

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2022년 9월 29일 (29.09.2022)



(10) 국제공개번호

WO 2022/203371 A1

(51) 국제특허분류:

C12Q 1/6883 (2018.01)

G01N 33/68 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2022/004015

(22) 국제출원일:

2022년 3월 23일 (23.03.2022)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2021-0038442 2021년 3월 25일 (25.03.2021) KR

(71) 출원인: 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION)

[KR/KR]; 02841 서울특별시 성북구 안암로 145, Seoul (KR). 주식회사 베르티스 (BERTIS INC.) [KR/KR]; 13605 경기도 성남시 분당구 돌마로 172, 4층 403호, Gyeonggi-do (KR).

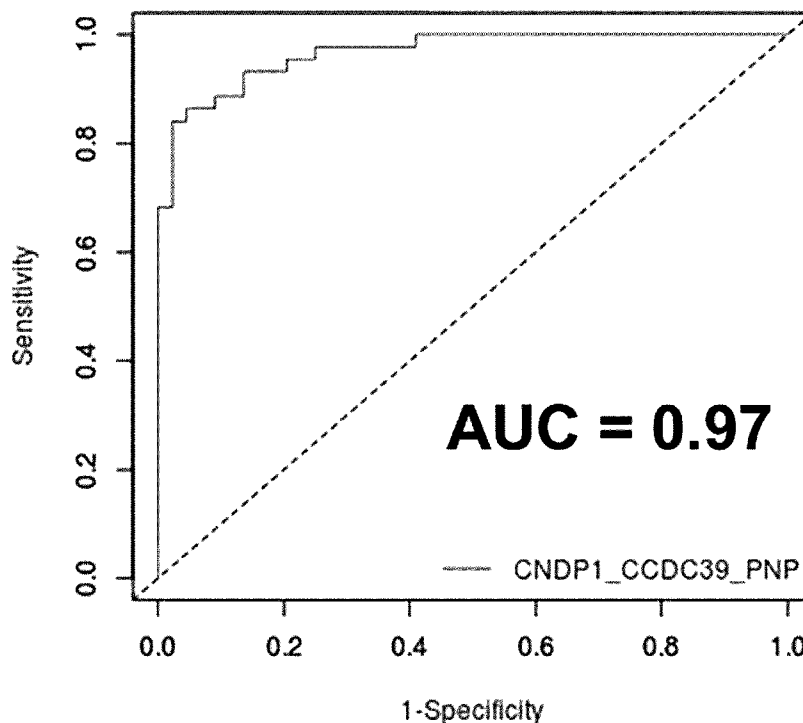
(72) 발명자: 함병주 (HAM, Byung-Joo); 04632 서울특별시 중구 소공로 35, 102동 1503호, Seoul (KR). 한성희 (HAN, Sung Hee); 02841 서울특별시 성북구 고려대로 73, Seoul (KR). 한승만 (HAN, Seung Man); 06088 서울특별시 강남구 선릉로130길 20, 107동 704호, Seoul (KR). 강운범 (KANG, Un-Beom); 16840 경기도 용인시 수지구 풍덕천로 75, 705동 2004호, Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 특허법인 무한 (MUHANN PATENT & LAW FIRM); 06144 서울특별시 강남구 언주로 560, 8층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP,

(54) Title: BIOMARKER COMPOSITION FOR DIAGNOSING DEPRESSION AND USE THEREOF

(54) 발명의 명칭: 우울증 진단용 바이오마커 조성물 및 이의 용도



(57) Abstract: The present invention relates to a biomarker composition for diagnosing depression, the composition containing at least one protein selected from the group consisting of CNDP1, CCDC39, and PNP, or a gene encoding same. The present invention can provide a composition and a kit for diagnosis of depression, each comprising the biomarker composition, and a method for providing information about diagnosis of depression by using same. By using the biomarker composition of the present invention, depression can be accurately diagnosed early.

(57) 요약서: 본 발명은 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는, 우울증 진단용 바이오마커 조성물 등에 관한 것으로서, 본 발명은 상기 바이오마커 조성물을 포함한 우울증 진단용 조성물 및 키트와, 이를 이용한 우울증을 진단하기 위한 정보제공방법 등을 제공할 수 있으며, 본 발명의 바이오마커 조성물을 이용하여 우울증을 조기에 정확하게 진단할 수 있다.

[다음 쪽 계속]



WO 2022/203371 A1

KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 우울증 진단용 바이오마커 조성물 및 이의 용도 기술분야

- [1] 본 발명은 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는, 우울증 진단용 바이오마커 조성물 등에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 우울증은 의욕 저하와 우울감을 주요 증상으로 하여 다양한 인지 및 정신 신체적 증상을 일으켜 일상 기능의 저하를 가져오는 질환이다. 주요 증상으로는 우울감, 무기력감, 불안, 흥미의 저하, 식욕장애, 수면장애, 자살 충동, 무가치감, 부적절한 죄책감, 집중력, 및 기억력 감퇴 등이 있다. 또한, 우울증은 비만, 심혈관질환, 퇴행성 신경질환 등 많은 합병증을 수반하는 매우 복잡한 장애로서, 근본적인 발병 메커니즘은 여전히 불분명하다.
- [3] 우울증의 유병률은 현재 날로 증가하는 추세이며, 세계보건기구(WHO)는 21세기에 인류를 괴롭히는 10대 질병 중 하나로 우울증을 언급했으며, 2020년 세계 5대 부담 질병에 우울증을 포함시켰다. 전세계적으로 1억명 이상의 환자들이 우울증을 앓고 있다는 보고가 있으며, 우울증은 막대한 사회경제적 비용을 초래하는 정신질환으로서, 특히 장애와 자살을 유발하는 주요 원인인바 향후에는 암, 치매 등보다도 높은 사회경제적 비용을 초래하는 질환이 될 것으로 예측된다.
- [4] 우리나라의 자살률은 2014년도 기준인구 10만명당 27.3명으로 OECD 회원 국가의 평균 자살률의 약 2.5배로 압도적인 1위이며, 자살 증가율 역시 최고 수준으로, 자살의 주요한 원인인 우울증에 대한 진단 및 치료가 중요한 실정이다. 그러나, 이러한 현실에도 불구하고 우울증과 관련된 정신건강검진은 객관적인 진단 기술의 부재로 체계화되지 못하고 있다.
- [5] 기존의 우울증 진단은 임상가에 의한 정신과적 면담, 병력 청취 및 정신상태검사(mental status examination)에 의존하였으며, 이로 인해 임상가 간의 우울증 진단이 상이하거나 진단의 신뢰성 및 타당성에 의구심을 가지는 경우가 많았다.
- [6] 이에, 본 발명자들은 객관적이고 정확성이 높은 우울증 진단방법에 대해 연구하여 우울증 환자에서 정상 대조군과 비교하여 발현량에 유의미한 차이가 있는 단백질 바이오마커를 선별함으로써 본 발명을 완성하였다.
- ### 발명의 상세한 설명
- ### 기술적 과제
- [7] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를

포함하는, 우울증 진단용 바이오마커 조성물을 제공하는 것이다.

- [8] 또한, 본 발명의 다른 목적은 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 우울증 진단용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 키트를 제공하는 것이다.
- [9] 또한, 본 발명의 다른 목적은 우울증 진단을 위한 정보제공방법을 제공하는 것이다.
- [10] 또한, 본 발명의 다른 목적은 우울증 예방 또는 치료용 약제의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.
- [11] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결 수단

- [12] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는, 우울증 진단용 바이오마커 조성물을 제공하며, 바람직하게는 CNDP1, CCDC39, 및 PNP를 모두 포함하는 것일 수 있다.
- [13] 본 발명의 일 구현 예로서, 상기 바이오마커 조성물은 A2M, ALAD, ANXA1, ANXA3, APOA1, BLVRB, BPGM, C4BPA, C4BPB, CA1, CA2, CALM1, CAST, CAT, DDT, HBA1, HBB, HBD, HSPA1B, KNG1, KRT7, LRG1, MAN2A2, MDH1, MMRN2, SIRT3, NME2, PGK1, PRDX1, PRDX2, PRDX6, PRODH2, RAB6B, RAD23A, S100A4, S100A8, S100A9, SELENBP1, SNCA, TF, TPI1, VCP, VIM 및 FN1으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [14]
- [15] 또한, 본 발명은 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 우울증 진단용 조성물을 제공한다.
- [16] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질 또는 이의 단편에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 압타머(apramer)로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있다.
- [17] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있다.
- [18] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 조성물은 A2M, ALAD, ANXA1, ANXA3,

APOA1, BLVRB, BPGM, C4BPA, C4BPB, CA1, CA2, CALM1, CAST, CAT, DDT, HBA1, HBB, HBD, HSPA1B, KNG1, KRT7, LRG1, MAN2A2, MDH1, MMRN2, SIRT3, NME2, PGK1, PRDX1, PRDX2, PRDX6, PRODH2, RAB6B, RAD23A, S100A4, S100A8, S100A9, SELENBP1, SNCA, TF, TPI1, VCP, VIM 및 FN1으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질을 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정할 수 있는 제제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[19]

[20] 또한, 본 발명은 상기 우울증 진단용 조성물을 포함하는 우울증 진단용 키트를 제공한다.

