



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0041899
(43) 공개일자 2019년04월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/6895 (2018.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6895 (2018.05)

C12Q 2531/113 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0060753

(22) 출원일자 2018년05월28일

심사청구일자 2018년05월28일

(30) 우선권주장

1020170133372 2017년10월13일 대한민국(KR)

(71) 출원인

주식회사 엠디헬스케어

서울특별시 마포구 월드컵북로56길 9, 1303호(상암동, 우리기술빌딩)

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

김윤근

경기도 파주시 한빛로 70, 521동 203호 (야당동, 한빛마을 5단지 캐슬엔칸타빌)

한명립

서울특별시 강서구 등촌로 163, 119동 901호 (등촌동, 등촌아이파크아파트)

박진영

대전광역시 유성구 지족로 362, 304동 1703호 (지족동, 반석마을아파트3단지)

(74) 대리인

이명진

전체 청구항 수 : 총 15 항

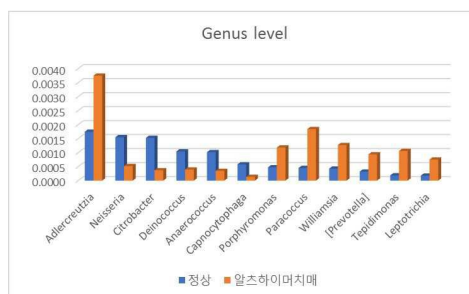
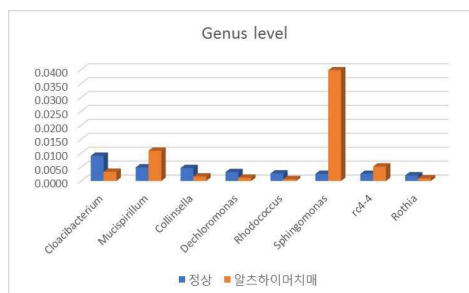
(54) 발명의 명칭 세균 메타게놈 분석을 통한 알츠하이머치매 진단방법

(57) 요약

본 발명은 세균 메타게놈 분석을 통해 알츠하이머치매를 진단하는 방법에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 정상인 및 피검자 유래 샘플을 이용해 세균 메타게놈 분석을 수행하여 특정 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 분석함으로써 알츠하이머치매 및 경도인지장애를 진단하는 방법 등에 관한 것이다. 환경에 존재하는 세균에서 분

(뒷면에 계속)

대표도 - 도6



비되는 세포막 소포는 체내에 흡수되어 뇌조직으로 침투하여 알츠하이머치매와 같은 인지기능에 직접적인 영향을 미칠 수 있으며, 알츠하이머치매는 증상이 나타나기 전 조기진단이 어려워 효율적인 치료가 어려운 실정이다. 이에, 본 발명에 따른 인체 유래 샘플을 이용한 세균 유래 세포막 소포의 메타게놈 분석을 통해 경도인지장애 및 알츠하이머치매 발병의 위험도를 미리 예측함으로써 알츠하이머치매의 위험군을 조기에 진단 및 예측하여 적절한 관리를 통해 발병 시기를 늦추거나 발병을 예방할 수 있으며, 발병 후에도 조기진단 할 수 있어 알츠하이머치매의 발병률을 낮추고 치료효과를 높일 수 있다.

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017M3A9F3047497
부처명	미래창조과학부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	바이오의료기술개발사업
연구과제명	장내균총 유래 나노소포 기반 파마바이오틱스 발굴 및 실용화 기반 구축
기 여 율	50/100
주관기관	주식회사 엠디헬스케어
연구기간	2017.05.25 ~ 2022.05.24

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	HI15C1834
부처명	보건복지부
연구관리전문기관	보건산업진흥원
연구사업명	보건의료기술연구개발사업, 질환극복기술개발/중개기반연구
연구과제명	AC5 돌연변이 유발 자폐장애 제어 기전 연구
기 여 율	50/100
주관기관	이화여자대학교 산학협력단
연구기간	2015.11.12 ~ 2018.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

하기의 단계를 포함하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보제공방법:

- (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및
- (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 정상인 및 피검자 샘플은 혈액이고,

상기 (c) 단계에서, 탈철간균(Deferribacteres), SR1, 시너지스테테스(Synergistetes), 및 써미(Thermi)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포막 소포,

알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria), 플라보박테리아(Flavobacteriia), 탈철간균(Deferribacteres), 및 데이노코키(Deinococci)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포막 소포,

리케치아레스(Rickettsiales) 목(order) 세균 유래 세포막 소포,

스핑고모나다시예(Sphingomonadaceae), 탈철간균과(Deferribacteraceae), 위크셀라시예(Weeksellaceae), 펩토코카시예(Peptococcaceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 노카르디아시예(Nocardiaceae), 나이세리아시예(Neisseriaceae), 티시에렐라시예(Tissierellaceae), 플라보박테리아시예(Flavobacteriaceae), 파라프레보텔라시예(Paraprevotellaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 제멜라시예(Gemellaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 랩토티치아시예(Leptotrichiaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 윌리엄시아시예(Williamsiaceae), 및 데이노코카시예(Deinococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포막 소포, 또는

스핑고모나스(Sphingomonas), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 클로시박테리움(Cloacibacterium), rc4-4, 콜린셀라(Collinsella), 로티아(Rothia), 데클로로모나스(Dechloromonas), 로도코커스(Rhodococcus), 나이세리아(Neisseria), 파라코커스(Paracoccus), 시트로박터(Citrobacter), 포르피로모나스(Porphryomonas), 아나에로코커스(Anaerococcus), 프레보텔라(Prevotella), 테피디모나스(Tepidimonas), 랩토티치아(Leptotrichia), 카프노시토파가(Capnocytophaga), 아들러크레우치아(Adlercreutzia), 윌리엄시아(Williamsia), 및 데이노코커스(Deinococcus)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 것을 특징으로 하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 (c) 단계에서, 정상인 유래 샘플과 비교하여,

써미(Thermi) 문(phylum) 세균 유래 세포막 소포,

데이노코키(Deinococci) 강(class) 세균 유래 세포막 소포,

데설포비브리오날레스(Desulfovibrionales) 목(order) 세균 유래 세포밖 소포,
 데설포비브리오나시예(Desulfovibrionaceae) 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는
 코쿠리아(Kocuria), 데설포비브리오(Desulfovibrio), 할로모나스(Halomonas), 및 제오트갈리코커스(Jeotgalicoccus)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량이 증가되어 있는 경우 알츠하이머치매로 진단하는 것을 특징으로 하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 (c) 단계에서, 정상인 유래 샘플과 비교하여,

SR1, 시너지스테테스(Synergistetes), 및 써미(Thermi)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,

플라보박테리아(Flavobacteriia), 및 데이노코키(Deinococci)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,

리케치아레스(Rickettsiales) 목(order) 세균 유래 세포밖 소포,

위크셀라시예(Weeksellaceae), 노카르디아시예(Nocardaceae), 나이세리아시예(Neisseriaceae), 티시에렐라시예(Tissierellaceae), 플라보박테리아시예(Flavobacteriaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 제멜라시예(Gemellaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae) 및 데이노코카시예(Deinococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는

클로시박테리움(Cloacibacterium), 콜린셀라(Collinsella), 로티아(Rothia), 데클로로모나스(Dechloromonas), 로도코커스(Rhodococcus), 나이세리아(Neisseria), 시트로박터(Citrobacter), 아나에로코커스(Anaerococcus), 카프노시토파가(Capnocytophaga) 및 데이노코커스(Deinococcus)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량이 감소되어 있는 경우 알츠하이머치매로 진단하는 것을 특징으로 하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 혈액은 전혈, 혈청, 혈장, 또는 혈액 단핵구인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

청구항 6

하기의 단계를 포함하는, 경도인지장애 진단을 위한 정보제공방법:

(a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포밖 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;

(b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및

(c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 정상인 및 피검자 샘플은 혈액이고,

상기 (c) 단계에서, 푸조박테리아(Fusobacteria), 남세균(Cyanobacteria), SR1, TM7, 썬미(Thermi), 클로로플렉시(Chloroflexi), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포박 소포,

베타프로테오박테리아(Betaproteobacteria), 푸조박테리아(Fusobacteriia), 클로로플라스트(Chloroplast), TM7-3, 데이노코키(Deinococci), 및 펴브리모나디아(Fimbriimonadia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포박 소포,

스트렙토피타(Streptophyta), 및 리케치아레스(Rickettsiales)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 목(order) 세균 유래 세포박 소포,

위크셀라시예(Weeksellaceae), 푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 산토모나다시예(Xanthomonadaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 오도리박테라시예(Odoribacteraceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 노가르디아시예(Nocardiaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 데이노코카시예(Deinococcaceae), 패니바실라시예(Paenibacillaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 및 펴브리모나다시예(Fimbriimonadaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포박 소포, 또는

클로시박테리움(Cloacibacterium), 푸조박테리움(Fusobacterium), 락토코쿠스(Lactococcus), 스테노트로포모나스(Stenotrophomonas), 데클로로모나스(Dechloromonas), 오도리박터(Odoribacter), 로도코커스(Rhodococcus), 플라보박테리움(Flavobacterium), 데이노코커스(Deinococcus), 패니바실러스(Paenibacillus), 시트로박터(Citrobacter), 및 펴브리모나스(Fimbriimonas)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포박 소포의 함량 증감을 비교하는 것을 특징으로 하는, 경도인지장애 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 (c) 단계에서, 정상인 유래 샘플과 비교하여,

푸조박테리아(Fusobacteria) 문(phylum) 세균 유래 세포박 소포,

푸조박테리아(Fusobacteriia) 강(class) 세균 유래 세포박 소포,

푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 오도리박테라시예(Odoribacteraceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 패니바실라시예(Paenibacillaceae), 및 리조비움과(Rhizobiaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포박 소포, 또는

푸조박테리움(Fusobacterium), 락토코쿠스(Lactococcus), 오도리박터(Odoribacter), 플라보박테리움(Flavobacterium), 및 패니바실러스(Paenibacillus)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포박 소포의 함량이 증가되어 있는 경우 경도인지장애로 진단하는 것을 특징으로 하는, 경도인지장애 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 (c) 단계에서, 정상인 유래 샘플과 비교하여,

남세균(Cyanobacteria), SR1, TM7, 썬미(Thermi), 클로로플렉시(Chloroflexi), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포박 소포,

베타프로테오박테리아(Betaproteobacteria), 클로로플라스트(Chloroplast), TM7-3, 데이노코키(Deinococci), 및 펴브리모나디아(Fimbriimonadia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포박 소포,

스트렙토피타(Streptophyta), 및 리케치아레스(Rickettsiales) 목(order) 세균 유래 세포박 소포,

위크셀라시예(Weeksellaceae), 산토모나다시예(Xanthomonadaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 노가르디아시예(Nocardiaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 데이노코카시예(Deinococcaceae), 및 펴브리모나다시예(Fimbriimonadaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포막 소포, 또는

클로시박테리움(Cloacibacterium), 스테노트로포모나스(Stenotrophomonas), 데클로로모나스(Dechloromonas), 로도코커스(Rhodococcus), 데이노코커스(Deinococcus), 시트로박터(Citrobacter), 및 펴브리모나스(Fimbriimonas)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포막 소포의 함량이 감소되어 있는 경우 경도인지장애로 진단하는 것을 특징으로 하는, 경도인지장애 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 혈액은 전혈, 혈청, 혈장, 또는 혈액 단핵구인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

청구항 11

하기의 단계를 포함하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보제공방법:

- (a) 경도인지장애환자 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및
- (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 경도인지장애환자 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 경도인지장애환자 및 피검자 샘플은 혈액이고,

상기 (c) 단계에서, 푸조박테리아(Fusobacteria), 탈철간균(Deferribacteres), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포막 소포,

푸조박테리아(Fusobacteriia), 탈철간균(Deferribacteres), 및 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포막 소포,

메타노박테리알레스(Methanobacteriales) 목(order) 세균 유래 세포막 소포,

마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 비피도박테리움과(Bifidobacteriaceae), 탈철간균과(Deferribacteraceae), 스프링고모나다시예(Sphingomonadaceae), 플라보박테리아시예(Flavobacteriaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 랩토티리치아시예(Leptotrichiaceae), 및 마이크로코카시예(Micrococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포막 소포, 또는

푸조박테리움(Fusobacterium), 콜린셀라(Collinsella), 스프링고모나스(Sphingomonas), 비피도박테리움(Bifidobacterium), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 파라코커스(Paracoccus), 플라보박테리움(Flavobacterium), 블라우티아(Blautia), 테피디모나스(Tepidimonas), 오도리박터(Odoribacter), 베일로넬라(Veillonella), 포르피로모나스(Porphyrimonas), 및 랩토티리치아(Leptotrichia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 것을 특징으로 하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보 제공방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 (c) 단계에서, 경도인지장애환자 유래 샘플과 비교하여,

탈철간균(Deferribacteres), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종이상의 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,

탈철간균(Deferribacteres), 및 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종이상의 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,

탈철간균과(Deferribacteraceae), 스펅고모나다시에(Sphingomonadaceae), 및 랩토티리치아시에(Leptotrichiaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는

스핑크모나스(Sphingomonas), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 파라코커스(Paracoccus), 테피디모나스(Tepidimonas), 포르피로모나스(Porphryomonas), 및 랩토티리치아(Leptotrichia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량이 증가되어 있는 경우 알츠하이머치매로 진단하는 것을 특징으로 하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 14

제12항에 있어서,

상기 (c) 단계에서, 경도인지장애환자 유래 샘플과 비교하여,

푸조박테리아(Fusobacteria) 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,

푸조박테리아(Fusobacteriia) 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,

메타노박테리알레스(Methanobacteriales) 목(order) 세균 유래 세포밖 소포,

마이크로박테리아시에(Microbacteriaceae), 푸조박테리아시에(Fusobacteriaceae), 아에로코카시에(Aerococcaceae), 비피도박테리움과(Bifidobacteriaceae), 플라보박테리아시에(Flavobacteriaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 및 마이크로코카시에(Micrococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는

