



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0093286
(43) 공개일자 2017년08월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01K 67/033 (2014.01) A01K 1/00 (2014.01)
A01K 1/035 (2014.01) A01K 29/00 (2006.01)
A01K 31/00 (2006.01) A01K 45/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A01K 67/033 (2013.01)
A01K 1/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0014140

(22) 출원일자 2016년02월04일

심사청구일자 2016년02월04일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

이은일

서울특별시 성북구 인촌로17가길 64 (안암동1가, 삼성래미안아파트)

유수연

서울특별시 성북구 안암로 145 의과대학 문숙의학관 224호 (안암동5가, 고려대학교안암캠퍼스)

(74) 대리인

손민

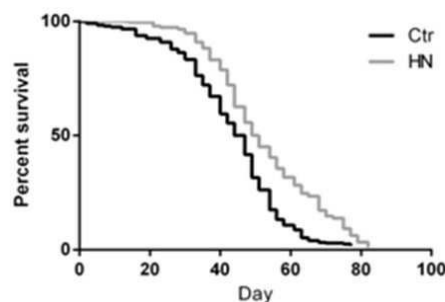
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 생명체의 발생과정 중 가압조건의 혼합기체를 사용하여 생체 활성을 향상시키는 방법

(57) 요약

본 발명은 가축이나 복제동물을 그의 발생과정 중에 가압된 산소를 포함하는 혼합기체에 노출시키는 단계를 포함하는 개체의 생체활성을 향상시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명에서 제공하는 개체의 생체활성을 향상시키는 방법을 이용하면, 수명, 스트레스 저항성, 운동능력 등과 같은 생체활성을 향상시킬 수 있으므로, 생체활성을 향상시킬 수 있는 방법의 개발에 널리 활용될 수 있을 것이다.

대 표 도 - 도4b



(52) CPC특허분류

A01K 1/035 (2013.01)

A01K 29/00 (2013.01)

A01K 31/00 (2013.01)

A01K 45/00 (2013.01)

A01K 2227/706 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2003-0019368

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 환경산업기술원

연구사업명 기초연구사업, 선도연구센터지원사업

연구과제명 유전체 및 단백질 환경독성센터

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2003.09.01 ~ 2012.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

산소를 포함하는 혼합기체를 인간을 제외한 개체에 1.5 내지 4기압의 조건으로 가압하여 처리하는 단계를 포함하는, 개체의 생체활성을 향상시키는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 가압된 혼합기체에 포함된 산소의 압력은 150 내지 160 mmHg인 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 혼합기체는 질소, 헬륨, 네온, 아르곤, 크립톤, 제논, 메탄, 수소, 일산화질소, 이산화탄소 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 기체를 포함하는 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 혼합기체는 질소, 헬륨, 네온, 아르곤, 크립톤, 제논 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 기체를 포함하는 것인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 혼합기체의 가압처리 시기는 상기 개체의 수정란으로부터 낭배기에 이르는 발생초기 단계, 낭배기 이후 출생이전까지의 배아발생단계 또는 출생이후 성체이전까지의 성장단계에서 수행되는 것인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 생체활성의 향상은 수명, 스트레스에 대한 저항성 또는 운동능력의 향상인 것인 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 수명은 활성산소 생성량의 감소를 통해 증가되는 것인 방법.

청구항 8

제6항에 있어서,
상기 스트레스는 고온 스트레스, 산화 스트레스 또는 기아 스트레스인 것인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서,
상기 개체의 발달속도, 생존율, 체중 또는 생식능력은 변화되지 않는 것인 방법.

청구항 10

제1항에 있어서,
상기 개체는 포유류, 조류, 파충류, 양서류, 절지동물류 또는 곤충류인 것인 방법.

청구항 11

제1항에 있어서,
상기 개체는 초파리인 것인 방법.

청구항 12

제1항에 있어서,
상기 개체는 가축인 것인 방법

청구항 13

제12항에 있어서,
상기 가축은 개, 소, 말, 양, 알파카, 염소, 토끼, 돼지, 닭, 오리 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택 되는 가축인 것인 방법.

청구항 14

제1항에 있어서,
상기 개체는 반려동물인 것인 방법.

