브로마이드(Cetrimonium bromide; CTAB)를 이용하였으나, 이것으로 한정되는 것은 아니다. 본 발명에서 양이온 계면활성제는 전체 용액의 0.3 내지 0.007%(w/w)의 농도로 포함될 수 있고, 바람직하게는 0.2 내지 0.01%(w/w)의 농도로 포함될 수 있으며, 더욱

바람직하게는 0.1 내지 0.02%(w/w)의 농도로 포함될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[44] 상기 비이온성 계면활성제는 극성을 가지지만 물에 녹여도 이온으로 분리되지 않는 계면활성제로서 약한 친수기를 여러개 가지고 있어 이러한 친수기의 수에 따라 계면활성제의 친수성 즉 HLB가 달라진다. 기포 안정성이 높고, 피부에 대한 반응이 무해하며 저온에서의 안정성 향상, 세척 작용이 우수하면서 거품이 덜 생기는 등의 특성이 있어 점차 그 용도가 넓어져 가고 있다. 비이온성 계면활성제는 크게 에틸렌옥사이드(Ethyleneoxide)계, 다이에탄올아민(Diethanolamine)계, 소르비톨(Sorbitol)계, 글리세린(Glycerine)계로 분류할 수 있으며, 본 발명에서는 Tween 80 및 Triton X를 사용하였으나 종류가 이것으로 한정되는 것은 아니다. 본 발명에서 비이온성 계면활성제는 전체 용액의 0.05 내지 0.0001%(w/w)의 농도 범위로 포함될 수 있고, 바람직하게는 0.04 내지 0.0005%(w/w)의 농도로 포함될 수 있으며, 더욱 바람직하게는 0.03 내지 0.0008%(w/w)의 농도로 포함될 수 있고, 더더욱 바람직하게는 0.02 내지 0.001%(w/w)의 농도로 포함될 수 있으나, 이것으로 제한되는 것은 아니다.

[45] 상기 양쪽성 이온형 계면활성제는 분자 내에 양이온성 원자단과 음이온성 원자단을 동시에 가지고 있는 계면활성제로, 각종 양쪽성 전해질 구조를 갖는 유기 화합물이 있어 샴푸, 린스, 유연제, 살균 소독제 등으로 사용된다. 양쪽성 이온형 계면활성제는 다양한 종류가 알려져 있으며 본 발명에서는 CHAPS(3-[(3-cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate)를 이용하였으나 종류가 이것으로 한정되는 것은 아니다. 본 발명에서 양쪽성 이온형 계면활성제는 전체 용액의 0.08 내지 0.005%(w/w)의 농도 범위로 포함될 수 있고, 바람직하게는 0.06 내지 0.01%(w/w)의 농도 범위로 포함될 수 있으며, 더욱 바람직하게는 0.04 내지 0.02%(w/w)의 농도로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[46] 상기 알부민(Albumin)은 생체세포나 체액 중에 넓게 분포되어 있는 단순단백질로 글로불린과 함께 세포의 기초물질을 구성하며, 동식물의 조직 속에 널리 존재한다. 알부민은 계면활성제와 같은 양친매성 물질로 친수성과 소수성 부위를 가지고 있어 생체공학에서 난용성 약물을 물에 녹이는데 많이 이용되어온 물질이다. 본 발명에 있어서 알부민은 전체 용액에서 10 내지 0.01%(w/w)의 농도로 포함될 수 있고, 바람직하게는 10 내지 0.1%(w/w)의 농도로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[47] 본 발명자들은 구체적인 실시예를 통해 상기와 같은 계면활성제가 AAV의 응집을 효과적으로 저해하여 결정 입자의 형성을 억제하는 것을 확인하였다.

