(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0053302
(43) 공개일자 2010년05월20일

(51) Int. Cl.
C12Q 1/68 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-0112356
(22) 출원일자 2008년11월12일
심사청구일자 2008년11월12일

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산 남구 무거2동 산29
(72) 발명자
고정민
서울특별시 송파구 오륜동 올림픽선수촌아파트 312동 1701호
김기수
서울특별시 강남구 개포동 현대2차아파트 208동 804호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태백

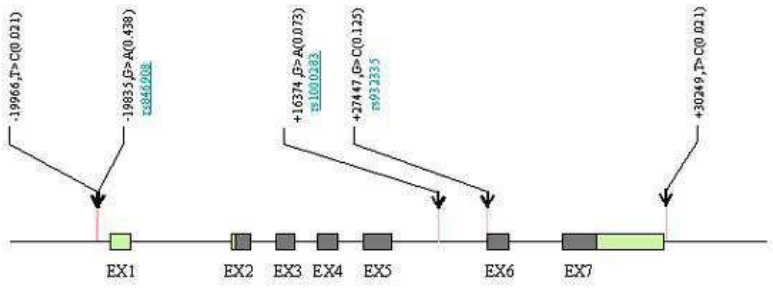
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 ＨＳＤ１１Ｂ１ 다형성 마커

(57) 요 약

본 발명은 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 *HSD11B1* 다형성 마커에 관한 것으로, 보다 상세하게는 상기 *HSD11B1* 다형성 마커를 이용하여 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험을 예측하거나 진단할 수 있을 뿐 아니라, 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 키트를 개발할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

김형래

서울특별시 동작구 상도동 431 래미안 상도3차 아파트 321동 603호

이종영

경기도 고양시 일산서구 대화동 장성마을3단지아파트 304동 803호

박의균

대구광역시 수성구 만촌3동 만촌우방1차아파트 108동 801호

김신윤

대구광역시 남구 봉덕2동 효성아파트 205동 805호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	01-PJ3-PG6-01GN11-0002
부처명	보건복지부
연구사업명	보건의료기술연구개발사업
연구과제명	골다공증 후보 유전자군의 한국인 특이 SNP 발견 및 골다공증 관련 유전자 규명
주관기관	울산대학교 산학협력단
연구기간	2008년 04월 01일 ~ 2009년 03월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 *HSD11B1* 다형성 마커.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 마커는 *-19835G>A*, *+16374G>A*, *+27447G>C* 및 이들의 해플로타입에서 선택된 어느 하나의 다형성인 것을 특징으로 하는 *HSD11B1* 다형성 마커.

청구항 3

시료로부터 추출한 DNA로부터 *HSD11B1* 유전자의 다형성 부위를 검출하는 단계; 및 상기 검출된 다형성 부위와 골다공증 표현형 변화 간의 연관성을 분석하는 단계를 포함하여 구성되는 것을 특징으로 하는 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단 방법.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 다형성 부위를 검출하는 단계는 DNA 시퀀싱 분석, 마이크로어레이에 의한 혼성화, 대립유전자 특이적 PCR(allele specific PCR), 다이나믹 대립유전자 혼성화, PCR-SSCP 분석, RFLP 분석, TaqMan 분석 또는 DNA칩 분석에서 선택된 어느 하나의 분석법을 이용하는 것을 특징으로 하는 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단 방법.

청구항 5

제 3항에 있어서, 상기 다형성은 *-19835G>A*, *+16374G>A*, *+27447G>C* 및 이들의 해플로타입에서 선택된 어느 하나의 다형성인 것을 특징으로 하는 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단 방법.

청구항 6

HSD11B1 유전자의 다형성 부위를 증폭시킬 수 있는 프라이머 세트, 분자량 표지자, 증폭효소, 뉴클레오타이드 및 완충액을 포함하는 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 키트.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 *HSD11B1* 다형성 마커, 이를 이용한 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단 방법 및 이를 이용한 키트에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 골다공증은 낮은 골밀도(BMD) 및 증가된 골절 위험성을 특징으로 하는 보편적인 대사성 골질환이다. 복합적인 환경적 위험인자가 발병과 관련되지만, 유전인자 또한 관련되며 쌍둥이 및 가족 연구에 기초한 BMD에서의 변이의 약 50 내지 80%가 이에 해당하는 것으로 알려져 있다.

