(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0080560
(43) 공개일자 2023년06월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/45 (2006.01) *A61P 1/16* (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01) *C12Q 1/6883* (2018.01)
G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/45 (2013.01)
A61P 1/16 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2021-0167877
(22) 출원일자 2021년11월30일
심사청구일자 2021년11월30일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
박종선
대전광역시 중구 과례로 64 이너프빌 202호
이현지
대전광역시 서구 정림서로 162-18 강변들보람아파트 104동104호
(74) 대리인
원대규

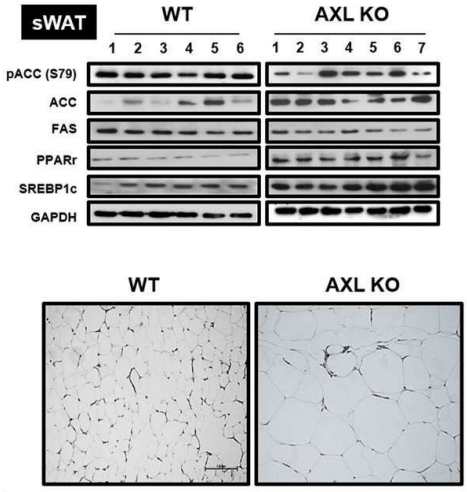
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **AXL을 포함하는 지방간 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 지방간 예방 또는 치료용 조성물, 진단용 조성물, 진단을 위한 정보제공방법에 관한 것이다. 본 발명의 마커인 AXL의 발현 및 활성을 조절하여 지방간 치료제 개발에 유용하게 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

대 표 도 - 도5a



(52) CPC특허분류
A61P 3/00 (2018.01)
C12Q 1/6883 (2022.01)
G01N 33/6893 (2013.01)
C12Q 2600/158 (2013.01)
G01N 2800/04 (2013.01)
G01N 2800/085 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함하는, 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 대사성 질환은 비만, 제2형 당뇨, 이상지질혈증, 인슐린 저항성, 간 지방증(hepatic steatosis) 및 비알코올성 지방간(fatty liver)으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 대사성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 비알코올성 지방간은 고지방(high fat) 식이에 의해 유도되는 비알코올성 지방간인 것인, 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터는 재조합 바이러스 벡터, 플라스미드 벡터, 코스미드 벡터 및 박테리오파아지 벡터로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 재조합 바이러스는 아데노 바이러스, 아데노 부속 바이러스(adeno-associated virus), 레트로 바이러스, 헤르페스 심플렉스 바이러스 및 렌티바이러스로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 간에서 지방 생합성을 억제하는 것을 특징으로 하는, 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 인간을 제외한 동물에게 투여하여 간 내 지방 생합성을 억제시키는 방법.

청구항 8

AXL 유전자의 수준 또는 AXL 단백질의 수준을 측정하는 물질을 포함하는, 대사성 질환 진단용 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 대사성 질환은 고지방(high fat) 식이에 의해 유도되는 비알코올성 지방간인 것인, 대사성 질환 진단용 조성물.

청구항 10

제 8항에 있어서, 상기 AXL 유전자의 수준을 측정하는 물질은 AXL 유전자를 증폭시킬 수 있는 프라이머 또는 프로브인 것인, 대사성 질환 진단용 조성물.

청구항 11

제 8항에 있어서, 상기 AXL 단백질의 수준을 측정하는 물질은 AXL 단백질을 특이적으로 인식하는 항체인 것인,

대사성 질환 진단용 조성물.

청구항 12

다음의 단계를 포함하는 대사성 질환의 진단을 위한 정보제공방법:

생물학적 시료에 존재하는 AXL 유전자의 발현량 또는 단백질의 양을 측정하는 단계; 및

상기 측정 결과를 정상 대조군 시료의 AXL 유전자의 발현량 또는 단백질의 양과 비교하는 단계.

청구항 13

제 12항에 있어서, 상기 대사성 질환은 고지방(high fat) 식이에 의해 유도되는 비알코올성 지방간인 것인, 대사성 질환의 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 14

제 12항에 있어서, 상기 생물학적 시료는 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액 및 뇨로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 대사성 질환의 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 15

제 12항에 있어서, 상기 유전자의 발현 수준을 측정하는 방법은 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNaseprotection assay), 노던 블롯팅(Northern blotting) 및 DNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 방법인, 대사성 질환의 진단을 위한 정보제공방법.