청구항 15

제1항에 있어서,
상기 개체는 복제동물인 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생명체의 발생과정 중 가압조건의 혼합기체를 사용하여 생체 활성을 향상시키는 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로 본 발명은 가축이나 복제동물을 그의 발생과정 중에 가압된 산소를 포함하는 혼합기체에 노출시키는 단계를 포함하는 개체의 생체활성을 향상시키는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 노화는 생리적 기능을 수반하여 종국에는 죽음에 이르게 되는 모든 생명체가 피할 수 없는 자연적인 생명현상이다. 생리적 기능 저하는 당뇨병 등의 대사 질환 및 암 또는 신경 퇴행성 질환을 야기하는데 이것은 유전적 요인 뿐만 아니라 환경적 요인에 의해 영향받는다고 잘 알려져 있다. 이로 인하여, 인간의 수명 증가 현상과 함께 항노화 연구 및 적용 기술의 요구가 대두되고 있다. 특별히 절식과 같은 식이조절이나 운동과 같은 환경적 통제 요인이 수명을 증가시키고 근육감퇴를 예방하는 운동능력을 향상시킨다는 많은 연구 보고들이 있다. 또한, 커큐민이나 피토크미컬 관련물의 섭취 등을 통한 인슐린 조절 이나, 항산화 및 항노화 효과에 대한 결과들이 알려지고 있다.

[0003] 특별히 개체의 전 생애 전반의 환경을 통제하는 것이 아니어도 발달단계 중 노출된 환경에 의해서 성체의 수명과 건강에까지 영향을 미친다는 연구 결과들이 많이 있다. 그 예로 발생 단계 동안에만 섭식제한을 한 경우 성체 단계에서 정상 섭식을 하여도 수명이 증가한다는 결과가 예쁜꼬마선충과 초파리 모델에서 이미 보고된 바 있다. 또한, 초파리의 발생 단계 중 온도를 조절하게 되면 성체의 운동성과 수명이 조절되게 되는 연구보고가 있다. 이처럼 발달 단계의 환경적 조절이 시간의 흐름에 따라 저하되는 생리적 기능을 개선하고 수명을 증가시킬 수 있다는 것을 시사하는 많은 연구결과들이 이미 보고되어 있다. 이러한 항노화 연구 분야에서 환경적 요인이 부각되면서 최근 메카니컬 테라피에 의한 건강성 향상 관련 연구가 새로운 분야로 부상하고 있다. 예를 들어, 2기압 조건을 가할 경우, 세포보호 활성을 나타낸다고 알려져 있다(S., Oh, D., Kwon, E., Lee, (2011) Mol Cell Toxicol., 7:323-332). 그러나, 상기 연구에서 사용된 2기압 공기압에는 대기 중 산소 농도의 약 2배에 해당하는 산소가 포함되어 있고, 이같은 고농도의 산소로 인하여 부작용이 유발될 가능성이 있어, 실험적으로 사용되지 못하고 있는 실정이다.

[0004] 이러한 배경하에서, 본 발명자들은 공기압을 이용하여 생체활성을 향상시킬 수 있는 방법을 개발하고자 예의 연구노력한 결과, 산소를 포함하는 혼합기체를 가압처리할 경우 수명, 스트레스에 대한 저항성, 운동능력 등과 같은 다양한 생체활성이 향상됨을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 하나의 목적은 산소를 포함하는 혼합기체를 가압처리하는 단계를 포함하는 개체의 생체활성을 향상시키는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명자들은 공기압을 이용하여 생체활성을 향상시킬 수 있는 방법을 개발하고자 다양한 연구를 수행하던 중, 공기압에 주목하게 되었다. 앞선 연구를 통해 2기압 조건을 세포에 가할 경우, 세포보호활성을 나타냄을 규명한 바 있으므로, 상기 2기압 조건을 개체에 가할 경우, 개체에 미치는 효과를 확인하고자 하였다. 즉, 초파리에 2기압 조건을 가할 경우, 초파리의 성숙시간이 지연되고, 수명이 감소됨을 확인하였다. 이에, 상기 부정적인 효과가 2기압 조건시 공기에 포함된 과량의 산소 때문인 것으로 예측하고, 2기압 조건을 가하면서 산소의 공급량을 1기압 수준이 되도록 하고, 그의 효과를 확인하고자 하였다. 그 결과, 발달속도가 지체되지 않고, 평균 생존율이 감소되지 않으며, 애벌레와 성체의 평균체중 역시 저하되지 않았고, 날개의 크기 역시 감소되지 않았으며, 고온 스트레스, 산화 스트레스 및 기아 스트레스에 대한 저항성이 증가하고, 초파리로부터 생성되는 활성산소의 수준이 감소하였으며, 초파리의 수명이 증가하고, 생식능력은 별다른 영향을 받지 않고, 운동능력은 향상됨을 확인하였다.

