



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년04월15일
(11) 등록번호 10-1968962
(24) 등록일자 2019년04월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2018.01) G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6883 (2018.05)
G01N 33/6893 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0106732
(22) 출원일자 2017년08월23일
심사청구일자 2017년08월23일
(65) 공개번호 10-2019-0021678
(43) 공개일자 2019년03월06일
(56) 선행기술조사문헌
Diabetes Research and Clinical Practice
(2012) 96:53-59*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
세종대학교산학협력단
서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)
(72) 발명자
문은이
서울특별시 성동구 성수이로 137, 110동 703호(성수동2가, 성수동아이파크)
이재욱
서울특별시 성북구 오패산로 46, 118동 601호(하월곡동, 월곡두산위브아파트)
(74) 대리인
특허법인리체

전체 청구항 수 : 총 9 항

심사관 : 김승범

(54) 발명의 명칭 비만 저항성 진단용 조성물

(57) 요약

본 발명은 비만 진단용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 조성물은 비만 및 관련 합병증의 예방 및 치료를 위한 진단 및 약물 반응 진단, 치료용 물질의 타겟 및 치료 물질 개발 스크리닝을 위한 바이오마커로써 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/158 (2013.01)
G01N 2333/5759 (2013.01)
G01N 2800/044 (2013.01)
G01N 2800/50 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

한국한의학연구원논문집 (2002) 8(2):75-84
KR101158047 B1
Scientific Reports (2017.06.19.) 7:3815
Circulation (2014) 130:A13054
Chronic Diseases and Translational Medicine
(2017) 3:165-168
NCBI, GenBank: M17733.1 (1993.08.03.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명세서

청구범위

청구항 1

티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질 수준을 측정하는 제제를 포함하는 고지방 식이에 대한 지방 축적 저항성을 판단하는 비만 저항성 진단용 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 유전자는 서열번호 1의 뉴클레오티드 서열로 이루어진 것인 비만 저항성 진단용 조성물.

청구항 3

청구항 1 또는 2의 조성물을 포함하는 비만 저항성 진단용 키트.

청구항 4

티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자를 포함하는 고지방 식이에 대한 지방 축적 저항성을 증가시키는 비만 저항성 증가용 조성물.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 유전자는 서열번호 1의 뉴클레오티드 서열로 이루어진 것인 비만 저항성 증가용 조성물.

청구항 6

생물학적 시료에 존재하는 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및 상기 측정된 발현 수준을 정상 대조군의 발현 수준과 비교하는 단계를 포함하고, 상기 측정된 발현 수준이 정상 대조군의 발현 수준보다 높으면 고지방 식이에 대한 지방 축적 저항성이 높다고 판단하는, 비만 저항성 예측을 위한 정보제공방법.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 생물학적 시료는 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액 및 뇨로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 8

생물학적 시료 내 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 발현 수준을 증가시키는 물질을 선별하는 단계를 포함하는 고지방 식이에 대한 지방 축적 저항성을 증가시키는 비만 저항성 개선제의 스크리닝 방법.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 유전자는 서열번호 1의 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 것인 비만 저항성 개선제의 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 비만 저항성 진단용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 식생활의 변화와 유전적인 이유 또는 스트레스에 의한 비정상적인 섭생에 의하여 비만 환자가 증가하여 사회적 인 문제로 대두되고 있으며, 세계보건기구(World Health Organization, WHO)는 벌써 비만을 치료해야 할 질병으로 인식하여 세계적인 영양문제로 다루어 왔다.

[0004] 현재, 비만 환자 수는 지속적으로 증가하고 있는 추세이고, 최근 세계보건기구는 전 세계 성인 가운데 10억 명이상이 과체중이고, 이들 가운데 최소한 3억 명이 비만에 속한 것으로 보고한 바 있다. 또한, 보건복지부에서 발표한 우리나라 2007년 국민 건강 영양 조사 자료에 따르면, 체질량지수(body mass index, BMI)가 25 이상인 비만 인구가 꾸준히 증가하여 국민 건강이 매우 심각하게 위협받고 있다.

[0005] 비만은 특히 다른 질병에 비해 유병률과 사망률이 높으며, 다양한 성인병의 합병증과 관련이 있는 것으로 밝혀지고 있다. 예를 들어, 비만환자는 정상체중인 사람에 비하여, 간병경증의 질환의 경우 2배, 뇌혈관질환의 경우 1.6배 및 관상동맥질환의 경우 1.8배 정도 사망률이 높은 것으로 보고되어 있다.

