



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0101786
(43) 공개일자 2016년08월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) A23L 1/305 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01) A61K 31/7105 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 48/00 (2013.01)
A23L 1/305 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0024225
(22) 출원일자 2015년02월17일
심사청구일자 2016년02월17일

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
이병주
울산광역시 울주군 범서읍 구영로 101-7 502동 502호 (구영리, 구영2차푸르지오아파트)
강다솔
부산광역시 남구 유엔로 15 103동 501호 (우암동, 일신보라아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 8 항

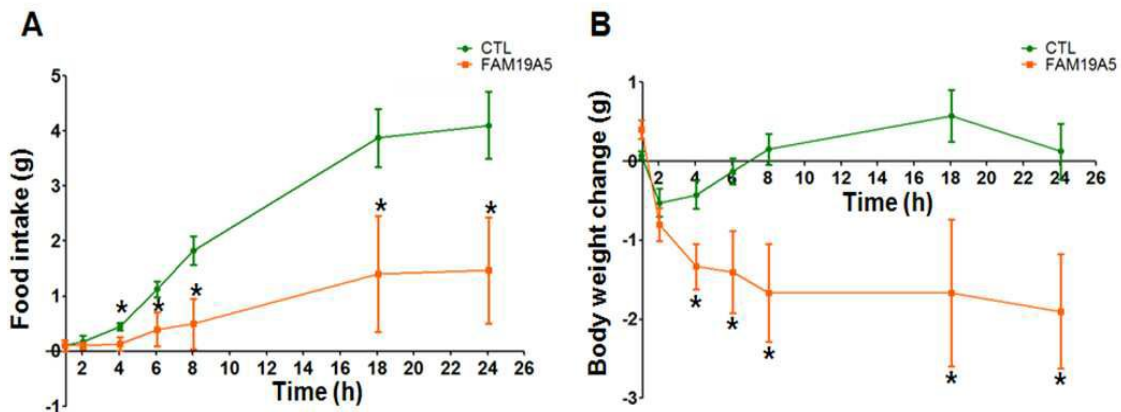
(54) 발명의 명칭 F AM 1 9 A 5 단백질을 포함하는 비만 예방 또는 치료용 조성물 및 이를 이용한 비만 치료제의 스크리닝 방법

(57) 요약

본 발명은 FAM19A5의 신규한 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 FAM19A5 단백질을 포함하는 비만 예방 또는 치료용 조성물, 비만을 예방하거나 치료할 필요가 있는 개체로부터 얻어진 생물학적 샘플에 임의의 화합물을 처리하는 단계; 및 상기 FAM19A5의 발현 프로파일을 검출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



하는 비만 치료제의 스크리닝 방법과 FAM19A5 단백질의 억제제를 포함하는 식욕 감퇴 개선 또는 치료용 조성물, 식욕 감퇴를 개선하거나 치료할 필요가 있는 개체로부터 얻어진 생물학적 샘플에 임의의 화합물을 처리하는 단계; 및 상기 FAM19A5의 발현 프로파일을 검출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 식욕 감퇴 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

상기 FAM19A5 유전자의 증가된 발현량과 FAM19A5 단백질의 증가된 양 또는 활성은 식욕을 억제하고, 체중을 감소시키는 효과를 보이므로 비만 치료제로 유용하게 사용할 수 있을 뿐 아니라, FAM19A5 유전자의 발현량 또는 FAM19A5 단백질의 양 또는 활성을 조절하면 식욕을 촉진하고 체중을 증가시키는 효과를 보이므로 식욕 촉진제로 유용하게 사용할 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/7088 (2013.01)

A61K 31/7105 (2013.01)

(72) 발명자

김한래

울산광역시 북구 아진로 42 101동 903호 (상안동, 쌍용아진아파트1차단지)

성재영

서울특별시 노원구 노원로22길 34, 103동 1205호
(중계동, 롯데우성아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2011-0019235

부처명 미래부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 뇌과학원천기술개발사업

연구과제명 뇌에서 신규 신경펩타이드의 생리조절 기능 규명(4)

기 여 율 1/1

주관기관 울산대학교 산학협력단

연구기간 2014.05.01 ~ 2015.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

FAM19A5 단백질 또는 이의 활성화제를 포함하는 비만 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 조성물은 약학조성물 또는 건강식품조성물에서 선택된 것을 특징으로 하는 비만 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