푸조박테리움(Fusobacterium), 콜린셀라(Collinsella), 비피도박테리움(Bifidobacterium), 플라보박테리움(Flavobacterium), 블라우티아(Blautia), 오도리박터(Odoribacter), 및 베일로넬라(Veillonella)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량이 감소되어 있는 경우 알츠하이머치매로 진단하는 것을 특징으로 하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 혈액은 전혈, 혈청, 혈장, 또는 혈액 단핵구인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 세균 메타게놈 분석을 통해 알츠하이머치매를 진단하는 방법에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 정상인 및 피검자 유래 샘플을 이용해 세균 메타게놈 분석을 수행하여 특정 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 분석함으로써 알츠하이머치매를 진단하는 방법 등에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 치매 (dementia)는 주요 뇌기능 및 기억력의 점진적인 퇴행을 가져오는 병이다. 알츠하이머치매는 치매의 가장 흔한 형태이며, 75%의 치매환자가 알츠하이머치매이다. 알츠하이머 치매는 65세 이상의 10%, 85세 이상의 30-50%에 이르는 노인들에서 나타난다.
- [0003] 알츠하이머치매의 발병 원인은 완전히 이해되지 않은 상태이나, 병리적 기전으로 신경세포 밖에 베타-아밀로이드(b-amyloid) 플라그의 과다 침착 및 신경세포 내 과인산화된 타우(tau) 단백질의 과다 형성등의 신경병리 증상이 수반되고, 그로 인한 신경가소성 등의 신경세포의 기능 손상 및 신경세포사 등으로 인해 점진적인 인지 기능 장애가 나타나는 퇴행성 신경계 질환으로 정의된다. 알츠하이머 치매의 발명은 유전적인 원인과 환경적 원인에 의한 것으로 대별된다. 유전적인 원인의 경우로서 Amyloid precursor protein (APP), presenilin 1 (PS1), presenilin 2 (PS2) 유전자의 돌연변이 예들이 알려져 있으며, 대체로 조발성치매를 유도하나 그 빈도는 전체 알츠하이머 치매의 1% 전후에 지나지 않는다. Apolipoprotein E4 유전자형 (allele)은 유전적 위험인자로서 65세 이상의 노인에서 치매 발병 비율을 10%-35% 가량 증가시키는 유전적 위험인자이다. 많은 연구자들은 알츠하이머 치매가 유전적 원인 이외에 노화, 스트레스 등의 다양한 비유전적 환경인자에 의해 비롯되는 복합적인 질환으로 인식하고 있으나, 아직까지 비유전적, 환경적 원인에 의한 알츠하이머 치매의 기전은 아직 잘 밝혀지지 않았다. 유전적 원인에 의한 조발성 알츠하이머 치매는 20 - 40대에도 나타날 수 있으나 예외적이며, 대부분의 치매는 65세 이상에서 진단을 받는다.
- [0004] 알츠하이머 치매는 신경병리적 소견이 수반되는 퇴행성 신경계 병임에도 불구하고 현재 임상적으로 적용하는 진단은 신경정신과적 검사, 심리검사 등을 통해 이루어지는데, 80-90%의 진단 정확도를 나타낸다. 또한 잠재적인 치매 환자, 또는 치매 환자들은 이 방법에 의한 반복 진단에 대해 심한 심리적 거부감을 나타내는 등의 단점이 있다. fMRI로 뇌에 침착되는 b-amyloid를 영상적으로 탐지하여 알츠하이머 치매를 진단하는 것이 가능하나 이 방법은 현재 연구용 수준에서만 사용된다. 또한, 알츠하이머 치매 환자 및 정상인을 대상으로 fMRI를 사용하여 뇌에 침착되는 b-amyloid를 영상적으로 탐지하는 연구들에 따르면 뇌에 b-amyloid 침착의 영상적 소견이 있는 경우 중 실제 알츠하이머 치매로 판정되는 비율은 80%-85% 정도이며, 또한 정상인의 경우에도 10% 이상은 b-amyloid 침착의 영상적 소견이 있는 것으로 보고되었다. 이러한 결과들을 종합해 보면 fMRI를 사용하여 b-amyloid를 영상적으로 탐지하는 방법만으로 알츠하이머 치매를 진단하는 것이 최선의 방법이 아닌 것으로 보인다. 전 지구적으로 노인 인구의 증가로 인해 알츠하이머 치매 환자의 수가 급격히 증가하고 있으나 아직까지 알츠하이머 치매의 주된 진단 방법이 신경정신과적 심리검사의 의존하고 있어, 비용적, 기술적인 면에서 건강 및 의료 친화적인 새로운 진단 방법의 개발을 매우 긴급하게 필요로 하고 있다(한국등록특허 10-0595494).
- [0005] 한편, 인체에 공생하는 미생물은 100조에 이르러 인간 세포보다 10배 많으며, 미생물의 유전자수는 인간 유전자수의 100배가 넘는 것으로 알려지고 있다. 미생물총(microbiota)은 주어진 거주지에 존재하는 세균(bacteria), 고세균(archaea), 진핵생물(eukarya)을 포함한 미생물 군집(microbial community)을 말하고, 장내 미생물총은 사람의 생리현상에 중요한 역할을 하며, 인체 세포와 상호작용을 통해 인간의 건강과 질병에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 우리 몸에 공생하는 세균은 다른 세포로의 유전자, 단백질, 저분자화합물 등의 정보를 교환하기 위하여 나노미터 크기의 소포(vesicle)를 분비한다. 점막은 200 나노미터(nm) 크기 이상의 입자는 통과할 수 없는 물리적인 방어막을 형성하여 점막에 공생하는 세균인 경우에는 점막을 통과하지 못하지만, 세균 유래 소포는 크기가 대개 100 나노미터 크기 이하라서 비교적 자유롭게 점막을 통과하여 우리 몸에 흡수된다.
- [0006] 환경 유전체학이라고도 불리는 메타게놈학은 환경에서 채취한 샘플에서 얻은 메타게놈 자료에 대한 분석학이라고 할 수 있다. 최근 16s 리보솜 RNA(16s rRNA) 염기서열을 기반으로 한 방법으로 인간의 미생물총의 세균 구성을 목록화하는 것이 가능해졌으며, 16s 리보솜 RNA의 유전자인 16s rDNA 염기서열을 차세대 염기서열분석 (next generation sequencing, NGS) 플랫폼을 이용하여 분석한다. 그러나 아직까지 알츠하이머치매 발병에 있어서, 혈액 또는 소변 등의 인체 유래물에서 세균 유래 소포에 존재하는 메타게놈 분석을 통해 치매의 원인인자를 동정하고 치매를 예측하거나 혹은 진단하는 방법에 대해서는 보고된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명자들은 알츠하이머치매의 원인인자 및 발병 위험도를 미리 진단하기 위하여, 정상인 및 피검자 유래 샘플인 혈액에 존재하는 세균 유래 세포막 소포로부터 유전자를 추출하고 이에 대하여 메타게놈 분석을 수행하였

으며, 그 결과 알츠하이머치매의 원인인자로 작용할 수 있는 세균 유래 세포막 소포를 동정하였는바, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.

[0008] 이에, 본 발명은 세균 유래 세포막 소포에 대한 메타게놈 분석을 통해 알츠하이머치매를 진단하기 위한 정보제공 방법, 알츠하이머치매 진단방법, 및 알츠하이머치매 발병 위험도 예측방법 등을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0009] 또한, 본 발명은 세균 유래 세포막 소포에 대한 메타게놈 분석을 통해 경도인지장애를 진단하기 위한 정보제공 방법, 경도인지장애 진단방법, 및 경도인지장애 발병 위험도 예측방법 등을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0010] 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.

과제의 해결 수단

[0011] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다.

[0012] (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;

[0013] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및

[0014] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.

[0015] 또한, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 알츠하이머치매 진단방법을 제공한다:

[0016] (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;

[0017] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및

[0018] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.

[0019] 또한, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 알츠하이머치매의 발병 위험도 예측방법을 제공한다:

[0020] (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;

[0021] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및

[0022] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.

[0023] 본 발명의 구현예로, 상기 (c) 단계에서 탈철간균(Deferribacteres), SR1, 시너지스테테스(Synergistetes), 및 썬미(Thermi)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.

[0024] 본 발명의 구현예로, 상기 (c) 단계에서 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria), 플라보박테리아(Flavobacteriia), 탈철간균(Deferribacteres), 및 데이노코키(Deinococci)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.

[0025] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서 리케치아레스(Rickettsiales)로 이루어진 군으로부터 선택되는 목(order) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.

[0026] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서 스펅고모나다시에(Sphingomonadaceae), 탈철간균과(Deferribacteraceae), 위크셀라시에(Weeksellaceae), 펩토코카시에(Peptococcaceae), 로도박테라시에(Rhodobacteraceae), 노카르디아시에(Nocardiaceae), 나이세리아시에(Neisseriaceae), 티시에텔라시에(Tissierellaceae), 플라보박테리아시에(Flavobacteriaceae), 파라프레보텔라시에(Paraprevotellaceae), 옥살

로박테라시예(Oxalobacteraceae), 제멜라시예(Gemellaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 렙토티리치아시예(Leptotrichiaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 윌리암시아시예(Williamsiaceae), 및 데이노코카시예(Deinococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.

[0027] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서 스펅고모나스(Sphingomonas), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 클로시박테리움(Cloacibacterium), rc4-4, 콜린셀라(Collinsella), 로티아(Rothia), 데클로로모나스(Dechloromonas), 로도코커스(Rhodococcus), 나이세리아(Neisseria), 파라코커스(Paracoccus), 시트로박터(Citrobacter), 포르피로모나스(Porphyromonas), 아나에로코커스(Anaerococcus), 프레보텔라(Prevotella), 테피디모나스(Tepidimonas), 렙토티리치아(Leptotrichia), 카프노시토파가(Capnocytophaga), 아들러크레우치아(Adlercreutzia), 윌리암시아(Williamsia), 및 데이노코커스(Deinococcus)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.

[0028] 본 발명의 일구현예로, 상기 정상인 및 피검자 샘플은 혈액이고,

[0029] 상기 (c) 단계에서, 탈철간균(Deferribacteres), SR1, 시너지스테테스(Synergistetes), 및 써미(Thermi)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,

[0030] 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria), 플라보박테리아(Flavobacteriia), 탈철간균(Deferribacteres), 및 데이노코키(Deinococci)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,

[0031] 리케치아레스(Rickettsiales) 목(order) 세균 유래 세포밖 소포,

[0032] 스펅고모나다시예(Sphingomonadaceae), 탈철간균과(Deferribacteraceae), 위크셀라시예(Weeksellaceae), 펩토코카시예(Peptococcaceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 노카르디아시예(Nocardiaceae), 나이세리아시예(Neisseriaceae), 티시에렐라시예(Tissierellaceae), 플라보박테리아시예(Flavobacteriaceae), 파라프레보텔라시예(Paraprevotellaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 제멜라시예(Gemellaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 렙토티리치아시예(Leptotrichiaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 윌리암시아시예(Williamsiaceae), 및 데이노코카시예(Deinococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는

[0033] 스펅고모나스(Sphingomonas), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 클로시박테리움(Cloacibacterium), rc4-4, 콜린셀라(Collinsella), 로티아(Rothia), 데클로로모나스(Dechloromonas), 로도코커스(Rhodococcus), 나이세리아(Neisseria), 파라코커스(Paracoccus), 시트로박터(Citrobacter), 포르피로모나스(Porphyromonas), 아나에로코커스(Anaerococcus), 프레보텔라(Prevotella), 테피디모나스(Tepidimonas), 렙토티리치아(Leptotrichia), 카프노시토파가(Capnocytophaga), 아들러크레우치아(Adlercreutzia), 윌리암시아(Williamsia), 및 데이노코커스(Deinococcus)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 비교할 수 있다.

[0034] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서, 정상인 유래 샘플과 비교하여,

[0035] 탈철간균(Deferribacteres) 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,

[0036] 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria), 및 탈철간균(Deferribacteres)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,

[0037] 스펅고모나다시예(Sphingomonadaceae), 탈철간균과(Deferribacteraceae), 펩토코카시예(Peptococcaceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 파라프레보텔라시예(Paraprevotellaceae), 렙토티리치아시예(Leptotrichiaceae), 및 윌리암시아시예(Williamsiaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는

[0038] 스펅고모나스(Sphingomonas), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), rc4-4, 파라코커스(Paracoccus), 포르피로모나스(Porphyromonas), 프레보텔라(Prevotella), 테피디모나스(Tepidimonas), 렙토티리치아(Leptotrichia), 아들러크레우치아(Adlercreutzia) 및 윌리암시아(Williamsia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량이 증가되어 있는 경우 알츠하이머치매로 진단할 수 있다.

[0039] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서, 정상인 유래 샘플과 비교하여,

- [0040] SR1, 시너지스테테스(Synergistetes), 및 써미(Thermi)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포막 소포,
- [0041] 플라보박테리아(Flavobacteriia), 및 데이노코키(Deinococci)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포막 소포,
- [0042] 리케치아레스(Rickettsiales) 목(order) 세균 유래 세포막 소포,
- [0043] 위크셀라시예(Weeksellaceae), 노카르디아시예(Nocardiaceae), 나이세리아시예(Neisseriaceae), 티시에렐라시예(Tissierellaceae), 플라보박테리아시예(Flavobacteriaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 제멜라시예(Gemellaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae) 및 데이노코카시예(Deinococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포막 소포, 또는
- [0044] 클로시박테리움(Cloacibacterium), 콜린셀라(Collinsella), 로티아(Rothia), 데클로로모나스(Dechloromonas), 로도코커스(Rhodococcus), 나이세리아(Neisseria), 시트로박터(Citrobacter), 아나에로코커스(Anaerococcus), 카프노시토파가(Capnocytophaga) 및 데이노코커스(Deinococcus)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포막 소포의 함량이 감소되어 있는 경우 알츠하이머치매로 진단할 수 있다.
- [0045] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 경도인지장애 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다.
- [0046] (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0047] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및
- [0048] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.
- [0049] 또한, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 경도인지장애 진단방법을 제공한다:
- [0050] (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0051] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및
- [0052] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.
- [0053] 또한, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 경도인지장애의 발병 위험도 예측방법을 제공한다:
- [0054] (a) 정상인 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0055] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및
- [0056] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.
- [0057] 본 발명의 구현예로, 상기 (c) 단계에서 푸조박테리아(Fusobacteria), 남세균(Cyanobacteria), SR1, TM7, 써미(Thermi), 클로로플렉시(Chloroflexi), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 경도인지장애를 진단하는 것일 수 있다.
- [0058] 본 발명의 구현예로, 상기 (c) 단계에서 베타프로테오박테리아(Betaproteobacteria), 푸조박테리아(Fusobacteriia), 클로로플라스트(Chloroplast), TM7-3, 데이노코키(Deinococci), 및 펴브리모나디아(Fimbrimonadia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 경도인지장애를 진단하는 것일 수 있다.
- [0059] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서 스트렙토피타(Streptophyta), 및 리케치아레스(Rickettsiales)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 목(order) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교

하여 경도인지장애를 진단하는 것일 수 있다.