[0003] 당질코르티코이드(glucocorticoid)는 대사 및 항상성 과정을 포함한 폭넓은 생리적 기능을 조절하며, 스트레스 반응의 중요한 구성요소를 형성하나, 과도한 당질코르티코이드는 BMD 감소 및 골절 위험의 증가를 초래한다. 당질코르티코이드는 다양한 경로를 통해 뼈에 중추적인 영향을 나타낸다.

[0004] 가장 중요한 작용은 조골세포 아팝토시스를 증가시키고 인슐린 유사 성장인자-I를 감소시켜 뼈 형성을 직접 저해하는 것이다. 또한, 당질코르티코이드는 파골세포 분화 물질(RANKL)을 증가시키고, 파골세포 억제 인자(osteoprotegerin)를 감소시켜 골흡수를 자극하며, 소장에서의 칼슘 흡수를 억제하여 골다공증을 일으킨다.

[0005] 당질코르티코이드 활성은 11β-하이드록시스테로이드 디하이드로게네이즈(11β-HSD) 이소엔자임에 의해 전수용체 수준에서 조절된다. 상기 이소엔자임은 호르몬적으로 불활성 코티손(E)을 활성 코티솔(F)으로 전환시킨다.

[0006] 저친화성 니코틴아마이드 아데닌 디뉴클레오타이드 포스페이트(NADP)(H)-의존성 효소인 11β-HSD1은 조골세포 및 파골세포에 의해 발현되는 압도적인 옥소리덕테이즈(oxoreductase)로서 (E)를 (F)로 변환시킨다.

[0007] 흥미롭게도, 여러 역학 연구들은 내인성 당질코르티코이드가 정상보다 증가되어 있지 않은 환자에서도 뼈 생리에 관여할 수 있다고 보고하고 있다. 이는 당질코르티코이드의 전환이 건강한 남성 및 여성에서 BMD에 중요하게 관여할 수 있음을 시사한다.

[0008] *HSD11B1* 효소는 생체 연구에서 인간 조골세포에서 발현된다고 알려져 있고, 세포학적 연구에서 조골세포의 증식을 약화시키고 분화를 유발한다. 또한, *HDS11B1* 활성의 증가는 고령에서 발생하는 골소실과 관련되어 있다. 그러나, 정상 인간 뼈 생리에서 상기 효소의 활성이 미치는 작용은 아직 확인되지 않았다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0009] 상기 종래기술의 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명자는 *HSD11B1*의 유전적 변이의 통계적 분석을 수행하여 건강한 폐경후 여성에서 이들의 골다공증 및 골다공성 골절에 미치는 영향을 확인하여 본 발명을 완성한 것이다.

[0010] 따라서, 본 발명의 목적은 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 *HSD11B1* 다형성 마커, 이를 이용한 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단 방법 및 이를 이용한 키트를 제공하는 데에 있다.

과제 해결수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 *HSD11B1* 다형성 마커를 제공한다.

[0012] 본 발명자들은 서울아산병원을 내원한 건강한 폐경후 여성을 대상으로 나이, 체중, 신장, 폐경 기간을 조사한 후, 요추골 및 대퇴경부의 골밀도를 측정하여, 표 1과 같이 각 골밀도 수치가 기존의 연구 결과와 동일하게 나이, 체중, 신장, 폐경 기간과 유의한 상관관계를 나타냄을 관찰함으로써 본 연구의 대상자들이 골다공증 및 골다공성 골절을 연구하기에 적합한 대상군임을 확인하였다.

[0013] 이후 실험대상의 말초혈액 백혈구로부터 DNA를 추출하였으며, 상기 실험대상의 DNA 검체 외에 24명의 한국인 DNA 검체에서 엑손-인트론 경계 및 프로모터 부위(약 1.5kb)를 포함한 모든 *HSD11B1* 엑손 부위의 서열 분석을 통해 유전자 다형성을 조사하였다.