[21] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 키트는 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질을 펩티드화하기 위한 시약 및 단백질 가수분해 효소를 포함할 수 있다.

[22] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 키트는 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질을 암호화하는 유전자 각각에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트, 및 핵산 증폭용 시약을 포함할 수 있다.

[23]

[24] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 우울증 진단방법 또는 진단을 위한 정보제공방법 또는 진단방법을 제공한다.

[25] (a) 우울증이 의심되는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

[26] (b) 상기 측정된 발현 수준을 정상 대조군의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준과 비교하는 단계.

[27] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 생물학적 시료는 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 점액, 타액, 눈물, 객담, 척수액, 흉수, 유두 흡인물, 림프액, 기도액, 장액, 비노생식관액, 모유, 림프계 체액, 정액, 뇌척수액, 기관계내 체액, 복수, 남성 종양 체액, 양수액 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있다.

[28] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 발현 수준을 측정하는 단계는 전기영동, 면역블로팅, 효소 결합 면역흡착 분석법(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA), 면역 조직 화학 염색, 단백질 칩, 면역침강, 마이크로어레이, 노던 블로팅, 폴리머라제 증폭 반응(polymerase chain reaction: PCR), 질량분석(mass spectrometry analysis), 다중반응검지법(multiple reaction monitoring: MRM) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상으로 수행되는 것일 수 있다.

[29] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 (b)단계 이후, 상기 CNDP1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자에서 측정된 발현 수준이 정상 대조군에서 측정된 발현 수준에 비해 증가한 경우, 상기 개체는 우울증에 걸리거나 우울증에 걸릴 확률이

높은 것으로 결정하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다.

- [30] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 (b)단계 이후, 상기 CCDC39 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자에서 측정된 발현 수준이 정상 대조군에서 측정된 발현 수준에 비해 감소한 경우, 상기 개체는 우울증에 걸리거나 우울증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다.

- [31] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 (b)단계 이후, 상기 PNP 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자에서 측정된 발현 수준이 정상 대조군에서 측정된 발현 수준에 비해 감소한 경우, 상기 개체는 우울증에 걸리거나 우울증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다.

- [32] 또한, 본 발명은 우울증 진단용 약제의 제조를 위한 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 용도를 제공한다.

[33]

- [34] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 우울증 예방 또는 치료용 약제의 스크리닝 방법을 제공한다.

- [35] (a) 우울증이 의심되는 개체에 후보물질을 처리하고, CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

- [36] (b) 상기 CNDP1의 발현 수준을 감소시키거나, 상기 CCDC39의 발현 수준을 증가시키거나, 상기 PNP의 발현 수준을 증가시키는 경우, 상기 후보물질을 우울증 예방 또는 치료용 약제로 선정하는 단계.

[37]

- [38] 또한, 본 발명은 CNDP1의 발현을 감소시키는 제제를 포함하는, 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

- [39] 또한, 본 발명은 CCDC39의 발현을 증가시키는 제제를 포함하는, 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

- [40] 또한, 본 발명은 PNP의 발현을 증가시키는 제제를 포함하는, 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

- [41] 또한, 본 발명은 CNDP1의 발현을 감소시키는 제제, CCDC39의 발현을 증가시키는 제제, 및 PNP의 발현을 증가시키는 제제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 제제를 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 우울증 예방 또는 치료방법을 제공한다.

발명의 효과

- [42] 본 발명은 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는, 우울증 진단용 바이오마커 조성물 등에 관한 것으로서, 본 발명은 상기 바이오마커 조성물을 포함한 우울증 진단용 조성물 및 키트와, 이를 이용한 우울증을 진단하기 위한

정보제공방법 등을 제공할 수 있으며, 본 발명의 바이오마커 조성물을 이용하여 우울증을 조기에 정확하게 진단할 수 있다.

- [43] 본 발명의 효과는 이상에서 언급된 것들에 한정되지 않으며, 언급되지 아니한 다른 효과들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [44] 도 1은 우울증 환자군 44명과 정상 대조군 44명의 혈액 시료에 대해 주성분 분석을 수행한 결과를 나타낸 것이다.
- [45] 도 2는 우울증 환자군과 정상 대조군의 혈액 시료에서 Beta-Ala-His dipeptidase(CNDP1) 단백질의 발현량을 비교한 결과를 나타낸 것이다. 도 2a는 박스-플롯으로, 도 2b는 수용자 조직 특성(receiver operating characteristics, ROC) 곡선으로 도시한 것이다.
- [46] 도 3은 우울증 환자군과 정상 대조군의 혈액 시료에서 Coiled-coil domain-containing protein 39(CCDC39) 단백질의 발현량을 비교한 결과를 나타낸 것이다. 도 3a는 박스-플롯으로, 도 3b는 ROC 곡선으로 도시한 것이다.
- [47] 도 4는 우울증 환자군과 정상 대조군의 혈액 시료에서 Purine nucleoside phosphorylase(PNP) 단백질의 발현량을 비교한 결과를 나타낸 것이다. 도 4a는 박스-플롯으로, 도 4b는 ROC 곡선으로 도시한 것이다.
- [48] 도 5는 우울증 환자군과 정상 대조군의 혈액 시료에서 CNDP1, CCDC39, 및 PNP의 조합을 다표지 바이오마커로하여 ROC 곡선을 도시한 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [49] 본 발명자들은 우울증 진단용 바이오마커에 대해 예의 연구한 결과, 우울증 환자군에서 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질이 정상 대조군에 비해 발현량에서 큰 차이를 보이는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [50] 이에, 본 발명은 우울증 진단용 바이오마커로서 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 제공한다.
- [51] 또한, 본 발명은 우울증이 의심되는 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정할 수 있는 제제를 포함하여 우울증을 진단할 수 있는 조성물을 제공한다.
- [52] 본 발명에서, 용어 “진단”은 특정 질병 또는 질환에 대한 한 개체의 감수성(susceptibility)을 판정하는 것, 한 개체가 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 한 개체의 예후(prognosis)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therametrics)(예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 개체의 상태를 모니터링하는 것)을

포함한다.

[53] 본 발명에서, 상기 “발현 수준을 측정할 수 있는 제제”는 단백질 또는 유전자의 발현 수준을 확인함으로써 본 발명의 바이오마커 검출에 사용될 수 있는 분자를 의미한다. 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질 또는 이의 단편에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid), 압타머(aptamer) 등일 수 있으며, 상기 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브, 안티센스 뉴클레오티드 등일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.

[54] 본 발명에서 용어, “항체”는 면역학적으로 특정 항원과 반응성을 갖는 면역글로불린 분자를 의미하며, 단클론(monoclonal) 항체 및 다클론(polyclonal) 항체는 물론 키메라성 항체(예를 들면, 인간화 무린 항체) 및 이중결합항체(예를 들면, 양특이성 항체)와 같은 유전공학에 의해 생산된 형태를 포함한다. “압타머”는 특정 물질에 대해 높은 특이성과 친화도를 가지는 단일가닥 DNA(ssDNA) 또는 RNA를 의미하며, 비교적 단순한 방법으로 합성이 가능하고 세포, 단백질, 그리고 작은 유기 물질까지도 표적물질이 될 수 있으며, 특이성 및 안정성이 매우 우수하다. “리간드”는 유기물질, 단백질, 펩타이드 등을 포함하는 표적물질에 결합하는 물질로 하는 것을 특징으로 하나, 이에 제한되지 않는다.

[55] 본 발명에서 용어, “프라이머”는 짧은 자유 3말단 수산화기(free 3 hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 상보적인 표적서열(template)과 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고 표적서열 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. “프로브”는 유전자와 특이적 결합할 수 있는 짧은 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하는데 올리고뉴클레오티드 프로브, 단쇄 DNA 프로브, 이중쇄 DNA 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있고, 보다 용이하게 검출하기 위하여 라벨링될 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다. “안티센스 뉴클레오티드”는 상기 유전자에 상보적으로 결합하여 발현을 억제하는 염기서열로서 이에 제한되지는 않으나 antisenseRNA, antagonist miRNA를 포함한다.