- [0060] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서 위크셀라시예(Weeksellaceae), 푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 산토모나다시예(Xanthomonadaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 오도리박테라시예(Odoribacteraceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 노가르디아시예(Nocardiaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 데이노코카시예(Deinococcaceae), 패니바실라시예(Paenibacillaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 및 펴브리모나다시예(Fimbriimonadaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 경도인지장애를 진단하는 것일 수 있다.
- [0061] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서 클로시박테리움(Cloacibacterium), 푸조박테리움(Fusobacterium), 락토코쿠스(Lactococcus), 스테노트로포모나스(Stenotrophomonas), 데클로로모나스(Dechloromonas), 오도리박터(Odoribacter), 로도코커스(Rhodococcus), 플라보박테리움(Flavobacterium), 데이노코커스(Deinococcus), 패니바실러스(Paenibacillus), 시트로박터(Citrobacter), 및 펴브리모나스(Fimbriimonas)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 경도인지장애를 진단하는 것일 수 있다.
- [0062] 본 발명의 일구현예로, 상기 정상인 및 피검자 샘플은 혈액이고,
- [0063] 상기 (c) 단계에서, 푸조박테리아(Fusobacteria), 남세균(Cyanobacteria), SR1, TM7, 써미(Thermi), 클로로플렉시(Chloroflexi), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0064] 베타프로테오박테리아(Betaproteobacteria), 푸조박테리아(Fusobacteriia), 클로로플라스트(Chloroplast), TM7-3, 데이노코키(Deinococci), 및 펴브리모나디아(Fimbriimonadia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0065] 스트렙토피타(Streptophyta), 및 리케치아레스(Rickettsiales)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 목(order) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0066] 위크셀라시예(Weeksellaceae), 푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 산토모나다시예(Xanthomonadaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 오도리박테라시예(Odoribacteraceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 노가르디아시예(Nocardiaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 데이노코카시예(Deinococcaceae), 패니바실라시예(Paenibacillaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 및 펴브리모나다시예(Fimbriimonadaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는
- [0067] 클로시박테리움(Cloacibacterium), 푸조박테리움(Fusobacterium), 락토코쿠스(Lactococcus), 스테노트로포모나스(Stenotrophomonas), 데클로로모나스(Dechloromonas), 오도리박터(Odoribacter), 로도코커스(Rhodococcus), 플라보박테리움(Flavobacterium), 데이노코커스(Deinococcus), 패니바실러스(Paenibacillus), 시트로박터(Citrobacter), 및 펴브리모나스(Fimbriimonas)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 비교할 수 있다.
- [0068] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서, 정상인 유래 샘플과 비교하여,
- [0069] 푸조박테리아(Fusobacteria) 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0070] 푸조박테리아(Fusobacteriia) 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0071] 푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 오도리박테라시예(Odoribacteraceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 패니바실라시예(Paenibacillaceae), 및 리조비움과(Rhizobiaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는
- [0072] 푸조박테리움(Fusobacterium), 락토코쿠스(Lactococcus), 오도리박터(Odoribacter), 플라보박테리움(Flavobacterium), 및 패니바실러스(Paenibacillus)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량이 증가되어 있는 경우 경도인지장애로 진단할 수 있다.
- [0073] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서, 정상인 유래 샘플과 비교하여,

- [0074] 남세균(Cyanobacteria), SR1, TM7, 썬미(Thermi), 클로로플렉시(Chloroflexi), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포막 소포,
- [0075] 베타프로테오박테리아(Betaproteobacteria), 클로로플라스트(Chloroplast), TM7-3, 데이노코키(Deinococci), 및 펴브리모나디아(Fimbriimonadia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포막 소포,
- [0076] 스트렙토피타(Streptophyta), 및 리케치아레스(Rickettsiales) 목(order) 세균 유래 세포막 소포,
- [0077] 위크셀라시예(Weeksellaceae), 산토모나다시예(Xanthomonadaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 노가르디아시예(Nocardiaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 데이노코카시예(Deinococcaceae), 및 펴브리모나다시예(Fimbriimonadaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포막 소포, 또는
- [0078] 클로시박테리움(Cloacibacterium), 스테노트로포모나스(Stenotrophomonas), 데클로로모나스(Dechloromonas), 로도코커스(Rhodococcus), 데이노코커스(Deinococcus), 시트로박터(Citrobacter), 및 펴브리모나스(Fimbriimonas)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포막 소포의 함량이 감소되어 있는 경우 경도인지장애으로 진단할 수 있다.
- [0079] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 알츠하이머치매 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다.
- [0080] (a) 경도인지장애환자 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0081] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및
- [0082] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 경도인지장애환자 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.
- [0083] 또한, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 알츠하이머치매 진단방법을 제공한다:
- [0084] (a) 경도인지장애환자 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0085] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및
- [0086] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 경도인지장애환자 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.
- [0087] 또한, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 알츠하이머치매의 발병 위험도 예측방법을 제공한다:
- [0088] (a) 경도인지장애환자 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0089] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및
- [0090] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 경도인지장애환자 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계.
- [0091] 본 발명의 구현예로, 상기 (c) 단계에서 푸조박테리아(Fusobacteria), 탈철간균(Deferribacteres), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.
- [0092] 본 발명의 구현예로, 상기 (c) 단계에서 푸조박테리아(Fusobacteriia), 탈철간균(Deferribacteres), 및 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.
- [0093] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서 메타노박테리알레스(Methanobacteriales)로 이루어진 군으로부터 선택되는 목(order) 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.

- [0094] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서 마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 비피도박테리움과(Bifidobacteriaceae), 탈철간균과(Deferribacteraceae), 스펅고모나다시예(Sphingomonadaceae), 플라보박테리아시예(Flavobacteriaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 랩토티리치아시예(Leptotrichiaceae), 및 마이크로코카시예(Micrococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.
- [0095] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서 푸조박테리움(Fusobacterium), 콜린셀라(Collinsella), 스펅고모나스(Sphingomonas), 비피도박테리움(Bifidobacterium), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 파라코커스(Paracoccus), 플라보박테리움(Flavobacterium), 블라우티아(Blautia), 테피디모나스(Tepidimonas), 오도리박터(Odoribacter), 베일로넬라(Veillonella), 포르피로모나스(Porphyromonas), 및 랩토티리치아(Leptotrichia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 혈액에서 비교하여 알츠하이머치매를 진단하는 것일 수 있다.
- [0096] 본 발명의 일구현예로, 상기 경도인지장애환자 및 피검자 샘플은 혈액이고,
- [0097] 상기 (c) 단계에서, 푸조박테리아(Fusobacteria), 탈철간균(Deferribacteres), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0098] 푸조박테리아(Fusobacteriia), 탈철간균(Deferribacteres), 및 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0099] 메타노박테리알레스(Methanobacteriales) 목(order) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0100] 마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 비피도박테리움과(Bifidobacteriaceae), 탈철간균과(Deferribacteraceae), 스펅고모나다시예(Sphingomonadaceae), 플라보박테리아시예(Flavobacteriaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 랩토티리치아시예(Leptotrichiaceae), 및 마이크로코카시예(Micrococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는
- [0101] 푸조박테리움(Fusobacterium), 콜린셀라(Collinsella), 스펅고모나스(Sphingomonas), 비피도박테리움(Bifidobacterium), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 파라코커스(Paracoccus), 플라보박테리움(Flavobacterium), 블라우티아(Blautia), 테피디모나스(Tepidimonas), 오도리박터(Odoribacter), 베일로넬라(Veillonella), 포르피로모나스(Porphyromonas), 및 랩토티리치아(Leptotrichia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량 증감을 비교할 수 있다.
- [0102] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서, 경도인지장애환자 유래 샘플과 비교하여,
- [0103] 탈철간균(Deferribacteres), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0104] 탈철간균(Deferribacteres), 및 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0105] 탈철간균과(Deferribacteraceae), 스펅고모나다시예(Sphingomonadaceae), 및 랩토티리치아시예(Leptotrichiaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포밖 소포, 또는
- [0106] 스펅고모나스(Sphingomonas), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 파라코커스(Paracoccus), 테피디모나스(Tepidimonas), 포르피로모나스(Porphyromonas), 및 랩토티리치아(Leptotrichia)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포밖 소포의 함량이 증가되어 있는 경우 알츠하이머치매로 진단할 수 있다.
- [0107] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 (c) 단계에서, 경도인지장애환자 유래 샘플과 비교하여,
- [0108] 푸조박테리아(Fusobacteria) 문(phylum) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0109] 푸조박테리아(Fusobacteriia) 강(class) 세균 유래 세포밖 소포,
- [0110] 메타노박테리알레스(Methanobacteriales) 목(order) 세균 유래 세포밖 소포,

- [0111] 마이크로박테리아시에(Microbacteriaceae), 푸조박테리아시에(Fusobacteriaceae), 아에로코카시에(Aerococcaceae), 비피도박테리움과(Bifidobacteriaceae), 플라보박테리아시에(Flavobacteriaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 및 마이크로코카시에(Micrococcaceae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 과(family) 세균 유래 세포막 소포, 또는
- [0112] 푸조박테리움(Fusobacterium), 콜린셀라(Collinsella), 비피도박테리움(Bifidobacterium), 플라보박테리움(Flavobacterium), 블라우티아(Blautia), 오도리박터(Odoribacter), 및 베일로넬라(Veillonella)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 속(genus) 세균 유래 세포막 소포의 함량이 감소되어 있는 경우 알츠하이머치매로 진단할 수 있다.
- [0113] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 혈액은 전혈, 혈청, 혈장, 또는 혈액 단핵구일 수 있다.

발명의 효과

- [0114] 환경에 존재하는 세균에서 분비되는 세포막 소포는 체내에 흡수되어 알츠하이머치매 발생에 직접적인 영향을 미칠 수 있으며, 알츠하이머치매는 증상이 나타나기 전 조기진단이 어려워 효율적인 치료가 어려운 실정이다. 이에, 본 발명에 따른 인체 유래 샘플을 이용한 세균 유래 세포막 소포의 메타게놈 분석을 통해 알츠하이머치매의 원인인자 및 발병의 위험도를 미리 진단함으로써 알츠하이머치매의 위험군을 조기에 진단 및 예측 가능하며, 또한 적절한 관리를 통해 발병 시기를 늦추거나 발병을 예방할 수 있다. 이에 더하여, 발병 후에도 조기진단 할 수 있어 알츠하이머치매의 발병률을 낮추고 치료효과를 높일 수 있을 뿐 아니라, 알츠하이머치매로 진단받은 환자에서 메타게놈 분석을 통해 원인인자를 진단하여 이에 대한 노출을 피함으로써 질병의 경과를 좋게 하거나, 재발을 막을 수 있다.는 장점이 있다. 이에 더하여, 경도인지장애도 메타게놈 분석을 통해 경도인지장애의 위험군을 조기에 진단하여 적절한 관리를 통해 발병 시기를 늦추거나 발병을 예방할 수 있으며, 발병 후에도 조기진단 할 수 있어 경도인지장애의 발병률을 낮추고 치료효과를 높일 수 있다는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [0115] 도 1a는, 마우스에 장내 세균과 세균 유래 소포 (EVs)를 구강으로 투여한 후, 시간별로 세균과 소포의 분포양상을 촬영한 사진이고, 도 1b는 구강으로 투여한 후 12시간째에, 혈액 및 여러 장기를 적출하여, 세균과 소포의 체내 분포양상을 평가한 그림이다.
- 도 2는 알츠하이머치매환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 문(phylum) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.
- 도 3은 알츠하이머치매환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 강(class) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.
- 도 4는 알츠하이머치매환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 목(order) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.
- 도 5는 알츠하이머치매환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 과(family) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.
- 도 6은 알츠하이머치매환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 속(genus) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.
- 도 7은 경도인지장애환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 문(phylum) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.
- 도 8은 경도인지장애환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 강(class) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.
- 도 9는 경도인지장애환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 목(order) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.
- 도 10은 경도인지장애환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 과(family) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.
- 도 11은 경도인지장애환자 및 정상인 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 속

(genus) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.

도 12는 경도인지장애환자 및 알츠하이머치매환자 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 문(phylum) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.

도 13은 경도인지장애환자 및 알츠하이머치매환자 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 강(class) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.

도 14는 경도인지장애환자 및 알츠하이머치매환자 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 목(order) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.

도 15는 경도인지장애환자 및 알츠하이머치매환자 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 과(family) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.

도 16은 경도인지장애환자 및 알츠하이머치매환자 혈액에서 세균 유래 소포를 분리한 후, 메타게놈 분석을 수행하여 속(genus) 수준에서 진단적 성능이 유의한 세균 유래 소포(EVs)의 분포를 나타낸 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0116] 본 발명은 세균 메타게놈 분석을 통해 알츠하이머치매 및 경도인지장애를 진단하는 방법에 관한 것으로서, 본 발명자들은 정상인 및 피검자 유래 샘플을 이용해 세균 유래 세포막 소포로부터 유전자를 추출하고 이에 대하여 메타게놈 분석을 수행하였으며, 알츠하이머치매 및 경도인지장애의 원인인자로 작용할 수 있는 세균 유래 세포막 소포를 동정하였다.
- [0117] 이에, 본 발명은 (a) 정상인 및 피검자 샘플에 존재하는 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0118] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR을 수행하는 단계; 및
- [0119] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계를 포함하는 알츠하이머치매를 진단하기 위한 정보제공방법을 제공한다.
- [0120] 또한, 본 발명은 (a) 정상인 및 피검자 샘플에 존재하는 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0121] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR을 수행하는 단계; 및
- [0122] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 정상인 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계를 포함하는 경도인지장애를 진단하기 위한 정보제공방법을 제공한다.
- [0123] 또한, 본 발명은 (a) 경도인지장애환자 및 피검자 샘플에서 분리한 세포막 소포로부터 DNA를 추출하는 단계;
- [0124] (b) 상기 추출한 DNA에 대하여 서열번호 1 및 서열번호 2의 프라이머 쌍을 이용하여 PCR(Polymerase chain reaction)을 수행하는 단계; 및
- [0125] (c) 상기 PCR 산물의 서열분석을 통하여 경도인지장애환자 유래 샘플과 세균 유래 세포막 소포의 함량 증감을 비교하는 단계를 포함하는 알츠하이머치매를 진단하기 위한 정보제공방법을 제공한다.
- [0126] 본 발명에서 사용되는 용어, "알츠하이머치매 진단"이란 환자에 대하여 알츠하이머치매가 발병할 가능성이 있는지, 알츠하이머치매가 발병할 가능성이 상대적으로 높은지, 또는 알츠하이머치매가 이미 발병하였는지 여부를 판별하는 것을 의미한다. 본 발명의 방법은 임의의 특정 환자에 대한 알츠하이머치매 발병 위험도가 높은 환자로서 특별하고 적절한 관리를 통하여 발병 시기를 늦추거나 발병하지 않도록 하는데 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 방법은 알츠하이머치매를 조기에 진단하여 가장 적절한 치료방식을 선택함으로써 치료를 결정하기 위해 임상적으로 사용될 수 있다.
- [0127] 본 발명에서 사용되는 용어, "경도인지장애"란 정상적인 노화현상으로 인한 인지능력의 감퇴되는 것으로서 동일한 연령대에 비해 인지 능력이 저하되어 있는 상태로 정의한다. 치매와 다른 점은 일상생활이 가능한 것이고, 경도인지장애 노인의 경우 10%에서 치매로 진행되는 것으로 알려져 있어, 경도인지장애는 치매의 위험인자로 알려져 있다.
- [0128] 본 발명에서 사용되는 용어, "경도인지장애 진단"이란 환자에 대하여 경도인지장애가 발병할 가능성이 있는지, 경도인지장애가 발병할 가능성이 상대적으로 높은지, 또는 경도인지장애가 이미 발병하였는지 여부를 판별하는 것을 의미한다. 본 발명의 방법은 임의의 특정 환자에 대한 경도인지장애 발병 위험도가 높은 환자로서 특별하

고 적절한 관리를 통하여 발병 시기를 늦추거나 발병하지 않도록 하는데 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 방법은 경도인지장애를 조기에 진단하여 가장 적절한 치료방식을 선택함으로써 치료를 결정하기 위해 임상적으로 사용될 수 있다.