[0014] 그 결과, 도 1과 같이 프로모터 부위에 2개, 인트론5 부위에 2개, 3'-UTR 부위에 1개로, 총 5개의 SNP(single nucleotide polymorphism)를 동정하였고, 이 중 연관 불균형과 SNP의 빈도를 고려하여 *-19835G>A*, *+16374G>A* 및 *+27447G>C*의 3개 유전자 다형성을 선별하였고, 표 2와 같이 선별된 3개의 유전자 다형성의 유전자 빈도는 하디-와인버그 평형(Hardy-Weinberg equilibrium) 상태에 있었고, 표 3에 나타난 바와 같이 이들 다형성이 골다공증 및 골다공성 골절과 유의한 연관성이 있음을 확인하였다.

[0015] 특히, *-19835G>A* 유전자 다형성은 A 대립유전자를 가진 경우 G 대립유전자를 가진 경우보다 1.85배 증가된 골다공증 및 골다공성 골절의 위험성을 나타내었다. 또한, 도 2에 도시된 *HSD11B1*의 해플로타입 중 *Block1-ht1* 및 *Block1-ht2*도 역시 골다공증 및 골다공성 골절과 유의한 연관성을 나타내었다.

[0016] 또한, 본 발명은 시료로부터 추출한 DNA로부터 *HSD11B1* 유전자의 다형성 부위를 검출하는 단계; 및 상기 검출된 다형성 부위와 골다공증 표현형 변화 간의 연관성을 분석하는 단계를 포함하여 구성되는 것을 특징으로 하는 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단 방법을 제공한다.

[0017] 상기 다형성 부위를 검출하는 단계는 DNA 시퀀싱 분석, 마이크로어레이에 의한 혼성화, 대립유전자 특이적 PCR(allele specific PCR), 다이나믹 대립유전자 혼성화, PCR-SSCP 분석, RFLP 분석, TaqMan 분석 또는 DNA칩 분석에서 선택된 어느 하나의 분석법을 이용하여 수행될 수 있다.

[0018] 또한, 본 발명은 *HSD11B1* 유전자의 다형성 부위를 증폭시킬 수 있는 프라이머 세트, 분자량 표지자, 증폭효소, 뉴클레오타이드 및 완충액을 포함하는 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 키트를 제공한다.

[0019] 상기 키트는 *HSD11B1* 유전자의 다형성 부위인 -19835G>A, +16374G>A 및 +27447G>C를 증폭시킬 수 있는 프라이머쌍을 포함하고, 이를 이용한 PCR 산물을 수득하여 염기서열을 분석함으로써 *-19835G>A*, *+16374G>A*, *+27447G>C* 및 이들의 해플로타입을 포함한 다형성 부위의 서열을 확인하여 골다공증 및 골다공성 골절을 예측할 수 있다.

[0020] 상기 프라이머쌍은 상기 다형성 부위를 증폭할 수만 있다면 크기 및 주형에 결합하는 위치가 제한되지 않으며, 당업자라면 통상의 프라이머 선정용 소프트웨어를 이용하여 용이하게 프라이머 디자인이 가능하다.

효 과

[0021] 본 발명에 따른 *HSD11B1* 다형성 마커를 이용하면 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험을 예측하거나 진단할 수 있을 뿐 아니라, 골다공증 및 골다공성 골절의 발생 위험의 예측 및 진단용 키트를 개발할 수 있어 매우 유용하게 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0022] 이하, 하기 실시예를 통해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 다만, 이러한 실시예에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0023] **<실시예 1> 실험대상의 선정**

[0024] 실험대상은 서울아산병원에 내원한 729명의 건강한 폐경후 여성을 대상으로 하였다. 이때 폐경은 1년 이상 무월경이 지속된 경우로 혈청내 FSH(follicle stimulating hormone)의 농도가 30IU/L 이상이 된 경우로 정의하였다.

[0025] 실험대상 중 40세 이전에 폐경한 실험대상, 골대사에 영향을 미칠만한 약제를 6개월 이상 또는 12개월 이내에 투여받은 실험대상 및 골대사에 영향을 미칠만한 질환을 앓은 실험대상은 제외하였다. 실험은 서울아산병원의 임상시험심사위원회의 승인을 받았으며, 각 대상자에게 서명동의서를 받았다.