[0007] 산소를 포함하는 혼합기체를 가압처리하여 수명, 스트레스에 대한 저항성, 운동능력과 같은 다양한 생체활성을 향상시키는 방법에 대하여는 지금까지 전혀 알려져 있지 않고, 본 발명자에 의하여 최초로 개발되었다.

[0008] 상술한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하나의 양태로서 산소를 포함하는 혼합기체를 인간을 제외한 개체에 1.5 내지 4기압의 조건으로 가압하여 처리하는 단계를 포함하는, 개체의 생체활성을 향상시키는 방법을 제공한

다.

- [0009] 본 발명의 용어 "혼합기체"란, 산소와 다른 기체를 포함하는 기체혼합물을 의미한다. 상기 혼합기체에 포함되는 산소 이외의 다른 기체로는 가압처리에 의하여 생체활성을 향상시킬 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 일 예로서, 공기에 포함된 기체를 사용할 수 있고, 다른 예로서, 공기에 포함된 질소, 헬륨, 네온, 아르곤, 크립톤, 제논, 메탄, 수소, 일산화질소, 이산화탄소 등을 단독으로 또는 혼합한 것을 사용할 수 있으며, 또 다른 예로서, 공기에 포함된 불활성 기체인 질소, 헬륨, 네온, 아르곤, 크립톤, 제논 등을 단독으로 또는 혼합한 것을 사용할 수 있다. 특히, 불활성 기체인 헬륨, 네온, 아르곤, 크립톤, 제논 등은 물에 대한 용해도가 극히 낮고, 반응성 역시 낮아서, 생체에 과도한 압력으로 가할 경우에도 별다른 이상을 초래하지 않는다.
- [0010] 본 발명에서 제공하는 개체의 생체활성을 향상시키는 방법에 있어서, 상기 혼합기체의 가압조건은 가압처리에 의하여 생체활성을 향상시킬 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 일 예로서 1.5 내지 4기압이 될 수 있고, 다른 예로서, 1.5 내지 2.5기압이 될 수 있으며, 또 다른 예로서, 2기압이 될 수 있다. 이때, 1.5기압 보다 낮은 압력으로 가압하여 처리하면 개체의 생체활성을 향상시킬 수 없고, 4기압 보다 높은 압력으로 가압하여 처리하면 과도한 기압으로 인하여 개체에 부작용이 유발되어 개체에 이상을 초래할 수 있다.
- [0011] 본 발명의 용어 "기압"이란, 대기의 무게 즉, 지구를 둘러싸고 있는 대기에 의한 압력을 의미한다.
- [0012] 본 발명에서 제공하는 개체의 생체활성을 향상시키는 방법은, 산소를 포함하는 혼합기체를 1.5 내지 4기압의 조건으로 가압하여 처리하는 단계를 포함하는데, 상기 1.5 내지 4기압이란, 평균 대기압인 1기압(760mmHg)의 1.5 배 내지 4배가 되는 압력(1,140 내지 3,040mmHg)을 의미한다.
- [0013] 이때, 가압조건에 상관없이 가압된 혼합기체에 포함된 산소의 압력을 1기압 공기에서 측정되는 산소의 압력인 150 내지 160 mmHg로 유지하여야 하는데, 이처럼 가압된 혼합기체에 포함된 산소의 압력을 일정수준으로 유지하기 위하여, 혼합기체의 가압수준에 따라, 혼합기체에 포함된 산소와 다른 기체의 혼합비를 변화시킬 수 있으며, 일 예로서 1.5 내지 4기압으로 혼합기체를 가압할 경우, 상기 혼합기체에 포함된 산소의 함량은 4.9 내지 14%(v/v) 범위에서 변화시킬 수 있다. 예를 들어, 혼합기체를 1.5기압으로 가압할 경우에는 상기 혼합기체에 포함된 산소의 함량을 13 내지 14%(v/v)로 설정할 수 있고; 혼합기체를 2기압으로 가압할 경우에는 상기 혼합기체에 포함된 산소의 함량을 9.9 내지 10.5%(v/v)로 설정할 수 있으며; 혼합기체를 3기압으로 가압할 경우에는 상기 혼합기체에 포함된 산소의 함량을 6.6 내지 7.0%(v/v)로 설정할 수 있고; 혼합기체를 4기압으로 가압할 경우에는 상기 혼합기체에 포함된 산소의 함량을 4.9 내지 5.3%(v/v)로 설정할 수 있다.
- [0014] 상기 생체활성은 혼합기체의 가압처리에 의하여 향상될 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 수명, 스트레스에 대한 저항성, 운동능력 등이 될 수 있는데, 상기 수명은 상기 혼합기체가 가압처리된 개체에서 생성되는 활성산소의 생성량 감소를 통해 증가될 수 있고, 상기 스트레스에 대한 저항성은 고온 스트레스 저항성, 산화 스트레스 저항성 또는 기아 스트레스 저항성이 될 수 있다.
- [0015] 상기 혼합기체를 개체에 가압처리하는 시기는 특별히 이에 제한되지 않으나, 일 예로서 상기 개체의 발생초기 단계, 배아발생 단계 또는 성장단계에서 수행할 수 있고, 다른 예로서, 상기 개체의 수정란으로부터 낭배기에 이르는 발생초기 단계, 낭배기 이후 출생이전까지의 배아발생단계 또는 출생이후 성체가전까지의 성장단계에서 상기 혼합기체를 가압처리할 수 있다.
- [0016] 본 발명의 용어 "개체"란 혼합기체의 가압처리에 의하여 생체활성이 향상될 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 일 예로서, 포유류, 조류, 파충류, 양서류, 절지동물류, 곤충류 등을 제한 없이 포함할 수 있고, 다른 예로서, 개, 소, 말, 양, 알파카, 염소, 토끼, 돼지, 닭, 오리 등의 가축; 반려동물; 또는 복제동물이 될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에서는 상기 가압처리 대상인 개체로서 초파리를 사용하였다.
- [0017] 본 발명의 용어 "초파리(Drosophila)"란, 절지동물문 곤충강 쌍시목에 속하는 1개 속의 곤충을 총칭하여 나타내는데, 대체로, 노랑초파리(D. melanogaster), 검은초파리(D. virilis) 등을 포함한다. 상기 초파리는 사육이 쉽고 세대시간이 짧아 다수의 자손을 빠른 시간 내에 얻을 수 있다는 장점이 있어, 유전학의 연구를 위한 실험동물로서 사용되고 있다. 특히, 노랑초파리는 유전자 해석이 가장 발달된 동물의 하나로서 유전학 뿐만 아니라, 발생학, 행동학, 시간생물학, 생태학을 비롯한 다양한 분야에서 주요 실험동물로서 사용되고 있다.
- [0018] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 대기중의 공기를 가압하여 2기압 조건으로 초파리에 처리하면, 초파리의 성숙시간이 지연되고(도 1a), 수명이 감소되는 효과(도 1b 및 1c)를 나타냄을 확인하였다. 이에, 대기중의 공기를 가압하여 2기압의 조건을 유지하되 산소분압은 1기압의 조건으로 공기를 공급할 때와 동일한 동배 산소분압이 되도록 초파리에 처리하면, 발달속도가 지체되지 않고(도 2a), 평균 생존율이 감소되지 않으며 오히려 증가하는