[48] 본 발명의 일실시예에서는, 각각 다른 종류의 계면활성제가 처리된 AAV 용액과 AAV의 표면개질 물질인 탄닌산 용액을 혼합한 후 평균 입자 크기를 측정하고 결정 입자의 형성여부를 현미경으로 관찰한 결과, 계면활성제가

처리되지 않은 경우에는 결정형태의 입자들이 다수 형성된 반면 상기 계면활성제들을 처리한 경우 효과적으로 AAV의 응집이 저해되어 결정형태의 입자가 관찰되지 않았으며, 마우스에 주입한 경우에도 별다른 영향을 미치지 않는 것을 확인하였다. 또한 혈장과 혼합될 시 혈관을 막을 수 있는 잠재적인 결정구조가 형성되는지를 FBS를 처리하여 추가적으로 검증한 결과 FBS 처리에 관계없이 결정이 형성되지 않는 것을 확인하였다(실시예 2 참조).

[49] 본 발명의 다른 실시예에서는, AAV, 탄닌산 및 계면활성제간의 바람직한 농도 비율을 알아보기 위해 각 계면활성제 종류별로 다양한 농도로 처리하여 AAV의 안정성을 검증한 결과, 계면활성제의 종류에 따라 결정을 형성시키지 않는 유효한 농도가 각기 상이하게 나타났으며, 공통적으로 농도가 지나치게 높거나 낮은 경우에는 효과적으로 AAV의 응집을 저해하지 못하여 결정형의 입자가 형성되는 경향이 나타나는 것을 알 수 있었다(실시예 3 참조).

[50] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, pH에 따라 입자 형성의 양상이 달라질 수 있는바 다양한 pH의 완충액을 이용해 계면활성제가 포함된 AAV 및 탄닌산 용액을 혼합하고 평균 입자 크기 및 결정형 입자 형성 여부를 분석하였다. 그 결과, pH 3.0을 전후로 입자 형성의 양상이 달라졌으며, 따라서 바람직하게 pH 3.0~8.0 범위가 적절한 것으로 확인하였다(실시예 4 참조).

[51] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 계면활성제 처리 시 AAV의 체외 안정성이 장기간 유지되는지 검증하기 위해 계면활성제가 처리된 AAV와 탄닌산 용액을 혼합하고 1일 후까지 두면서 입자의 크기 변화를 측정하여 비교한 결과, 1일 후까지 대체적으로 입자의 크기가 유지되었으며 비이온성 계면활성제로 이용한 Tween 80을 처리한 경우에 AAV의 안정성이 가장 높게 유지되는 것을 확인하였다(실시예 5 참조).

[52] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 계면활성제와 같이 AAV의 안정성을 향상시킬 수 있는 물질로 알부민의 효과를 검증하였다. 이를 위해 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합한 후 알부민을 다양한 농도(10%, 1%, 0.1%, 0.01%)로 처리하여 평균 입자 크기를 측정하고 결정형 입자의 형성여부를 관찰한 결과 0.1% 농도 범위에서 마이크로 크기의 입자가 형성된 것을 확인하였다(실시예 6-1 참조). 나아가 계면활성제와 함께 처리하는 경우의 효과를 알아보기 위하여 각 계면활성제가 처리된 AAV 용액과 탄닌산 용액을 혼합하고 여기에 알부민 용액을 추가적으로 혼합한 후 평균 입자 크기를 측정하고 결정형 입자의 형성 여부를 관찰한 결과, 이미 형성된 입자가 알부민 처리를 통해 수백나노미터 크기로 더욱 작아졌으며, 결정 구조도 형성되지 않음으로써 AAV의 안정성에 대한 계면활성제와 알부민 조합에 의한 상승적 효과를 확인하였다(실시예 6-2 참조).

[53] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 상기와 같은 결과에 근거하여 계면활성제가 AAV가 아닌 무기나노입자인 금나노입자의 안정성도 증진시키는지 검증한 결과, 금나노입자의 경우 계면활성제의 종류와 관계없이 모든 경우에

결정구조가 형성된 것으로 나타났다(실시예 7 참조).

[54] 이러한 본 발명의 실시예 결과로부터, 다양한 종류의 계면활성제는 유효한 농도가 상이할 뿐 AAV의 응집을 억제하여 결정형 입자의 형성을 효과적으로 저해하여 AAV를 안정화시키는 효과가 우수하며, 알부민 또한 이러한 효과를 나타내며 계면활성제와 조합하는 경우 더욱 상승적 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

[55] 이에, 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV) 및 안정화제를 포함하며, 상기 안정화제는 계면활성제 또는 알부민을 함유하는 것을 특징으로 하는, 아데노연관바이러스 액상 제제를 제공한다.