[0026] **<실시예 2> 골밀도 측정**

[0027] 골밀도(g/cm^2)는 실험대상 중 476명의 여성에서는 이중에너지 X-선 흡수계측기(Lunar, Expert XL, Madison, WIS)를 이용하여 요추골(L2-L4)과 대퇴골 목부위에서 측정하였다. 나머지 253명의 여성에서는 호로직 장치(Hologic, QDR 4500-A, Waltham, MA)를 이용하여 측정하였다. 상기 장치들의 변이계수는 요추골에서 각각 0.82% 및 0.85%, 대퇴골 목부위에서 각각 1.12% 및 1.20%이었다.

[0028] T-스코어를 사용하여 세계보건기구(WHO) 정의(최저 T-스코어 ≤ -2.5 SD)에 따라 각 부위에서 골감소증 및 골다공증을 진단하였다.

표 1

[0029]

임상적 양상		요추골 BMD (g/cm^2)			대퇴골 목부위 BMD (g/cm^2)		
변수	평균±표준편차	회귀계수	표준오차	P값	회귀계수	표준오차	P값
나이(년)	58.69(±7.5)	-0.004	0.002	0.018	-0.002	0.001	0.077
체중(kg)	56.24(±7.1)	0.006	0.001	<.0001	0.004	0.001	<.0001
신장(cm)	155.04(±5.3)	0.001	0.001	0.103	0.001	0.001	0.560
폐경후기간(년)	9.44(±7.8)	-0.005	0.002	0.005	-0.004	0.001	0.006
		최종 조정된 R^2 = 0.225			최종 조정된 R^2 = 0.198		

[0030] 그 결과, 표 1과 같이 나이 및 폐경후기간은 요추골 및 대퇴골 목부위 모두에서 BMD과 부정적인 관련성을 나타낸 반면, 체중 및 신장은 두 부위 모두에서 긍정적인 관련성을 나타내었다.

[0031] **<실시예 3> 유전자 다형성 분석**

[0032] SNP 분석을 위하여, 본 발명자는 엑손-인트론 경계 및 프로모터 부위(약 1.5kb)를 포함한 모든 *HSD11B1* 엑손 부위에서 DNA 서열 분석기(ABI PRISM 3730 DNA analyzer, Applied Biosystems, USA)를 이용하여 실험대상 및 실험대상 이외의 24명의 한국인 DNA 검체에서 서열분석을 통해 유전자 다형성을 조사하였다.

[0033] DNA 증폭 및 서열분석을 위한 18개의 프라이머 세트는 GenBank 데이터 베이스(*HSD11B1* mRNA: NM_181755.1,

contig: NT_021877.18)를 기초로 하여 제작하였다(서열목록 참조).

[0034] PCR 후 수득한 산물의 서열변이는 각각의 크로마토그램을 통해 확인하였다. Phred/Phrap/Consed package 및 Polyphred를 이용한 다중서열정렬에 의해 SNP를 분석하였다.

[0035] 또한, 분석된 5개의 SNP의 유전자형 빈도를 Illumina Golden Gate 유전자형 시스템(Biotechniques Suppl: 56-8, 60-1. 2002)을 이용하여 수행하였고, 데이터 유지를 위한 유전자형 품질 스코어를 0.25로 고정시켰다.

[0036] 폐경 여성의 *HSD11B1* 다형성 빈도를 하기 표 2에 나타내었고, 모든 유전자형 분포는 하디-와인버그 평형상에 있었다. 이들 중 *HSD11B1* -19966T>C 및 +30249T>C SNP는 실험대상에서 극히 드물었기 때문에 추가 분석을 수행하지 않았다.