[56]

[57] 또한, 본 발명은 상기 우울증 진단용 조성물을 포함하는 우울증 진단용 키트를 제공한다. 상기 키트는 예를 들어, 상기 단백질을 펩티드화하기 위한 키트일 수 있다. 펩티드화는 단백질의 질량분석 전처리를 위하여 알려진 방법이면 제한되지 않는다. 상기 키트는 단백질의 펩티드화에 요구되는 알려진 물질을 더 포함할 수 있다. 예를 들면, 키트는 디티오프레이톨(Dithiothreitol: DTT), 요오드아세트아마이드(Iodoacetamide: IAA), 트리스 (2-클로로에틸) 인산(Tris(2-carboxyethyl)phosphine: TCEP), 메틸메타노티오설포네이트(Methyl methanethiosulfonate: MMTS), 단백질 가수분해 효소(protease), 그의 활성화에 필요한 버퍼, 보조인자, 및/또는 기질을 더 포함할 수 있다. 상기 단백질 가수분해

효소는 트립신(trypsin), 엔도 프로테이나제 Lys-C(Endoproteinase Lys-C), 엔도 프로테이나제 Glu-C(Endoproteinase Glu-C) 및 이들의 조합일 수 있다.

- [58] 또한 상기 키트는 상기 유전자를 증폭하기 위한 키트일 수 있다. 증폭방법은 핵산증폭을 위하여 알려진 방법이면 제한되지 않으며, 열순환(thermal cycling)을 필요로 하는 것 또는 등온(isothermal)에서 수행되는 것일 수 있다. 상기 증폭방법은 폴리머라제 연쇄반응(polymerase chainreaction: PCR), 핵산서열-기초증폭(nucleic acid sequence-based amplification: NASBA), 리가제연쇄반응(ligase chain reaction: LCR), 가닥치환증폭(strand displacement amplification: SDA), 롤링 서클 증폭(rolling circle amplification: RCA) 등을 포함할 수 있다. 증폭 방법은 또한, 역전사(reverse transcription: RT) 또는 역전사-PCR을 포함할 수 있다. 또한, 상기 키트는 표적핵산의 증폭에 요구되는 알려진 물질을 더 포함할 수 있다. 예를 들면, 키트는 핵산폴리머라제, 그의 활성화에 필요한 버퍼, 보조인자, 및/또는 기질을 더 포함할 수 있다. 상기 핵산폴리머라제는 DNA 폴리머라제, RNA 폴리머라제, 역전사효소(reverse transcriptase) 및 이들의 조합일 수 있다.

[59]

- [60] 또한, 본 발명은 우울증이 의심되는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 우울증을 진단하기 위한 정보제공방법을 제공한다.

- [61] 본 발명에서, 용어 “생물학적 시료”는 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 점액, 타액, 눈물, 객담, 척수액, 흉수, 유두 흡인물, 림프액, 기도액, 장액, 비노생식관액, 모유, 림프계 체액, 정액, 뇌척수액, 기관계내 체액, 복수, 낭성 종양 체액, 양수액 및 이들의 조합 등일 수 있으며, 바람직하게는 혈액, 혈장, 또는 혈청일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다. “개체”는 쥐, 가축, 인간 등 포유류일 수 있으며, 바람직하게는 인간일 수 있다.

- [62] 상기 단백질 또는 유전자의 발현 수준 측정은 전기영동, 면역블로팅, 효소 결합 면역흡착 분석법(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA), 면역 조직 화학 염색, 단백질 칩, 면역침강, 마이크로어레이, 노던 블로팅, 폴리머라제 증폭 반응(polymerase chain reaction: PCR), 질량분석(mass spectrometry analysis), 다중반응검지법(multiple reaction monitoring: MRM) 및 이들의 조합 등으로 수행될 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[63]

- [64] 또한, 본 발명은 우울증이 의심되는 개체에 후보물질을 처리하고, CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 우울증 예방 또는 치료용 약제의 스크리닝 방법을 제공하며, 상기 후보물질이 CNDP1 발현 수준을 감소시키거나, CCDC39 발현 수준을 증가시키거나, PNP 발현 수준을

증가시키는 경우, 상기 후보물질을 우울증 예방 또는 치료용 약제로 판정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

- [65] 본 발명에서 CNDP1 발현 억제제는 CNDP1 발현량을 감소시키거나 분해를 촉진함으로써 세포 내 CNDP1의 수준을 감소시키거나 CNDP1과 특이적으로 결합하여 그 활성을 감소시키는 것일 수 있으며, siRNA, 압타머, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 화합물 등일 수 있다. 상기 화합물은 항산화제, 세포성장에 영향을 미치는 물질 및 세포신호전달물질 중 CNDP1의 발현을 억제시키는 화합물이라면 어느 것이든 사용할 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.

- [66] 본 발명에서 CCDC39 발현 활성화제 또는 PNP 발현 활성화제는 CCDC39 또는 PNP 발현량을 증가시키거나 분해를 억제함으로써 세포 내 CCDC39 또는 PNP의 수준을 증가시키거나 CCDC39 또는 PNP와 특이적으로 결합하여 그 활성을 증가시키는 것일 수 있다.

[67]

- [68] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

발명의 실시를 위한 형태

- [69] [실시예 1] 시료의 준비

- [70] 우울증 환자의 혈액에서 특이적으로 그 양이 변화하여 우울증의 진단에 유용하게 사용될 수 있는 바이오마커를 선별하기 위하여 우울증 환자 44명의 혈장과 정상 대조군 44명의 혈장 시료에서의 단백질 발현 정도를 확인하고, 통계 처리하여 바이오마커의 우울증 진단 효율을 확인하였다.

- [71] 사람의 혈장에는 소수의 단백질이 혈장 내 단백질 농도의 대부분을 차지하기 때문에, 소량으로 존재하는 대다수 단백질을 동정하기 위해 먼저 상대적으로 양이 많은 단백질을 제거하였다(Anderson NL. et al., Mol. Cell. Proteomics, 1: 845-867, 2002; Somiari RI. et al., J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 815: 215-225, 2005). 즉, 준비된 우울증 환자군과 정상 대조군의 혈장 시료로부터 상대적으로 양이 많은 단백질, 예컨대 알부민, 면역글로불린 A, 면역글로불린 G, 면역글로불린 M, 헤모글로빈(hemoglobin), 트랜스페린(transferrin), 안티트립신(antitrypsin), 피브리노겐 (fibrinogen), 알파-2-마크로글로불린 (alpha-2-macroglobulin), 알파 1-산 당단백질 (alpha 1-acid glycoprotein), 아포지단백 A1 (apolipoprotein A1), 아포지단백 A2 (apolipoprotein A2), 보체 구성성분 C3 (complement C3), 트란스타이레틴 (transthyretin) 등을

제거하기 위해 다중 친화 컬럼(multiple affinity column)을 이용하여 액체 크로마토그래피를 수행하였다. 상기 컬럼에 결합하지 않은 단백질 구획을 자외선 흡광도 280 nm로 추적하여 모으고 컬럼에 결합한 단백질들을 제거하였다.

- [72] 우울증 환자 44명의 혈장과 정상 대조군 44명의 혈장에서 상대적으로 양이 많은 14종의 단백질들이 대부분 제거된 단백질 구획을 모아 농축하여 100 μ g의 단백질 시료를 준비하였다. 준비된 각 시료에 10 mM의 Dithiothreitol을 처리하고 30분간 반응시켜, 단백질을 펩티드 절편으로 만드는 과정을 방해할 수 있는 단백질 내 아미노산 중 시스테인(cysteine)의 티올(thiol-) 잔기와의 결합을 끊어 주었다. 이렇게 끊어준 티올 결합은 25 mM의 Iodoacetamide를 처리한 후 빛이 들어오지 않는 곳에서 30분간 동안 반응시켜 티올 잔기와의 재결합을 막았다. 준비된 각 단백질 시료에 전체 단백질 100 μ g의 1/25에 해당하는 양인 4 μ g의 트립신(Promega, USA)을 첨가하고 37°C에서 16시간 동안 처리하여 다수의 펩티드 절편으로 분리하였다. 생성된 펩티드는 고체상 추출법(solid phase extraction)을 통해 탈염하여 질량분석을 위한 최종 시료로 준비하였다.