[0006] 더불어 비만은 신체적인 질환뿐만 아니라, 사회적 고립감이나 소외, 자신감 결여, 및 우울감과 같은 정신적 질환을 유발할 수 있으므로 비만의 예방 및 치료에 대한 필요성은 매우 중요하게 인식되고 있다. 따라서 비만으로 인한 대사증후군 및 관련 합병증의 예방을 위해서는 무엇보다 비만을 조기 진단함으로써 관련 질병들의 발병위험을 낮추는 것이 중요하다.

[0007] 이에 본 발명자들은 비만의 저항성 진단을 위한 유전자 마커를 발굴하고자 예의 노력하여, 티모신 β 4(Thymosin- β 4) 유전자가 비만 저항성 진단용 마커로 우수한 효과가 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허공보 제10-1745297호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 비만 저항성 진단용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0011] 또한, 본 발명은 비만 저항성 증가용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0012] 또한, 본 발명은 비만 저항성 예측을 위한 정보제공방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0013] 또한, 본 발명은 비만 저항성 개선제의 스크리닝 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0015] 1. 티모신 β 4(Thymosin- β 4) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질 수준을 측정하는 제제를 포함

하는 비만 저항성 진단용 조성물.

- [0016] 2. 위 1에 있어서, 상기 유전자는 서열번호 1의 뉴클레오티드 서열로 이루어진 것인 비만 저항성 진단용 조성물.
- [0017] 3. 위 1 또는 2의 조성물을 포함하는 비만 저항성 진단용 키트.
- [0018] 4. 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자를 포함하는 비만 저항성 증가용 조성물.
- [0019] 5. 위 4에 있어서, 상기 유전자는 서열번호 1의 뉴클레오티드 서열로 이루어진 것인 비만 저항성 증가용 조성물.
- [0020] 6. 생물학적 시료에 존재하는 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및 상기 측정된 발현 수준을 정상 대조군의 발현 수준과 비교하는 단계를 포함하는, 비만 저항성 예측을 위한 정보제공방법.
- [0021] 7. 위 6에 있어서, 상기 생물학적 시료는 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액 및 뇨로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 방법.
- [0022] 8. 개체 내 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 발현 수준을 증가시키는 물질을 선별하는 단계를 포함하는 비만 저항성 개선제의 스크리닝 방법.
- [0023] 9. 위 8에 있어서, 상기 유전자는 서열번호 1의 뉴클레오티드 서열로 이루어진 것인 비만 저항성 개선제의 스크리닝 방법.
- [0024]

발명의 효과

- [0025] 본 발명은 비만 저항성 진단용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 조성물은 비만 및 관련 합병증의 예방을 위한 진단 및 약물 반응 진단, 치료용 물질의 타겟 및 치료 물질 개발 스크리닝을 위한 바이오마커로써 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 고지방 식이를 실시한 야생주 마우스와 티모신을 과발현하는 마우스(T $\beta 4$ -Tg)에 대하여, 고지방 식이 22 주 후에 상기 각 마우스의 A) 사진 및 B) 체중을 나타낸 도이다.
- 도 2는 본 발명의 일실시예에 따른 고지방 식이를 실시한 야생주 마우스와 티모신을 과발현하는 마우스(T $\beta 4$ -Tg)에 대하여, 상기 각 마우스의 A) 주별 체중 증가 추이 및 B) 평균 1일 먹이 섭취량을 나타낸 도이다.
- 도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 고지방 식이를 실시한 야생주 마우스와 티모신을 과발현하는 마우스(T $\beta 4$ -Tg)에 대하여, 상기 각 마우스의 A) 간 조직 사진, B) 간 조직의 무게, 및 C) 체중 대비 간 조직의 무게 비율을 나타낸 도이다.
- 도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 고지방 식이를 실시한 야생주 마우스와 티모신을 과발현하는 마우스(T $\beta 4$ -Tg)에 대하여, 상기 각 마우스의 A) 부위별 지방 조직 사진, B) 각 지방 조직의 무게, 및 C) 체중 대비 각 지방 조직의 무게 비율을 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0030] 본 발명은 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질 수준을 측정하는 제제를 포함하는 비만 저항성 진단용 조성물을 제공한다.
- [0031] 본 발명은 티모신 $\beta 4$ 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 발현 정도를 확인함으로써 비만 저항성 여부를 진단할 수 있다. 구체적으로, 본 발명자들은 티모신 $\beta 4$ 의 발현 수준과 비만 저항성이 비례하는 것을 확인한 것으로, 본 발명의 조성물은 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질 수준을 측정하여, 그 발현 수준에 따라 비만 저항성이 높은지 여부를 진단할 수 있다.
- [0032] 티모신 $\beta 4$ 유전자는 티모신 $\beta 4$ 단백질을 암호화하는 게놈 DNA와 cDNA를 모두 포함한다. 상기 유전자는 비만

