



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0119462
(43) 공개일자 2019년10월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/50 (2017.01) A23L 33/13 (2016.01)
A61K 31/7105 (2006.01) A61K 31/713 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) A61P 27/02 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/5044 (2013.01)
A23L 33/13 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0042940

(22) 출원일자 2018년04월12일

심사청구일자 2018년04월12일

(71) 출원인

(주)아모레퍼시픽

서울특별시 용산구 한강대로 100(한강로2가)

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

최현정

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원

김형준

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김영철, 임희택, 김 순 영

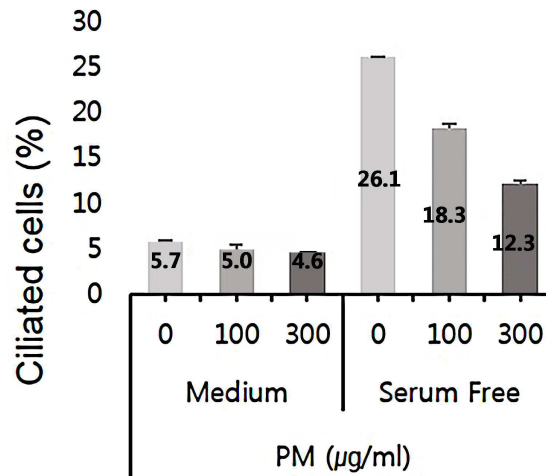
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 스크리닝 방법 및 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물

(57) 요약

본 발명은 망막세포의 일차 섬모(primary cilia)의 상대적 형성 정도를 확인하는 단계를 포함하는 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 스크리닝 방법에 관한 것으로서, 본 발명의 일 측면을 통하여 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 효과적인 스크리닝 및 발굴이 가능하며, 이를 통해 미세먼지에 의한 눈 건강 관련 사업의 발달을 도모할 수 있다.

대표도 - 도1b



(52) CPC특허분류

A61K 31/7105 (2013.01)

A61K 31/713 (2013.01)

A61K 48/00 (2013.01)

A61P 27/02 (2018.01)

G01N 33/5076 (2013.01)

G01N 33/6893 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

(72) 발명자

이태룡

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽
기술연구원

조동형

경기도 용인시 기흥구 한보라2로 167, 903동 1403
호

배지은

대구광역시 북구 산격로10길 35-6

명세서

청구범위

청구항 1

망막세포에 시험 물질을 처리하는 단계;

상기 시험 물질을 처리한 망막세포에서, 시험 물질 처리 전과 후의 일차 섬모(primary cilia)의 상대적 형성 정도를 확인하는 단계; 및

상기 시험 물질 처리 후의 일차 섬모의 상대적 형성 정도가 처리 전에 비하여 클 경우 상기 시험 물질을 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질로 판단하는 단계를 포함하는, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 스크리닝 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 일차 섬모의 상대적 형성 정도는 일차 섬모가 발현된 망막세포의 수의 비교, 일차 섬모의 길이의 비교, 및 SPRR3 (small proline-rich protein 3)의 발현 정도의 비교 중 하나 이상을 통하여 판정하는 것인, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 스크리닝 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 망막세포는 망막색소상피세포(retinal pigmented epithelial cells; RPE cells)인, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 스크리닝 방법.

청구항 4

SPRR3(small proline-rich protein 3)의 발현 또는 활성을 억제하는 RNA 핵산 분자를 유효성분으로 포함하는, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 RNA 핵산 분자는, SPRR3의 mRNA에 결합하는 siRNA, shRNA 및 miRNA 중 어느 하나 이상을 포함하는, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 siRNA는 서열번호 1의 서열을 포함하는, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물.

청구항 7

제4항에 있어서,

상기 망막세포는 망막색소상피세포(retinal pigmented epithelial cells; RPE cells)인, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물.

청구항 8

제4항에 있어서,

상기 SPRR3의 발현 또는 활성 억제 물질은 미세먼지에 의한 망막세포의 일차 섬모 억제를 회복시키는, 미세먼지

에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물.

청구항 9

제4항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은, 약학적 조성물 또는 건강식품 조성물인, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 스크리닝 방법에 관한 것으로서, 구체적으로 세포의 소기관인 일차 섬모의 형성 정도를 확인하여 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질을 스크리닝 하는 방법, 및 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 망막색소상피세포(Retinal Pigment Epithelium cells, RPE cells)는 망막 감각신경 부분의 바깥에 존재하는 색소가 있는 세포들을 지칭하며, 망막의 가장 바깥에 단층으로 존재하고 망막의 발달에 관여하며 간상세포와 원추 세포를 보호하는 역할을 한다.

[0003] 구체적으로, 망막색소상피세포는 산란된 빛을 흡수하고, 광산화 스트레스를 제거함으로써 망막 유지에 관여하는 광수용(light absorption) 기능, 혈액 망막 장벽(Blood Retina Barrier, BRB)를 형성하여 외부 흐름을 차단하고 망막의 광수용 세포 작용에 필요한 이온의 항상성을 유지하며 망막 내의 대사 산물과 수분을 망막 외부로 내보내는 물질 수송(Epithelial transport) 기능, 광 변환(phototransduction)을 통한 외부 시각 회로의 작용을 일정하게 유지하는 시각회로 조절(visual cycle) 기능, 광수용세포의 바깥 부분(Photoreceptor OuterSegment, POS)에 대한 식작용을 통해 광수용세포의 자기 재생산을 유발함으로써 건강한 시각 능력의 유지에 관여하는 식 세포작용(phagocytosis) 기능, 다양한 신호물질을 분비해서 광수용세포 유지 및 면역 시스템 조절 역할을 수행하는 호르몬 분비 기능 및 면역 격리 지역의 형성을 통한 면역조절 작용을 수행한다.