양상을 나타내었고(도 2b), 애벌레와 성체의 평균체중 역시 저하되지 않았으며(도 2c), 날개의 크기 역시 감소되지 않음(도 2d)을 확인하였다.

[0019] 또한, 대기중의 공기를 가압하여 2기압의 조건을 유지하되 동배 산소분압이 되도록 초파리에 처리하면, 고온 스트레스(도 3a 및 3b), 산화 스트레스(도 3c 및 3d) 및 기아 스트레스(도 3e 및 3f)에 대한 저항성이 증가하고, 초파리로부터 생성되는 활성산소의 수준이 감소하며(도 4a), 초파리의 수명이 증가함(도 4b 및 4c)을 확인하였다.

[0020] 아울러, 초파리의 수명증가에 의하여 영향을 받을 수 있다고 알려진 생식능력은 별다른 영향을 받지 않고(도 5a), 운동능력은 향상됨(도 5b 및 5c)을 확인하였다.

발명의 효과

[0021] 본 발명에서 제공하는 개체의 생체활성을 향상시키는 방법을 이용하면, 수명, 스트레스 저항성, 운동능력 등과 같은 생체활성을 향상시킬 수 있으므로, 생체활성을 향상시킬 수 있는 방법의 개발에 널리 활용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(EP)에서 사육한 초파리가 알에서 성체에 이르는 시간을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 1b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(EP)에서 사육한 수컷 초파리의 수명을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 1c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(EP)에서 사육한 암컷 초파리의 수명을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 2a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리가 알에서 성체에 이르는 시간을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 2b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리가 알에서 성체로 성장하기까지의 평균생존율을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 2c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리의 애벌레 및 성체의 평균 체중을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 2d는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리의 날개크기를 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 3a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 고온 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 3b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 고온 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 3c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 산화 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 3d는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 산화 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 3e는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 기아 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 3f는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 기아 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 4a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리에서 측정된 활성산소 수준을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 4b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 평균수명을 비교한 결과를 나타내는

그래프이다.