저항성을 진단하기 위한 개체에 따라 뉴클레오티드 서열이 상이할 수 있으며, "개체"란 비만이거나 비만이 진행될 수 있는 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 구체적인 예로, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.

- [0033] 인간인 경우 예를 들면 티모신 $\beta 4$ 유전자는 서열번호 1의 뉴클레오티드 서열일 수 있으며, 상기 유전자가 코딩하는 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열일 수 있다. 티모신 $\beta 4$ 유전자의 mRNA는 서열번호 3의 아미노산 서열일 수 있다.
- [0034] 본 발명의 진단 대상 질병인 "비만(obesity)"은 대사 장애로 인하여 체내에 지방세포가 증식 분화하고 이로 인하여 지방이 과잉으로 축적된 상태를 의미하며, 에너지 흡수량이 소비량에 비해 상대적으로 증가하는 경우, 지방세포의 수와 부피가 증가되는 과정을 거쳐 결과적으로 지방조직의 질량이 증가하게 된다.
- [0035] 본 발명에서 "비만 저항성(obesity resistance)"이란, 생체의 지방 축적 능력을 의미하는 것으로, 일정량의 에너지 흡수량에 의해 체내 지방이 그다지 축적되지 않을 경우 비만 저항성이 크다고 하며, 반대의 경우 비만 저항성이 작다고 할 수 있다.
- [0036] 본 발명에서 "진단"이란 넓은 의미로는 환자의 병의 실태를 모든 면에 걸쳐서 판단하는 것을 의미한다. 판단의 내용은 병명, 병인, 병형, 경중, 병상의 상세한 양태, 합병증의 유무, 및 예후 등이다. 본 발명에서 진단은 비만의 발병 여부 및 비만 수준 등을 판단하는 것이다.
- [0037] 상기 mRNA 수준을 측정하는 제제는 mRNA에 상보적으로 결합하는 센스 및 안티센스 프라이머, 또는 프로브일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0038] 본 발명에서 "프라이머"란 DNA 합성의 기시점이 되는 짧은 유전자 서열로써, 진단, DNA 시퀀싱 등에 이용할 목적으로 합성된 올리고뉴클레오티드를 의미한다. 상기 프라이머들은 통상적으로 15 내지 30 염기쌍의 길이로 합성하여 사용할 수 있으나, 사용 목적에 따라 달라질 수 있으며, 공지된 방법으로 메틸화, 캡화 등으로 변형시킬 수 있다.
- [0039] 본 발명에서 "프로브"란 효소 화학적인 분리정제 또는 합성과정을 거쳐 제작된 수 염기 내지 수백 염기길이의 mRNA와 특이적으로 결합할 수 있는 핵산을 의미한다. 방사성 동위원소나 효소 등을 표지하여 mRNA의 존재 유무를 확인할 수 있으며, 공지된 방법으로 디자인하고 변형시켜 사용할 수 있다.
- [0040] 상기 단백질 수준을 측정하는 제제는 유전자가 코딩하는 단백질에 특이적으로 결합하는 항체일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0041] 본 발명에서 "항체"는 면역학적으로 특정 항원과 반응성을 갖는 면역글로불린 분자를 포함하며, 단클론(monoclonal) 항체 및 다클론(polyclonal) 항체를 모두 포함한다. 또한, 상기 항체는 키메라성 항체(예를 들면, 인간화 무린 항체) 및 이중결합항체(예를 들면, 양특이성 항체)와 같은 유전공학에 의해 생산된 형태를 포함한다. 단클론항체는 하이브리도마 세포를 이용한 방법, 또는 과지 항체 라이브러리 기술을 이용하여 제조할 수 있으며, 상기 과정에 필요한 기술은 당업계에 잘 알려져 있어 용이하게 실시할 수 있다. 다클론항체는 단백질 항원을 적합한 동물에게 주사하고, 이 동물로부터 항혈청을 수집한 다음, 공지의 친화성(affinity) 기술을 이용하여 항혈청으로부터 항체를 분리하여 얻을 수 있다.
- [0043] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 비만 저항성 진단용 키트를 제공한다.
- [0044] 본 발명의 진단용 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성성분 조성물, 용액 또는 장치로 구성된다.
- [0045] 예컨대, 본 발명의 키트는 PCR을 수행하기 위해, 분석하고자 하는 시료로부터 유래된 게놈 DNA, 본 발명의 마커 유전자에 대해 특이적인 프라이머 세트, 적당량의 DNA 중합 효소, dNTP 혼합물, PCR 완충용액 및 물을 포함하는 키트일 수 있다. 상기 PCR 완충용액은 KCl, Tris-HCl 및 MgCl₂를 함유할 수 있다. 이외에 PCR산물의 증폭 여부를 확인할 수 있는 전기영동 수행에 필요한 구성 성분들이 본 발명의 키트에 추가로 포함될 수 있다.
- [0046] 또한, 본 발명의 키트는 RT-PCR을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있다. RT-PCR키트는 마커 유전자에 대한 특이적인 각각의 프라이머 쌍 외에도 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액, 데옥시뉴클레오티드(dNTPs), Taq-폴리머레이즈 및 역전사 효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-수(DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다. 또한 정량 대조군으로 사용되는 유전자에 특이적인 프라이머 쌍을 포함할 수 있다.