비만을 예방하거나 치료할 필요가 있는 개체로부터 얻어진 생물학적 샘플에 임의의 화합물을 처리하는 단계; 및 상기 FAM19A5의 발현 프로파일을 검출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 비만 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 4

FAM19A5 단백질의 억제제를 포함하는 식욕 감퇴 개선 또는 치료용 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 식욕 감퇴는 암 또는 종양의 화학요법에 따른 식욕 감퇴를 포함하는 것을 특징으로 하는 식욕 감퇴 개선 또는 치료용 조성물.

청구항 6

제 4항에 있어서,

상기 조성물은 공지된 항암제와 병용하는 것을 특징으로 하는 식욕 감퇴 개선 또는 치료용 조성물.

청구항 7

제 4항에 있어서,

상기 조성물은 약학조성물 또는 건강식품조성물에서 선택된 것을 특징으로 하는 식욕 감퇴 개선 또는 치료용 조성물.

청구항 8

식욕 감퇴를 개선하거나 치료할 필요가 있는 개체로부터 얻어진 생물학적 샘플에 임의의 화합물을 처리하는 단계; 및 상기 FAM19A5의 발현 프로파일을 검출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 식욕 감퇴 치료제의 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 비만 예방 또는 치료용 조성물 및 이를 이용한 비만 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 음식 섭취 및 신체에서의 이의 전환은 모든 생물의 삶에 필수적인 부분이다. 따라서, 섭취 및 음식의 전환에서의 일탈은 문제이며 병을 야기할 수 있다. 특히 필요한 열량보다 과잉으로 열량을 섭취하여 잉여부분의 열량이

중성지방 형태로 지방조직에 과잉으로 축적되는 경우, 비만이 발생한다.

[0003] 비만은 종종 기타 질병, 예를 들면, 당뇨병, 이상지질혈증, 고혈압, 동맥경화증 및 관상동맥성 심장 질환을 야기할 수 있다. 또한, 비만은 지지 및 이동 기관에 대한 부담을 증가시키고, 이는 만성 통증 및 질병, 예를 들면, 관절염 또는 골관절염을 야기할 수 있다. 따라서, 비만은 사회적으로 심각한 건강 문제이다.

[0004] 비만은 식욕요법, 운동요법과 행동수정요법을 병행해야 최상의 치료효과를 거둘 수 있지만, 좀 더 빠르고 나은 효과를 위하여 비만치료제 또는 다이어트제품이 많이 이용되고 있다.

[0005] 현재 제니칼, 리덕틸, 엑소리제 같은 항비만제품들이 개발되어 있다. 올리스타트(orlistat)를 주원료로 하는 제니칼은 세계최초의 비만치료제로서 리파아제의 작용을 억제하여 지방흡수를 억제시키고, 총콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤 농도를 감소시키는 효과가 있으며, 혈당 개선효과 및 혈압 저하효과를 보인다. 시부트라민(sibutramine)을 주원료로 하는 리덕틸은 1997년 FDA의 승인을 받아 세계 30여개 국가에서 판매 중인 제품으로 교감신경계의 세로토닌과 노르아드레날린을 고농도로 유지하여 교감신경흥분, 식욕저하 및 포만감을 유도하는 효능이 있다. 마지막으로 엑소리제는 프랑스에서 수입되는 비처방 반제품이며, 열발생을 증가시켜 신체의 기초대사량을 높여주고, 리파제활성을 억제시켜 장내 지방흡수를 30% 정도 감소시키며, 노르아드레날린 생성을 증가시킴으로써 에너지 소모량을 증가시키는 작용이 있다. 그러나 이들 약물들은 심장질환, 호흡기 질환, 신경계질환 등의 부작용과 함께 그 효능의 지속성이 낮아 더욱 효율적인 비만치료제의 개발이 필요한 실정이다.