[73]

- [74] [실시예 2] 혈장 단백질체 정량분석을 통한 우울증 바이오마커 단백질 선별

- [75] 상기 준비된 펩티드 절편을 역상 수지 크로마토그래피를 통해 분리하고 Orbitrap Exploris 480 질량분석기(Thermo Scientific, USA)를 사용해 텐덤질량 스펙트럼을 획득하였다. 이때, 역상 수지 크로마토그래피는 150 μ m X 150 mm의 EASY-Spray C18 reverse phase HPLC column(Thermo Scientific)에 40분간 5%~40%의 아세토니트릴 농도 구배를 이용하여 실시하였다. 다수의 시료에 대한 빠르고 정확한 질량분석을 위해 데이터-비의존적 질량분석법(Data-Independent Acquisition, DIA)을 사용하였다. 상기 방법은 액체크로마토그래피 분리로부터 용출되어 나오는 펩티드를 따라가며 텐덤 스펙트럼을 얻어내는 기존의 질량분석 방식(Data Dependent Acquisition: DDA)이 아닌 고정된 질량 구간을 옮겨가며 다수의 텐덤스펙트럼을 얻어내는 질량분석 방식으로 다중처리 능력이 뛰어나 임상적 바이오마커 연구에 특히 적합하다(Nature Methods. 2014, 12, 35-35; Expert Review of Proteomics. 2014, 10, 551-566). 질량분석으로 얻은 펩티드군의 텐덤질량 분석 정보를 DIA-NN 컴퓨터 분석 프로그램으로 미리 생성해 놓은 혈액 단백질 스펙트럼 라이브러리와 비교 검색하여 단백질을 동정하고(Nat Methods. 2020, 17:41-44), 이로부터 우울증 환자군과 정상 대조군 시료 사이의 양적 차이를 분석하였다.

- [76] 전체 88개 혈액 시료에서 동정된 1455개 단백질 중 우울증 환자군과 정상 대조군 중 적어도 한쪽 군의 80% 이상의 시료(우울증 환자군 혹은 정상 대조군 시료중 35개 이상의 시료)에서 동정된 449개 단백질을 이용하여 우울증 환자군과 정상 대조군에서의 주성분 분석을 수행한 결과 제1주성분(34.6%)과 제2주성분(8.6%)이 두 군 간에 확실히 나뉘어 우울증 환자군과 정상 대조군이

효과적으로 구분됨을 알 수 있었다(도 1). 추가로 스튜던트 t 검정을 수행하여 우울증 환자군과 정상 대조군 사이에서 통계적으로 차이가 있는 단백질을 확인하였다. 그 결과, 하기 표 1과 같이 정상 대조군보다 우울증 환자군에서 특이적으로 발현량이 변화한 47개 단백질 리스트를 얻었다. 이 중 37개 단백질은 우울증 환자군의 혈액에서 발현량이 감소하였으며 10개 단백질은 우울증 환자군의 혈액에서 증가하였다.

[77] [표1]

수탁번호	유전자	단백질	비율 (우울증/정상)	p-값
P01023	A2M	Alpha-2-macroglobulin	3.55	<0.001
P13716	ALAD	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	0.34	<0.001
P04083	ANXA1	Annexin A1	0.41	<0.001
P12429	ANXA3	Annexin A3	0.39	<0.001
P02647	APOA1	Apolipoprotein A-I	0.33	<0.001
P30043	BLVRB	Flavin reductase (NADPH)	0.36	<0.001
P07738	BPGM	Bisphosphoglycerate mutase	0.33	<0.001
P04003	C4BPA	C4b-binding protein alpha chain	3.48	<0.001
P20851	C4BPB	C4b-binding protein beta chain	3.49	<0.001
P00915	CA1	Carbonic anhydrase 1	0.41	<0.001
P00918	CA2	Carbonic anhydrase 2	0.41	<0.001
P0DP23	CALM1	Calmodulin-1	0.46	<0.001
E7EQ12	CAST	Calpain inhibitor	0.42	<0.001
P04040	CAT	Catalase	0.40	<0.001
Q9UFE4	CCDC39	Coiled-coil domain-containing protein 39	0.42	<0.001
J3KRP0	CNDP1	Beta-Ala-His dipeptidase	2.42	<0.001
P30046	DDT	D-dopachrome decarboxylase	0.47	<0.001
P69905	HBA1	Hemoglobin subunit alpha	0.15	<0.001
P68871	HBB	Hemoglobin subunit beta	0.14	<0.001
P02042	HBD	Hemoglobin subunit delta	0.14	<0.001
P0DMV9	HSPA1B	Heat shock 70 kDa protein 1B	0.49	0.001
P01042-3	KNG1	Isoform 3 of Kininogen-1	0.41	<0.001
P08729	KRT7	Keratin, type II cytoskeletal 7	0.47	0.001
P02750	LRG1	Leucine-rich alpha-2-glycoprotein	0.25	<0.001
P49641	MAN2A2	Alpha-mannosidase 2x	2.50	0.011

P40925	MDH1	Malate dehydrogenase	0.38	<0.001
Q9H8L6	MMRN2	Multimerin-2	2.09	<0.001
E9PM52	SIRT3	NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-3, mitochondrial	2.50	0.003
Q32Q12	NME2	Nucleoside diphosphate kinase	0.39	<0.001
P00558	PGK1	Phosphoglycerate kinase 1	0.45	<0.001
P00491	PNP	Purine nucleoside phosphorylase	0.45	<0.001
Q06830	PRDX1	Peroxiredoxin-1	0.36	<0.001
P32119	PRDX2	Peroxiredoxin-2	0.42	<0.001
P30041	PRDX6	Peroxiredoxin-6	0.43	<0.001
Q9UF12	PRODH2	Hydroxyproline dehydrogenase	4.56	<0.001
Q9NRW1	RAB6B	Ras-related protein Rab-6B	3.00	<0.001
P54725	RAD23A	UV excision repair protein RAD23 homolog A	0.46	<0.001
P26447	S100A4	Protein S100-A4	0.44	<0.001
P05109	S100A8	Protein S100-A8	0.45	<0.001
P06702	S100A9	Protein S100-A9	0.35	<0.001
Q13228	SELENB P1	Methanethiol oxidase	0.47	<0.001
A0A669KB 41	SNCA	Alpha-synuclein	0.39	<0.001
P00441	SOD1	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	0.48	<0.001
P02787	TF	Serotransferrin	12.48	<0.001
P60174	TPI1	Triosephosphate isomerase	0.41	<0.001
P55072	VCP	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	0.47	<0.001
P08670	VIM	Vimentin	0.42	0.002
P02751	FN1	Fibronectin	0.54	<0.001

[78]

[79]

우울증 환자의 혈액에서 발현량의 증가 또는 감소를 보인 단백질 중
Beta-Ala-His dipeptidase(CNDP1), Coiled-coil domain-containing protein

39(CCDC39), Purine nucleoside phosphorylase(PNP) 단백질의 농도를 그래프로 도시하였다(도 2 내지 4).

[80] 보다 구체적으로, CNDP1 단백질의 경우 박스-플롯으로 도시한 결과 정상 대조군에 비해 우울증 환자의 혈액에서 2.42배 증가함을 확인하였다(도 2a). 상기 단백질 바이오마커의 정확도를 나타내기 위해 관찰된 데이터의 전 범위에 걸친 판정 역치를 연속적으로 변화시켜 획득되는 모든 감수성(sensitivity)/특이성(specificity) 쌍의 그래프로 수용자 조직 특성(receiver operating characteristics, ROC) 곡선으로 도시한 결과, 상기 단백질 바이오마커의 AUC(area under the curve)는 0.89로 나타났다(도 2b).

[81] CCDC39 단백질의 경우 박스-플롯으로 도시한 결과 정상 대조군에 비해 우울증 환자의 혈액에서 2.38배 감소함을 확인하였다(도 3a). 또한 ROC 곡선으로 도시한 결과, 상기 단백질 바이오마커의 AUC는 0.86으로 나타났다(도 3b).

[82] 마지막으로, PNP 단백질의 경우 박스-플롯으로 도시한 결과 정상 대조군에 비해 우울증 환자의 혈액에서 2.22배 감소함을 확인하였다(도 4a). 또한 ROC 곡선으로 도시한 결과, 상기 단백질 바이오마커의 AUC는 0.76으로 나타났다(도 4b).

[83]

[84] 상기 결과로부터, 우울증 환자의 혈액에서 동정된 CNDP1, CCDC39, 및 PNP를 비롯한 상기 표 1의 단백질이 우울증을 진단하는 유용한 바이오마커로 활용될 수 있음을 알 수 있다.

[85]

[86] **[실시예 3] 다표지 마커를 통한 우울증 진단**

[87] 실시예 2에서 선별된 CNDP1, CCDC39, 및 PNP 3개의 단백질 바이오마커의 정량 결과를 로지스틱 회귀분석을 통해 하나로 통합하여 다표지로 구성된 하나의 바이오마커로 만들어 우울증 진단 효율을 확인하였다.

[88] 다표지 마커를 44명의 유방암 환자와 44명의 정상 대조군에 ROC 곡선으로 도시한 결과 AUC는 0.97로 나타나, 단일 바이오마커보다 훨씬 우수한 정확성을 확보한다는 점을 확인하였다(도 5).