[56] 본 발명에서 상기 액상 제제는 pH 3.0 내지 8.0으로 유지되는 것일 수 있다.

[57] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 아데노연관바이러스(Adeno-Associated Virus; AAV)에 안정화제를 처리하는 단계를 포함하되, 상기 안정화제는 계면활성제 또는 알부민을 포함하는 것을 특징으로 하는, 안정성이 증진된 아데노연관바이러스의 제조방법을 제공한다.

[58] 본 발명에 있어서, 아데노연관바이러스를 제조하는 방법은 해당 기술분야에서 통상적으로 이용되고 있는 방법을 이용할 수 있으며, 당업자가 적절히 선택하여 제조할 수 있다.

[59] 상기 아데노연관바이러스는 상기 바이러스에 심장표적지향 특성을 도입하기 위하여 폴리페놀계 물질로 표면개질된 것일 수 있으며, 폴리페놀계 물질은 탄닌산(Tannic acid), 카테콜아민(Catecholamine) 또는 에피갈로카테킨 갈레이트(Epigallocatechin gallate; EGCG)일 수 있으며, 바람직하게는 탄닌산이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[60]

[61] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[62]

[63] **[실시예]**

[64] **<u>실시예 1. 실험재료 및 실험방법</u>**

[65]

[66] 본 발명의 실시예에서 이용한 탄닌산(T0200) 및 금나노입자(900484)는 시그마알드리치(Sigma-Aldrich)에서 구매하였다.

[67] 본 실시예에서 사용된 유전자 재조합 AAV 9(Adeno-associated virus serotype 9)은 일시발현법(transient transfection)을 통해 제조하였다.

[68] 간략히 설명하면, AAV 9의 캡시드 유전자인 cap3.45를 갖는 같은 질량의 AAV 헬퍼 플라스미드, ITR(inverted terminal repeat)을 가지는 CMV GFP 벡터 플라스미드 및 아데노바이러스 헬퍼 플라스미드(adenoviral helper plasmid)를

칼슘 포스페이트를 이용하여 AAV-293 세포에 감염(transfection)시켜 제조하였다. 이후 제조된 바이러스 벡터들을 선행연구에서 기재한대로 회수하고, 초원심분리(Ultracentrifugation)를 실시하여 불순물을 제거하였다. AAV의 게놈 타이터(titer)는 QPCR을 이용하여 도출하였다.

[69]

[70] **실시예 2. 계면활성제 종류에 따른 AAV 안정성 변화 검증**

[71] 본 발명자들은 AAV를 이용한 유전자 전달체를 제조할 경우 AAV의 응집이 일어나는 문제점을 개선하기 위하여, 계면활성제를 처리하고 이에 의한 AAV 안정성 변화를 확인하고자 하였으며, 이를 위해 해당 기술분야에서 알려져 있는 다양한 종류의 계면활성제를 대상으로 효과를 검증하고자 하였다. 보다 구체적으로, 각각의 Tween 80, Triton X, CHAPS, 세트리모늄 브로마이드(Cetrimonium bromide; CTAB), 및 소듐 데옥시콜레이트(Sodium deoxycholate)가 0.05%(w/w)(PBS, pH 7.4)로 존재하는 $1x10^8$ genome/ul AAV 용액에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL을 섞어준 다음, 약 10분 후에 동적 광산란법(dynamic light scattering; DLS)을 통해 평균 입자 크기를 측정하고 현미경으로 혈관 막힘 현상을 초래할 수 있는 결정이 형성되는지 여부를 관찰하였다. 이때, 계면활성제를 처리하지 않은 조건으로는 $1x10^8$ genome/ul AAV 용액(PBS, pH 7.4) 50 uL에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 후, 상기와 동일한 방법으로 평균 입자 크기 측정 및 현미경 관찰을 실시하였다.