[0006] 그러나 현재 비만치료제로서 이용되고 있는 올리스타트는 지방변, 장내가스발생, 복부팽만감 등의 부작용이 있고, 시부트라민은 두통, 구갈, 식욕부진, 불면, 변비 등의 부작용이 알려져 있다. 또한 올리스타트는 비타민 E와 비타민 D의 흡수를 억제하고, 펜터민(phentermine)과 시부트라민은 심박수 증가, 심계항진 또는 현기증을 초래하는 부작용이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 등록특허 제 10-1068686호.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 상기 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명은 비만 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데 그 목적이 있다.

[0009] 또한 본 발명은 비만 치료제의 스크리닝 방법을 제공하는 데 또 다른 목적이 있다.

[0010] 또한 본 발명은 식욕 감퇴 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 데 또 다른 목적이 있다.

[0011] 또한 본 발명은 식욕 감퇴 치료제의 스크리닝 방법을 제공하는 데 또 다른 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 FAM19A5 단백질 또는 이의 활성화제를 포함하는 비만 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0013] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 비만을 예방하거나 치료할 필요가 있는 개체로부터 얻어진 생물학적 샘플에 임의의 화합물을 처리하는 단계; 및 상기 FAM19A5의 발현 프로파일을 검출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 비만 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0014] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 FAM19A5 단백질의 억제제를 포함하는 식욕 감퇴 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0015] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 식욕 감퇴를 개선하거나 치료할 필요가 있는 개체로부터 얻어진 생물학적 샘플에 임의의 화합물을 처리하는 단계; 및 상기 FAM19A5의 발현 프로파일을 검출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 식욕 감퇴 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0016] 본 발명에 따르면, FAM19A5 유전자의 증가된 발현량과 FAM19A5 단백질의 증가된 양 또는 활성은 식욕을 억제하고, 체중을 감소시키는 효과를 보이므로 비만 치료제로 유용하게 사용할 수 있을 뿐 아니라, FAM19A5 유전자의 감소된 발현량과 FAM19A5 단백질의 감소된 양 또는 활성은 식욕을 촉진하고 체중을 증가시키는 효과를 보이므로 식욕 촉진제로 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1은 FAM19A5에 의한 음식 섭취량과 체중 변화를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 사회적으로 대두되는 심각한 건강 문제인 비만의 치료는 식사요법, 운동요법과 더불어 좀 더 빠른 효과를 위하여 비만치료제를 병용하여 수행된다. 그러나 현재 개발된 비만 치료제는 장내가스 발생, 두통, 불면, 변비뿐 아니라 비타민 E와 D의 흡수를 억제하고 심박수를 증가시키는 등의 부작용을 가지고 있다.
- [0019] 따라서 본 발명의 발명자는 좀 더 안전하고 효과적인 비만 치료제에 대하여 연구하던 중 FAM19A5 단백질의 조절이 식품 섭취 및 체중 변화에 영향을 미친다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [0020] 상기 FAM19A5(family with sequence similarity 19, member A5)는 작은 분비 단백질을 코딩하는 5개의 매우 상동성을 갖는 유전자로 구성된 FAM19A 가족 유전자의 일원이며, 고정된 위치에서 보존된 시스테인 잔기를 포함하고 있고, CC-케모카인 가족 유전자의 일원인 MIP-1 alpha와 관련되어 있다. 상기 단백질은 주로 뇌와 척수에서 특이적으로 발현되며, 신경 발생과정 및 성체신경줄기세포에서 생성되어 분비되면서 정상세포의 생성을 촉진하는 분화조절인자로 작용하는 것으로 알려져 있다.
- [0021] 본 발명은 상기 FAM19A5 단백질 또는 이의 활성화제를 포함하는 비만 예방 또는 치료용 조성물을 제공하며, 상기 조성물은 약학조성물 또는 건강식품 조성물로 제공될 수 있다..
- [0022] 더불어 본 발명은 비만을 예방하거나 치료할 필요가 있는 개체로부터 얻어진 생물학적 샘플에 임의의 화합물을 처리하는 단계; 및 상기 FAM19A5의 발현 프로파일을 검출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 비만 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0023] 이를 통하여 FAM19A5 유전자의 발현량, FAM19A5 단백질의 양 또는 FAM19A5 단백질의 활성이 증가되는 것이 측정되면 상기 화합물을 비만 치료제로 판정할 수 있다.
- [0024] 상기 생물학적 샘플은 세포, 이를 포함하는 세포주 또는 이를 포함하는 조직일 수 있으며, 바람직하게는 세포일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0025] 본 발명의 FAM19A5 뉴클레오타이드(human)의 식별번호는 BC039396.1이며, FAM19A5 단백질(human)의 식별번호는 Q7Z5A7이다.