- [0047] 또한, 본 발명의 키트는 DNA 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있다. DNA 칩 키트는, 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA가 프로브로 부착되어 있는 기관을 포함하고, 기관은 정량구조 유전자 또는 그의 단편에 해당하는 cDNA를 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 키트는 본 발명의 마커 유전자가 고정화되어 있는 기관을 갖는 마이크로어레이 형태일 수 있다. 또한, 본 발명의 키트는 ELISA를 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 것을 특징으로 하는 키트일 수 있다. ELISA 키트는 마커 단백질에 대한 특이적인 항체를 포함하며, 상기 단백질 수준을 측정하는 제제를 포함한다. 상기 ELISA 키트는 항원-항체 복합체를 형성한 항체를 검출할 수 있는 시약, 예를 들면 표지된 2차 항체, 발색단(chromophores), 효소, 및 그의 기질을 포함할 수 있다. 또한, 정량 대조군 단백질에 특이적인 항체를 포함할 수 있다.
- [0048] 본 발명에서 "항원-항체 복합체"란 유전자가 코딩하는 단백질과 이에 특이적인 항체의 결합물을 의미한다. 항원-항체 복합체의 형성량은 검출 라벨(detection label)의 시그널의 크기를 통해서 정량적으로 측정할 수 있다. 이러한 검출 라벨은 효소, 형광물, 리간드, 발광물, 미세입자(microparticle), 레독스 분자 및 방사선 동위원소로 이루어진 그룹 중에서 선택할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0050] 또한, 본 발명은 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자를 포함하는 비만 저항성 증가용 조성물을 제공한다.
- [0051] 본 발명자들은 티모신 $\beta 4$ 의 발현 수준과 비만 저항성이 비례하는 것을 확인한 것으로, 본 발명의 조성물은 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자를 포함하여, 투여된 개체 내 티모신 $\beta 4$ 발현을 증가시킴으로써, 비만 저항성을 증가시킬 수 있다.
- [0052] 상기 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자는 세포 내에서 티모신 $\beta 4$ 유전자를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터의 형태로 제공될 수 있다.
- [0053] 본 발명에서 "재조합"은 세포가 이중의 핵산을 복제하거나, 상기 핵산을 발현하거나 또는 펩티드, 이중의 펩티드 또는 이중의 핵산에 의해 암호된 단백질을 발현하는 세포를 지칭하는 것이다. 재조합 세포는 상기 세포의 천연 형태에서는 발견되지 않는 유전자 또는 유전자 절편을, 센스 또는 안티센스 형태 중 하나로 발현할 수 있다. 또한 재조합 세포는 천연 상태의 세포에서 발견되는 유전자를 발현할 수 있으며, 그러나 상기 유전자는 변형된 것으로서 인위적인 수단에 의해 세포 내 재도입된 것이다.
- [0054] 본 발명에서 "재조합 발현 벡터"는 세균 플라스미드, 파아지, 효모 플라스미드, 식물 세포 바이러스, 포유동물 세포 바이러스, 또는 다른 벡터를 의미한다. 대체로, 임의의 플라스미드 및 벡터는 숙주 내에서 복제 및 안정화할 수 있다면 사용될 수 있다. 상기 발현 벡터의 중요한 특성은 복제 원점, 프로모터, 마커 유전자 및 번역 조절 요소(translation control element)를 가지는 것이다.
- [0055] 상기 발현 벡터는 당업자에 주지된 방법에 의해 구축될 수 있다. 상기 방법은 시험관 내 재조합 DNA 기술, DNA 합성 기술 및 생체 내 재조합 기술 등을 포함한다. 상기 DNA 서열은 mRNA 합성을 이끌기 위해 발현 벡터 내의 적당한 프로모터에 효과적으로 연결될 수 있다. 또한 발현 벡터는 번역 개시 부위로서 리보솜 결합 부위 및 전사 터미네이터를 포함할 수 있다.
- [0057] 또한, 본 발명은 생물학적 시료에 존재하는 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및 상기 측정된 발현 수준을 정상 대조군의 발현 수준과 비교하는 단계를 포함하는, 비만 저항성 예측을 위한 정보제공방법을 제공한다.
- [0058] 본 발명자들은 티모신 $\beta 4$ 의 발현 수준과 비만 저항성이 비례하는 것을 확인한 것으로, 본 발명의 방법은 개체로부터 얻어진 생물학적 시료의 티모신 $\beta 4$ 발현 수준을 측정하여 이를 정상 대조군과 비교함으로써, 해당 개체의 비만 저항성이 우수한지 여부를 예측하기 위한 정보를 제공할 수 있다.
- [0059] 상기 생물학적 시료는 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액 및 등을 포함할 수 있고, 보다 바람직하게는 혈액일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 혈액 내 말초혈액단핵세포일 수 있으나, 이것으로 제한되는 것은 아니다.
- [0060] 상기 mRNA의 발현 수준을 측정하기 위한 방법은 중합효소반응(PCR), 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting) 및 DNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 방법을 통해 측정될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0061] 상기 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 방법은 웨스턴 블롯, ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트(rocket) 면역전기영동, 조직 면역 염색, 면역침전 분석법