[0004] 한편, 미세먼지는 눈에 보이지 않을 만큼 미세한 입자의 먼지로, 지름 10 μ m 이하의 먼지를 말하며 입자 크기에 따라 각각 지름 10 μ m 이하, 2.5 μ m 이하, 1.0 μ m 이하인 PM10(미세먼지), PM2.5(초미세먼지), PM1.0(극초미세먼지)로 구분한다. 여기서 PM(particulate matter)이란 '입자상 물질(대기 중에 떠다니는 고체 또는 액체 상태의 미세 입자)'이라는 뜻이다.

[0005] 유해물질인 미세먼지는 호흡기와 폐 질환을 비롯하여 피부 및 안구 질환 등의 원인이 되며 일반 먼지와 달리 코, 구강, 기관지에서 걸러지지 않고 신체에 축적된다. 특히 이러한 미세먼지로 인하여 망막색소상피세포에 손상이 가해질 경우, 망막색소상피세포 관련 질병인 망막색소변성증, 노인성 황반변성, 당뇨망막병증 등의 질병이 유발될 위험이 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) Joon Kim et al., Functionalgenomic screen for modulators of ciliogenesis and cilium length (Nature, 2010 April 15, 464(7291), pp. 1048-1051)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 망막색소상피세포의 일차 섬모(primary cilia)를 통해 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질을 효과적으로 스크리닝하는 새로운 방법 및 이러한 스크리닝 방법을 통해 확인된 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질을 포함하는 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0008] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 실시예는 망막세포에 시험 물질을 처리하는 단계;
- [0009] 상기 시험 물질을 처리한 망막세포에서, 시험 물질 처리 전과 후의 일차 섬모(primary cilia)의 상대적 형성 정도를 확인하는 단계; 및
- [0010] 상기 시험 물질 처리 후의 일차 섬모의 상대적 형성 정도가 처리 전에 비하여 클 경우 상기 시험 물질을 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질로 판단하는 단계를 포함하는, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 실시예는 SPRR3(small proline-rich protein 3)의 발현 또는 활성을 억제하는 RNA 핵산 분자를 유효성분으로 포함하는, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명에 의한 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 스크리닝 방법은 망막세포 내 일차 섬모(primary cilia)의 상대적 형성 정도를 확인하는 단계를 포함함으로써 보다 효과적으로 미세먼지에 의한 망막세포의 손상을 억제할 수 있는 물질을 스크리닝할 수 있도록 하고, 기존의 방법으로 발견하지 못했던 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 확인이 가능하게 하므로, 관련 분야의 산업발전에 크게 기여할 수 있다.
- [0013] 또한, 본 발명에 의한 스크리닝 방법을 통하여 확인된 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질을 유효성분으로 포함하는 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물은 망막세포 내 SPRR3의 발현 또는 활성을 억제시켜 미세먼지에 의한 일차 섬모의 생성 억제를 회복시키고 그 결과 미세먼지에 의한 망막세포의 손상을 효과적으로 억제할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0014] 도 1a는 미세먼지 처리에 따른 망막색소상피세포 내 일차 섬모의 길이의 변화를 나타낸 것이다.
- 도 1b는 미세먼지 처리에 따른 일차 섬모가 발현된 망막색소상피세포의 수의 변화를 나타낸 것이다.
- 도 2a는 미세먼지 처리에 따른 망막색소상피세포 내 SPRR3 mRNA의 발현 변화를 나타낸 것이다.
- 도 2b는 미세먼지 처리에 따른 망막색소상피세포 내 SPRR3 mRNA의 발현 변화를 웨스턴 블롯으로 나타낸 것이다.
- 도 3a는 SPRR3에 대한 siRNA 및 MKKS에 대한 siRNA가 각각 SPRR3 및 MKKS의 발현을 억제시킴을 웨스턴 블롯으로 나타낸 것이다.
- 도 3b는 망막색소상피세포에 SPRR3에 대한 siRNA를 처리할 경우 일차 섬모의 발현량이 증가됨을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0016] 본 명세서에서 "미세먼지"는 눈에 보이지 않을 만큼 미세한 입자의 먼지로서, 지름 10 μ m 이하의 먼지를 말하며 입자 크기에 따라 각각 지름 10 μ m 이하, 2.5 μ m 이하, 1.0 μ m 이하인 PM10(미세먼지), PM2.5(초미세먼지), PM1.0(극초미세먼지)로 구분한다. 여기서 PM(particulate matter)이란 '입자상 물질(대기 중에 떠다니는 고체 또는 액체 상태의 미세 입자)'이라는 뜻이다.
- [0017] 본 명세서에서 "망막세포"는 망막을 구성하는 세포의 총칭으로서, 망막색소상피세포(retinal pigmented epithelial cells, RPE cells)를 포함하는 광의의 개념이다.
- [0018] 본 명세서에서 "일차 섬모"는, primary cilium(복수일 경우 primary cilia)라고도 하며, 세포체에서 돌출된 소기관으로서, 화학적 자극, 물리적 자극, 빛, 삼투압, 유체 흐름, 및 중력 신호 등을 포함하는 다양한 외부자극을 감지하는 세포 소기관을 말한다.
- [0019] 본 명세서에서 "상대적 형성 정도"는, 어떠한 조건에 처하거나 처하지 않은 세포에서의 일차 섬모(primary cilia)의 형성 또는 발현 정도를 비교하였을 때, 형성 또는 발현의 여부, 수, 양, 질(quality)의 차이를 나타내는 정도일 수 있다. 또한, 상기 형성 정도는, 예컨대, 일차 섬모를 형성 또는 발현하는 세포의 수나 양, 또는

일차 섬모의 길이를 포함할 수 있다.