- [0026] 한편, 항암 치료에 있어서 여러 치료법 중 화학요법은 가장 효과 있는 치료법이지만, 약물에 의한 식욕 감퇴가 부작용으로 발생하며 이로 인한 체중 감소와 영양결핍으로 인해 많은 환자들이 암치료를 어려움을 겪고 있다.
- [0027] 따라서, 최근 암환자의 식욕촉진제에 대한 연구가 활발해지고 있으며, 현재 보령제약의 메게이스, LG생명과학의 애프트를 내복현탁액 및 동성제약의 메제트론 현탁액 등 많은 식욕촉진제가 개발되었다.
- [0028] 본 발명에 따르면 FAM19A5의 활성 또는 발현을 조절하면 음식 섭취 및 체중 증가에 효과가 있다는 것을 확인하였다.
- [0029] 따라서 본 발명은 FAM19A5 단백질의 억제제를 포함하는 식욕 감퇴 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [0030] 상기 식욕 감퇴는 암 또는 종양의 화학요법에 따른 식욕 감퇴를 포함하며, 따라서 본 발명의 조성물은 공지된 항암제와 병용하는 것을 특징으로 한다.
- [0031] 상기 공지된 항암제는 파클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(docetaxel), 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 빈노렐(vinorelbine), 다우노마이신(daunomycin), 독소루비신(doxorubicin), 토폠테칸(topotecan), 이리노테칸(irinotecan), 악티노마이신(actinomycin) 및 에토포시드(etoposide)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0032] 상기 식욕 감퇴 개선 또는 치료용 조성물은 약학조성물 또는 건강식품 조성물로써 제공될 수 있다.
- [0033] 더불어 본 발명은 식욕 감퇴를 개선하거나 치료할 필요가 있는 개체로부터 얻어진 생물학적 샘플에 임의의 화합물을 처리하는 단계; 및 상기 FAM19A5의 발현 프로파일을 검출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 식욕 감퇴 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0034] 이를 통하여 FAM19A5 유전자의 발현량, FAM19A5 단백질의 양 또는 FAM19A5 단백질의 활성이 감소되는 것이 측정되면 상기 화합물을 식욕 감퇴 치료제로 판정할 수 있다.
- [0035] 상기 생물학적 샘플은 세포, 이를 포함하는 세포주 또는 이를 포함하는 조직일 수 있으며, 바람직하게는 세포일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 상기 본 발명에 따른 FAM19A5 단백질 또는 이의 활성화제를 포함하는 약학 조성물 또는 FAM19A5 단백질의 억제제를 포함하는 약학 조성물은 담체, 부형제, 봉해제, 감미제, 피복제, 팽창제, 율활제, 활택제, 향미제, 향산화제, 완충액, 정균제, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 율활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0037] 구체적으로 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 사용할 수 있으며, 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 율활제들도 사용할 수 있다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 있으며 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0038] 본 발명에 따른 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0039] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다.
- [0040] 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 율활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0041] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0042] 본 발명에 따른 약학 조성물의 유효성분인 FAM19A5 단백질, 이의 활성화제 또는 FAM19A5 단백질의 억제제의 사용량은 환자의 나이, 성별, 체중, 질환에 따라 달라질 수 있으나, 0.001 내지 100mg/kg으로, 바람직하게는 0.01 내지 10mg/kg을 일일 1회 내지 수회 투여할 수 있다.
- [0043] 또한, 본 발명에 따른 FAM19A5 단백질 또는 이의 활성화제를 포함하는 약학 조성물, 또는 FAM19A5 단백질의 억제제를 포함하는 약학 조성물의 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0044] 상기 약학 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 기관지 내 흡입, 자궁 내 경막 또는 뇌척

관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0045] 상기 본 발명에 따른 FAM19A5 단백질 또는 이의 활성화제를 포함하는 건강식품 조성물 또는 FAM19A5 단백질의 억제제를 포함하는 건강식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 건강식품은 유효성분인 FAM19A5 단백질, 이의 활성화제 또는 FAM19A5 단백질의 억제제 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0046] 상기 건강식품 조성물에 함유된 FAM19A5 단백질, 이의 활성화제 또는 FAM19A5 단백질의 억제제의 유효용량은 상기 약학 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.