(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석(Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS) 및 단백질 칩(protein chip)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 방법을 통해 측정될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0062] 본 발명에서 "비만 저항성 예측을 위한 정보제공방법"은 진단을 위한 예비적 단계로써 비만의 진단을 위하여 필요한 객관적인 기초정보를 제공하는 것이며 의사의 임상학적 판단 또는 소견은 제외된다.

[0064] 또한, 본 발명은 개체 내 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 발현 수준을 증가시키는 물질을 선별하는 단계를 포함하는 비만 저항성 개선제의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0065] 본 발명자들은 티모신 $\beta 4$ 의 발현 수준과 비만 저항성이 비례하는 것을 확인한 것으로, 대상 물질을 개체에 처리하여 개체의 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 발현 수준이 증가한다면 비만 저항성이 증가하는 것이므로, 그러한 물질을 비만 저항성 개선제를 선별할 수 있다.

[0066] 이는 개체에 대상 물질 처리 전에 개체 내 티모신 $\beta 4$ (Thymosin- $\beta 4$) 유전자의 mRNA 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 발현 수준을 측정하고, 처리 후에 발현 수준을 측정하여 비교할 수도 있고, 여러 개체 중 일부 개체에 대상 물질을 처리하여 비교군과 상기 발현 수준을 비교할 수도 있다.

[0067] 개체에 대상 물질을 처리하는 방법은 특별히 한정되지 않으며, 예를 들면 개체로부터 얻어진 생물학적 시료에 처리할 수 있다. 생물학적 시료는 전술한 바의 시료일 수도 있고, 인간 지방세포일 수도 있다.