- [0129] 본 발명에서 사용되는 용어, "메타게놈(metagenome)"이란 "군유전체"라고도 하며, 흙, 동물의 장 등 고립된 지역 내의 모든 바이러스, 세균, 곰팡이 등을 포함하는 유전체의 총합을 의미하는 것으로, 주로 배양이 되지 않는 미생물을 분석하기 위해서 서열분석기를 사용하여 한꺼번에 많은 미생물을 동정하는 것을 설명하는 유전체의 개념으로 쓰인다. 특히, 메타게놈은 한 종의 게놈 또는 유전체를 말하는 것이 아니라, 한 환경단위의 모든 종의 유전체로서 일종의 혼합유전체를 말한다. 이는 오믹스적으로 생물학이 발전하는 과정에서 한 종을 정의할 때 기능적으로 기존의 한 종뿐만 아니라, 다양한 종이 서로 상호작용하여 완전한 종을 만든다는 관점에서 나온 용어이다. 기술적으로는 빠른 염기서열분석법을 이용해서, 종에 관계없이 모든 DNA, RNA를 분석하여, 한 환경 내에서의 모든 종을 동정하고, 상호작용, 대사작용을 규명하는 기법의 대상이다. 본 발명에서는 바람직하게 혈액에서 분리한 세균 유래 세포막 소포를 이용하여 메타게놈 분석을 실시하였다.
- [0130] 본 발명에 있어서, 상기 정상인 및 피검자 샘플은 혈액 또는 소변일 수 있고, 상기 혈액은 바람직하게 전혈, 혈청, 혈장, 또는 혈액 단백구일 수 있으나, 이것으로 제한되는 것은 아니다.
- [0131] 본 발명의 실시예에서는 상기 세균 유래 세포막 소포에 대한 메타게놈 분석을 실시하였으며, 문(phylum), 강(class), 목(order), 과(family), 및 속(genus) 수준에서 각각 분석하여 실제로 알츠하이머치매 발생의 원인으로 작용할 수 있는 세균 유래 소포를 동정하였다.
- [0132] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 문 수준에서 분석한 결과, 탈철간균(*Deferribacteres*), SR1, 시너지스테테스(*Synergistetes*), 및 써미(*Thermi*) 문 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 4 참조).
- [0133] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 강 수준에서 분석한 결과, 알파프로테오박테리아(*Alphaproteobacteria*), 플라보박테리아(*Flavobacteriia*), 탈철간균(*Deferribacteres*), 및 데이노코키(*Deinococci*) 강 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 4 참조).
- [0134] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 목 수준에서 분석한 결과, 리케치아레스(*Rickettsiales*) 목 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 4 참조).
- [0135] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 과 수준에서 분석한 결과, 스펅고모나다시예(*Sphingomonadaceae*), 탈철간균과(*Deferribacteraceae*), 위크셀라시예(*Weeksellaceae*), 펩토코카시예(*Peptococcaceae*), 로도박테라시예(*Rhodobacteraceae*), 노카르디아시예(*Nocardiaceae*), 나이세리아시예(*Neisseriaceae*), 티시에렐라시예(*Tissierellaceae*), 플라보박테리아시예(*Flavobacteriaceae*), 파라프레보텔라시예(*Paraprevotellaceae*), 옥살로박테라시예(*Oxalobacteraceae*), 제멜라시예(*Gemellaceae*), 아에로코카시예(*Aerococcaceae*), 랩토티리치아시예(*Leptotrichiaceae*), 로도사이클라시예(*Rhodocyclaceae*), 윌리엄시아시예(*Williamsiaceae*), 및 데이노코카시예(*Deinococcaceae*) 과 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 4 참조).
- [0136] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 속 수준에서 분석한 결과, 스펅고모나스(*Sphingomonas*), 뮤시스피릴룸(*Mucispirillum*), 클로시박테리움(*Cloacibacterium*), rc4-4, 콜린셀라(*Collinsella*), 로티아(*Rothia*), 데클로로모나스(*Dechloromonas*), 로도코커스(*Rhodococcus*), 나이세리아(*Neisseria*), 파라코커스(*Paracoccus*), 시트로박터(*Citrobacter*), 포르피로모나스(*Porphyromonas*), 아나에로코커스(*Anaerococcus*), 프레보텔라(*Prevotella*), 테피디모나스(*Tepidimonas*), 랩토티리치아(*Leptotrichia*), 카프노시토파가(*Capnocytophaga*), 아들러크레우치아(*Adlercreutzia*), 윌리엄시아(*Williamsia*), 및 데이노코커스(*Deinococcus*) 속 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 4 참조).
- [0137] 본 발명의 또 다른 실시예에서는 상기 세균 유래 세포막 소포에 대한 메타게놈 분석을 실시하였으며, 문(phylum), 강(class), 목(order), 과(family), 및 속(genus) 수준에서 각각 분석하여 실제로 경도인지장애 발생의 원인으로 작용할 수 있는 세균 유래 소포를 동정하였다.

- [0138] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 문 수준에서 분석한 결과, 푸조박테리아(*Fusobacteria*), 남세균(*Cyanobacteria*), SR1, TM7, 써미(*Thermi*), 클로로플렉시(*Chloroflexi*), 및 아르마티모나스(*Armatimonadetes*) 문 세균 유래 세포막 소포의 함량이 경도인지장애 환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 5 참조).
- [0139] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 강 수준에서 분석한 결과, 베타프로테오박테리아(*Betaproteobacteria*), 푸조박테리아(*Fusobacteriia*), 클로로플라스트(*Chloroplast*), TM7-3, 데이노코키(*Deinococci*), 및 펴브리모나디아(*Fimbriimonadia*) 강 세균 유래 세포막 소포의 함량이 경도인지장애 환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 5 참조).
- [0140] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 목 수준에서 분석한 결과, 스트렙토피타(*Streptophyta*), 및 리케치아레스(*Rickettsiales*) 목 세균 유래 세포막 소포의 함량이 경도인지장애 환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 5 참조).
- [0141] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 과 수준에서 분석한 결과, 위크셀라시예(*Weeksellaceae*), 푸조박테리아시예(*Fusobacteriaceae*), 산토모나다시예(*Xanthomonadaceae*), 로도사이클라시예(*Rhodocyclaceae*), 오도리박테라시예(*Odoribacteraceae*), 로도박테라시예(*Rhodobacteraceae*), 노가르디아시예(*Nocardiaceae*), 옥살로박테라시예(*Oxalobacteraceae*), 마이크로박테리아시예(*Microbacteriaceae*), 데이노코카시예(*Deinococcaceae*), 패니바실라시예(*Paenibacillaceae*), 리조비움과(*Rhizobiaceae*), 및 펴브리모나다시예(*Fimbriimonadaceae*) 과 세균 유래 세포막 소포의 함량이 경도인지장애 환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 5 참조).
- [0142] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 속 수준에서 분석한 결과, 클로시박테리움(*Cloacibacterium*), 푸조박테리움(*Fusobacterium*), 락토코쿠스(*Lactococcus*), 스테노트로포모나스(*Stenotrophomonas*), 데클로로모나스(*Dechloromonas*), 오도리박터(*Odoribacter*), 로도코쿠스(*Rhodococcus*), 플라보박테리움(*Flavobacterium*), 데이노코쿠스(*Deinococcus*), 패니바실러스(*Paenibacillus*), 시트로박터(*Citrobacter*), 및 펴브리모나스(*Fimbriimonas*) 속 세균 유래 세포막 소포의 함량이 경도인지장애 환자와 정상인 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 5 참조).
- [0143] 본 발명의 또 다른 실시예에서는 상기 세균 유래 세포막 소포에 대한 메타게놈 분석을 실시하였으며, 문(*phylum*), 강(*class*), 목(*order*), 과(*family*), 및 속(*genus*) 수준에서 각각 분석하여 실제로 알츠하이머치매 발생의 원인으로 작용할 수 있는 세균 유래 소포를 동정하였다.
- [0144] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 문 수준에서 분석한 결과, 푸조박테리아(*Fusobacteria*), 탈철간균(*Deferribacteres*), 및 아르마티모나스(*Armatimonadetes*) 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매 환자와 경도인지장애 환자와 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 6 참조).
- [0145] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 강 수준에서 분석한 결과, 푸조박테리아(*Fusobacteriia*), 탈철간균(*Deferribacteres*), 및 알파프로테오박테리아(*Alphaproteobacteria*) 강 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매 환자와 경도인지장애 환자와 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 6 참조).
- [0146] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 목 수준에서 분석한 결과, 메타노박테리알레스(*Methanobacteriales*) 목 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매 환자와 경도인지장애 환자와 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 6 참조).
- [0147] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 과 수준에서 분석한 결과, 마이크로박테리아시예(*Microbacteriaceae*), 푸조박테리아시예(*Fusobacteriaceae*), 아에로코카시예(*Aerococcaceae*), 비피도박테리움과(*Bifidobacteriaceae*), 탈철간균과(*Deferribacteraceae*), 스펅고모나다시예(*Sphingomonadaceae*), 플라보박테리아시예(*Flavobacteriaceae*), 리조비움과(*Rhizobiaceae*), 렙토티리치아시예(*Leptotrichiaceae*), 및 마이크로코카시예(*Micrococcaceae*) 과 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매 환자와 경도인지장애 환자와 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 6 참조).
- [0148] 보다 구체적으로 본 발명의 일실시예에서는, 피검자 유래 혈액 샘플에 존재하는 소포에 대하여 세균 메타게놈을 속 수준에서 분석한 결과, 푸조박테리움(*Fusobacterium*), 콜린셀라(*Collinsella*), 스펅고모나스

(Sphingomonas), 비피도박테리움(Bifidobacterium), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 파라코커스(Paracoccus), 플라보박테리움(Flavobacterium), 블라우티아(Blautia), 테피디모나스(Tepidimonas), 오도리박터(Odoribacter), 베일로넬라(Veillonella), 포르피로모나스(Porphyrromonas), 및 랩토티리치아(Leptotrichia) 속 세균 유래 세포막 소포의 함량이 알츠하이머치매환자와 경도인지장애환자 사이에 유의한 차이가 있었다(실시예 6 참조).

[0149] 상기 실시예 결과를 통해 상기 동정된 세균 유래 세포막 소포의 분포 변수가 알츠하이머치매 또는 경도인지장애 발생 예측에 유용하게 이용될 수 있음을 확인하였다.

[0150] 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.

[0151] **[실시예]**

[0152] **실시예 1. 장내 세균 및 세균 유래 소포의 체내 흡수, 분포, 및 배설 양상 분석**

[0153] 장내 세균과 세균 유래 소포가 위장관을 통해 전신적으로 흡수되는 지를 평가하기 위하여 다음과 같은 방법으로 실험을 수행하였다. 마우스의 위장에 형광으로 표지한 장내세균과 장내 세균 유래 소포를 각각 50 μ g의 용량으로 위장관으로 투여하고 0분, 5분, 3시간, 6시간, 12시간 후에 형광을 측정하였다. 마우스 전체 이미지를 관찰한 결과, 도 1a에 나타난 바와 같이, 상기 세균(Bacteria)인 경우에는 전신적으로 흡수되지 않았지만, 세균 유래 소포(EV)인 경우에는, 투여 후 5분에 전신적으로 흡수되었고, 투여 3시간 후에는 방광에 형광이 진하게 관찰되어, 소포가 비뇨기계로 배설됨을 알 수 있었다. 또한, 소포는 투여 12시간까지 체내에 존재함을 알 수 있었다.

[0154] 장내세균과 장내 세균유래 소포가 전신적으로 흡수된 후, 여러 장기로 침윤된 양상을 평가하기 위하여, 형광으로 표지한 50 μ g의 세균과 세균유래 소포를 상기의 방법과 같이 투여한 다음 12시간째에 마우스로부터 혈액(Blood), 심장(Heart), 폐(Lung), 간(Liver), 신장(Kidney), 비장(Spleen), 지방조직(Adipose tissue), 및 근육(Muscle)을 적출하였다. 상기 적출한 조직들에서 형광을 관찰한 결과, 도 1b에 나타난 바와 같이, 상기 장내 세균(Bacteria)은 각 장기에 흡수되지 않은 반면, 상기 장내 세균 유래 세포막 소포(EV)는 혈액, 심장, 폐, 간, 신장, 비장, 지방조직, 및 근육에 분포하는 것을 확인하였다.

[0155] **실시예 2. 혈액으로부터 세포막 소포 분리 및 DNA 추출**

[0156] 혈액에 존재하는 소포를 분리하고 DNA를 추출하기 위해, 먼저 10 ml 튜브에 혈액을 넣고 원심분리(3,500 x g, 10min, 4℃)를 실시하여 부유물을 가라앉혀 상등액을 회수한 후 새로운 10 ml 튜브에 옮겼다. 0.22 μ m 필터를 사용하여 상기 회수한 상등액으로부터 세균 및 이물질을 제거한 후, 센트리프랴프튜브(centrifuge filters 50 kD)에 옮기고 1500 x g, 4℃에서 15분간 원심분리하여 50 kD 보다 작은 물질은 버리고 10 ml까지 농축시켰다. 다시 한 번 0.22 μ m 필터를 사용하여 박테리아 및 이물질을 제거한 후, Type 90ti 로터로 150,000 x g, 4℃에서 3시간 동안 초고속원심분리방법을 사용하여 상등액을 버리고 덩어리진 pellet을 생리식염수(PBS)로 녹여 소포를 수득하였다.

[0157] 상기 방법에 따라 혈액으로부터 분리한 소포 100 μ l를 100℃에서 끓여서 내부의 DNA를 지질 밖으로 나오게 한 후 얼음에 5분 동안 식혔다. 다음으로 남은 부유물을 제거하기 위하여 10,000 x g, 4℃에서 30분간 원심분리하고 상등액 만을 모은 후 Nanodrop을 이용하여 DNA 양을 정량하였다. 이후 상기 추출된 DNA에 세균 유래 DNA가 존재하는지 확인하기 위하여 하기 표 1에 나타난 16s rDNA primer로 PCR을 수행하여 상기 추출된 유전자에 세균 유래 유전자가 존재하는 것을 확인하였다.

표 1

primer		서열	서열번호
16S rDNA	16S_V3_F	5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3'	1
	16S_V4_R	5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3'	2

[0159] **실시예 3. 혈액에서 추출한 DNA를 이용한 메타게놈 분석**

[0160] 상기 실시예 2의 방법으로 유전자를 추출한 후, 상기 표1에 나타난 16S rDNA 프라이머를 사용하여 PCR을 실시하

여 유전자를 증폭시키고 시퀀싱(Illumina MiSeq sequencer)을 수행하였다. 결과를 Standard Flowgram Format(SFF) 파일로 출력하고 GS FLX software(v2.9)를 이용하여 SFF 파일을 sequence 파일(.fasta)과 nucleotide quality score 파일로 변환한 다음 리드의 신용도 평가를 확인하고, window(20 bps) 평균 base call accuracy가 99% 미만(Phred score <20)인 부분을 제거하였다. 질이 낮은 부분을 제거한 후, 리드의 길이가 300 bps 이상인 것만 이용하였으며(Sickle version 1.33), 결과 분석을 위해 Operational Taxonomy Unit(OTU)은 UCLUST와 USEARCH를 이용하여 시퀀스 유사도에 따라 클러스터링을 수행하였다. 구체적으로 속(genus)은 94%, 과(family)는 90%, 목(order)은 85%, 강(class)은 80%, 문(phylum)은 75% 시퀀스 유사도를 기준으로 클러스터링을 하고 각 OTU의 문, 강, 목, 과, 속 레벨의 분류를 수행하고, BLASTN와 GreenGenes의 16S DNA 시퀀스 데이터베이스(108,453 시퀀스)를 이용하여 97% 이상의 시퀀스 유사도 갖는 박테리아를 분석하였다(QIIME).

[0161] **실시예 4. 정상인과 알츠하이머치매환자 혈액에서 분리한 세균유래 소포 메타게놈 분석 기반 알츠하이머치매 진단모형**

[0162] 상기 실시예 3의 방법으로, 알츠하이머치매환자 67명과 나이와 성별을 매칭한 정상인 70명의 혈액에서 소포를 분리한 후 메타게놈 시퀀싱을 수행하였다. 진단모형 개발은 먼저 t-test에서 두 군 사이의 p값이 0.05 이하이고, 두 군 사이에 2배 이상 차이가 나는 균주를 선정하고 난 후, logistic regression analysis 방법으로 진단적 성능 지표인 AUC(area under curve), 민감도, 및 특이도를 산출하였다.