표 2

[0037]

유전자좌	위치	다형성부위	유전자타입				빈도	이형접합율	HWE*
-19966T>C	프로모터	BD0031	T 726	CT 2	C 0	N 728	0.001	0.027	0.970
-19835G>A	프로모터	rs846908	G 326	AG 316	A 87	N 729	0.336	0.434	0.439
+16374G>A	인트론5	rs1000283	C 579	CT 139	T 10	N 728	0.109	0.191	0.615
+27447G>C	인트론5	rs932335	G 525	CG 183	C 17	N 725	0.150	0.252	0.824
+30249T>C	3'-UTR	BD0032	T 727	CT 1	C 0	N 728	0.001	0.001	0.985

[0038] *하디-와인버그 평형으로부터의 편차의 P값

[0039] **<실시예 4> *HSD11B1* 유전자 다형성과 골다공증 간의 상관성 조사**

[0040] 상기 SNP 및 해플로타입(분포 빈도가 각각 84.8% 및 10.9%인 ht-1 및 ht-2)의 골다공증 위험에 관한 연관성을 검토하였다. 하기 표 3은 폐경후 여성에서 골다공증에 대한 *HSD11B1* 다형성의 호로직 분석을 수행한 결과이다.

[0041] 프로모터 부위에 있는 *-19835G>A*의 마이너 대립유전자는 열성 모델 및 부가 모델에서 골다공증 위험에 높은 감수성으로 관련되어 있었다. 그러나, 인트론5에 있는 *+16374G>A* 및 *+27447G>C*의 마이너 대립유전자는 부가 모델 및 우성 모델에서 보호 효과를 나타내었다. 또한, *Block1-ht1(GG)* 해플로타입은 골다공증 위험도와 유의한 관련성을 나타내었다.

[0042] 특히, *-19835G>A*, *+16374G>A* 및 *+27447G>C*는 요추골 골다공증의 위험도에 보다 유의하게 관련되었고, *Block1-ht1(GG)*은 그다음으로 요추골 골다공증의 위험도와 관련되었다.

표 3

[0043]

유전자좌	실험대상 (n=355)	대조군 (n=374)	부가 모델		우성 모델		열성 모델	
			OR(95% CI)	P	OR(95% CI)	P	OR(95% CI)	P
-19835G>A	0.368	0.306	1.32 (1.04-1.68)	0.024	1.29 (0.94-1.79)	0.119	1.85 (1.10-3.10)	0.020
+16374G>A	0.094	0.123	0.70 (0.48-1.00)	0.052	0.71 (0.47-1.07)	0.099	0.29 (0.07-1.25)	0.097
+27447G>C	0.131	0.168	0.68 (0.49-0.94)	0.020	0.65 (0.45-0.94)	0.023	0.55 (0.18-1.62)	0.277
HSD11B1_ht1	0.869	0.828	1.53 (1.11-2.12)	0.010	1.82 (0.61-5.41)	0.282	1.61 (1.12-2.32)	0.010
HSB11B1_ht1c	0.131	0.172	0.65 (0.47-0.90)	0.010	0.62 (0.43-0.89)	0.010	0.55 (0.19-1.63)	0.282
HSD11B1_ht2	0.094	0.123	0.7 (0.49-1.01)	0.056	0.72 (0.48-1.07)	0.106	0.29 (0.07-1.26)	0.099

[0044] 또한, 하기 표 4 및 표 5는 각각 폐경후 여성에서 *HSD11B1* 다형성에 대한 요추골 및 대퇴경부의 BMD의 회귀분석 결과를 나타내었다. 이때, C/C는 공동 대립유전자에 관한 동형접합체, C/R은 희귀 대립유전자에 관한 이형접합체, R/R은 희귀 대립유전자에 관한 동형접합체를 의미한다.

[0045] 하기 표 4와 같이, *HSD11B1 +16374G>A* 및 *+27447G>C*는 요추골에서 BMD와 주목할 만하게 관련되었다.