[72] 그 결과, 도 1a에 나타낸 바와 같이 계면활성제가 존재하지 않는 경우에는 수십에서 수백 마이크로미터에 이르는 결정형태의 입자가 형성된 것이 관찰된 반면에 비이온성(Nonionic) 계면활성제인 Tween 80 및 Triton X, 양쪽성 이온(Zwitterionic) 계면활성제인 CHAPS, 양이온성(Cationic) 계면활성제인 CTAB 등의 계면활성제가 처리된 경우에는 AAV가 응집된 결정형태의 입자가 관찰되지 않았다. 또한 음이온성(Anionic) 계면활성제인 Sodium deoxycholate가 처리된 경우에는 섬유형태의 큰 입자가 형성된 것이 관찰되었으나, 계면활성제가 처리되지 않은 경우와 비교하였을 때는 더욱 양호한 양상이 나타난 것을 확인하였다.

[73] 한편, 이러한 결정성 입자의 형성 유무는 동물실험에서 실험동물의 생존에 영향을 미치는 주요한 요인 중 하나이다. 10 um 이상의 결정입자는 체내의 모세혈관 등을 막을 수 있고 막힌 혈관으로 인하여 허혈성 질환, 심근경색, 뇌경색, 혈관의 파열 등이 유발되어 심하게는 사망에 이르게 된다. 따라서 본 발명자들은 도 1a의 결과에서 확인된 결정성이 마우스의 생존에 어떠한 영향을 미치는지 실험적으로 확인하고자 하였다. 이를 위해, Tween 80이 0.01%(w/w)(PBS, pH 7.4) 농도로 포함되어 있는 $2x10^9$ genome/ul AAV 용액 50 uL에 0.5 mM 또는 0.25 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 후, 약 30분 이내에 마우스 꼬리 정맥에 100 uL를 주사하여 생존 여부 확인하였다(0.01%(w/w) Tween 80 + 0.5 mM TA + AAV / 0.01%(w/w) Tween 80 + 0.25 mM TA + AAV). 또한

계면활성제가 없는 조건으로는 Tween 80을 포함하지 않는 $2x10^9$ genome/ul AAV 용액 50 uL에 탄닌산을 동일한 조건으로 섞어주고 마우스의 꼬리 정맥에 주사하였으며(0.5 mM TA + AAV / 0.25 mM TA + AAV), 바이러스만 주사한 조건을 비교하기 위해 $2x10^9$ genome/ul AAV 용액 50 uL에 PBS 용액 50 uL을 제조하여 동일한 조건으로 주사하였다(Virus). 또한 각각 0.5 mM의 탄닌산 용액 100 uL(TA) 및 PBS 100 uL(PBS)를 각각 주사하였다.

[74] 그 결과, 하기 표 1에서 볼 수 있는 바와 같이 AAV를 탄닌산과 같이 혼합하여 주입한 경우에는 탄닌산의 농도에 관계없이 마우스가 즉각 사망하였다. AAV 또는 탄닌산만을 단독으로 주사한 경우에는 마우스가 사망하지 않았으나 혼합하여 주입한 경우 사망한 것으로 보아 혼합에 따른 결정의 형성 때문으로 판단되며, 계면활성제가 포함된 조건에서 AAV를 탄닌산과 혼합한 경우에는 마우스가 생존한 것으로 나타났다. 따라서 결정의 형성을 저해하는 계면활성제의 역할이 심각한 혈관 막힘 현상을 억제하는 데에 매우 중요한 것으로 판단되었다.

[75] [표1]

조건	결과
0.01% Tween 80 + 0.5 mM TA + AAV	생존 (n=6)
0.01% Tween 80 + 0.25 mM TA + AAV	생존 (n=5)
0.5 mM TA + AAV	사망 (n=1)
0.25 mM TA + AAV	사망 (n=1)
Virus	생존 (n=2)
PBS	생존 (n=2)
TA	생존 (n=2)

[76]

[77] 나아가 본 발명자들은 계면활성제의 처리를 통해, 혈장과 혼합될 시에 혈관을 막을 수 있는 잠재성의 결정구조의 형성까지도 억제할 수 있는지를 추가적으로 검증하고자 하였다. 이를 위해 CTAB, Tween 80 및 CHAPS 각각이 0.05%(w/w)로 포함되어 있는 $1x10^8$ genome/ul AAV 용액(PBS, pH 7.4) 50 uL에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 10% FBS 용액 50 uL를 혼합하고 현미경으로 10 μm 이상의 결정이 형성되었는지를 관찰하였다. 그 결과, 도 1b에서 볼 수 있는 바와 같이 FBS를 혼합한 후에도, 혼합하기 전과 마찬가지로 결정이 형성되지 않는 상태를 유지하는 것을 확인하였다.