[0163] 혈액 내 세균유래 소포를 문(phylum) 수준에서 분석한 결과, 탈철간균(Deferribacteres), SR1, 시너지스테테스(Synergistetes), 및 써미(Thermi) 문 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 알츠하이머치매에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 2 및 도 2 참조).

표 2

[0164]

	정상인		알츠하이머치매		t-test		Training Set			Testing Set		
Phylum	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio	AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Deferribacteres	0.0049	0.0028	0.0109	0.0088	0.0001	2.23	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
SR1	0.0024	0.0054	0.0001	0.0004	0.0018	0.05	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Synergistetes	0.0001	0.0003	0.0000	0.0000	0.0282	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Thermi	0.0011	0.0019	0.0004	0.0008	0.0127	0.38	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	0.90

[0165] 혈액 내 세균유래 소포를 강(class) 수준에서 분석한 결과, 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria), 플라보박테리아(Flavobacteriia), 탈철간균(Deferribacteres), 및 데이노코키(Deinococci) 강 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 알츠하이머치매에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 3 및 도 3 참조).

표 3

[0166]

	정상인		알츠하이머치매		t-test		Training Set			Testing Set		
Class	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio	AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Alphaproteobacteria	0.0098	0.0066	0.0470	0.0639	0.0003	4.78	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Flavobacteriia	0.0106	0.0106	0.0040	0.0030	0.0000	0.38	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Deferribacteres	0.0049	0.0028	0.0109	0.0088	0.0001	2.23	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Deinococci	0.0011	0.0019	0.0004	0.0008	0.0127	0.38	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	0.90

[0167] 혈액 내 세균유래 소포를 목(order) 수준에서 분석한 결과, 리케치아레스(Rickettsiales) 목 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 알츠하이머치매에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 4 및 도 4 참조).

표 4

Class	정상인		알츠하이머치매		t-test	Ratio	Training Set			Testing Set		
	Mean	SD	Mean	SD	p-value		AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Richettsiales	0.0016	0.0037	0.0000	0.0001	0.0023	0.01	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

[0169] 혈액 내 세균유래 소포를 과(family) 수준에서 분석한 결과, 스텡고모나다시예(Sphingomonadaceae), 탈철간균과(Deferribacteraceae), 위크셀라시예(Weeksellaceae), 펩토코카시예(Peptococcaceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 노카르디아시예(Nocardiaceae), 나이세리아시예(Neisseriaceae), 티시에렐라시예(Tissierellaceae), 플라보박테리아시예(Flavobacteriaceae), 파라프레보텔라시예(Paraprevotellaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 제멜라시예(Gemellaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 렘토티리치아시예(Leptotrichiaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 윌리엄시아시예(Williamsiaceae), 및 데이노코카시예(Deinococcaceae) 과 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 알츠하이머치매에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 5 및 도 5 참조).

표 5

Family	정상인		알츠하이머치매		t-test	Ratio	Training Set			Testing Set		
	Mean	SD	Mean	SD	p-value		AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Sphingomonadaceae	0.0037	0.0028	0.0407	0.0639	0.0003	11.03	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Deferribacteraceae	0.0049	0.0028	0.0109	0.0088	0.0001	2.23	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Weeksellaceae	0.0094	0.0107	0.0035	0.0030	0.0001	0.37	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Peptococcaceae	0.0026	0.0025	0.0052	0.0053	0.0032	2.02	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	0.90
Rhodobacteraceae	0.0005	0.0008	0.0019	0.0024	0.0005	3.84	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Nocardiaceae	0.0027	0.0030	0.0007	0.0011	0.0000	0.26	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Neisseriaceae	0.0021	0.0033	0.0009	0.0013	0.0145	0.43	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Tissierellaceae	0.0015	0.0015	0.0007	0.0008	0.0012	0.49	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Flavobacteriaceae	0.0011	0.0016	0.0005	0.0006	0.0062	0.42	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Paraprevotellaceae	0.0005	0.0007	0.0013	0.0017	0.0059	2.53	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Oxalobacteraceae	0.0017	0.0028	0.0005	0.0011	0.0042	0.30	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Gemellaceae	0.0004	0.0009	0.0010	0.0018	0.0432	2.72	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Aerococcaceae	0.0004	0.0008	0.0001	0.0003	0.0356	0.36	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Leptotrichiaceae	0.0002	0.0004	0.0008	0.0014	0.0064	3.94	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rhodocyclaceae	0.0042	0.0057	0.0017	0.0017	0.0018	0.40	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	0.90
Williamsiaceae	0.0004	0.0008	0.0013	0.0021	0.0124	2.97	1.00	1.00	1.00	0.96	0.92	1.00
Deinococcaceae	0.0010	0.0019	0.0004	0.0008	0.0184	0.38	1.00	1.00	1.00	0.95	0.92	0.90

[0171] 혈액 내 세균유래 소포를 속(genus) 수준에서 분석한 결과, 스펅고모나스(Sphingomonas), 뮤시스피릴룸(Mucispirillum), 클로시박테리움(Cloacibacterium), rc4-4, 콜린셀라(Collinsella), 로티아(Rothia), 데클로로모나스(Dechloromonas), 로도코커스(Rhodococcus), 나이세리아(Neisseria), 파라코커스(Paracoccus), 시트로박터(Citrobacter), 포르피로모나스(Porphyromonas), 아나에로코커스(Anaerococcus), 프레보텔라(Prevotella), 테피디모나스(Tepidimonas), 랩토티리치아(Leptotrichia), 카프노시토파가(Capnocytophaga), 아들러크레우치아(Adlercreutzia), 윌리엄시아(Williamsia), 및 데이노코커스(Deinococcus) 속 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 알츠하이머치매에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 6 및 도 6 참조).

표 6

[0172]

Genus	정상인		알츠하이머치매		t-test		Training Set			Testing Set		
	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio	AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Sphingomonas	0.0026	0.0024	0.0397	0.0639	0.0003	15.50	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Mucispirillum	0.0049	0.0028	0.0109	0.0088	0.0001	2.23	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Cloacibacterium	0.0091	0.0106	0.0033	0.0029	0.0002	0.37	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
rc4-4	0.0026	0.0025	0.0052	0.0053	0.0032	2.03	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	0.90
Collinsella	0.0047	0.0053	0.0016	0.0021	0.0001	0.35	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rothia	0.0020	0.0036	0.0009	0.0014	0.0405	0.47	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Dechloromonas	0.0032	0.0043	0.0012	0.0014	0.0012	0.37	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rhodococcus	0.0027	0.0030	0.0007	0.0011	0.0000	0.24	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Neisseria	0.0015	0.0031	0.0005	0.0007	0.0155	0.33	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Paracoccus	0.0005	0.0008	0.0018	0.0024	0.0005	4.08	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Citrobacter	0.0015	0.0021	0.0004	0.0015	0.0018	0.24	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Porphyromonas	0.0005	0.0012	0.0012	0.0018	0.0283	2.49	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Anaerococcus	0.0010	0.0013	0.0003	0.0007	0.0010	0.34	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Prevotella	0.0003	0.0006	0.0009	0.0012	0.0031	2.92	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Tepidimonas	0.0002	0.0004	0.0011	0.0015	0.0003	5.63	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	0.90
Leptotrichia	0.0002	0.0004	0.0007	0.0013	0.0073	4.27	1.00	1.00	1.00	0.96	0.92	1.00
Capnocytophaga	0.0016	0.0014	0.0001	0.0003	0.0174	0.22	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Adlercreutzia	0.0017	0.0016	0.0037	0.0048	0.0094	2.15	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	0.90
Williamsia	0.0004	0.0008	0.0013	0.0021	0.0124	2.97	1.00	1.00	1.00	0.96	0.92	1.00
Deinococcus	0.0010	0.0019	0.0004	0.0008	0.0184	0.38	1.00	1.00	1.00	0.95	0.92	0.90

[0173] 실시예 5. 정상인과 경도인지장애환자 혈액에서 분리한 세균유래 소포 메타게놈 분석 기반 경도인지장애 진단모형

[0174] 상기 실시예 3의 방법으로, 경도인지장애환자 65명과 나이와 성별을 매칭한 정상인 70명의 혈액에서 소포를 분리한 후 메타게놈 시퀀싱을 수행하였다. 진단모형 개발은 먼저 t-test에서 두 군 사이의 p값이 0.05 이하이고, 두 군 사이에 2배 이상 차이가 나는 군주를 선정하고 난 후, logistic regression analysis 방법으로 진단적 성능 지표인 AUC(area under curve), 민감도, 및 특이도를 산출하였다.

[0175] 혈액 내 세균유래 소포를 문(phylum) 수준에서 분석한 결과, 푸조박테리아(Fusobacteria), 남세균

(Cyanobacteria), SR1, TM7, 썬미(Thermi), 클로로플렉시(Chloroflexi), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes) 문 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 경도인지장애에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 7 및 도 7 참조).

표 7

Phylum	정상인		경도인지장애		t-test	Ratio	Training Set			Testing Set		
	Mean	SD	Mean	SD	p-value		AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Fusobacteriia	0.0019	0.0022	0.0100	0.0093	0.0000	5.31	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Cyanobacteria	0.0016	0.0019	0.0007	0.000015	0.0034	0.43	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
SR1	0.0024	0.0054	0.0002	0.0005	0.0029	0.09	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
TM7	0.0007	0.0013	0.0003	0.0004	0.0244	0.41	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Thermi	0.0011	0.0019	0.0002	0.0004	0.0005	0.18	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Chloroflexi	0.0005	0.0012	0.0001	0.0003	0.0275	0.24	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.92
Armatimonadetes	0.0005	0.0009	0.0000	0.0001	0.0001	0.04	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

혈액 내 세균유래 소포를 강(class) 수준에서 분석한 결과, 베타프로테오박테리아(Betaproteobacteria), 푸조박테리아(Fusobacteriia), 클로로플라스트(Chloroplast), TM7-3, 데이노코키(Deinococci), 및 펴브리모나디아(Fimbriimonadia) 강 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 경도인지장애에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 8 및 도 8 참조).

표 8

Class	정상인		경도인지장애		t-test	Ratio	Training Set			Testing Set		
	Mean	SD	Mean	SD	p-value		AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Betaproteobacteria	0.0284	0.0317	0.0141	0.0055	0.0011	0.50	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Fusobacteriia	0.0019	0.0020	0.0100	0.0093	0.0000	5.31	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Chloroplast	0.0012	0.0017	0.0006	0.0014	0.0334	0.49	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
TM7-3	0.0007	0.0013	0.0003	0.0004	0.0198	0.38	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Deinococci	0.0011	0.0019	0.0002	0.0004	0.0005	0.18	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Fimbriimonadia	0.0005	0.0009	0.0000	0.0001	0.0001	0.04	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

혈액 내 세균유래 소포를 목(order) 수준에서 분석한 결과, 스트렙토피타(Streptophyta), 및 리케치아레스(Rickettsiales) 목 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 경도인지장애에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 9 및 도 9 참조).

표 9

Order	정상인		경도인지장애		t-test	Ratio	Training Set			Testing Set		
	Mean	SD	Mean	SD	p-value		AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Streptophyta	0.0012	0.0017	0.0006	0.0014	0.0366	0.50	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rickettsiales	0.0016	0.0037	0.0000	0.0001	0.0026	0.02	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

[0181] 혈액 내 세균유래 소포를 과(family) 수준에서 분석한 결과, 위크셀라시예(Weeksellaceae), 푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 산토모나다시예(Xanthomonadaceae), 로도사이클라시예(Rhodocyclaceae), 오도리박테라시예(Odoribacteraceae), 로도박테라시예(Rhodobacteraceae), 노가르디아시예(Nocardiaceae), 옥살로박테라시예(Oxalobacteraceae), 마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 데이노코카시예(Deinococcaceae), 패니바실라시예(Paenibacillaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 및 펴브리모나다시예(Fimbriimonadaceae) 과 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 경도인지장애에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 10 및 도 10 참조).

표 10

[0182]

	정상인		경도인지장애		t-test		Training Set			Testing Set		
Family	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio	AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Weeksellaceae	0.0094	0.0107	0.0039	0.0031	0.0003	0.41	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Fusobacteriaceae	0.0017	0.0019	0.0098	0.0093	0.0000	5.85	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Xanthomonadaceae	0.0042	0.0082	0.0018	0.0031	0.0364	0.42	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rhodocyclaceae	0.0042	0.0057	0.0015	0.0015	0.0007	0.36	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Odoribacteraceae	0.0006	0.0008	0.0037	0.0031	0.0000	6.08	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rhodobacteraceae	0.0005	0.0008	0.0023	0.0049	0.0083	4.59	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Nocardiaceae	0.0027	0.0030	0.0009	0.0011	0.0000	0.32	1.00	1.00	1.00	1.00	0.91	1.00
Oxalobacteraceae	0.0017	0.0028	0.0003	0.0005	0.0003	0.17	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Microbacteriaceae	0.0004	0.0006	0.0015	0.0016	0.0000	4.17	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Deinococcaceae	0.0010	0.0019	0.0002	0.0004	0.0008	0.17	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Paenibacillaceae	0.0002	0.0004	0.0006	0.0014	0.0385	2.80	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rhizobiaceae	0.0002	0.0003	0.0008	0.0011	0.0001	4.53	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Fimbriimonadaceae	0.0005	0.0009	0.0000	0.0001	0.0001	0.04	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

[0183] 혈액 내 세균유래 소포를 속(genus) 수준에서 분석한 결과, 클로시박테리움(Cloacibacterium), 푸조박테리움(Fusobacterium), 락토코쿠스(Lactococcus), 스테노트로포모나스(Stenotrophomonas), 데클로로모나스(Dechloromonas), 오도리박터(Odoribacter), 로도코커스(Rhodococcus), 플라보박테리움(Flavobacterium), 데이노코커스(Deinococcus), 패니바실러스(Paenibacillus), 시트로박터(Citrobacter), 및 펴브리모나스(Fimbriimonas) 속 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 경도인지장애에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 11 및 도 11 참조).

표 11

[0184]

	정상인		경도인지장애		t-test		Training Set			Testing Set		
Genus	Mean	SD	Mean	SD	p-value	foldchange	AUC	sensitivity	specificity	AUC	sensitivity	specificity
Cloacibacterium	0.0091	0.0106	0.0037	0.0031	0.0004	0.41	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Fusobacterium	0.0017	0.0019	0.0098	0.0093	0.0000	5.88	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Lactococcus	0.0025	0.0022	0.0062	0.0038	0.0000	2.49	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Stenotrophomonas	0.0034	0.0074	0.0013	0.0025	0.0367	0.37	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Dechloromonas	0.0032	0.0043	0.0010	0.0011	0.0003	0.30	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Odoribacter	0.0005	0.0007	0.0035	0.0031	0.0000	6.81	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rhodococcus	0.0027	0.0030	0.0009	0.0011	0.0000	0.32	1.00	1.00	1.00	1.00	0.91	1.00
Flavobacterium	0.0005	0.0010	0.0014	0.0021	0.0045	2.71	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Deinococcus	0.0010	0.0019	0.0002	0.0004	0.0008	0.17	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Paenibacillus	0.0002	0.0004	0.0006	0.0014	0.0363	3.18	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Citrobacter	0.00015	0.0021	0.0005	0.0010	0.0015	0.33	1.00	1.00	0.96	0.96	0.93	1.00
Fimbriimonas	0.0005	0.0009	0.0000	0.0001	0.0001	0.04	1.00	1.00	0.96	0.92	0.86	1.00

실시예 6. 경도인지장애환자와 알츠하이머치매환자 혈액에서 분리한 세균유래 소포 메타게놈 분석 기반 알츠하이머치매 진단모형

상기 실시예 3의 방법으로, 알츠하이머치매환자 67명과 나이와 성별을 매칭한 경도인지장애환자 65명의 혈액에서 소포를 분리한 후 메타게놈 시퀀싱을 수행하였다. 진단모형 개발은 먼저 t-test에서 두 군 사이의 p값이 0.05 이하이고, 두 군 사이에 2배 이상 차이가 나는 군주를 선정하고 난 후, logistic regression analysis 방법으로 진단적 성능 지표인 AUC(area under curve), 민감도, 및 특이도를 산출하였다.