[0068] 유전자 및 단백질의 발현 수준은 전술한 방법에 의해 측정할 수 있다.

[0069] 본 발명의 스크리닝 방법에서 "대상 물질"은 본 발명의 mRNA 또는 단백질의 발현량에 영향을 미치는지 여부를 검사하기 위하여 스크리닝에서 이용되는 미지의 물질을 의미한다. 상기 대상물질은 화합물질, 뉴클레오타이드, 안티센스-RNA, siRNA(small interference RNA) 및 천연물 추출물을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0071] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[실시예]

[0074] 1. 마우스의 체중 비교를 통한 티모신 $\beta 4$ 의 비만 억제 효과 확인

[0075] 체중 20-25 g의 8 주령 웅성 C57/BL6계 야생주 또는 티모신 $\beta 4$ 를 과발현하는 마우스(T $\beta 4$ -Tg, 한국특허 제10-1158047호에 기재된 방법에 따라 제조)에 고지방 식이를 제공하면서 1 주에 1 번씩 체중을 측정하였다. 이때, 2 일에 한번씩 먹이를 교체해 주었으며, 섭취한 먹이의 양을 측정하여 기록하였다.

[0076] 그 결과, 도 1 및 2에 나타난 바와 같이, 대조군 마우스에 비하여 티모신 $\beta 4$ 를 과발현하는 마우스에서 비만도가 감소함(도 1)을 확인하였으며, 주별 체중 증가폭은 작게(도 2A) 나타난 반면, 평균 1일 먹이 섭취량은 증가함(도 2B)을 확인함으로써, 티모신 $\beta 4$ 를 발현하는 마우스에서는 섭취량을 억제하지 않았음에도 비만이 억제된 것을 알 수 있었다.

[0078] 2. 마우스의 조직 변화를 통한 티모신 $\beta 4$ 의 비만 억제 효과 확인

[0079] 고지방 식이 22 주 짜에 야생주 또는 티모신 $\beta 4$ 를 과발현하는 마우스를 희생시키고, 간 조직 및 각 부위(다리, 엉덩이, 팔, 등, 장 및 아랫배)별 지방 조직을 분리하여 무게를 측정하였으며, 체중 대비 각 조직의 무게 비율을 환산하여 비교하였다.

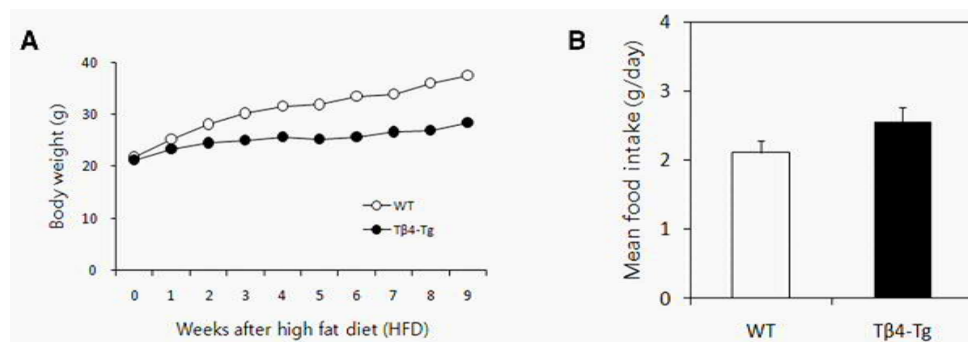
[0080] 그 결과, 도 3 및 4에 나타난 바와 같이, 대조군 마우스에 비하여 티모신 $\beta 4$ 를 과발현하는 마우스의 각 조직의 무게가 적게 나타남을 확인하였으며, 체중 대비 각 조직의 무게 비율 또한 측정된 모든 조직에서 대조군 마우스에 비하여 적게 나타남을 확인함으로써, 티모신 $\beta 4$ 를 발현하는 마우스에서 비만이 억제된 것을 알 수 있었다.