도 4c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 평균수명을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 5a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리로부터 산출된 알의 수를 비교한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 5b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 운동능력을 분석한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 5c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 운동능력을 분석한 결과를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0024] 실시예 1: 2배 산소분압을 포함하는 2기압 조건이 초파리의 성장에 미치는 효과

[0025] 먼저, 2기압 동물용 챔버에, 야생형 초파리 W1118를 넣고, 가스보통을 사용하여 대기중의 공기를 상기 2기압 동물용 챔버에 주입하여, 챔버내 전체 기압이 2기압이면서 산소분압이 1기압의 공기에 포함된 산소분압(152 mmHg)의 2배(304 mmHg)인 압력(Elevated pressure, EP)에 도달한 후에 주입을 정지하였다. 상기 야생형 초파리는 온도 25℃, 습도 50%에서 12시간:12시간 명-암 사이클조건 하에서, 6%의 콘밀, 3%의 효모, 3%의 수크로오스, 6%의 글루코즈 및 0.6%의 한천을 포함하는 초파리 배지를 제조하여 사육한 것을 사용하였고, 대조군으로는 정상 대기압에서 사육한 야생형 초파리 W1118를 사용하였다.

[0026] 그런 다음, 상기 야생형 초파리의 노화에 미치는 2배 산소분압을 포함하는 2기압 조건의 효과를 확인하기 위하여 초파리 발달 단계에서 변화를 확인하였다.

[0027] 먼저, 초파리 알에서부터 애벌레, 번데기 단계를 거쳐 성체가 되는 발달 속도를 비교하였다(도 1a).

[0028] 도 1a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(EP)에서 사육한 초파리가 알에서 성체에 이르는 시간을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 1a에서 보듯이, 2기압 조건(EP)에서 사육한 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 초파리에 비하여, 알에서 번데기에 이르는 시간이 약 1일 늦춰짐을 확인하였다.

[0029] 다음으로, 수컷 초파리의 평균수명을 비교하였다(도 1b).

[0030] 도 1b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(EP)에서 사육한 수컷 초파리의 수명을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 1b에서 보듯이, 2기압 조건(EP)에서 사육한 수컷 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 수컷 초파리에 비하여, 수명이 감소됨을 확인하였다.

[0031] 끝으로, 암컷 초파리의 평균수명을 비교하였다(도 1c).

[0032] 도 1c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(EP)에서 사육한 암컷 초파리의 수명을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 1c에서 보듯이, 2기압 조건(EP)에서 사육한 암컷 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 수컷 초파리에 비하여, 수명이 감소됨을 확인하였다.

[0033] 실시예 2: 동배 산소분압을 포함하는 2기압 조건이 초파리의 성장에 미치는 효과

[0034] 먼저, 2기압 동물용 챔버에, 야생형 초파리 W1118를 넣고, 가스보통을 사용하여 대기중의 공기를 주입한 다음, 순수질소를 가압하여 투입함으로써, 챔버내 전체 기압이 2기압이면서 산소분압이 1기압의 공기에 포함된 산소분압(152 mmHg)과 동일한 수준인 동배 산소분압(Hyperbaric Normoxia, HN)을 형성한 후에 주입을 정지하였다. 이때, 사용된 야생형 초파리와 대조군은 실시예 1과 동일하게 설정하였다.

[0035] 그런 다음, 상기 야생형 초파리의 노화에 미치는 동배 산소분압을 포함하는 2기압 조건의 효과를 확인하기 위하여 초파리 발달 단계에서 변화를 확인하였다.

[0036] 첫 번째로, 초파리 알에서부터 애벌레, 번데기 단계를 거쳐 성체가 되는 발달 속도를 비교하였다(도 2a).

[0037] 도 2a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리가 알에서 성체에 이르는 시간을 비교한 결과

를 나타내는 그래프이다. 도 2a에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 초파리와 동등한 속도로 알에서 번데기로 발달됨을 확인하였다.

[0038] 두 번째로, 초파리 알에서부터 성체가 되는 평균적인 생존율을 비교하였다(도 2b).

[0039] 도 2b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리가 알에서 성체로 성장하기까지의 평균생존율을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 2b에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 초파리에 비하여 알에서 성체로 성장하기까지의 평균생존율이 다소 증가하는 양상을 나타내었으나, 유의하지는 않음을 확인하였다.