혈액 내 세균유래 소포를 문(phylum) 수준에서 분석한 결과, 푸조박테리아(Fusobacteria), 탈철간균(Deferribacteres), 및 아르마티모나스(Armatimonadetes) 문 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 알츠하이머치매에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 12 및 도 12 참조).

표 12

	경도인지장애		알츠하이머치매		t-test		Training Set			Testing Set			
Phylum	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio	AUC	sensitivity	specificity	AUC	Accuracy	sensitivity	specificity
Fusobacteria	0.0100	0.0093	0.0018	0.0019	0.0000	0.18	0.82	0.69	0.78	0.83	0.77	0.75	0.80
Deferribacteres	0.0040	0.0026	0.0109	0.0088	0.0000	2.71	0.80	0.88	0.58	0.75	0.68	0.67	0.70
Armatimonadetes	0.0000	0.0001	0.0003	0.0008	0.0352	15.14	0.60	0.92	0.31	0.45	0.64	0.92	0.30

혈액 내 세균유래 소포를 강(class) 수준에서 분석한 결과, 푸조박테리아(Fusobacteriia), 탈철간균(Deferribacteres), 및 알파프로테오박테리아(Alphaproteobacteria) 강 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 알츠하이머치매에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 13 및 도 13 참조).

표 13

	경도인지장애		알츠하이머치매		t-test		Training Set			Testing Set			
Class	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio	AUC	sensitivity	specificity	AUC	Accuracy	sensitivity	specificity
Fusobacteriia	0.0100	0.0093	0.0018	0.0019	0.0000	0.18	0.82	0.69	0.78	0.83	0.77	0.75	0.80
Deferribacteres	0.0040	0.0026	0.0109	0.0088	0.0000	2.71	0.80	0.88	0.58	0.75	0.68	0.67	0.70

Alphaproteobacteria	0.0128	0.0305	0.0470	0.0639	0.0015	3.67	0.76	0.90	0.44	0.71	0.68	0.92	0.40
---------------------	--------	--------	--------	--------	--------	------	------	------	------	------	------	------	------

[0191] 혈액 내 세균유래 소포를 목(order) 수준에서 분석한 결과, 메타노박테리알레스(Methanobacteriales) 목 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 알츠하이머치매에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 14 및 도 14 참조).

표 14

[0192]

	경도인지장애		알츠하이머치매		t-test		Training Set			Testing Set			
Order	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio	AUC	sensitivity	specificity	AUC	Accuracy	sensitivity	specificity
Methanobacteriales	0.0011	0.0020	0.0005	0.0006	0.0295	0.42	0.64	0.55	0.55	0.60	0.55	0.50	0.67

[0193] 혈액 내 세균유래 소포를 과(family) 수준에서 분석한 결과, 마이크로박테리아시예(Microbacteriaceae), 푸조박테리아시예(Fusobacteriaceae), 아에로코카시예(Aerococcaceae), 비피도박테리움과(Bifidobacteriaceae), 탈철간균과(Deferribacteraceae), 스펅고모나다시예(Sphingomonadaceae), 플라보박테리아시예(Flavobacteriaceae), 리조비움과(Rhizobiaceae), 랩토티리치아시예(Leptotrichiaceae), 및 마이크로코카시예(Micrococcaceae) 과 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 알츠하이머치매에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 15 및 도 15 참조).

표 15

[0194]

	경도인지장애		알츠하이머치매		t-test		Training Set				Testing Set			
Family	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio	AUC	Accuracy	sensitivity	specificity	AUC	Accuracy	sensitivity	specificity
Microbacteriaceae	0.0015	0.0016	0.0002	0.0006	0.0000	0.11	0.83	0.77	0.69	0.89	0.92	0.86	0.83	0.90
Fusobacteriaceae	0.0098	0.0093	0.0010	0.0011	0.0000	0.10	0.86	0.75	0.73	0.78	0.91	0.77	0.75	0.80
Aerococcaceae	0.0007	0.0010	0.0001	0.0003	0.0000	0.19	0.68	0.62	0.60	0.64	0.80	0.77	0.75	0.80
Bifidobacteriaceae	0.0210	0.0138	0.0096	0.0057	0.0000	0.45	0.78	0.75	0.77	0.72	0.79	0.73	0.83	0.60
Deferribacteraceae	0.0040	0.0026	0.0109	0.0088	0.0000	2.71	0.80	0.75	0.88	0.58	0.75	0.68	0.67	0.70

Sphingomonadaceae	0.0060	0.0265	0.0407	0.0639	0.0011	6.78	0.83	0.79	0.94	0.58	0.74	0.73	0.92	0.50
Flavobacteriaceae	0.0018	0.0022	0.0005	0.0006	0.0001	0.26	0.70	0.61	0.63	0.58	0.72	0.73	0.58	0.90
Rhizobiaceae	0.0008	0.0011	0.0002	0.0004	0.0001	0.20	0.70	0.65	0.60	0.72	0.69	0.68	0.67	0.70
Leptotrichiaceae	0.0002	0.0004	0.0008	0.0014	0.0054	4.25	0.70	0.71	0.90	0.47	0.52	0.59	0.57	0.40
Micrococcaceae	0.0040	0.0067	0.0020	0.0019	0.0304	0.49	0.69	0.67	0.79	0.50	0.46	0.41	0.42	0.40

[0195] 혈액 내 세균유래 소포를 속(genus) 수준에서 분석한 결과, 푸조박테리움(*Fusobacterium*), 콜린셀라(*Collinsella*), 스팅고모나스(*Sphingomonas*), 비피도박테리움(*Bifidobacterium*), 뮤시스피릴럼(*Mucispirillum*), 파라코커스(*Paracoccus*), 플라보박테리움(*Flavobacterium*), 블라우티아(*Blautia*), 테피디모나스(*Tepidimonas*), 오도리박터(*Odoribacter*), 베일로넬라(*Veillonella*), 포르피로모나스(*Porphyromonas*), 및 랩토포트리치아(*Leptotrichia*) 속 세균 바이오마커로 진단모형을 개발하였을 때, 경도인지장애에 대한 진단적 성능이 유의하게 나타났다 (표 16 및 도 16 참조).

표 16

[0196]

	경도인지장애		알츠하이머치매		t-test		Training Set				Testing Set			
Genus	Mean	SD	Mean	SD	p-value	Ratio	AUC	Accuracy	sensitivity	specificity	AUC	Accuracy	sensitivity	specificity
<i>Fusobacterium</i>	0.0098	0.0093	0.0010	0.0011	0.0000	0.10	0.86	0.75	0.73	0.78	0.91	0.77	0.75	0.80
<i>Collinsella</i>	0.0046	0.0040	0.0016	0.0021	0.0000	0.35	0.76	0.73	0.73	0.72	0.88	0.73	0.75	0.70
<i>Sphingomonas</i>	0.0050	0.0262	0.0397	0.0639	0.0011	7.88	0.86	0.83	0.92	0.72	0.78	0.73	0.92	0.50
<i>Bifidobacterium</i>	0.0210	0.0138	0.0094	0.0057	0.0000	0.45	0.78	0.73	0.75	0.69	0.78	0.77	0.83	0.70
<i>Mucispirillum</i>	0.0040	0.0026	0.0109	0.0088	0.0000	2.71	0.80	0.75	0.88	0.58	0.75	0.68	0.67	0.70

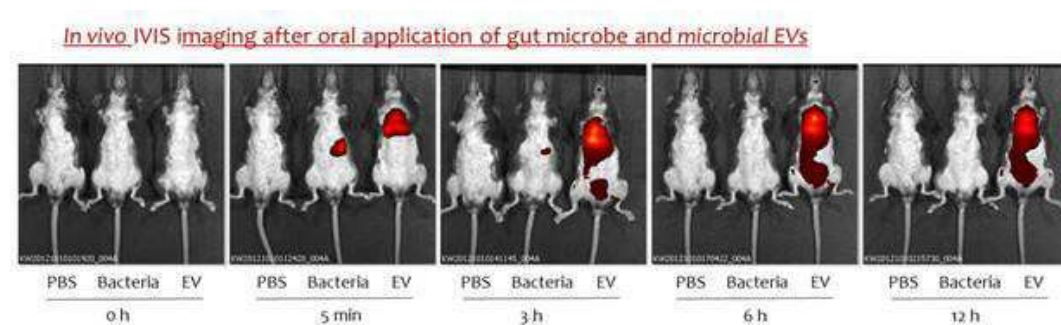
Paracoccus	0.0005	0.0009	0.0018	0.0024	0.0006	3.88	0.69	0.68	0.90	0.42	0.75	0.73	0.83	0.60
Flavobacterium	0.0014	0.0021	0.0003	0.0006	0.0004	0.23	0.66	0.67	0.75	0.56	0.74	0.59	0.67	0.50
Blautia	0.0048	0.0039	0.0018	0.0016	0.0000	0.37	0.78	0.74	0.75	0.72	0.73	0.64	0.67	0.60
Tepidimonas	0.0002	0.0003	0.0011	0.0015	0.0003	5.86	0.75	0.69	0.88	0.44	0.65	0.59	0.67	0.50
Odoribacter	0.0035	0.0031	0.0017	0.0043	0.0212	0.48	0.73	0.68	0.85	0.44	0.61	0.45	0.67	0.20
veillonella	0.0110	0.0240	0.0035	0.0059	0.0235	0.32	0.69	0.67	0.79	0.50	0.60	0.50	0.67	0.30
Porphyromonas	0.0006	0.0009	0.0012	0.0018	0.0406	2.09	0.59	0.65	0.90	0.33	0.59	0.55	0.75	0.30
Leptotrichia	0.0002	0.0004	0.0007	0.0013	0.0053	4.85	0.69	0.69	0.88	0.44	0.56	0.64	0.83	0.40

[0197]

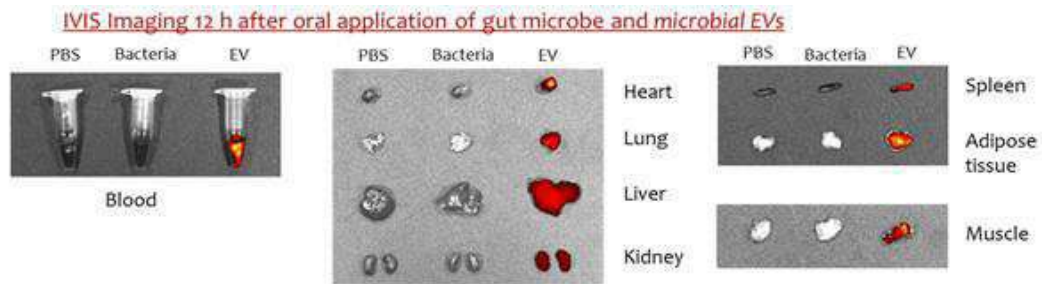
상기 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