- [0020] 본 발명은, 일 측면에서, 망막세포에 시험 물질을 처리하는 단계; 상기 시험 물질을 처리한 망막세포에서, 시험 물질 처리 전과 후의 일차 섬모(primary cilia)의 상대적 형성 정도를 확인하는 단계; 및 상기 시험 물질 처리 후의 일차 섬모의 상대적 형성 정도가 처리 전에 비하여 클 경우 상기 시험 물질을 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질로 판단하는 단계를 포함하는, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질의 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0021] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 일차 섬모의 상대적 형성 정도는 일차 섬모가 발현된 망막세포의 수의 비교 및 일차 섬모의 길이의 비교 중 하나 이상을 통하여 판정하는 것일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 일차 섬모의 상대적 형성 정도는 SPRR3 (small proline-rich protein 3)의 발현 정도로 확인하는 것일 수 있다. 예컨대, SPRR3가 발현된 망막세포의 수를 비교하거나, 한 세포 내에 발현된 SPRR3의 양을 비교하여 판정하는 것일 수 있고, 상기 시험 물질 처리 후의 SPRR3가 발현된 망막세포의 수나 한 세포 내에 발현된 SPRR3의 양이 시험 물질 처리 전보다 적을 경우, 형성된 일차 섬모의 발현 양 또는 그 길이가 증가된 것으로 볼 수 있고 상기 시험 물질을 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 물질로 판정할 수 있다.
- [0023] 한편, 상기 일차 섬모의 상대적 형성 정도를 측정하는 방법은, 공지의 기술, 예컨대, 면역 형광 분석, 웨스턴 블롯(western blot), 닷 블롯(dot blot), 효소면역분석(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 노던 블롯(northern blot), PCR, RT-qPCR, GC-MS, LC-MS, NMR 등 당업자가 적절히 선택할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 망막세포는 망막색소상피세포(retinal pigmented epithelial cells, RPE cells)일 수 있다.
- [0025] 본 발명은, 다른 측면에서, SPRR3의 발현 또는 활성을 억제하는 RNA 핵산 분자를 유효성분으로 포함하는, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물을 제공한다.
- [0026] 본 발명의 일 측면인, 미세먼지에 의한 망막세포 손상 억제용 조성물에 있어서, 상기 RNA 핵산 분자는 서열번호 1의 서열을 포함하는 SPRR3의 mRNA에 결합하는 siRNA, shRNA 및 miRNA 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0027] siRNA, shRNA 및 miRNA는 RNA 간섭 현상(RNA interference, RNAi)을 일으키는 RNA 단편이다. RNA 간섭 현상이란, 이중 가닥 RNA(double stranded RNA, dsRNA)에 의해 타겟 mRNA가 분해되어 특정 유전자의 발현이 하향 조절되는 것을 의미한다.
- [0028] miRNA는 세포 내에 존재하는 작은 RNA(endogenous small RNA)의 일종으로 단백질을 합성하지 않는 DNA에서 유래되어 헤어핀-구조 전사체(hairpin-shaped transcript)로부터 생성이 된다. miRNA는 표적 mRNA의 3'-UTR의 상보적 서열(sequence)에 결합하여 그 mRNA의 번역 억제 또는 불안정화를 유도하여, 궁극적으로 그 표적 mRNA의 단백질 합성을 억제하는 리프레서(repressor) 역할을 하게 된다. 상기과 같은 역할은 RNAi로 불리기도 한다. 하나의 miRNA는 여러 개의 mRNA를 타겟팅할 수 있으며, mRNA 역시 여러 개의 miRNA에 의해 조절될 수 있다고 알려져 있다. RNAi 현상을 유도하는 다른 RNA로 19 내지 27 mer 내외의 짧은 RNA인 short interfering RNA(siRNA)가 있으며, 짧은 헤어핀 구조를 가지는 shRNA가 있다. 일반적으로 siRNA와 shRNA가 인위적으로 세포내로 도입되어 RNAi를 유도하는 물질이라하면, miRNA는 세포내에 자연적으로 존재하는 물질을 의미한다.
- [0029] 더불어, 본 발명의 일 측면에 의한 상기 RNA 핵산분자에서, RNA 가닥은 이의 당 부분, 뉴클레오페이스 부분 또는 인터뉴클레오타이드 구조 내에 최소한 1개의 화학적 변형을 포함하는 것이 가능하다. 이러한 변형은 생체 내에서 뉴클레아제에 의해 siRNA의 파괴를 저해하는 것을 가능하게 할 수 있다. 본 발명의 일 측면에 따른 siRNA의 안정성과 생체합성을 생체 내에서 향상시킬 수 있는 모든 화학적 변형이 본 발명의 범위에 포함된다. 당 부분에 대한 바람직한 변형 중에서, 언급될 수 있는 것은 2'-데옥시, 2'-플루오로, 2'-아미노, 2'-티오, 또는 2'-O-알킬과 같은 리보오스의 포지션 2', 그리고 바람직하게는 리보뉴클레오타이드 상의 정상 2'-OH 그룹을 대체하는 2'-O-메틸 또는 LNA의 포지션 2' 및 4' 사이에 있는 메틸렌 브릿지의 존재에서 일어나는 변형이다. 뉴클레오페이스의 경우, 5-브로모-유리딘, 5-이오도-유리딘, N3-메틸-유리딘, 2,6-디아미노퓨린(DAP, 5-메틸-2'-데옥시시티딘, 5-(1-프로피닐)-2'-데옥시-유리딘(pdU), 5-(1-프로피닐)-2'-데옥시시티딘(pdC)과 같은 변형된 염기 또는 콜레스테롤과 결합한 염기를 이용하는 것이 가능하다. 인터뉴클레오타이드 골격의 바람직한 변형은 포스포로티오에이트(phosphorothioate), 메틸포스포네이트, 포스포로디아미데이트 그룹에 의한 골격에 있는 포스포디에스터 그룹을 치환하는 것을 포함하거나, 펩타이드 결합에 의해 연결된 N-(2-아미노에틸)-글리신(PNA, 펩타이드

핵산)으로 구성되는 골격을 이용하는 것을 포함한다. 다양하게 변형된 염기, 당, 골격은 몰포리노(morpholino) 타입의 변형된 핵산(몰포린 링에 고정되고 포스포로디아미테이트 그룹에 의해 연결된 염기) 또는 PNA(펩타이드 결합에 의해 연결된 N-(2-아미노에틸)-글리신 단위에 고정된 염기)에 결합될 수 있다.