[78]

[79] **실시예 3. 계면활성제 농도에 따른 AAV 안정성 변화 검증**

[80] 상기 실시예 2의 결과를 통해 계면활성제를 함께 처리함으로써 AAV와

탄닌산을 혼합하는 경우 응집되어 결정이 형성되는 것을 억제할 수 있음을 확인하였다. 따라서 이에 더하여 계면활성제의 바람직한 농도 비율을 알아내지 위하여 계면활성제의 농도별 입자 형성 양상을 분석하였다.

[81]

[82] **3-1. 비이온성 계면활성제**

[83] 비이온성 계면활성제인 Tween 80이 각각 0.2%, 0.05%, 0.0125%, 0.003%(w/w)(PBS, pH 7.4)로 존재하는 $1x10^8$ genome/ul AAV 용액에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 산란도 측정을 위하여 600 nm 파장대의 UV-Vis 흡광도를 측정하고 현미경으로 결정 형성여부를 관찰하였다.

[84] 또한, 또 다른 비이온성 계면활성제인 Triton X가 각각 0.05%, 0.0125%, 0.003%, 0.0008%(w/w)로 존재하는 조건으로 상기와 동일하게 AAV와 탄닌산 용액을 혼합하여 동일한 실험을 실시하고 결과를 관찰하였다.

[85] 그 결과, 도 2a에 나타낸 바와 같이 Tween 80의 경우 0.2% 및 0.003%로 포함되는 경우에는 결정구조가 형성되었으나 0.05% 및 0.0125%의 경우에는 각각 마이크로 및 나노크기의 입자가 형성된 것을 확인하였다. 또한, 도 2b에서 볼 수 있는 바와 같이 Triton X의 경우에는 0.05% 및 0.0125%로 포함되는 경우에는 결정구조가 형성되었으나 나머지 0.003% 및 0.0008% 농도에서는 나노크기의 입자가 형성된 것을 알 수 있었다.

[86]

[87] **3-2. 양쪽성 이온 계면활성제**

[88] 양쪽성 이온 계면활성제인 CHAPS가 각각 0.4%, 0.1%, 0.025%, 0.006%(w/w)(PBS, pH 7.4)로 존재하는 $1x10^8$ genome/ul AAV 용액에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 산란도 측정을 위하여 600 nm 파장대의 UV-Vis 흡광도를 측정하고 현미경으로 결정 형성여부를 관찰하였다.

[89] 그 결과, 도 2c에 나타낸 바와 같이 CHAPS가 0.4%, 0.1% 및 0.006%로 포함되는 경우에는 결정구조가 형성되었으나 0.025%의 경우에는 나노크기의 입자가 형성된 것을 확인하였다.

[90]

[91] **3-3. 양이온 계면활성제**

[92] 양이온 계면활성제인 CTAB가 각각 0.4%, 0.1%, 0.025%, 0.006%(w/w)(PBS, pH 7.4)로 존재하는 $1x10^8$ genome/ul AAV 용액에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 산란도 측정을 위하여 600 nm 파장대의 UV-Vis 흡광도를 측정하고 현미경으로 결정 형성여부를 관찰하였다.

[93] 그 결과, 도 2d에 나타낸 바와 같이 CTAB가 0.4% 및 0.006%로 포함되는 경우에는 결정구조가 형성되었으나 0.1% 및 0.025%로 포함된 경우에는 각각 마이크로 및 나노크기의 입자가 형성된 것을 확인하였다.

[94]

[95] **3-4. 음이온 계면활성제**

[96] 음이온 계면활성제인 Sodium deoxycholate가 각각 0.2%, 0.05%, 0.0125%, 0.0003%(w/w)(PBS, pH 7.4)로 존재하는 $1x10^8$ genome/ul AAV 용액에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 산란도 측정을 위하여 600 nm 파장대의 UV-Vis 흡광도를 측정하고 현미경으로 결정 형성여부를 관찰하였다.