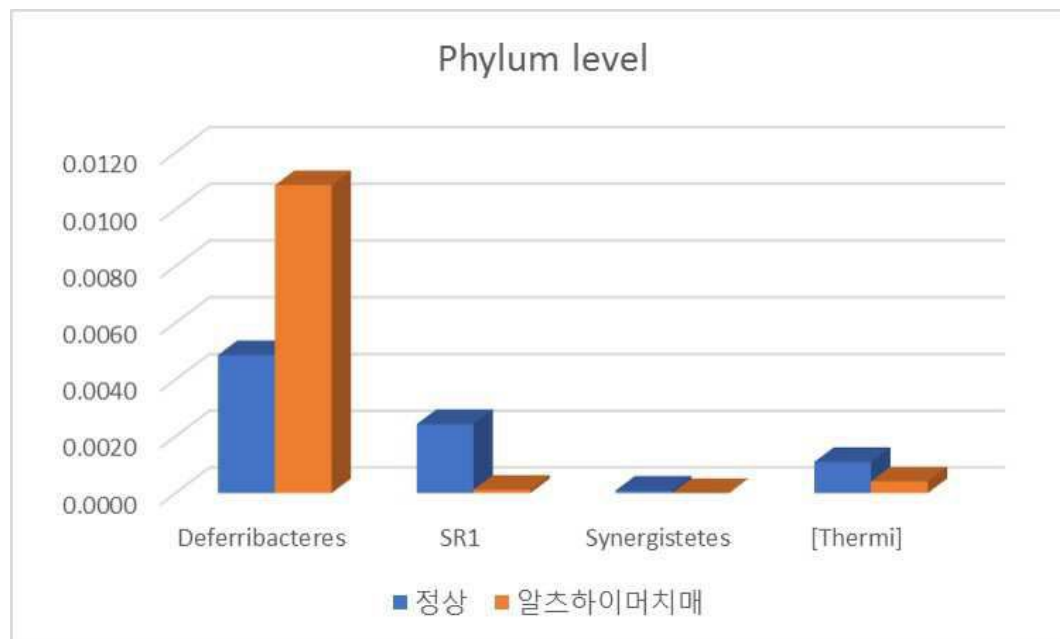
도면1a



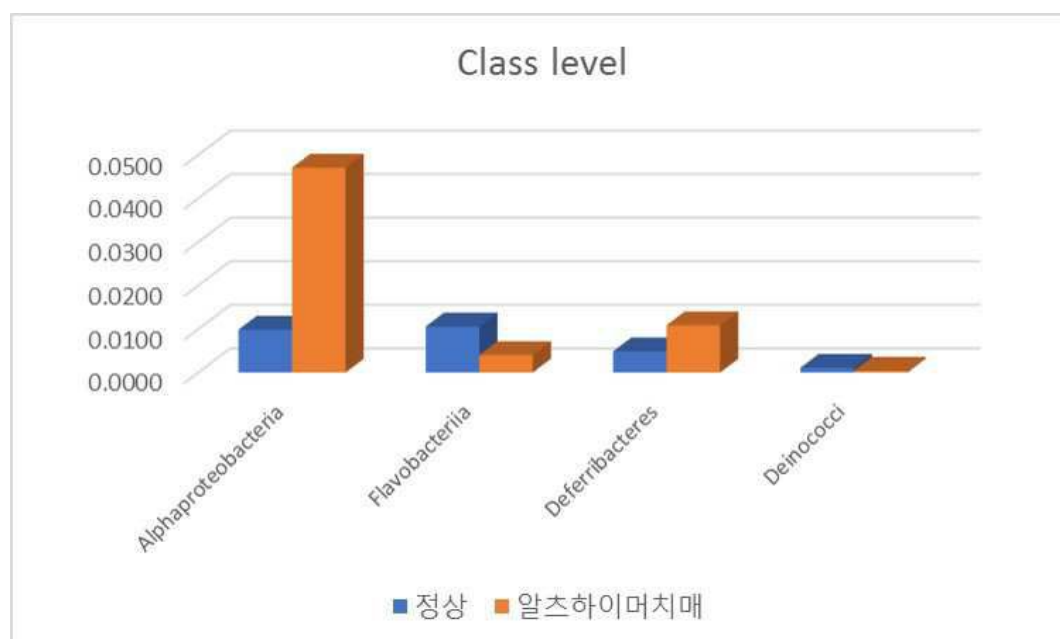
도면1b



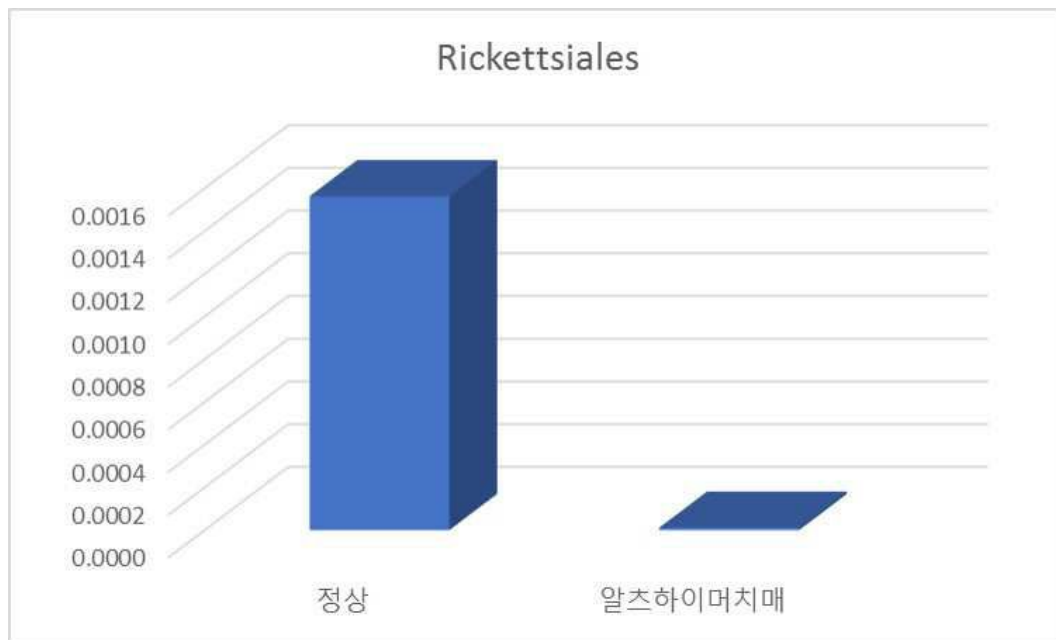
도면2



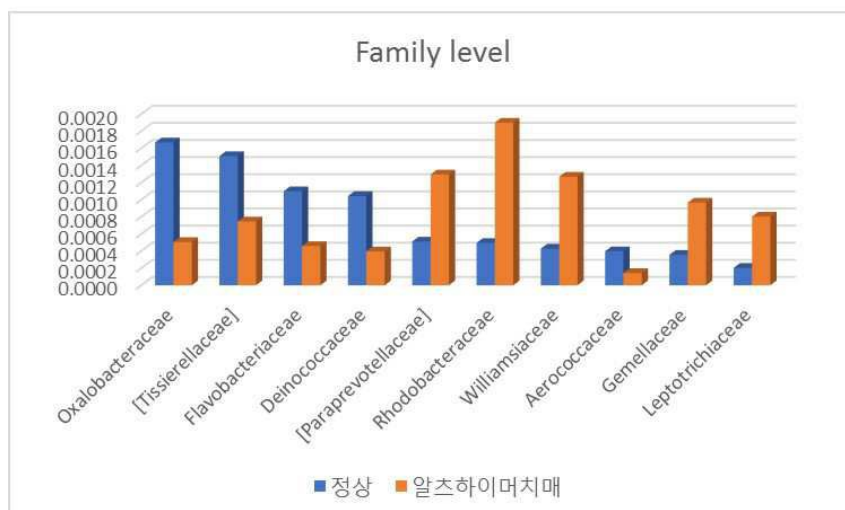
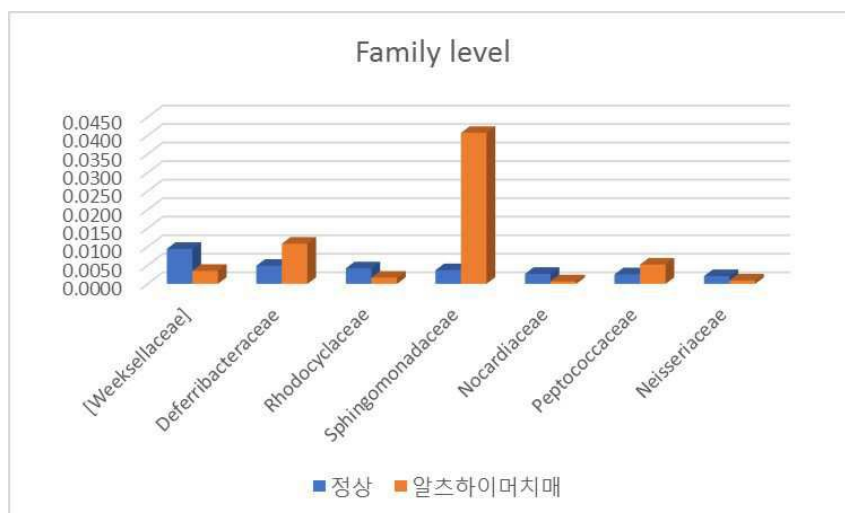
도면3



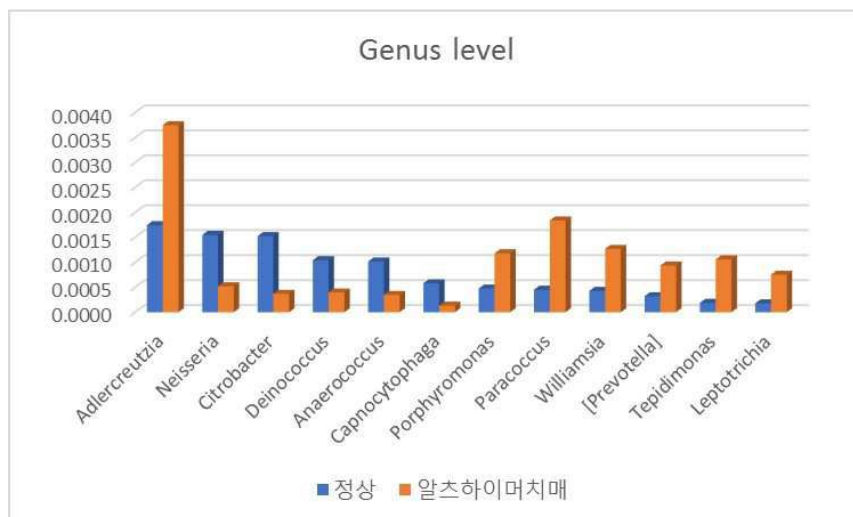
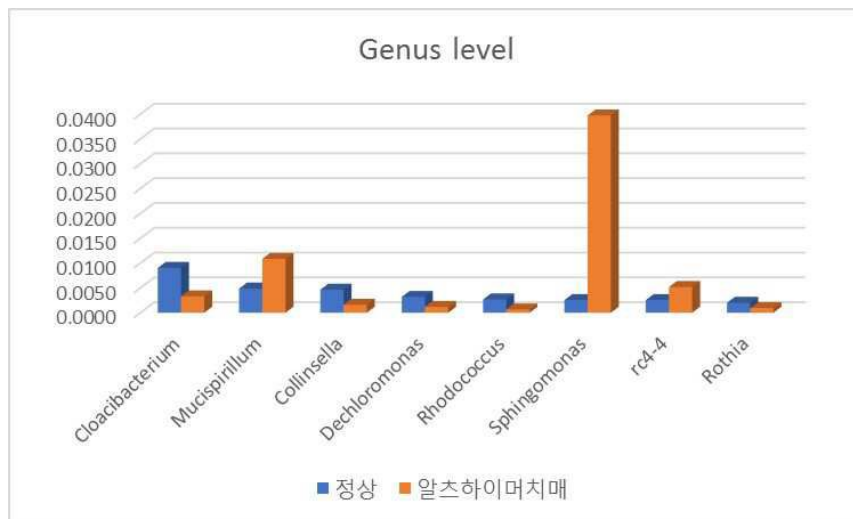
도면4



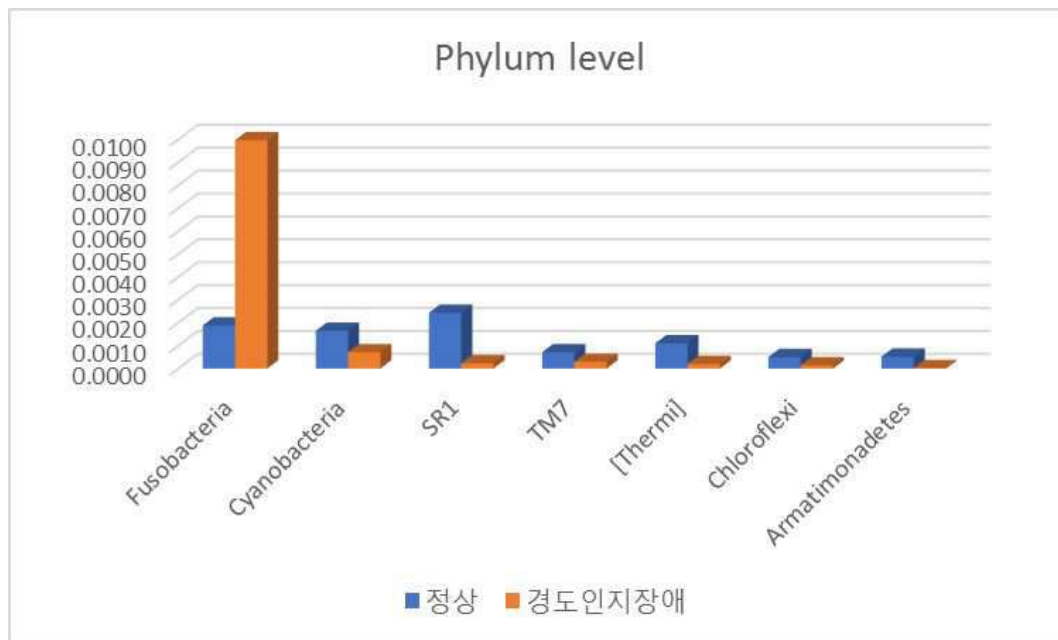
도면5



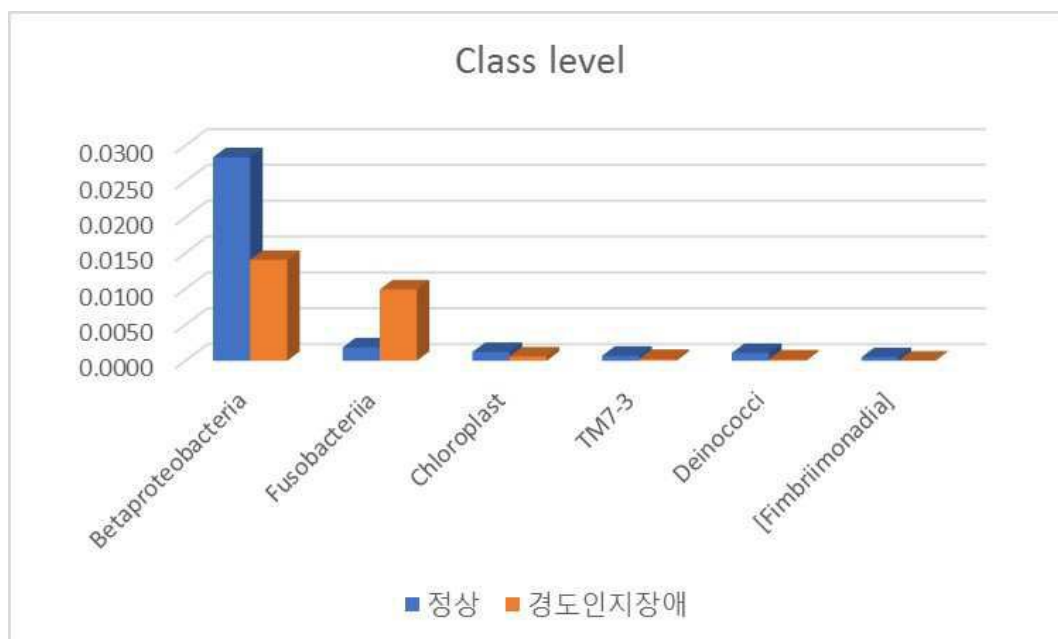
도면6



도면7



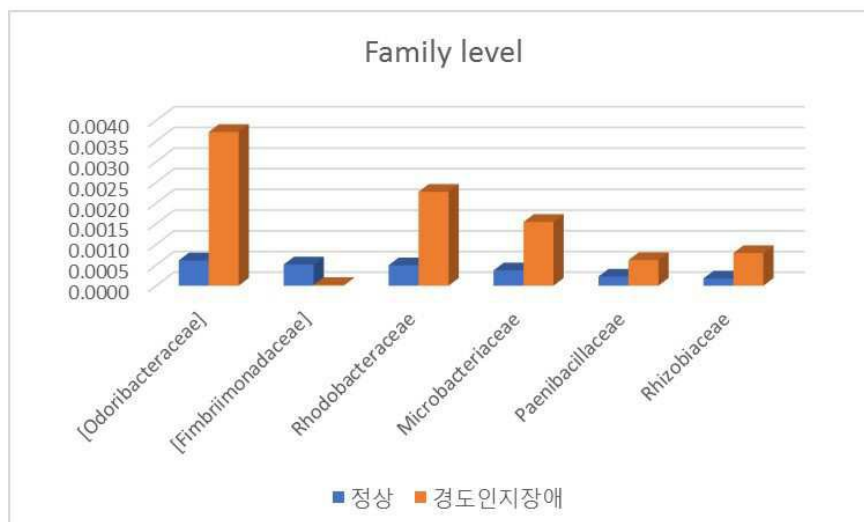
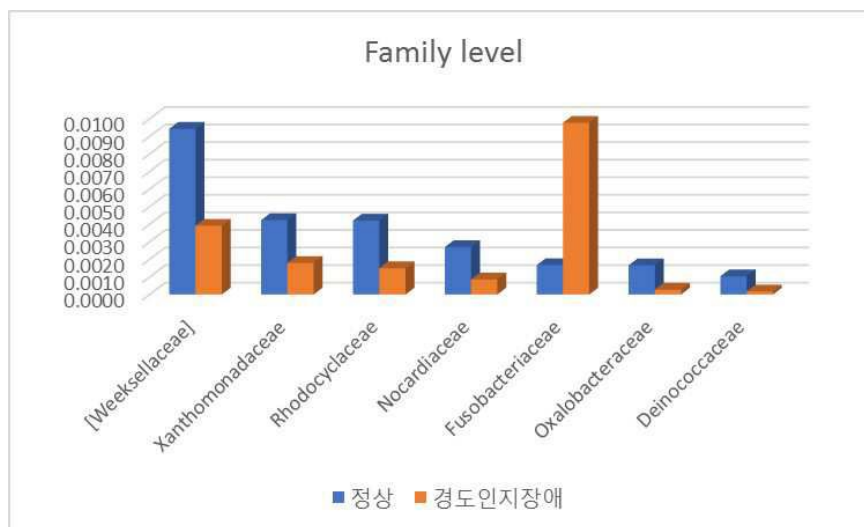
도면8