[0030] 상기 RNA 핵산분자는 "분리된 것"이거나, 다른 전달 및 운반 수단 등에 "결합된 것"도 포함하며, 이는 자연 상태에 있지 않은 것을 의미하지만, 자연 상태에서 구할 수 있는 것도 포함하며, 인간의 개입과 관련된 모든 수단에 의해 얻어질 수 있는 것을 의미한다. 특히, 상기 RNA 핵산분자는 화학적 합성, 효소적 방법, 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 이용하여 제조할 수 있고, 특정 뉴클레오타이드 서열의 증폭, 또는 재조합 합성에 의해 이미 존재하는 다양한 핵산 구조나 상기 RNA 핵산분자를 정제함으로써 얻어질 수 있다.

[0031] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 조성물은 본 발명에 따른 SPRR3의 발현 또는 활성을 억제하는 RNA 핵산 분자의 생체적합성과 전달성의 향상을 가능하게 하는 모든 운반체를 추가로 포함할 수 있다. 특히, 상기 RNA 핵산분자와 함께 사용될 수 있는 운반체는 리포솜, 엑소솜, 펩타이드(예를 들어, 세포-투과성 펩타이드) 및 다양한 나노입자를 포함한다. 또한 상기 RNA 핵산분자를 포함하는 재조합백터, 플라스미드 등을 전달 또는 운반 수단으로 이용할 수도 있다. 상기 전달 또는 운반 수단은 당해 분야에 공지된 다양한 기술과 방법을 적용할 수 있고, 제형에 따라 변형, 개선 등을 거칠 수도 있다.

[0032] 상기 RNA 핵산분자는 전달된 세포에서 적절히 전사되기 위하여 적어도 프로모터에 작동가능하게 연결되는 것이 바람직하나 이에 제한되지는 않는다. 상기 프로모터는 세포에서 기능할 수 있는 프로모터라면 어떤 것이든지 무방하다. 본 발명의 일 측면에 의한 상기 RNA 핵산분자는 효율적인 작용을 위하여 필요에 따라 리더 서열, 폴리 아데닐화 서열, 프로모터, 인핸서, 업스트림 활성화 서열, 신호 펩타이드 서열 및 전사 종결인자를 비롯한 조절 서열을 추가로 포함할 수도 있다.

[0033] 상기과 같은 측면에서, 예컨대 상기 siRNA는 이들과 각각 혼성화 가능한 서열들, 또는 이들과 각각 상보적인 서열들을 포함할 수 있다.

[0034] 본 명세서에서 "혼성화 가능"하다는 의미는, 특정 단일가닥의 RNA와 결합하여 이중가닥의 RNA를 형성할 수 있다는 의미이다.

[0035] 일 실시상태에 있어서, 상기 SPRR3의 mRNA에 결합하는 siRNA의 서열은 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 것일 수 있으며, 구체적으로 서열번호 2로 표시되는 염기서열과 80%, 바람직하게는 90%, 보다 바람직하게는 100%의 상동성을 갖는 염기서열을 포함할 수 있다.

[0036] 상기 siRNA는 상기 서열 또는 상기 서열과 80 내지 100%의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 독립적인 단일사슬 RNA 가닥일 수도 있고, 이중사슬 RNA 가닥일 수도 있다. 상기 siRNA는 센스 RNA 가닥 및 이에 상보적인 안티센스 RNA 가닥을 포함하거나 상기 센스RNA 가닥 및 안티센스 RNA 가닥이 루프에 의해 연결된 스템-루프(stem-loop) 구조의 단일 RNA 가닥일 수도 있다. 한편, 상기 이중사슬 또는 스템 부위는 미스매치(대응하는 염기가 상보적이지 않음), 별지(일방의 사슬에 대응하는 염기가 없음) 등에 의하여 쌍을 이루지 않는 부분이 포함될 수도 있다. 상기 siRNA의 전체 길이는 10 내지 60염기, 바람직하게는 15 내지 40 염기, 더욱 바람직하게는 18 내지 30 염기이다. 또한, 상기 루프 영역은 서열에 특별한 의미가 없으며, 단지 서열을 적당한 간격으로 연결하기 위하여 3-10 정도의 염기를 가지고 있으면 족하다. siRNA 말단 구조는 평활(blunt)말단 혹은 점착(cohesive) 말단 모두 가능하다. 점착 말단 구조는 3'말단 돌출한 구조(protruding structure) 및/또는 5' 말단 쪽이 돌출한 구조가 모두 가능하고 돌출하는 염기 수는 한정되지 않는다. 또한, siRNA는 표적유전자의 발현억제 효과를 유지할 수 있는 범위에서 예를 들어, 한쪽 말단의 돌출 부분에 저분자 RNA(예를 들어, tRNA, rRNA, 바이러스 RNA와 같은 천연의 RNA분자 또는 인공의 RNA분자)를 포함할 수 있다. siRNA 말단구조는 양측 모두 절단 구조를 가질 필요는 없고, siRNA의 일방의 말단 부위가 링커 RNA에 의하여 접속된 구조일 수도 있다. 링커의 길이는 스템 부분의 쌍을 이루는 데 지장이 없는 길이이면 특별히 한정되지 않는다.