[0040] 세 번째로, 발달단계에서 애벌레와 성체의 평균 체중을 비교하였다(도 2c).

[0041] 도 2c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리의 애벌레 및 성체의 평균 체중을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 2c에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리의 애벌레 및 성체 체중은 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 초파리의 애벌레와 성체 체중과 유사한 수준을 나타냄을 확인하였다.

[0042] 네 번째로, 성체의 날개크기를 비교하였다(도 2d).

[0043] 도 2d는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리의 날개크기를 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 2d에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 초파리의 날개크기는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 초파리의 날개크기와 동등한 수준을 나타냄을 확인하였다.

[0044] 실시예 3: 동배 산소분압을 포함하는 2기압 조건이 초파리의 외부 스트레스에 미치는 효과

[0045] 상기 실시예 2의 결과에서 보듯이, 동배 산소분압을 포함하는 2기압 조건은 초파리의 성장에 별다른 악영향을 미치지 않음을 확인하였으므로, 상기 동배 산소분압을 포함하는 2기압 조건이 초파리의 외부 스트레스에 대한 저항성에 미치는 효과를 분석하고자 하였다.

[0046] 실시예 3-1: 고온 스트레스에 대한 저항성에 미치는 효과

[0047] 상기 실시예 2의 방법으로 10일 동안 사육된 초파리 암수 각각 20마리씩 5세트를 40℃ 고온 배양기에 넣은 후 10분 마다 고온에 의해 기절하는 초파리를 계수하고, 그 결과를 비교하였다(도 3a 및 3b).

[0048] 도 3a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 고온 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이고, 도 3b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 고온 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 3a 및 3b에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리에 비하여 고온 스트레스에 대한 저항성이 증가됨을 확인하였다.

[0049] 실시예 3-2: 산화 스트레스에 대한 저항성에 미치는 효과

[0050] 상기 실시예 2의 방법으로 10일 동안 사육된 초파리 암수 각각 20마리씩 5세트를 1% 아가(agar) 배지에서 6시간 동안 사육하여 단식시킨 후, 산화 스트레스를 유발하는 18mM 파라퀴트(paraquat, methyl viologen; Sigma-Aldrich, 미국)가 포함된 일반배지에서 사육하면서 3시간 마다 초파리의 생존율을 측정하고, 그 결과를 비교하였다(도 3c 및 3d).

[0051] 도 3c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 산화 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이고, 도 3d는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 산화 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 3c 및 3d에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리에 비하여 산화 스트레스에 대한 저항성이 증가됨을 확인하였다.

[0052] 실시예 3-3: 기아 스트레스에 대한 저항성에 미치는 효과

[0053] 상기 실시예 2의 방법으로 10일 동안 사육된 초파리 암수 각각 20마리씩 5세트를 1% 아가(agar) 배지에서 사육하면서 3시간 마다 초파리의 생존율을 측정하고, 그 결과를 비교하였다(도 3e 및 3f).

[0054] 도 3e는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 기아 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이고, 도 3f는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 기아 스트레스에 대한 저항성을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 3e 및 3f에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리에 비하여 기아 스트레

스에 대한 저항성이 증가됨을 확인하였다.

[0055] **실시예 4: 동배 산소분압을 포함하는 2기압 조건이 활성산소 수준 및 수명에 미치는 효과**

[0056] 상기 실시예 3의 결과로부터, 동배 산소분압을 포함하는 2기압 조건에서 사육된 초파리는 고온 및 산화 스트레스에 대한 저항성이 증가됨을 확인하였으므로, 상기 초파리의 노화로 인하여 생성되는 활성산소의 수준과 수명에 미치는 효과를 분석하였다.

[0057] **실시예 4-1: 활성산소 수준에 미치는 효과**

[0058] 상기 실시예 2의 방법으로 10일 동안 사육된 초파리 암수를 페릭 자일레놀 오렌지 분석법(ferric-xylenol orange assay; Ha, E.M., Oh, C.T., Bae, Y.S., Lee, W.J. (2005) Science, 310: 847-850)에 적용하여, 초파리의 세포기질 전체에서 생성되는 활성산소 수준을 측정하였다(도 4a).

[0059] 도 4a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리에서 측정된 활성산소 수준을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 4a에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리에 비하여 생성되는 활성산소의 수준이 감소됨을 확인하였다.

[0060] **실시예 4-2: 수명에 미치는 효과**

[0061] 상기 실시예 2의 방법으로 10일 동안 사육된 초파리 수컷 및 암컷 각각 100마리씩 3세트를 대상으로 초파리 수명을 측정하였다(도 4b 및 4c).