표 4

[0046]

유전자좌	C/C	C/R	R/R	Pa	Pb	Pc
-19835G>A	0.85±0.17	0.85±0.17	0.81±0.17	0.330	0.696	0.149
+16374G>A	0.84±0.17	0.84±0.17	0.95±0.28	0.040	0.117	0.016
+27447G>C	0.84±0.17	0.86±0.17	0.94±0.26	0.013	0.973	0.002
HSD11B1_ht1	0.94±0.26	0.86±0.17	0.84±0.17	0.014	0.002	0.079
HSB11B1_ht1c	0.84±0.17	0.86±0.17	0.94±0.26	0.014	0.079	0.002
HSD11B1_ht2	0.84±0.16	0.86±0.18	0.95±0.28	0.040	0.116	0.016

[0047] 또한, 하기 표 5와 같이, *HSD11B1 +16374G>A* 및 *+27447G>C*는 대퇴경부에서 BMD와 주목할 만하게 관련되었다. 특히, 상기 두 개의 SNP의 마이너 호모접합체 유전자형(RR)를 지닌 실험대상은 요추골 및 대퇴경부 모두에서 높은 BMD를 나타내었다.

표 5

[0048]

유전자좌	C/C	C/R	R/R	Pa	Pb	Pc
-19835G>A	0.7±0.13	0.69±0.13	0.67±0.13	0.471	0.476	0.680
+16374G>A	0.69±0.13	0.69±0.13	0.79±0.21	0.095	0.323	0.003
+27447G>C	0.69±0.13	0.69±0.13	0.76±0.19	0.077	0.297	0.004
HSD11B1_ht1	0.76±0.19	0.69±0.13	0.69±0.13	0.096	0.004	0.354
HSB11B1_ht1c	0.69±0.13	0.69±0.13	0.76±0.19	0.096	0.354	0.004
HSD11B1_ht2	0.69±0.13	0.69±0.13	0.79±0.21	0.094	0.322	0.003

[0049]

도면의 간단한 설명

[0050] 도 1은 염색체 1q32-q41(48.7kb) 상의 *HSD11B1*에서 확인된 다형성(참조게놈서열: NM_181755.1)을 나타낸 것이고,

[0051] 도 2는 *HSD11B1*의 해플로타입을 나타낸 것이고,

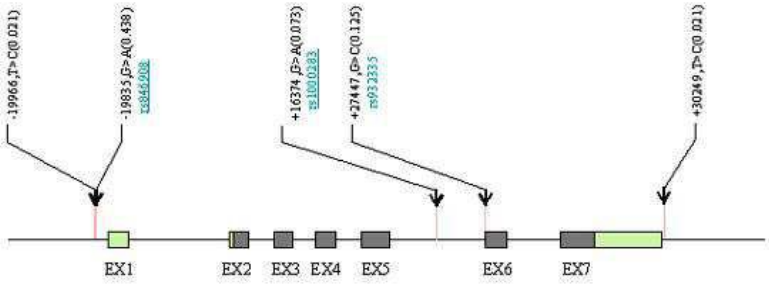
[0052] 도 3은 *HSD11B1* 다형성들 간의 유전체 연관(LD)을 나타낸 것이고,

[0053] 도 4는 요추골에서의 BMD에 대한 각 *HSD11B1* 다형성들의 효과를 나타낸 것이고,

[0054] 도 5는 대퇴경부에서의 BMD에 대한 각 *HSD11B1* 다형성들의 효과를 나타낸 것이다.

도면

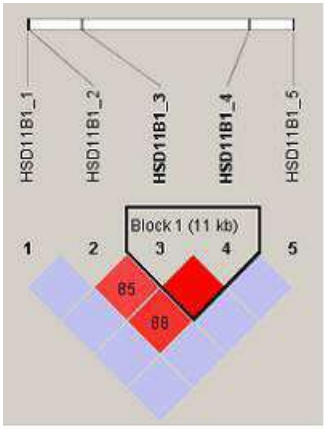
도면1



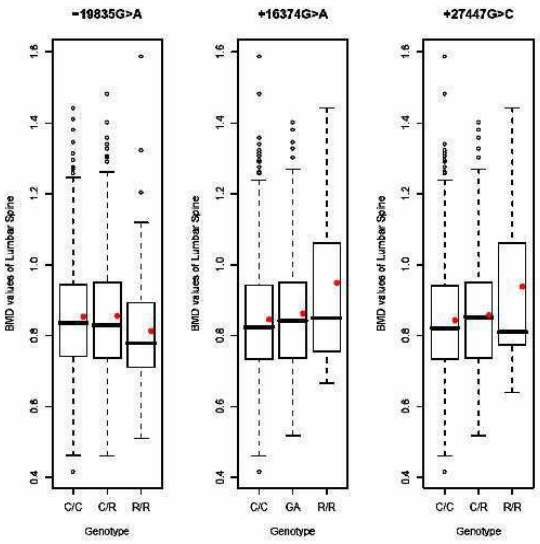
도면2

Hap	+16374 G>A	+27447 G>C	Freq.
ht1	G	G	0.848
ht2	A	C	0.109
ht3	G	C	0.043
ht4	A	G	0.001