[97] 그 결과, 도 2e에 나타낸 바와 같이 Sodium deoxycholate의 경우에는 모든 농도에서 결정구조가 형성된 것을 확인하였다.

[98] 상기 결과들을 통해, 계면활성제의 종류에 따라 결정을 형성시키지 않는 유효한 농도가 각기 상이하며, 농도가 지나치게 높거나 낮을 경우에는 탄닌산과 AAV의 결합을 효과적으로 제어하지 못해 결정형의 입자가 형성되는 경향이 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

[99]

[100] **실시예 4. pH 조건에 따른 AAV 안정성 변화 검증**

[101] 마이크로 또는 나노입자의 형성은 외부 환경의 영향에 따라 형성되는 양상이 변화될 수 있으며, 특히 pH 조건에 따라 입자 형성의 양상이 달라질 수 있다. 따라서 본 발명자들은 pH 조건에 따른 AAV의 안정성 변화여부를 검증하고자 하였다. 이를 위해, pH가 상이한 각각의 다른 완충용액(PBS pH7.4, Citric acid pH 4.6, DDW pH3.0)을 이용하여 Tween 80 및 CHAPS이 각각 0.05%(w/w) (PBS, pH 7.4)로 존재하는 $1x10^8$ genome/ul AAV 용액을 제조하고, 여기에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 동적 광산란법을 통해 평균 입자 크기를 측정하고 현미경으로 결정형 입자 형성여부를 관찰하였다.

[102] 그 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이 pH 3.0을 전후로 하여 형성되는 입자의 크기 및 결정 형태의 정도가 바뀌는 것을 확인할 수 있었다. pH 3.0 이하의 조건에서는 과도한 응집이 일어나 결정형의 입자가 형성되는 것을 알 수 있었다. 또한 폴리페놀의 경우 염기성의 pH 조건에서는 산화반응이 촉진되므로 입자의 장기적인 안정성을 고려하였을 때, 바람직한 pH 범위는 약 3.0~8.0사이로 판단되었다.

[103]

[104] **실시예 5. 체외 안정성 검증**

[105] AAV 입자는 혼합 후 주입에 이르는 시간까지 그 크기 및 형태를 일정하게 유지하여야 한다. 따라서 혼합 후 주입까지 소요되는 시간으로 추산되는 30분 및 충분한 시간인 하루가 지난 후까지 입자 크기가 유지되는지 여부를 분석하였다. 이를 위해, Tween 80이 0.01%(w/w)(PBS, pH 7.4)로 존재하는 $1x10^8$ genome/ul AAV 용액에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 동적 광산란법을 통해 각각 0 분(min), 20분, 1일(day)째 평균 입자 크기를 측정하고 초기값에 대비하여 입자의 크기 증가를 비교하였다.

[106] 그 결과, 도 4a에 나타낸 바와 같이 1일째까지 입자 크기에 다소 차이는 있으나 처음 만들어진 이후 대체적으로 입자의 크기가 유지되는 것을 확인하였다.

[107] 이에 더하여, 다양한 종류의 계면활성제 즉, Tween 80, CHAPS, Sodium

deoxycholate가 각각 0.05%(w/w) (PBS, pH 7.4)로 존재하는 1x10^8 genome/ul AAV 용액에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 0분(min), 30분, 및 1일(day)째에 각각 600 nm 파장대의 UV-Vis 흡광도를 측정하여 산란도를 측정하고 초기값 대비 산란도 증가 양상을 통해 시간 경과에 따른 입자 크기 변화를 분석하였다.

[108] 그 결과, 도 4b에서 볼 수 있는 바와 같이 각 계면활성제별로 형성된 입자의 크기 변화를 비교하였을 때, Tween 80이 첨가된 조건에서 가장 안정적으로 입자 크기가 유지되는 것을 확인하였다.

[109]

[110] **실시예 6. 알부민에 의한 안정성 증진 효과 검증**

[111] 본 발명자들은 폴리페놀과 계면활성제간의 결합을 통한 입자 형성에서 추가적인 첨가물을 처리함으로써 입자의 크기를 더욱 줄이고자 하였다. 이를 위해, 상기 첨가물로 알부민을 선정하여 이에 의한 효과를 검증하였다.