[89]

[90] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

산업상 이용가능성

[91] 본 발명은 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는, 우울증 진단용

바이오마커 조성물 등에 관한 것으로서, 본 발명은 상기 바이오마커 조성물을 포함한 우울증 진단용 조성물 및 키트와, 이를 이용한 우울증을 진단하기 위한 정보제공방법 등을 제공할 수 있으며, 본 발명의 바이오마커 조성물을 이용하여 우울증을 조기에 정확하게 진단할 수 있으므로 우울증 등의 정신 질환의 진단, 예방, 개선, 또는 치료 분야에서 유용하게 활용될 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는, 우울증 진단용 바이오마커 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 바이오마커 조성물은 CNDP1, CCDC39, 및 PNP를 모두 포함하는 것을 특징으로 하는, 우울증 진단용 바이오마커 조성물.
- [청구항 3] 제1항 또는 제2항에 있어서,
상기 바이오마커 조성물은 A2M, ALAD, ANXA1, ANXA3, APOA1, BLVRB, BPGM, C4BPA, C4BPB, CA1, CA2, CALM1, CAST, CAT, DDT, HBA1, HBB, HBD, HSPA1B, KNG1, KRT7, LRG1, MAN2A2, MDH1, MMRN2, SIRT3, NME2, PGK1, PRDX1, PRDX2, PRDX6, PRODH2, RAB6B, RAD23A, S100A4, S100A8, S100A9, SELENBP1, SNCA, TF, TPI1, VCP, VIM 및 FN1으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 추가적으로 포함하는, 우울증 진단용 바이오마커 조성물.
- [청구항 4] CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 우울증 진단용 조성물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,
상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질 또는 이의 단편에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 압타머(aptamer)로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인, 우울증 진단용 조성물.
- [청구항 6] 제4항에 있어서,
상기 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인, 우울증 진단용 조성물.
- [청구항 7] 제4항에 있어서,
상기 조성물은 A2M, ALAD, ANXA1, ANXA3, APOA1, BLVRB, BPGM, C4BPA, C4BPB, CA1, CA2, CALM1, CAST, CAT, DDT, HBA1, HBB, HBD, HSPA1B, KNG1, KRT7, LRG1, MAN2A2, MDH1, MMRN2, SIRT3, NME2, PGK1, PRDX1, PRDX2, PRDX6, PRODH2, RAB6B, RAD23A, S100A4, S100A8, S100A9, SELENBP1, SNCA, TF, TPI1, VCP, VIM 및 FN1으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정할 수 있는 제제를

- 추가적으로 포함하는, 우울증 진단용 조성물.
- [청구항 8] 제4항의 조성물을 포함하는, 우울증 진단용 키트.
- [청구항 9] 제8항에 있어서,
상기 키트는 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질을 펩티드화하기 위한 시약 및 단백질 가수분해 효소를 포함하는, 우울증 진단용 키트.
- [청구항 10] 제8항에 있어서,
상기 키트는 CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질을 암호화하는 유전자 각각에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트, 및 핵산 증폭용 시약을 포함하는, 우울증 진단용 키트.
- [청구항 11] (a) 우울증이 의심되는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질을 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 및 (b) 상기 측정된 발현 수준을 정상 대조군의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준과 비교하는 단계를 포함하는, 우울증 진단을 위한 정보제공방법.
- [청구항 12] 제11항에 있어서,
상기 생물학적 시료는 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 점액, 타액, 눈물, 객담, 척수액, 흉수, 유두 흡인물, 림프액, 기도액, 장액, 비노생식관액, 모유, 림프계 체액, 정액, 뇌척수액, 기관계내 체액, 복수, 낭성 종양 체액, 양수액 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.
- [청구항 13] 제11항에 있어서,
상기 발현 수준을 측정하는 단계는 전기영동, 면역블로팅, 효소 결합 면역흡착 분석법(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA), 면역 조직 화학 염색, 단백질 칩, 면역침강, 마이크로어레이, 노던 블로팅, 폴리머라제 증폭 반응(polymerase chain reaction: PCR), 질량분석(mass spectrometry analysis), 다중반응검지법(multiple reaction monitoring: MRM) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상으로 수행되는 것을 특징으로 하는, 정보제공방법.
- [청구항 14] 제11항에 있어서,
상기 (b)단계 이후, 상기 CNDP1 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자에서 측정된 발현 수준이 정상 대조군에서 측정된 발현 수준에 비해 증가한 경우, 상기 개체는 우울증에 걸리거나 우울증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 추가적으로 포함하는, 정보제공방법.
- [청구항 15] 제11항에 있어서,
상기 (b)단계 이후, 상기 CCDC39 단백질 또는 이를 암호화하는

유전자에서 측정된 발현 수준이 정상 대조군에서 측정된 발현 수준에 비해 감소한 경우, 상기 개체는 우울증에 걸리거나 우울증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 추가적으로 포함하는, 정보제공방법.

[청구항 16] 제11항에 있어서,

상기 (b)단계 이후, 상기 PNP 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자에서 측정된 발현 수준이 정상 대조군에서 측정된 발현 수준에 비해 감소한 경우, 상기 개체는 우울증에 걸리거나 우울증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 추가적으로 포함하는, 정보제공방법.

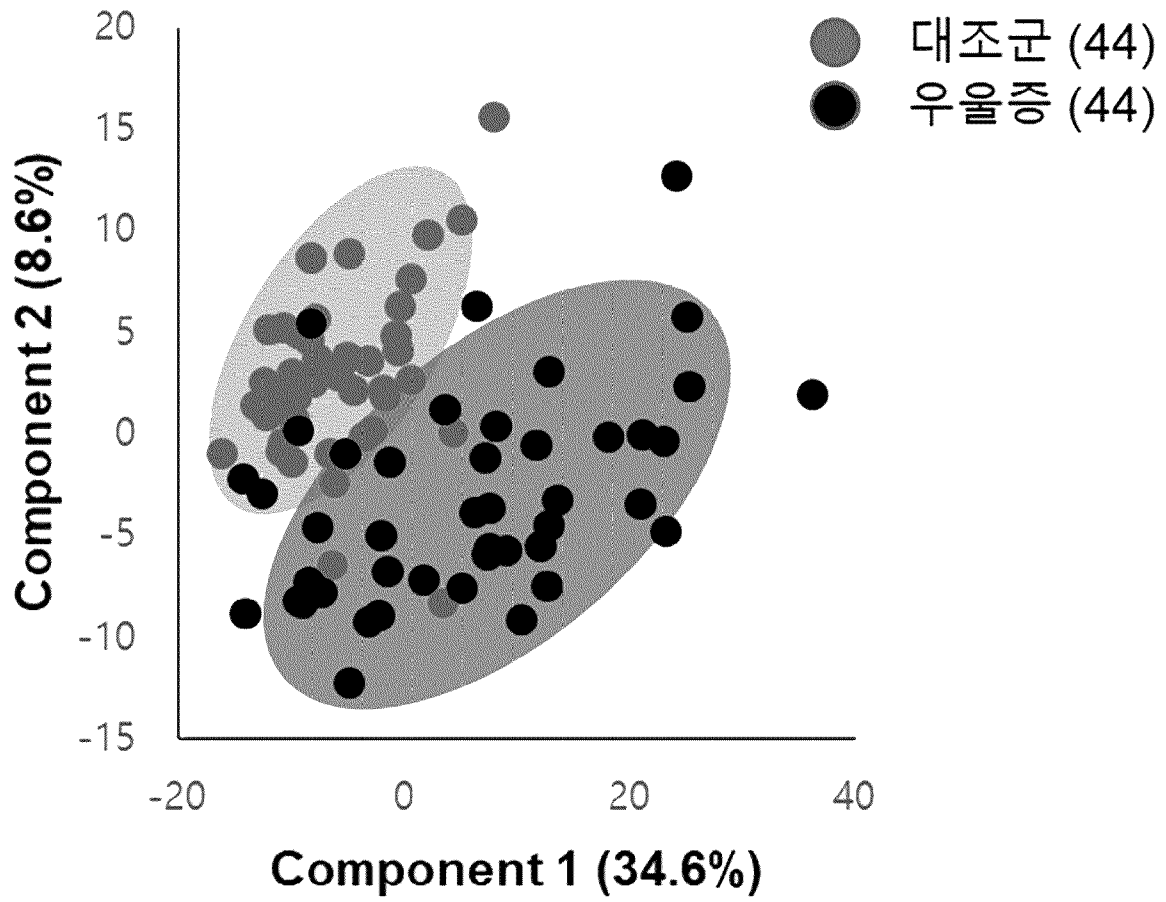
[청구항 17] (a) 우울증이 의심되는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 및 (b) 상기 측정된 발현 수준을 정상 대조군의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준과 비교하는 단계를 포함하는, 우울증 진단을 위한 진단방법.