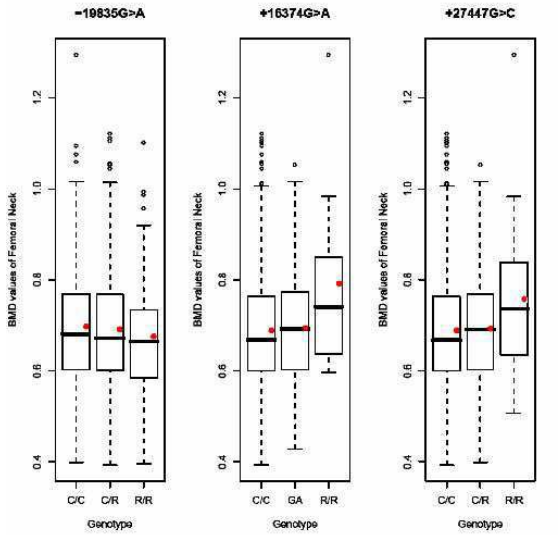
도면3



도면4



도면5



서 열 목 록

<110> UNIVERSITY OF ULSAN FOUNDATION FOR INDUSTRY COOPERATION

<120> Single nucleotide polymorphism marker of HSD11B1 allele for prediction and diagnosis of osteoporosis risk

<130> sp-2008-0062

<160> 18

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Forward Primer for HSD11B1 (1F)

<400> 1
tggacaagaa aaaccttgaa a 21

<210> 2
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Reverse Primer for HSD11B1 (1R)

<400> 2
gggactacag catgtcaaaa c 21

<210> 3
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Forward Primer for HSD11B1 (2F)

<400> 3
cccagcctct agccca 16

<210> 4
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Reverse Primer for HSD11B1 (2R)

<400> 4
tcagtactcc ccaaaggaca 20

<210> 5
<211> 15
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Forward Primer for HSD11B1 (3F)

<400> 5
tgcctcgagg gctcc 15

<210> 6
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Reverse Primer for HSD11B1 (3R)

<400> 6
tctggttcca tctgcatctt 20

<210> 7
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Forward Primer for HSD11B1 (4F)

<400> 7
ggctagcact gcctgagact 20

<210> 8
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Reverse Primer for HSD11B1 (4R)

<400> 8
tggttcagct aaaatgctgg 20

<210> 9
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Forward Primer for HSD11B1 (5F)

<400> 9
cccacagtga tttacggagt t 21

<210> 10
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Reverse Primer for HSD11B1 (5R)

<400> 10
tgcatgggta tgaggatatg t 21

<210> 11
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Forward Primer for HSD11B1 (6F)

<400> 11
ggcaacacac acacaaacat a 21

<210> 12
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Reverse Primer for HSD11B1 (6R)

<400> 12
acttctctgc atggaaactg a 21

<210> 13
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Forward Primer for HSD11B1 (7F)

<400> 13
gcagtataac ttccatgggg a 21

<210> 14
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Reverse Primer for HSD11B1 (7R)

<400> 14
gaggtcaggg agttcagca 19

<210> 15

<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Forward Primer for HSD11B1 (8F)

<400> 15
cctgacagct aagtggttga tg 22

<210> 16
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Reverse Primer for HSD11B1 (8R)

<400> 16
ggtgatttct tccactcagg aa 22

<210> 17
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Forward Primer for HSD11B1 (9F)

<400> 17
gcagccagca gttgtaaaat 20

<210> 18
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Reverse Primer for HSD11B1 (9R)

<400> 18
ccctgatcaa tatagggctt t 21