[0047] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

[0049] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0051] <실시예 1> 뇌 혈관 내 캐놀라(cannulae)를 위한 정위수술법(Stereotaxic surgery)

[0052] 동물들은 트리브로모에탄올(tribromoethanol, 250 mg/kg, Sigma-Aldrich, ST. Louis, MO, USA)을 IP 주입하여 마취시키고, 뇌(정위)고정 장치(stereotaxic apparatus, Stoelting, Wood Dale, IL, USA)에 넣었다. 캐놀라(26게이지)의 우측 뇌실 내로 주입하고(1.0mm 측면, 0.3mm 후방 그리고 2.4mm 복부(ventral)부터 정수리(bregma)까지), 치과용 시멘트로 두개골에 고정하였다.

[0053] 마우스의 경우, 폴리에틸렌(polyethylene) 캐놀라(o.d 1.05mm, i.d 0.35mm)를 뇌실 내로 주입하였다(1.6mm(가로), 1.0 mm(후방), 정수리(3.6mm) 복부).

[0054] 동물들이 마취에서 회복한 후 따뜻한 온도를 유지시켜 주고, 개별 케이지에 놓았다. 수술 후 실험 전까지 약 7일간 회복기간을 주었고, 시험 물질을 캐놀라를 통해 주입하였다.

[0056] <실시예 2> FAM19A5의 ICV(뇌실 내부의 주입, intracerebroventricularly injection) 관리

[0057] FAM19A5는 멸균 생리 식염수에 용해시키고, 뇌 실내(icv, 1 µg/mice)에 주입하였다.

[0059] <실시예 3> 식품 섭취량 및 체중 변화 측정

[0060] FAM19A5를 투여 후, 식품 섭취량과 체중의 변화를 매시간마다 직접 저울로 측정하였다. 이때, 대조군의 경우 0.9% 식염수를 공급하였다. 데이터는 mean ± SEM(CTL n=4, FAM19A5 n=3)으로 대표된다(*p<0.05 vs. control mouse).

[0061] 그 결과 도 1과 같이, 식품 섭취량 및 체중이 FAM19A5를 투여한 군에서 현저히 저하된 것을 확인하였다.

[0063] <실시예 4> 면역화학염색

[0064] 마우스는 tribromoethanol을 이용하여 깊게 마취시킨 후(250 mg/kg, Sigma-Aldrich, ST. Louis, MO, USA), 경 심관류로(transcardially) 인산 완충액(phosphate buffer, PB, 0.1M, pH 7.4)의 신선한 고정액4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)를 관류시킨 후, 차가운 0.9% 식염수(saline)에 포함된 헤파린(heparin, 10 mg/L)을 관류시켰다.

- [0065] 뇌는 절개한 후 상기 고정액으로 하룻밤 동안 고정하였다. 그런 후 차가운 PB(0.1M)에 여러번 세척하고, 바이브라톱(vibratome, VT1000P; Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)을 이용하여 시상하부의 ARC(arcuate hypothalamic nuclei)를 포함하여 절단하였다.
- [0066] 50 μ m 두께의 관상 뇌 섹션(coronal brain sections)은 PB로 여러번 세척하고 내인성 퍼옥시다아제(endogenous peroxidase)의 활성을 차단하기 위하여 1% 과산화수소(H_2O_2)를 포함한 PB에 넣고 암실에서 20분간 배양하였다.
- [0067] PB로 수차례 세척한 후, 0.2% 트립톤(Triton) X-100이 포함된 PB에 넣고 30분간 사전 배양하였다.
- [0068] PB로 워싱한 후, 섹션과 일차 항체(primary antibody)를 셰이커에 넣고 15시간, 4℃에서 반응시켰다.
- [0069] PB로 워싱한 후, 섹션과 이차 항체(secondary antibody)를 셰이커에 넣고 2시간 동안 실온에서 반응시켰다.

도면

도면1