[0037] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 조성물 내 SPRR3의 발현 또는 활성을 억제하는 RNA 핵산 분자의 함량은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 당업자가 용이하게 선정 가능하며, 예컨대, 조성물 총 중량 대비 0.0001 내지 30중량%일 수 있다. 또한, 상기 함량은 상기 조성물 총 중량 대비 0.0001 중량% 이상, 0.0005 중량% 이상, 0.001 중량% 이상, 0.005 중량% 이상, 0.01 중량% 이상, 0.05 중량% 이상, 0.1 중량% 이상, 0.3 중량% 이상, 0.5 중량% 이상, 0.8 중량% 이상, 1 중량% 이상, 3 중량% 이상, 5 중량% 이상, 8 중량% 이상, 10 중량% 이상, 12 중량% 이상, 15 중량% 이상, 또는 18 중량% 이상일 수 있다. 또한, 상기 함량은 상기 조성물 총 중량 대비 30 중량% 이하, 28 중량% 이하, 25 중량% 이하, 22 중량% 이하, 20 중량% 이하, 18 중량%

이하, 15 중량% 이하, 12 중량% 이하, 10 중량% 이하, 8 중량% 이하, 5 중량% 이하, 3 중량% 이하, 1 중량% 이하, 0.8 중량% 이하, 0.5 중량% 이하, 0.3 중량% 이하, 0.1 중량% 이하, 0.05 중량% 이하, 0.01 중량% 이하, 0.005 중량% 이하, 0.001 중량% 이하, 또는 0.0005 중량% 이하일 수 있다.

- [0038] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 조성물은 미세먼지에 의한 망막세포 손상으로 인한 망막 질환의 완화 또는 치료용 약학 조성물일 수 있으며, 상기 망막 질환으로는 예컨대 망막색소변성증, 노인성 황반변성 및 당뇨병 망막병증 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 미세먼지에 의한 망막색소상피세포의 손상으로 인하여 발생할 수 있는 망막 질환이라면 모두 포함될 수 있다.
- [0039] 상기 약학 조성물은 보존제, 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 약제학적 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 함유할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 다양한 경구 투여제 또는 비경구 투여제 형태로 제형화할 수 있다.
- [0040] 상기 경구 투여제는 예를 들면, 정제, 환제, 경질 및 연질 캡슐제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 분제, 산제, 세립제, 과립제, 펠렛제 등이 있으며, 이들 제형은 유효성분 이외에 계면 활성제, 희석제(예: 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로오스 및 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및 폴리에틸렌 글리콜)를 함유할 수 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스 및 폴리비닐피롤리돈과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제, 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제 등의 약제학적 첨가제를 함유할 수 있다. 상기 정제는 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0041] 또한, 상기 비경구 투여 형태로는 경피 투여형 제형일 수 있으며, 예를 들어 주사제, 점적제, 연고, 로션, 젤, 크림, 스프레이, 현탁제, 유제, 좌제(坐劑), 패취 등의 제형일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 상기 약학 조성물은 비경구, 직장, 국소, 경피, 피하 등으로 투여될 수 있다.
- [0043] 상기 약학 조성물의 유효성분의 투여량 결정은 통상의 기술자의 수준 내에 있으며, 약물의 1일 투여 용량은 투여하고자 하는 대상의 진행 정도, 발병 시기, 연령, 건강상태, 합병증 등의 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다.
- [0044] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 조성물은 건강식품 조성물일 수 있다.
- [0045] 상기 건강식품은, 일상 식사에서 결핍되기 쉬운 영양소나 인체에 유용한 기능을 가진 원료나 성분(기능성원료)을 사용하여 제조한 것으로, 인체의 정상적인 기능을 유지하거나 생리기능 활성화를 통하여 건강을 유지하고 개선하는 식품을 의미할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 건강식품은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조, 가공될 수 있으나 이에 한정되지 않으며, 법률에 따라 어떤 형태로든지 제조, 가공될 수 있다.
- [0046] 각 제형의 건강식품 조성물은 유효성분 이외에 해당 분야에서 통상적으로 사용되는 성분들을 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있으며, 다른 원료와 동시에 적용할 경우 상승 효과가 일어날 수 있다.
- [0047] 본 명세서에 개시된 유효성분 외에 함유할 수 있는 액체 성분에는 특별한 제한점이 없으며, 통상의 음료와 같이 여러가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가성분으로 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예로는 모노사카라이드, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 말토스, 슈크로스 등의 폴리사카라이드, 텍스트린, 시클로텍스트린 등의 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알코올 등이 있다. 상기의 향미제로는 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등) 및 합성 향미제(예를 들어 사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 명세서에 개시된 조성물 100ml 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 일측면에서 약 5 내지 12g일 수 있다.
- [0048] 상기 식품 조성물은 일 측면에서 여러가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그 염, 알긴산 및 그 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 다른 측면에서 천연 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 상기 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 상기 첨가제의 비율은 다양할 수 있으나, 본 명세서에 개시된 조성물 100 중량부당 0.001 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