[0062] 도 4b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 평균수명을 비교한 결과를 나타내는 그래프이고, 도 4c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 평균수명을 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 4b 및 4c에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리에 비하여 대체로 평균수명이 증가됨을 확인하였다.

[0063] **실시예 5: 동배 산소분압을 포함하는 2기압 조건이 생식능력 및 운동능력에 미치는 효과**

[0064] 상기 실시예 4의 결과로부터, 동배 산소분압을 포함하는 2기압 조건에서 사육된 초파리는 체내에서 생성되는 활성산소의 수준이 감소하고, 수명이 증가됨을 확인하였으므로, 수명과 연관된 생식능력 및 운동능력에 미치는 효과를 분석하였다.

[0065] **실시예 5-1: 생식능력에 미치는 효과**

[0066] 공지된 바에 의하면, 식이제한을 통해 초파리의 수명을 증가시킬 수 있으나, 이처럼 수명이 증가된 초파리는 번식능력이 현저하게 감소된다고 알려져 있어(Flat, T. (2011) Exp Gerontol., 46(5): 369-75), 상기 실시예 4-2에서 얻어진 수명증가 효과로 인하여 생식능력이 영향을 받는지 확인하고자 하였다.

[0067] 상기 실시예 2의 방법으로 사육된 암컷 15마리 및 수컷 7마리로 구성된 세트를 10세트 준비하고, 각 세트별로 매일 새로운 배지로 교체하면서, 24시간 마다 암컷이 낳은 알의 수를 10일 동안 계수하고, 비교하였다(도 5a).

[0068] 도 5a는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리로부터 산출된 알의 수를 비교한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 5a에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리로부터 산출된 알의 수준과 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리로부터 산출된 알의 수준은 서로 유사함을 확인하였다.

[0069] 따라서, 2기압 조건(HN)에 의하여 수명이 증가된다 하여도, 생식능력에는 별다른 영향이 없음을 알 수 있었다.

[0070] **실시예 5-2: 운동능력에 미치는 효과**

[0071] 초파리는 선천적으로 바닥에 두드리게되면 용기 벽을 타고 올라가는 회피 반응인 음성 주지성(negative geotaxis)을 나타내므로, 이를 이용하여 초파리의 운동능력을 정량분석하였다.

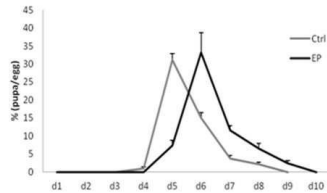
[0072] 즉, 상기 실시예 2의 방법으로 10일 동안 사육된 초파리에 이산화탄소를 가하여 마취시킨 후, 20마리씩 5세트를 준비하였다. 마취후 24시간동안 사육하여 회복시키고, 음성 주지성을 측정하기 위해 테이블 위에서 빠르게 연속 3회 두드린 후 암컷은 5초, 수컷은 7초 동안 7.5cm 높이의 바이얼 을 타고 올라가는 행동을 디지털 이미지로 포착하여 분석하였다(도 5b 및 5c).

[0073] 도 5b는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 초파리의 운동능력을 분석한 결과를 나타내는

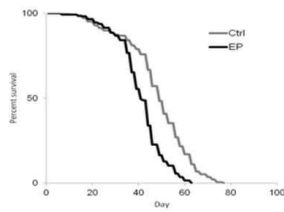
그래프이고, 도 5c는 정상기압 조건(Ctrl)과 2기압 조건(HN)에서 사육한 암컷 초파리의 운동능력을 분석한 결과를 나타내는 그래프이다. 도 5b 및 5c에서 보듯이, 2기압 조건(HN)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리는 정상기압 조건(Ctrl)에서 사육한 수컷 및 암컷 초파리에 비하여 운동능력이 향상됨을 확인하였다.