[청구항 18] 하기 단계를 포함하는 우울증 예방 또는 치료용 약제의 스크리닝 방법:

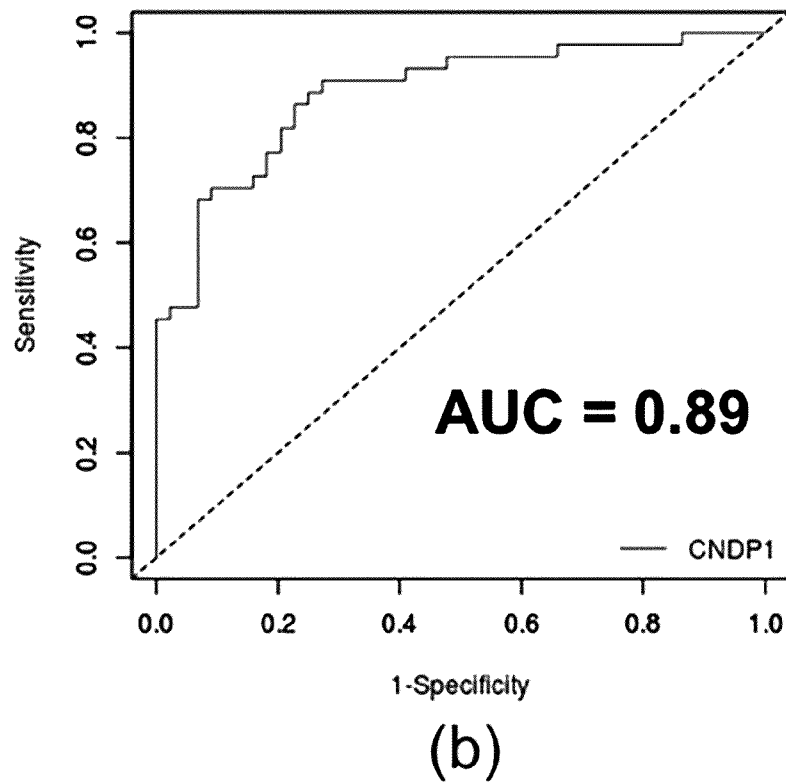
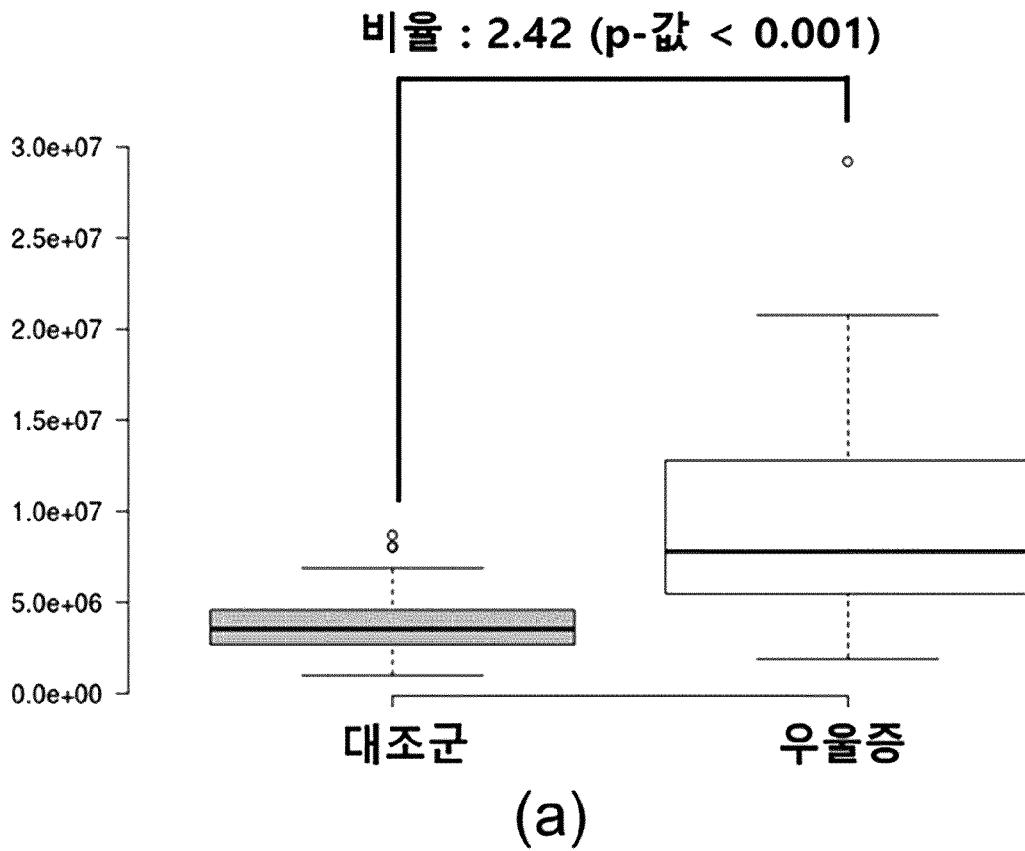
(a) 우울증이 의심되는 개체에 후보물질을 처리하고, CNDP1, CCDC39, 및 PNP로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

(b) 상기 CNDP1의 발현 수준을 감소시키거나, 상기 CCDC39의 발현 수준을 증가시키거나, 상기 PNP의 발현 수준을 증가시키는 경우, 상기 후보물질을 우울증 예방 또는 치료용 약제로 선정하는 단계.

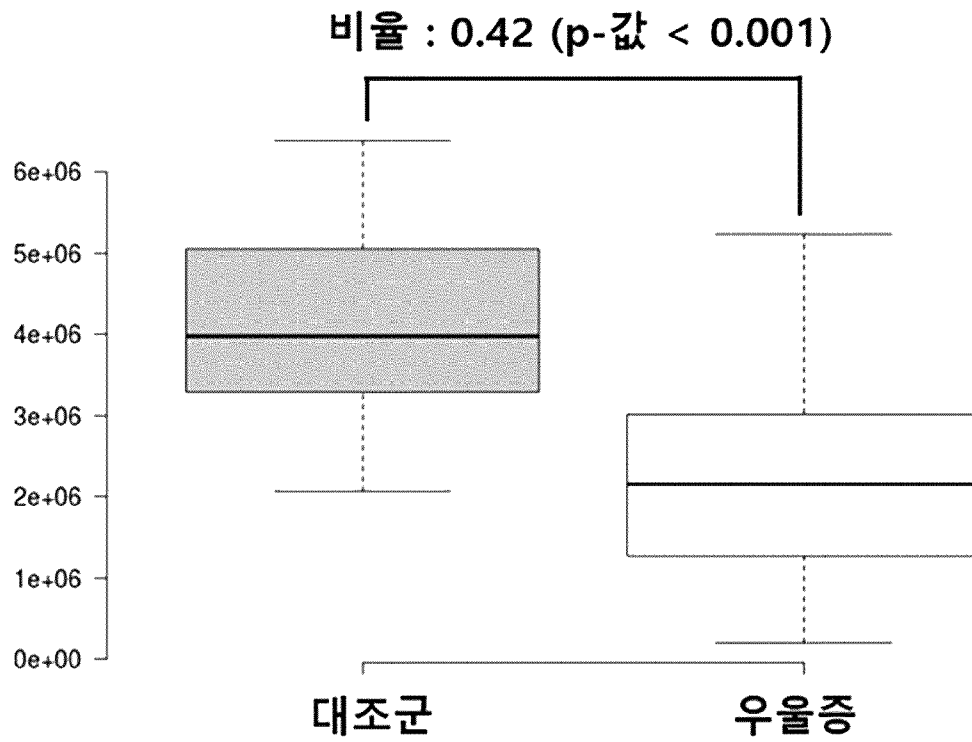
[도1]



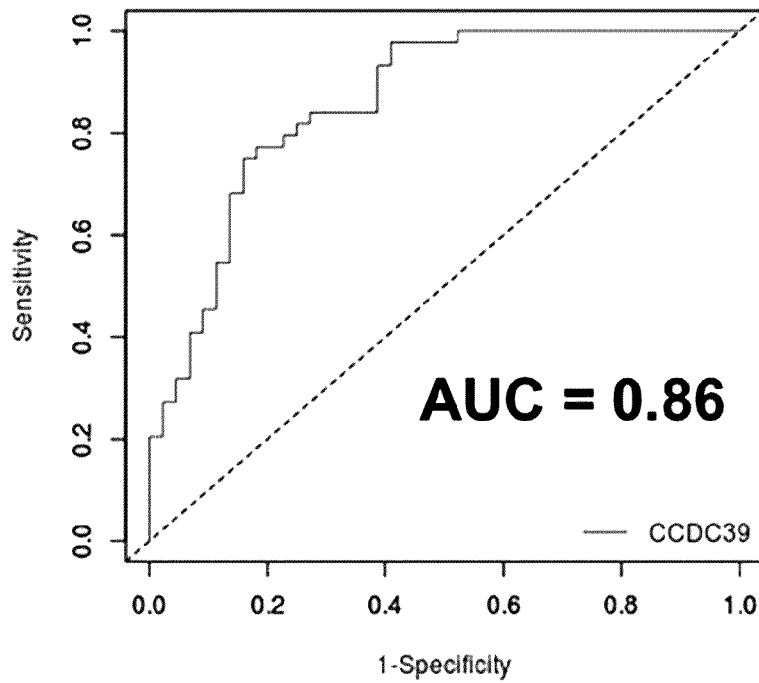
[도2]