- [0049] 이하, 본 발명의 내용을 실시예 및 시험예를 통하여 보다 구체적으로 설명한다. 그러나, 이러한 실시예 및 시험예에는 본 발명의 내용을 이해하기 위해 제시되는 것일 뿐, 본 발명의 권리범위가 이러한 실시예 및 시험예로 한정되는 것은 아니고, 당업계에서 통상적으로 주지된 변형, 치환 및 삽입 등을 수행할 수 있으며, 이에 대한 것도 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0050] [실시예 1]
- [0051] 미세먼지 처리된 망막세포 준비 및 면역형광염색
- [0052] 망막색소상피세포(human telomerase-immortalized retinal pigmented epithelial cells, htrPE cells)를 ATCC (American Type Culture Collection)社에서 입수하여, 5% (v/v) CO₂ 인큐베이터 내에서 37℃의 온도조건 하에 10% (v/v) 우태아혈청(FBS) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 첨가한 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에서 배양하였다.
- [0053] 배양한 망막색소상피세포를 12-well plate에 접종 (6x10⁴ cells/well)하고 24시간 후, 미세먼지 PM10(ERM-CZ100, Sample No:0504)을 ERM(European Reference Materials)에서 입수하여 이를 각각 100 μ g/ml, 300 μ g/ml의 농도로 처리한 다음, 차가운 DPBS로 씻어내고, 15분 동안 4% (w/v) 파라포름알데히드(paraformaldehyde)로 고정시켰으며, 다시 DPBS로 5분 동안 3번 씻어냈다. 그리고 0.1% (v/v) Triton X-100 (PBS-T)를 함유하는 PBS에서 3분 동안 배양시켰다. 상기 세포들은 DPBS를 이용하여 5분 동안 3회 더 씻어내고 1% (v/v)의 우혈청알부민(BSA)으로 1시간 동안 블로킹(blocking)한 뒤, 1% (v/v) BSA를 포함하는 PBS-T로 희석한 항-아세틸레이티드-튜불린 항체(1:1000희석, Sigma-Aldrich) 또는 항-ARL13B 항체(1:1000희석, Proteintech)와 함께 4℃에서 1시간 동안 배양하였다. 그 후 Alexa Fluor 555 anti-mouse(1:1000희석, Invitrogen) 또는 Alexa Fluor 488 anti-rabbit(1:1000희석, Life Technologies)와 함께 실온에서 2시간 동안 배양시켰고, 마지막으로 고정된 세포를 핵염색(nucleusstaining)을 위하여 1 μ g/ml의 Hoechst로 10분 동안 처리하였다.
- [0054] 한편, 미세먼지 PM2.5는 사이클론(2.5- μ m 사이즈 컷, URG-2000-30EH), 2개의 업스트림 디누더(환형, URG-2000-30 x 242-3CSS), Teflon 필터(ZefluorTM 2.0 μ m Pall lifesciences, Mexico), 백업 필터 및 백업 디누더로 구성된 저용량 에어 시료 채취기가 장착된 Teflon filter(Zefluor, Pall Life Science, Ann Arbor, MI, USA)를 사용하여 수집되었다. 수집은 오전 10시부터 시작하여 매 24시간마다 16.7L/min의 유속으로 교체하였다. 샘플링 지역은 서울 시내에서 남동쪽으로 35km인 곳에 위치하였다(37.34° N, 127.27° E, 해발 167m). 필터를 30분 동안 에탄올에서 초음파처리 한 후, 에탄올을 증발시키고, 미세먼지 PM2.5를 탈이온수로 재혼탁시켰다.
- [0055] 또한, 황사(ADSP)는 서울 동북부에 위치한 고려대학교의 과학관 옥상에서 샘플을 채취하였다(37.35° N, 127.01° E). 입자(particulates)는 전술한 바와 같이, 수정 필터가 구비된 고용량 에어 수집기를 사용하여 수집되었다.
- [0056] 일차섬모가 발현된 세포 및 일차섬모 길이의 측정
- [0057] 일차섬모가 발현된 세포는 Cell-Sense Standard software (>100 cells per experiments, n=3)를 사용하여 형광현미경 (IX71, Olympus, Tokyo, Japan)에서의 이미지를 캡처하고 신장된 일차섬모(elongated cilia) 수를 측정하였다.
- [0058] 일차섬모의 길이는 Free-hand Line Selection Tool of Cell-Sense Standards software (Olympus EuropaHolding GmbH, Hamburg, Germany)를 이용하여 각 일차섬모의 길이를 측정한 후, 측정한 전체 일차섬모의 길이의 평균 값을 사용하였다.
- [0059] 시약 및 siRNA 트랜스펙션(transfection)
- [0060] SPRR3 (small proline-rich protein 3)를 타겟팅하는 siRNA인 SPRR3 siRNA(5'-CAGACAAGCCCUAGAGAA-3')(서열번호 2), 음성 대조군 siRNA (scramble siRNA, siNC)(5'-CCUACGCCACCAUUUCGUUU-3')(서열번호 3) 및 양성 대조군으로서 일차 섬모의 생성을 방해하는 유전자로 알려진 MKKS를 타겟팅하는 siRNA (MKKS siRNA)[(Sense: 5'-UAGUUACCACCUGAAGUAA-3')(서열번호 4), (Antisense: 5'-UUACUUCAGUGGUAACUA-3')(서열번호 5)]를 Bioneer社에서 입수하였다. 한편, 상기 MKKS siRNA는 Sense서열 및/또는 Antisense서열의 3'말단에 티민 2 염기(dTdT)가 결합된 것일 수 있다.
- [0061] Lipofectamine[®] 2000 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 상기에서 배양한 망막색소상피세포에 siRNA를 트랜스펙션 시켰다. 구체적으로, 한 웰(well) 당 50 μ l Opti-MEM(GIBCO)에 각 siRNA 1 μ l(100 pmol)을 넣어

잘 섞어주고, 50 μ l Opti-MEM에 Lipofectamine[®] 2000 1.6 μ l를 섞은 후, 상기 두 가지의 혼합물을 잘 섞어 20분 동안 실온에서 반응시킨 후 추가적으로 400 μ l의 Opti-MEM을 더 넣어주고 웰(well)에 500 μ l의 최종 혼합물로 처리하여 트랜스펙션 시켰다.

[0062] 트랜스펙션 후 72시간 동안 배양한 후 세포를 수확하여 웨스턴 블로팅(western blotting)을 통해 너다운(knockdown)을 확인하고, 상기와 같은 면역형광염색을 통해 일차섬모를 관찰하였다.

[0063] 웨스턴 블롯 분석

[0064] 모든 용해물은 2 X 램파이 시료 완충액(2 X Laemmli sample buffer, 62.5 mM Tris-HCl, pH 6.8, 25% [v/v] glycerol, 2% [w/v] SDS, 5% [v/v] β -mercaptoethanol, 및 0.01% [w/v] bromophenol blue) (Bio-Rad, Hercules사, CA, USA)을 이용하여 준비하였다. 모든 세포 단백질은 Bradford solution (Bio-Rad)을 이용하여 측정하였다. 그 후, 상기 시료는 SDS-PAGE로 분리하고, PVDF 멤브레인(Bio-Rad)으로 이전하였다. TBST(25 mM Tris, 140 mM NaCl, 및 0.05% [v/v] Tween[®] 20) 내의 4% (w/v) 스킵 밀크(skim milk)로 블로킹한 뒤, 멤브레인을 특정 1차 항체들과 함께 오버나이트(overnight) 배양시켰다.