도면

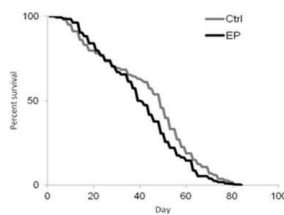
도면1a



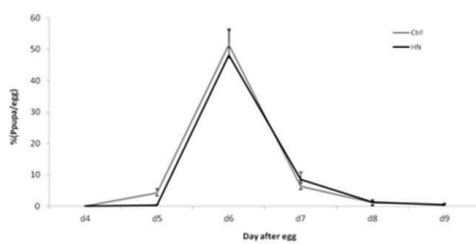
도면1b



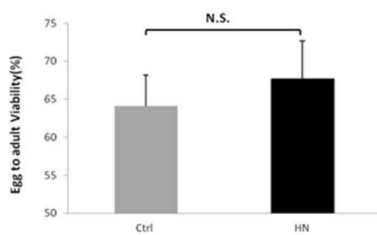
도면1c



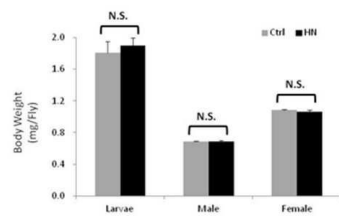
도면2a



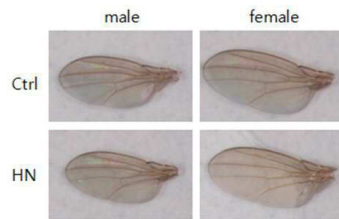
도면2b



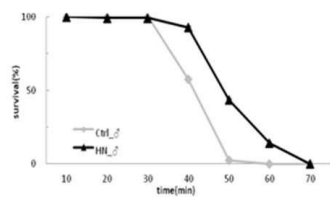
도면2c



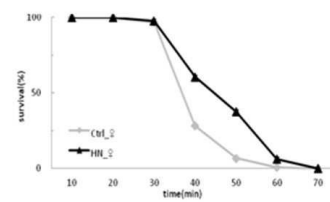
도면2d



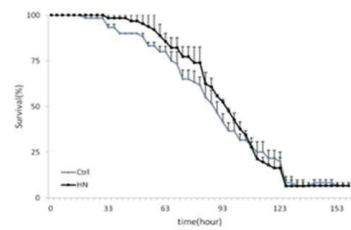
도면3a



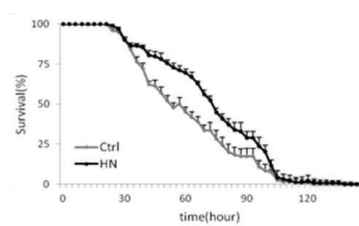
도면3b



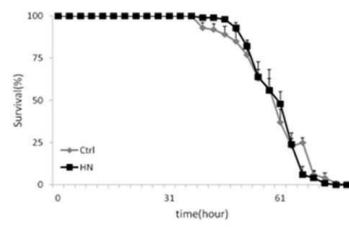
도면3c



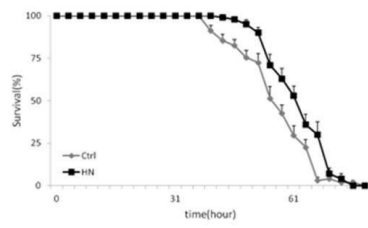
도면3d



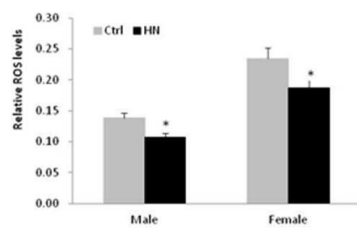
도면3e



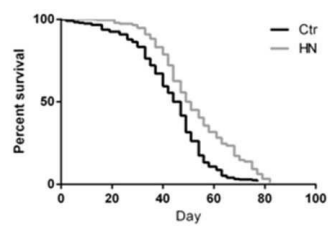
도면3f



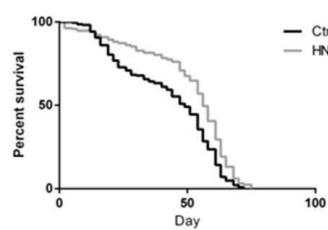
도면4a



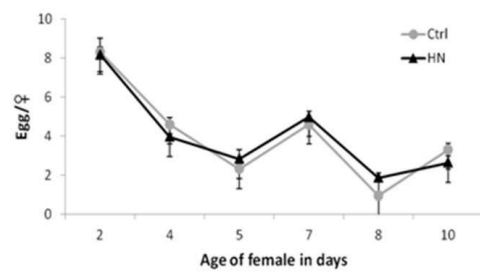
도면4b



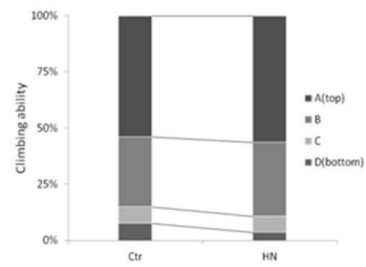
도면4c



도면5a



도면5b



도면5c