[도3]

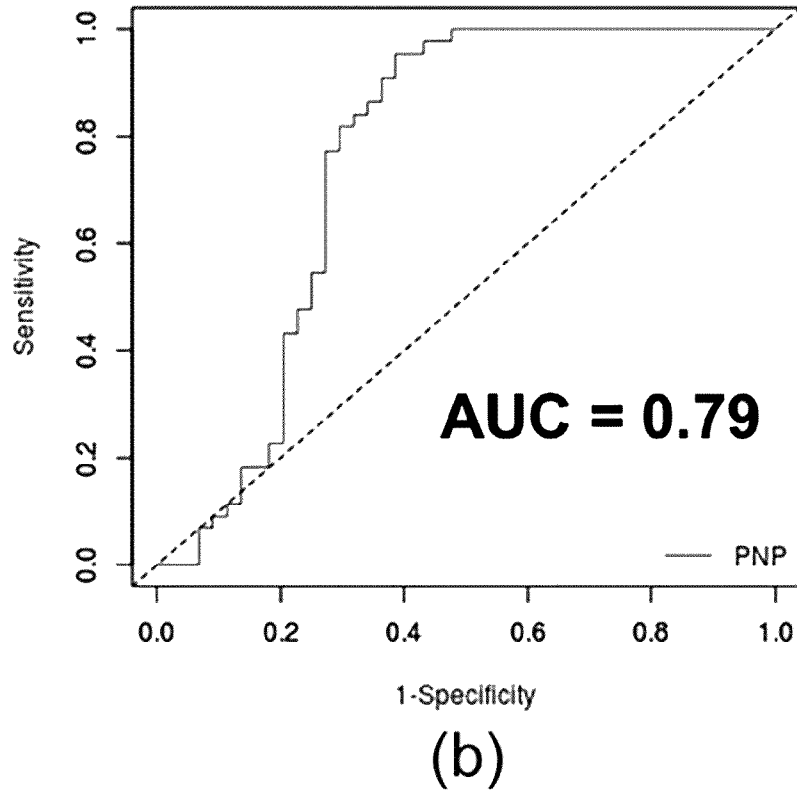
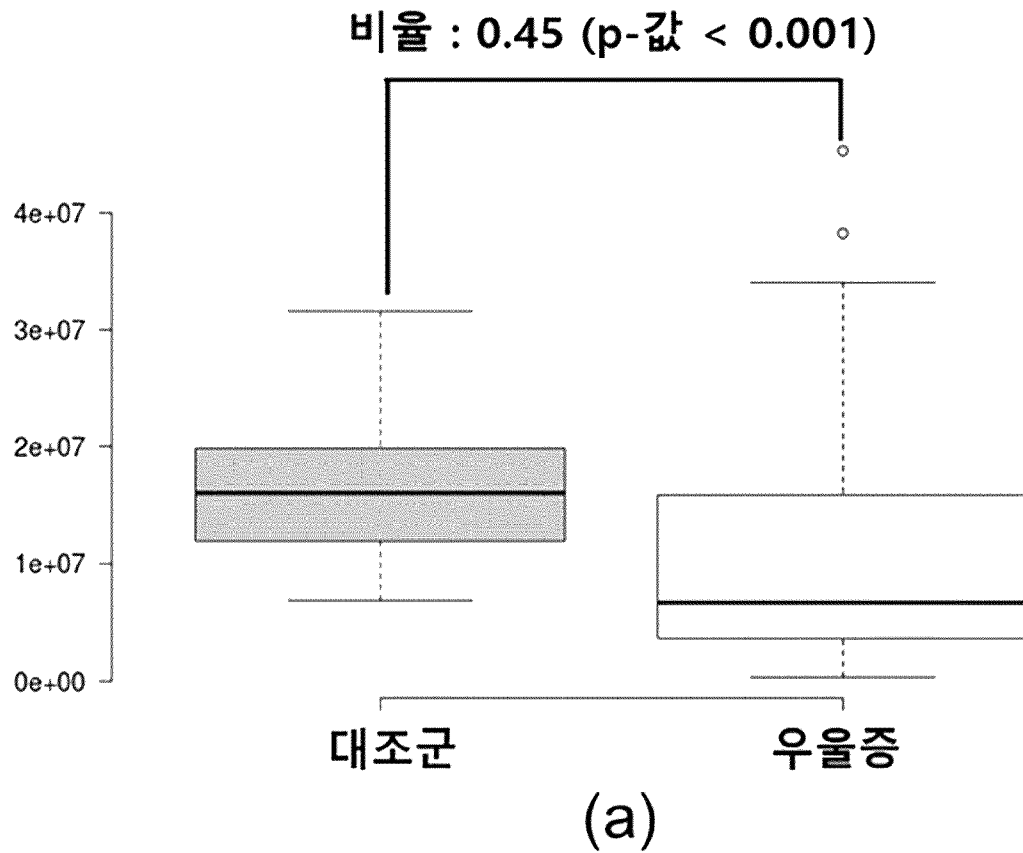


(a)

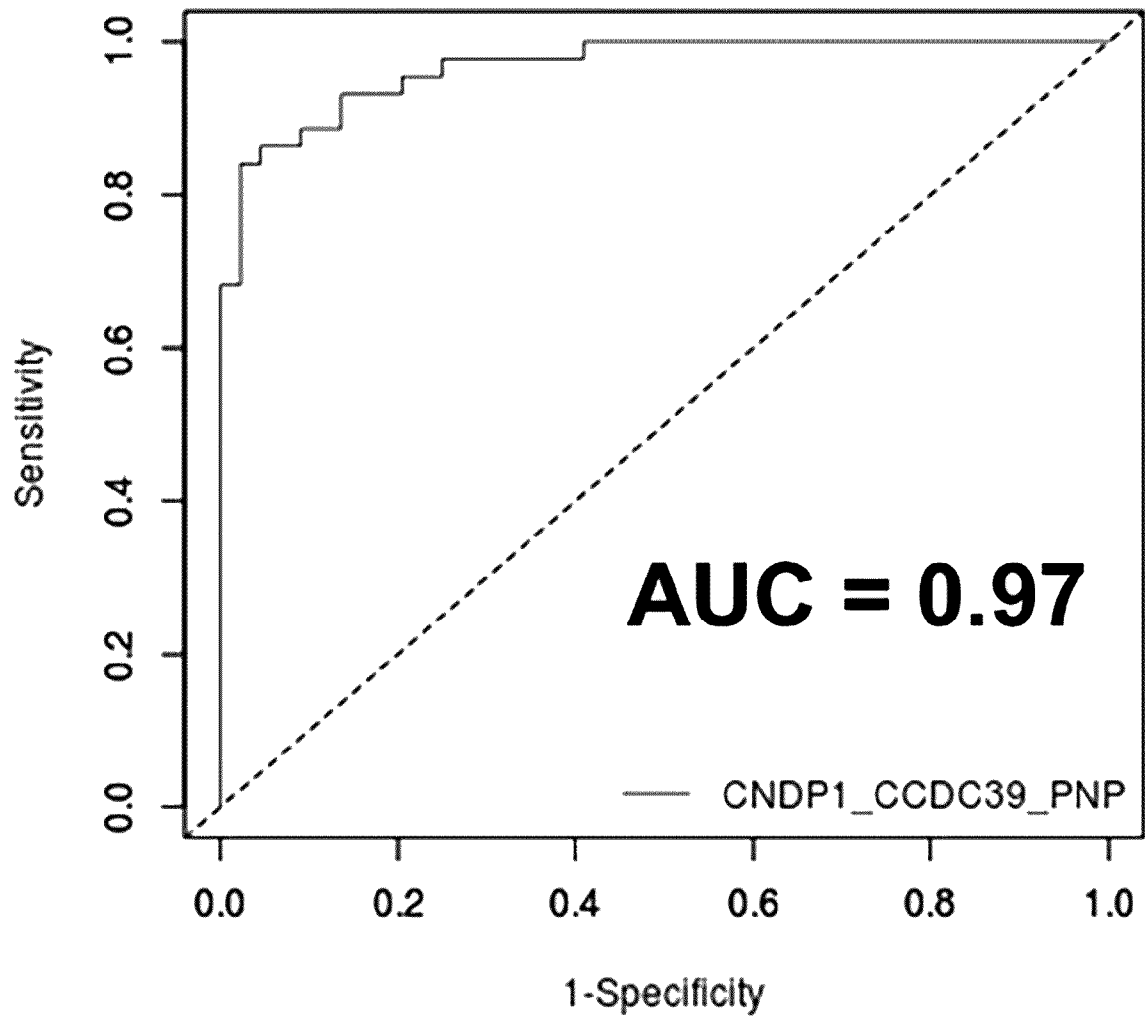


(b)