[0065] 항-SPRR3 항체(anti-SPRR3 antibody, 1:1000)는 Proteintech사에서 입수하였고, 항-MKKS 항체(anti-MKKS antibody, 1:1000) 및 항-액틴 항체(anti-Actin antibody, 1:1000)는 Santa cruz사에서 입수하였다. 단백질 검출을 위하여, 상기 멤브레인은 HRP-컨쥬게이트드 이차 항체를 이용하여 배양하였고, 신호는 SuperSignal[®] West DuraHRP Detection Kit (Pierce사, Rockford, IL, USA)를 이용하여 측정하였다.

[0066] 공초점 레이저 현미경(confocal microscopy)을 이용한 면역형광 분석

[0067] 공초점 레이저 스캔 현미경(confocal laser scanning microscope, model LSM510, Carl Zeiss Microimaging Inc., Thornwood, NY, USA)으로 형광을 관찰하기 위해 유리 슬라이드 위에 상기 면역형광염색을 거친 망막색소상피세포를 올렸다.

[0068] Q-RT-PCR (Quantitative real-time reverse transcriptional polymerase chain reaction) 분석

[0069] 모든 RNA는 Trizol제 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 제조사의 지시에 따라 분리하였다. RNA의 농도를 분광광도계로 측정하고 RNA의 무결성(integrity)을 Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 평가하였다. 2 μ g의 RNA를 SuperScript[®]III 역전사 효소(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 cDNA로 역전사 시키고 분취액을 -20 $^{\circ}$ C에 보관하였다. cDNA 샘플을 합성하고 SPRR3 프라이머를 이용하여 SPRR3의 mRNA 발현 수준을 분석하였다. 또한, mRNA 발현 수준을 평균화하기 위하여, RPL13A 프라이머를 이용하여 RPL13A의 상대 발현을 분석하였다. 선택된 타겟 유전자의 발현 수준을 결정하기 위하여 Q-RT-PCR(Quantitative real-time TaqMan RT-PCR technology) (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 기술을 사용하였다. 사이클링 조건은 95 $^{\circ}$ C에서 10분 동안의 변성 단계 및 95 $^{\circ}$ C에서 15초 및 60 $^{\circ}$ C에서 1분 동안의 50사이클을 포함한다. 각 PCR 사이클의 FAM 형광은 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)으로 측정되었다. Q-RT-PCR 데이터의 결과는 임계 사이클(threshold cycle, Ct) 값으로 표시하였다. 프라이머는 ThermoFisher Scientific 社에서 입수한 제품으로 각각 다음과 같다: SPRR3(제품번호: Hs00271304_m1), RPL13A(제품번호: Hs04194366_g1).

[0070] [실험예 1] 일차 섬모(primary cilia) 형성에 의한 미세먼지에 의한 망막색소상피세포 손상 회복

[0071] 일차 섬모는 양극화된 구조를 가진 세포내 기관인데, 섬모의 결함(섬모 형성) 및 분해가 세포주기, 극성, 척추 발달, 및 유전적 질환 등 다양한 원인에 의해 상호연결 되어있다. 일차 섬모는 망막색소상피세포(retinal pigmented epithelia cells)의 기능에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 구체적으로 망막색소상피세포는 눈에서 빛을 수용하고 물질을 수송하는 등 중요한 역할을 하는데 이를 잘 수행하기 위해서는 일차 섬모가 잘 발달되어 있어야 한다. 따라서 망막색소상피세포에 미세먼지를 처리한 경우 일차 섬모의 발현 변화를 확인하는 실험을 하였다.

[0072] 혈청 기아(serum starvation)가 일차 섬모 형성을 유도하는지 여부를 확인하기 위하여, 망막색소상피세포를 무혈청 배지에서 배양하였다. 그 결과, 무혈청(serum-free) 배양한 일차 섬모 형성을 강하게 유도하는 것을 확인하였다(도 1a 및 도 1b).

[0073] 미세먼지(PM10)가 망막색소상피세포에서 일차 섬모 형성(assembly)에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 각각 혈청 조건 및 무혈청 조건에서 망막색소상피세포에 미세먼지(PM10) 각각 100 μ g/ml, 300 μ g/ml을 처리하고 24시간

동안 배양하였다.

[0074] 그 결과, 망막색소상피세포에 미세먼지 처리 시, 일차섬모의 길이(도 1a) 및 일차섬모가 발현된 망막색소상피세포의 수(도 1b) 모두 감소하는 것을 확인하였으며, 미세먼지의 농도가 클수록 일차섬모의 길이 및 일차섬모의 발현양이 더 감소하는 것을 확인하였다.

[0075] 또한, 미세먼지 처리에 의한 SPRR3의 발현 변화 여부를 확인하였는데, 망막색소상피세포에 황사(ADSP), 미세먼지 PM2.5 및 미세먼지 PM10을 각각 50 μ g/ml로 처리한 후 SPRR3의 mRNA 발현을 상기 실시예 1의 Q-RT-PCR 분석으로 확인하였으며, 상기과 같이 미세먼지 PM10을 각각 100 μ g/ml, 300 μ g/ml 처리한 경우의 SPRR3의 발현량을 확인하였다.