도면

도면1

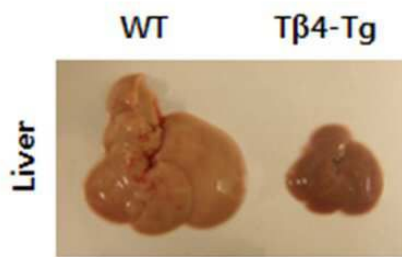


도면2

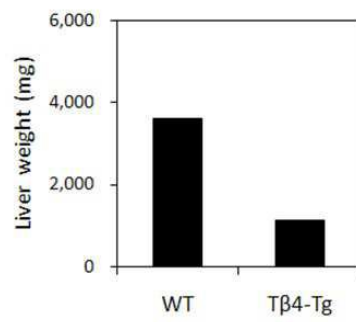


도면3

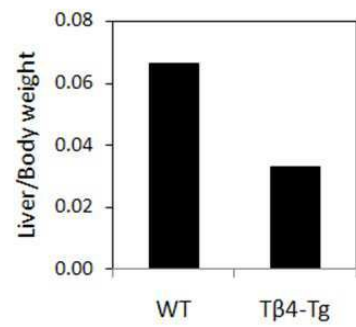
A



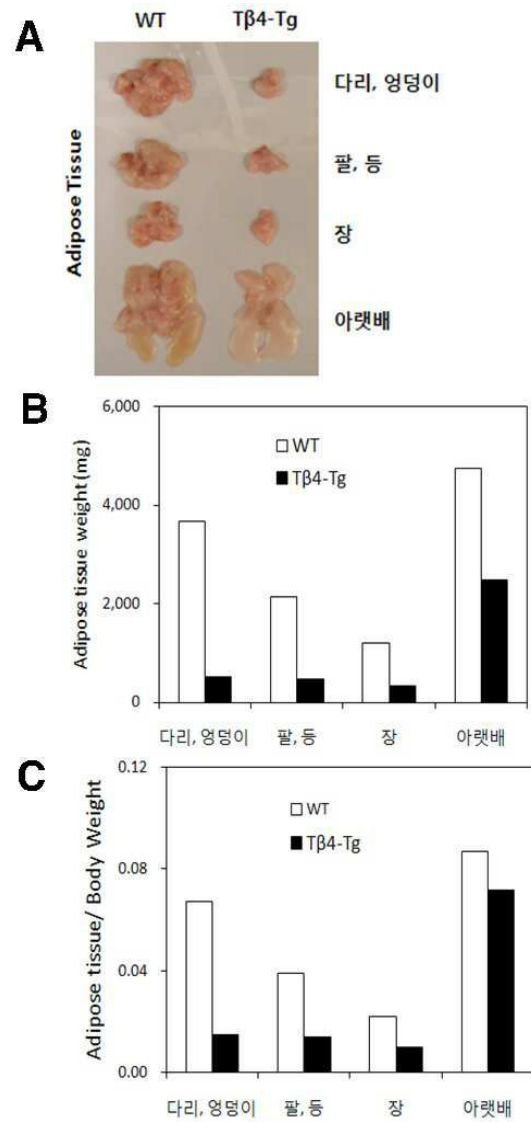
B



C



도면4



서열 목록

- <110> SEJONG UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMY COOPERATION FOUNDATION
- <120> Compositions for diagnosing obesity resistance
- <130> 05026
- <160> 3
- <170> Kopatent In 2.0
- <210> 1
- <211> 135
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens thymosin beta 4
- <400> 1

atgtctgaca aacccgatat ggctgagatc gagaaattcg ataagtcgaa actgaagaag 60

acagagacgc aagagaaaaa tccactgcct tccaaagaaa cgattgaaca ggagaagcaa 120

gcaggcgaat cgtaa 135

<210> 2
 <211> 44
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens thymosin beta 4
 <400> 2
 Met Ser Asp Lys Pro Asp Met Ala Glu Ile Glu Lys Phe Asp Lys Ser
 1 5 10 15
 Lys Leu Lys Lys Thr Glu Thr Gln Glu Lys Asn Pro Leu Pro Ser Lys
 20 25 30
 Glu Thr Ile Glu Gln Glu Lys Gln Ala Gly Glu Ser
 35 40

<210> 3
 <211> 135
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens thymosin beta 4

<400> 3
 atgtctgaca aacccgatat ggctgagatc gagaaattcg ataagtcgaa actgaagaag 60
 acagagacgc aagagaaaaa tccactgcct tccaaagaaa cgattgaaca ggagaagcaa 120
 gcaggcgaat cgtaa 135