[112]

[113] **6-1. 알부민 단독에 의한 효과 검증**

[114] 알부민이 다양한 농도 10%, 1%, 0.1%, 0.01%(w/w) (PBS, pH 7.4)로 존재하는 1x10^8 genome/ul AAV 용액에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 10분 후에 동적 광산란법을 통해 평균 입자 크기를 측정하고 현미경으로 입자 형성 여부를 관찰하였다.

[115] 그 결과, 도 5에서 볼 수 있는 바와 같이 알부민을 10%, 1% 및 0.01% 농도로 첨가한 경우에는 결정 구조가 형성된 반면, 0.1% 농도의 경우에는 마이크로 크기의 입자가 형성된 것을 확인하였다.

[116]

[117] **6-2. 계면활성제와 알부민의 조합에 의한 안정성 증진 효과 검증**

[118] 다음으로, 알부민이 각 계면활성제를 통해 이미 형성된 입자의 크기를 더욱 줄일 수 있는지 알아보기 위하여, Tween 80이 0.01%(w/w), CHAPS 및 CTAB 각각이 0.05%(w/w)(PBS, pH 7.4)로 존재하는 1x10^8 genome/ul AAV 용액에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 10%(w/w) 알부민 용액 50 uL를 혼합한 후 동적 광산란법을 통해 평균 입자 크기를 측정하고 현미경으로 관찰하였다.

[119] 그 결과, 도 6에 나타낸 바와 같이 계면활성제와 함께 알부민을 첨가함으로써 각 계면활성제를 통해 이미 형성된 입자가 알부민 처리를 통해 수백 나노미터 크기로 작아지고 혈관 막힘을 초래할 수 있는 10 um 이상의 결정구조도 형성되지 않은 것을 확인하였다. 상기 결과로부터 계면활성제와 알부민의 조합에 의해 AAV의 안정성이 더욱 증진되는 것을 알 수 있었다.

[120]

[121] **실시예 7. AAV 특이적 안정성 효과 검증**

[122] 본 발명자들은 계면활성제와 탄닌산과의 결합 효과를 통해 AAV외에 유전자

전달체로 이용될 수 있는 무기나노입자인 금나노입자의 안정성 또한 유지되는지 여부를 알아보기 위하여 하기와 같은 실험을 진행하였다. 구체적으로, Tween 80, CHAPS 및 CTAB가 각각 0.05%(w/w)(PBS, pH 7.4)로 존재하는 450 nm 흡광도 0.1 AU 농도의 금나노입자 용액 50 uL에 0.5 mM의 탄닌산 용액 50 uL를 섞어준 다음, 약 5분 후에 동적 광산란법을 통해 평균 입자 크기를 측정하고 현미경으로 관찰하였다. 또한 대조군으로 계면활성제가 첨가되지 않은 동일한 조건에서 실험을 진행하였다.

[123] 그 결과, 도 7에 나타낸 바와 같이 금나노입자의 경우 계면활성제의 종류와 관계 없이 모든 경우에 결정구조가 형성된 것으로 나타났으며 입자 자체의 무게로 인하여 AAV에 비해 더욱 심한 응집현상이 나타난 것을 확인하였다. 이를 통해 금나노입자와 같은 무기입자의 경우 계면활성제를 처리하여 입자의 안정성을 유지시키는 기술을 적용하는 것은 적합하지 않은 것으로 판단되었다.

[124]

[125] 상기 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

산업상 이용가능성

[126] 본 발명에 따른 아데노연관바이러스의 안정화 기술은 아데노연관바이러스를 이용하여 유전자 전달 바이러스 및 치료용 나노입자를 제조하고 이를 위한 추가적인 폴리페놀 결합체를 형성할 때 바이러스간의 지나친 응집을 저해하여 입자의 크기를 약물전달에 효과적인 크기로 유지시키고 액상에서의 안정성을 높여주는 바, 아데노연관바이러스를 이용한 유전자 치료 및 관련 분야에서 유용하게 이용될 수 있다.