[도4]



[도5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/004015

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**C12Q 1/6883**(2018.01)i; **G01N 33/68**(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/6883(2018.01); C12Q 1/68(2006.01); C40B 30/02(2006.01); C40B 30/04(2006.01); G01N 33/94(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 우울증(depression), 바이오마커(biomarker), CNDP1, CCDC39, PNP

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2011-0245092 A1 (BILELLO, J. et al.) 06 October 2011 (2011-10-06) See claims 1-4, 11-12 and 20-22.	1-17
A	US 2015-0355204 A1 (MEIJO UNIVERSITY) 10 December 2015 (2015-12-10) See claims 1-5.	1-17
A	US 2015-0218639 A1 (NORTHWESTERN UNIVERSITY) 06 August 2015 (2015-08-06) See claims 9, 11 and 14-23.	1-17
A	STRAWBRIDGE, R. et al. Biomarkers for depression: recent insights, current challenges and future prospects. Neuropsychiatric Disease and Treatment. 2017, vol. 13, pp. 1245-1262. See entire document.	1-17
A	KR 10-2017-0133888 A (INDUSTRY FOUNDATION OF CHONNAM NATIONAL UNIVERSITY) 06 December 2017 (2017-12-06) See entire document.	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“D” document cited by the applicant in the international application

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 June 2022

Date of mailing of the international search report

24 June 2022

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/004015

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **18**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 18 includes a method invention including a step for direct treatment of the human body, and thus pertains to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/004015

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2011-0245092	A1	06 October 2011	CA	2717763	A1	11 September 2009
				CA	2718273	A1	17 September 2009
				CA	2740736	A1	22 April 2010
				CA	2744151	A1	27 May 2010
				CN	102016907	A	13 April 2011
				CN	102037355	A	27 April 2011
				CN	102257157	A	23 November 2011
				CN	102301234	A	28 December 2011
				CN	102301234	B	17 June 2015
				EP	2272044	A2	12 January 2011
				EP	2329260	A2	08 June 2011
				EP	2337866	A2	29 June 2011
				EP	2337866	B1	30 July 2014
				EP	2356453	A2	17 August 2011
				HK	1165554	A1	05 October 2012
				JP	2011-518318	A	23 June 2011
				JP	2011-520095	A	14 July 2011
				JP	2012-506053	A	08 March 2012
				JP	2012-509480	A	19 April 2012
				JP	5540000	B2	02 July 2014
				JP	5658571	B2	28 January 2015
				US	2010-0100333	A1	22 April 2010
				US	2010-0136700	A1	03 June 2010
				US	2011-0269633	A1	03 November 2011
				US	2014-0128273	A1	08 May 2014
				US	2014-0257708	A1	11 September 2014
				US	2016-0342757	A1	24 November 2016
				US	8440418	B2	14 May 2013
				WO	2009-111595	A2	11 September 2009
				WO	2009-114627	A2	17 September 2009
				WO	2009-114627	A3	17 December 2009
				WO	2010-045490	A2	22 April 2010
				WO	2010-045490	A3	19 August 2010
				WO	2010-059709	A2	27 May 2010
US	2015-0355204	A1	10 December 2015	JP	2014-137282	A	28 July 2014
				JP	6323979	B2	16 May 2018
				US	2017-0248586	A1	31 August 2017
				WO	2014-112571	A1	24 July 2014
US	2015-0218639	A1	06 August 2015	US	10093981	B2	09 October 2018
				US	10233501	B2	19 March 2019
				US	10457991	B2	29 October 2019
				US	10544462	B2	28 January 2020
				US	2012-0094859	A1	19 April 2012
				US	2015-0225792	A1	13 August 2015
				US	2016-0122824	A1	05 May 2016
				US	2017-0037473	A1	09 February 2017
				US	2018-0030538	A1	01 February 2018
				US	2018-0030539	A1	01 February 2018
				US	2018-0057884	A1	01 March 2018
				US	2018-0073079	A1	15 March 2018

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/004015

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
					US	2018-0237859	A1	23 August 2018
					US	9469875	B2	18 October 2016
					US	9951387	B2	24 April 2018
KR	10-2017-0133888	A	06 December 2017		KR	10-1935018	B1	03 January 2019

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C12Q 1/6883(2018.01)i; G01N 33/68(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C12Q 1/6883(2018.01); C12Q 1/68(2006.01); C40B 30/02(2006.01); C40B 30/04(2006.01); G01N 33/94(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 우울증(depression), 바이오마커(biomarker), CNDP1, CCDC39, PNP		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	US 2011-0245092 A1 (BILELLO, J. 등) 2011.10.06 청구항 1-4, 11-12, 20-22	1-17
A	US 2015-0355204 A1 (MEIJO UNIVERSITY) 2015.12.10 청구항 1-5	1-17
A	US 2015-0218639 A1 (NORTHWESTERN UNIVERSITY) 2015.08.06 청구항 9, 11, 14-23	1-17
A	STRAWBRIDGE, R. 등, 'Biomarkers for depression: recent insights, current challenges and future prospects', Neuropsychiatric Disease and Treatment, 2017, 13권, 페이지 1245-1262 전체 문헌	1-17
A	KR 10-2017-0133888 A (전남대학교산학협력단) 2017.12.06 전체 문헌	1-17
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2022년06월24일(24.06.2022)		국제조사보고서 발송일 2022년06월24일(24.06.2022)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: **18**
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 18은 인체에 대한 직접적인 처치 단계를 포함하는 방법 발명을 포함하고 있으므로 PCT 제 17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2011-0245092 A1	2011/10/06	CA 2717763 A1	2009/09/11
		CA 2718273 A1	2009/09/17
		CA 2740736 A1	2010/04/22
		CA 2744151 A1	2010/05/27
		CN 102016907 A	2011/04/13
		CN 102037355 A	2011/04/27
		CN 102257157 A	2011/11/23
		CN 102301234 A	2011/12/28
		CN 102301234 B	2015/06/17
		EP 2272044 A2	2011/01/12
		EP 2329260 A2	2011/06/08
		EP 2337866 A2	2011/06/29
		EP 2337866 B1	2014/07/30
		EP 2356453 A2	2011/08/17
		HK 1165554 A1	2012/10/05
		JP 2011-518318 A	2011/06/23
		JP 2011-520095 A	2011/07/14
		JP 2012-506053 A	2012/03/08
		JP 2012-509480 A	2012/04/19
		JP 5540000 B2	2014/07/02
		JP 5658571 B2	2015/01/28
		US 2010-0100333 A1	2010/04/22
		US 2010-0136700 A1	2010/06/03
		US 2011-0269633 A1	2011/11/03
		US 2014-0128273 A1	2014/05/08
		US 2014-0257708 A1	2014/09/11
		US 2016-0342757 A1	2016/11/24
		US 8440418 B2	2013/05/14
		WO 2009-111595 A2	2009/09/11
		WO 2009-114627 A2	2009/09/17
		WO 2009-114627 A3	2009/12/17
		WO 2010-045490 A2	2010/04/22
		WO 2010-045490 A3	2010/08/19
		WO 2010-059709 A2	2010/05/27
US 2015-0355204 A1	2015/12/10	JP 2014-137282 A	2014/07/28
		JP 6323979 B2	2018/05/16
		US 2017-0248586 A1	2017/08/31
		WO 2014-112571 A1	2014/07/24
US 2015-0218639 A1	2015/08/06	US 10093981 B2	2018/10/09
		US 10233501 B2	2019/03/19
		US 10457991 B2	2019/10/29
		US 10544462 B2	2020/01/28
		US 2012-0094859 A1	2012/04/19
		US 2015-0225792 A1	2015/08/13
		US 2016-0122824 A1	2016/05/05
		US 2017-0037473 A1	2017/02/09
		US 2018-0030538 A1	2018/02/01
		US 2018-0030539 A1	2018/02/01
		US 2018-0057884 A1	2018/03/01
		US 2018-0073079 A1	2018/03/15

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		US 2018-0237859 A1	2018/08/23
		US 9469875 B2	2016/10/18
		US 9951387 B2	2018/04/24
KR 10-2017-0133888 A	2017/12/06	KR 10-1935018 B1	2019/01/03