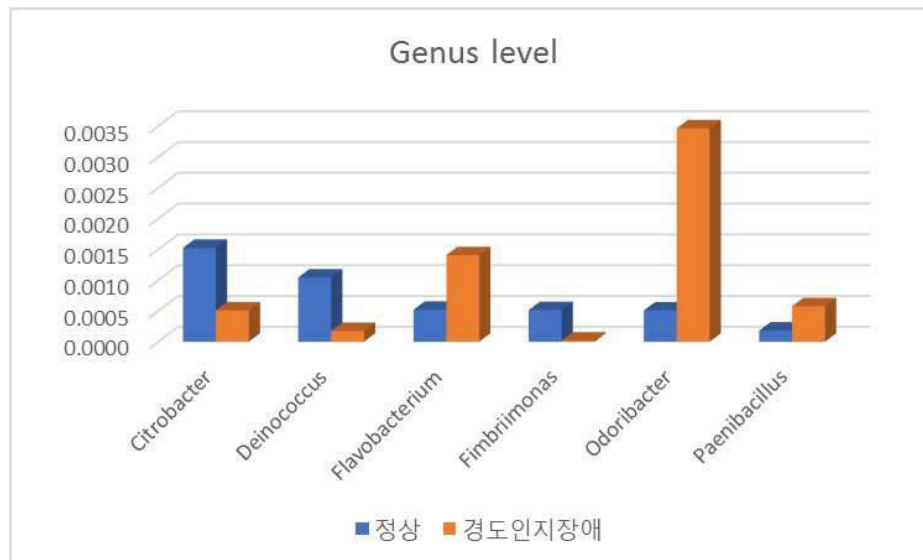
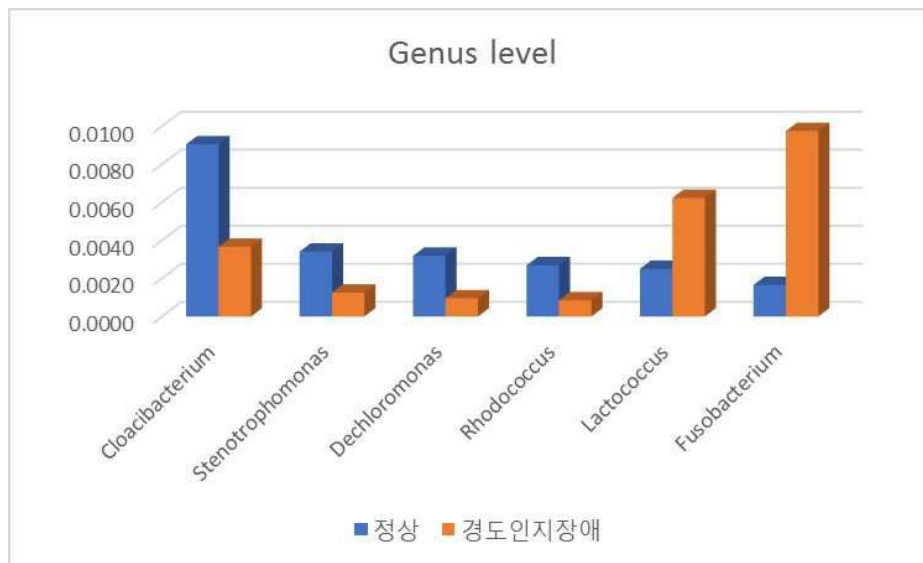
도면9



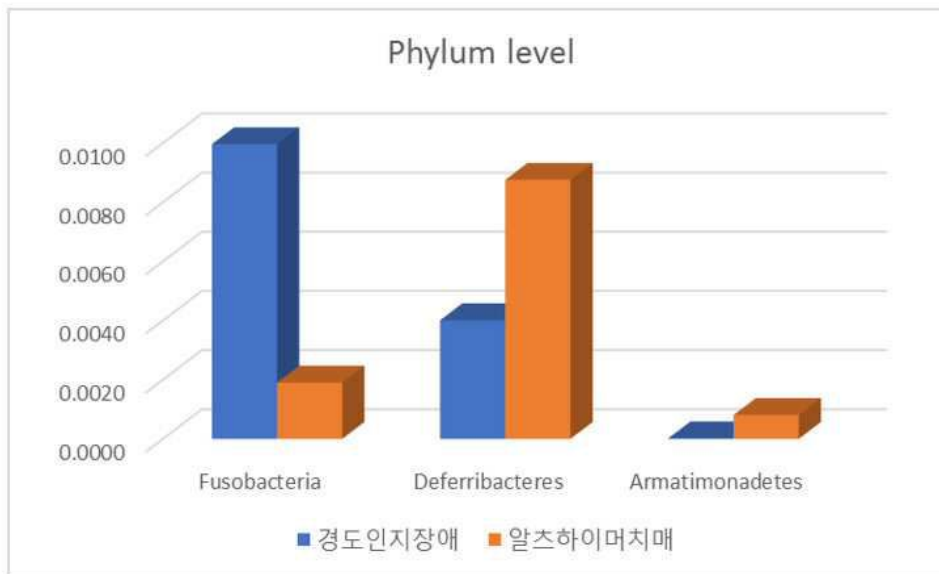
도면10



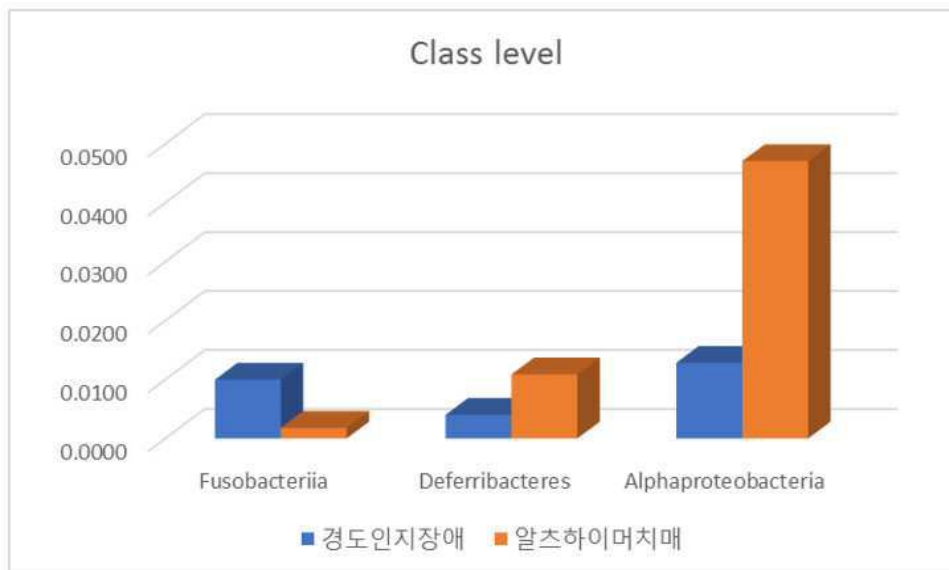
도면11



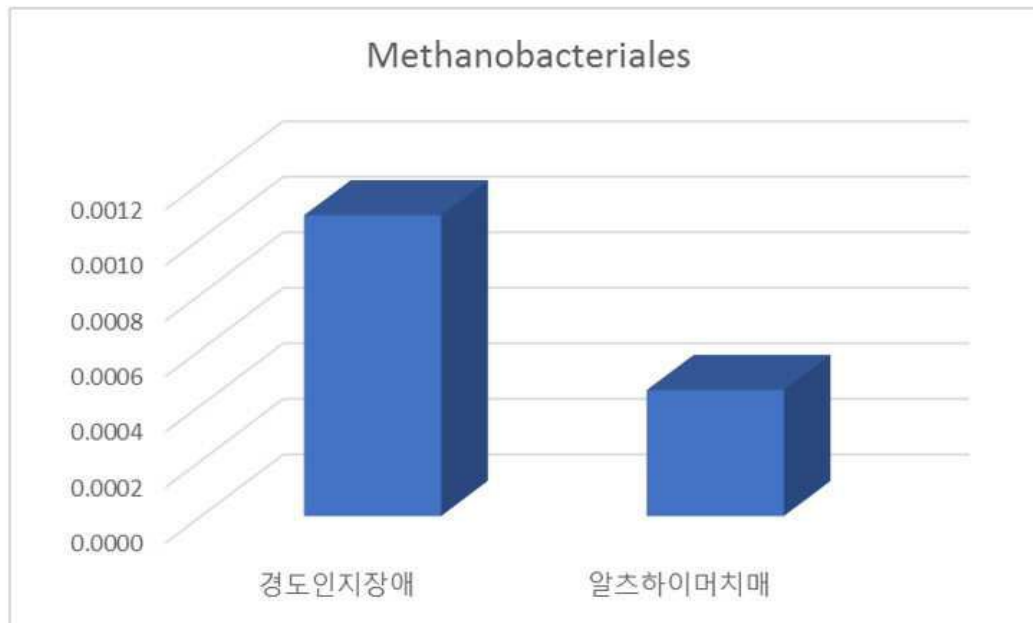
도면12



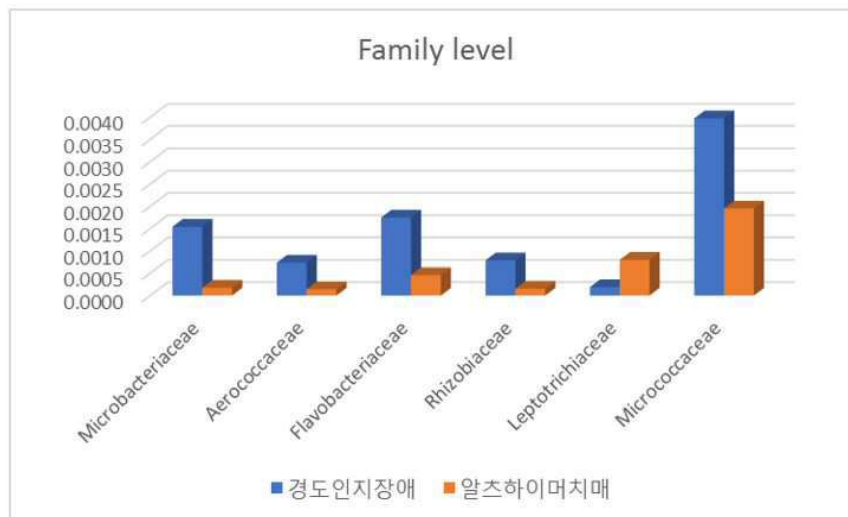
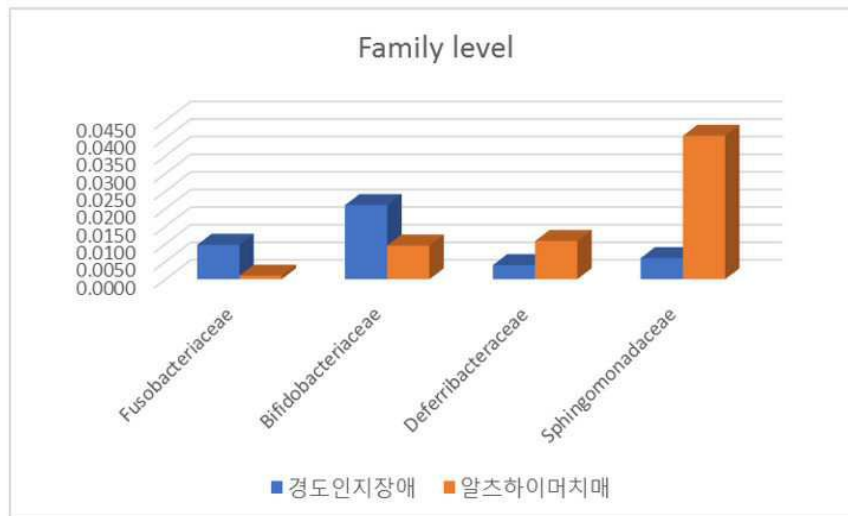
도면13



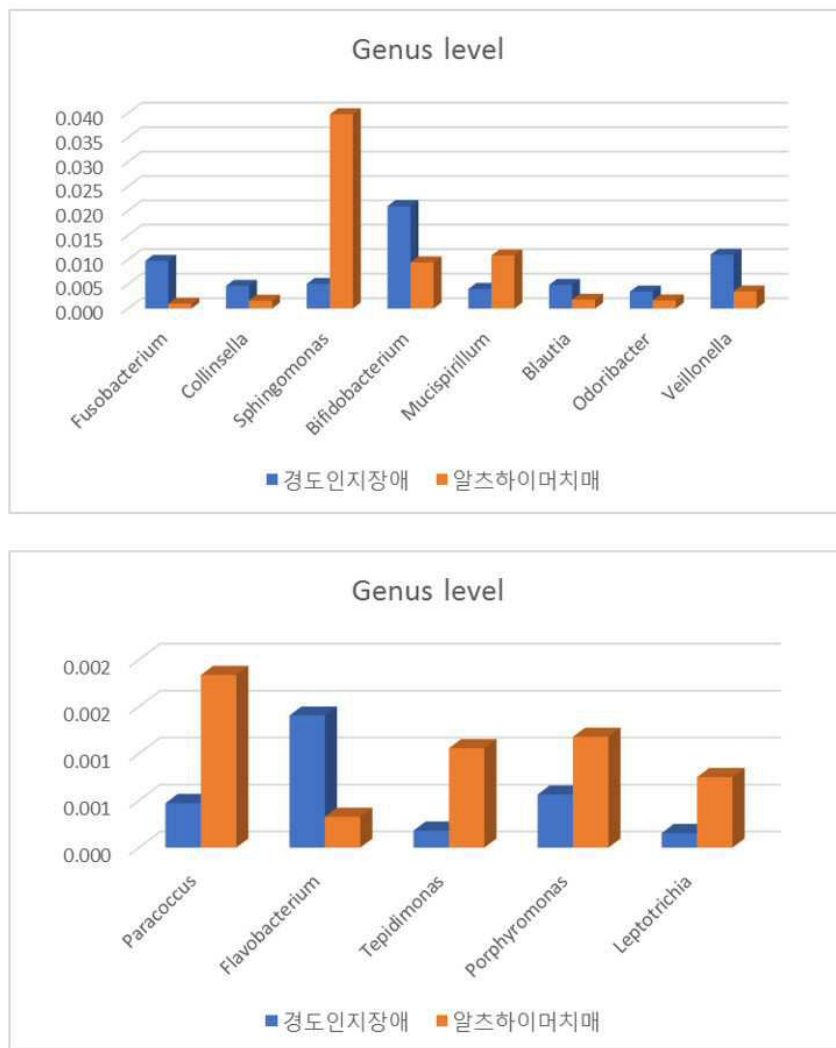
도면14



도면15



도면16



서열 목록

- <110> MD Healthcare Inc.
Ewha University - Industry Collaboration Foundation
- <120> Method for diagnosis of Alzheimer dementia using analysis of
bacteria metagenome
- <130> MP18-103
- <150> KR 10-2017-0133372
- <151> 2017-10-13
- <160> 2
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 50
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence

<220><223> Forward primer for 16s rDNA

<400> 1

tcgtcggcag cgtcagatgt gtataagaga cagcctacgg gnggcwgcag

50

<210> 2

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Reverse primer for 16s rDNA

<400> 2

gtctcgtggg ctcggagatg tgtataagag acaggactac hvvggtatct aatcc

55