[0076] 그 결과, 망막색소상피세포에 미세먼지를 처리하였을 때, SPRR3의 발현이 증가함을 확인할 수 있었다. 특히, 황사보다도 미세먼지를 처리하였을 경우 SPRR3의 발현이 더 크게 증가하였으며, 미세먼지 PM10보다 미세먼지 PM2.5를 처리하였을 경우 SPRR3의 발현이 가장 크게 증가하는 것을 확인할 수 있었다(도 2a). 또한, 미세먼지 PM10의 처리 농도가 증가할수록 SPRR3의 발현량도 증가하는 것을 확인할 수 있었다(도 2b).

[0077] 이를 바탕으로, 망막색소상피세포에 SPRR3의 발현을 억제시키는 물질을 처리할 경우 일차 섬모의 발현 변화 여부를 확인하였는데, 구체적으로 실시예 1과 같이, SPRR3에 대한 siRNA를 구한 뒤, 망막색소상피세포를 SPRR3에 대한 siRNA, 스캐램블 대조군 siRNA(scrambled control siRNA, siNC) 또는 양성 대조군으로서 MKKS에 대한 siRNA(도 3a)로 트랜스펙션 시키고 72시간 후 무혈청 조건 하에 두어 2일간 일차 섬모 형성을 유도하였다. 그 뒤, 면역형광 염색(immunofluorescence staining)을 통하여 일차 섬모를 관찰하였다.

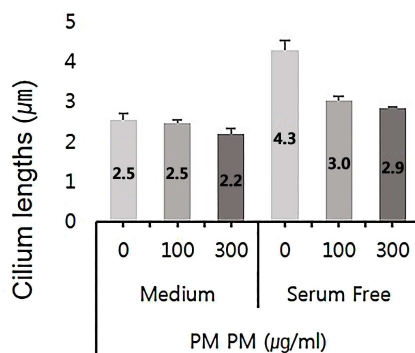
[0078] 도 3b의 결과로부터, 망막색소상피세포를 SPRR3의 발현을 억제시키는 SPRR3 siRNA로 처리할 경우, 일차 섬모의 발현량이 양성 대조군에 근접한 수준으로 크게 증가되는 것을 확인할 수 있다.

[0079] 종합하면, 미세먼지는 망막색소상피세포의 일차 섬모 및 SPRR3의 발현에 영향을 미친다는 것을 확인한 것이다. 즉, 미세먼지를 망막색소상피세포에 처리하였을 때, 망막색소상피세포의 기능에 중요한 역할을 하는 일차 섬모(primary cilia)의 수와 길이가 감소하고, 반대로 SPRR3의 발현이 증가함을 규명한 것이고, 이로부터, 미세먼지에 의하여 손상된 망막색소상피세포에 대하여 SPRR3의 발현 또는 활성을 억제시키는 물질의 처리를 통해 SPRR3의 발현을 억제할 경우 일차 섬모의 발현이 증가하여 결과적으로 미세먼지에 의한 망막색소상피세포의 손상이 회복됨을 확인한 것이다. 이러한 점을 활용하여, 미세먼지에 의한 망막세포의 손상을 억제할 수 있는 물질을 스크리닝할 수 있다.

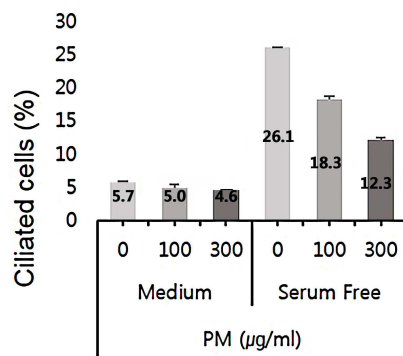
[0080] 또한, SPRR3의 발현 또는 활성을 억제하는 RNA 핵산 분자, 구체적으로 SPRR3의 siRNA의 경우, SPRR3의 발현 억제를 통한 일차 섬모의 발현 증가로 인하여 미세먼지에 의한 망막색소상피세포의 손상을 효과적으로 회복시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

도면

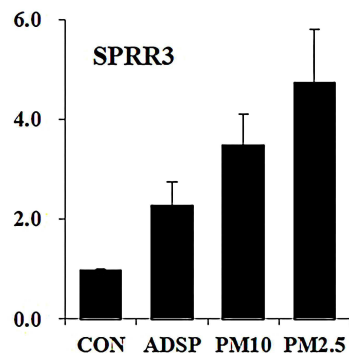
도면1a



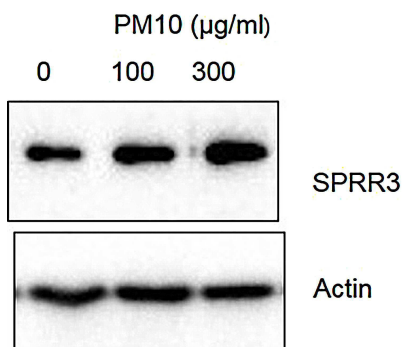
도면1b



도면2a



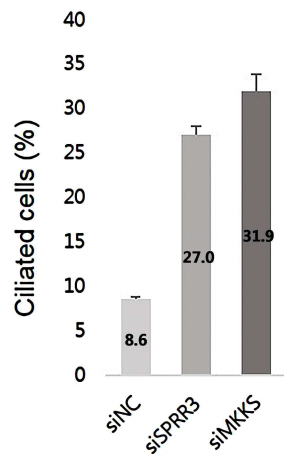
도면2b



도면3a



도면3b



서열 목록

<110> AMOREPACIFIC CORPORATION

<120> METHOD FOR SCREENING MATERIAL FOR INHIBITING RETINAL CELL DAMAGE

<130> 18P060IND

<160> 5

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 18

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

uucucaaggg cuugucug 18

<210> 2

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SPRR3 siRNA

<400> 2

cagacaagcc cuugagaa 18

<210> 3

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> scrambled siRNA

<400>	3	
ccuacgccac caauuucguu u		21
<210>	4	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	sense sequence of MKKS siRNA	
<400>	4	
uaguuaccac cugaaguaa		19
<210>	5	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	anti-sense sequence of MKKS siRNA	
<400>	5	
uuacuucagg ugguaacua		19