청구항 16

제 12항에 있어서, 상기 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 방법은 웨스턴 블롯, ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트(rocket) 면역전기영동, 조직 면역 염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석(Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS) 및 단백질칩(protein chip)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 방법인, 대사성 질환의 진단을 위한 정보제공방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 AXL 단백질 또는 유전자를 유효성분으로 포함하는 지방간 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 지방간(steatosis, fatty liver)은 간세포 속에 지방이 축적된 상태를 말하며, 정상 간은 지방이 차지하는 비율은 5% 정도인데, 이보다 많은 지방이 축적된 상태를 지방간이라고 한다. 지방간이 악화되어 간세포 속의 지방 덩어리가 커지면 핵을 포함한 세포의 중요한 구성성분이 한쪽으로 밀려 간세포의 기능이 저하되며, 세포 내에 축적된 지방으로 인하여 팽창된 간세포들이 간세포 사이에 있는 미세 혈관과 임파선을 압박하여 간 내의 혈액과 임파액의 순환에 장애가 생기게 된다. 이렇게 되면 간세포는 산소와 영양공급을 적절히 받을 수 없어 간기능이 저하된다.

[0003] 지방간은 알코올성 지방간과 비알코올성 지방간으로 나눌 수 있다. 알코올성 지방간은 술이 원인이다. 술을 많이 마실수록 잘 발생하며, 지속적으로 술을 섭취하면 간에서 알코올을 대사하는 능력이 떨어져 지방간 발생이 더 심해진다. 또 영양상태가 나쁜 경우에도 잘 발생한다. 알코올성 지방간 중 일부는 알코올성 간염과 간경변으로 진행되어 사망할 수 있다.

[0004] 비알코올성 지방간은 술 또는 바이러스 감염과 상관없이 간 내 지방축적이 증가한 경우로(간세포의 5% 초과), 간에서 지방 합성 증가 및 배출의 문제로 발생한다. 유리지방산(fatty acid)의 투입(input)과 배출(output)의 불균형에 의해 유발되는 비알코올성 지방간 환자의 약 59%는 외부로부터 유리지방산의 흡수 증가에 의해 발생하

고, 약 26% 환자는 간 내 지방 생합성의 증가에 따른 유리지방산의 투입(input) 증가를 원인으로 유발되는 것으로 알려져 있다.

[0005] 지방간은 병의 원인과 심각성이 밝혀졌고, 식이 조절과 운동을 통하여 증상을 개선해야 하지만, 지방간 환자가 이를 실천하지 못하는 경우가 많다. 따라서 효과적인 지방간 치료 약물의 개발 필요성이 요구되고 있다.

[0006] 한편, AXL은 수용체 티로신 키나아제(receptor tyrosine kinase, RTX)로, 명칭은 '통제되지 않는'을 의미하는 그리스어에서 파생되었다. AXL 단백질은 세포 내 신호 전달, 세포 골격 기능 및 유전자 발현과 같은 생물학적 과정을 조절하며, 혈소판, 단핵구, 간, 해마 및 소뇌에서 발현되는 것으로 알려져 있으나, AXL의 지방간과의 관계, 대사와의 관계, 또는 이의 기전 등에 대해서는 알려진 바 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR 10-2018-0118384 A1

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 AXL 유전자 및 이의 기전에 대하여 연구하던 중, AXL의 발현이 억제된 동물 모델에서 고지방 식이 조건을 실시하는 경우 간 조직 내의 지방 합성과 관련된 유전자 발현이 증가한다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0009] 따라서, 본 발명의 목적은 AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 인간을 제외한 동물에게 투여하여 간 내 지방 생합성을 억제시키는 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상술한 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 대사성 질환의 치료방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 AXL 유전자의 수준 또는 AXL 단백질의 수준을 측정하는 물질을 포함하는 대사성 질환 진단용 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 AXL 유전자의 수준 또는 AXL 단백질의 수준을 측정하는 단계를 포함하는 대사성 질환의 진단을 위한 정보제공방법을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 개체 내 AXL의 발현 또는 활성 정도를 증가시키는 물질을 선별하는 단계를 포함하는 대사성 질환 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명자들은 AXL 유전자 및 이의 기전에 대하여 연구하던 중, AXL의 발현이 억제된 동물 모델에서 고지방 식이 조건을 실시하는 경우 간 조직 내의 지방 합성과 관련된 유전자 발현이 증가한다는 것을 확인하였다.

[0016] 따라서, 본 발명은 AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 AXL의 수준을 측정하는 제제를 포함하는 대사성 질환 진단용 조성물에 관한 것이다.

[0017] 이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0019] 본 발명의 일 양태는 AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 유효성분으로 포함하는, 대사성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0020] 본 발명에서 "예방"이란 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여에 의해 대사성 질환의 발병을 억제시키거나 발병을

지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0021] 본 발명에서 "치료"란 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여에 의해 대사성 질환에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0022] 본 발명의 조성물에 의한 예방, 치료 대상 질병인 대사성 질환은 비만, 제2형 당뇨, 이상지질혈증, 인슐린저항성, 간 지방증(hepatic steatosis) 및/또는 지방간(fatty liver), 구체적으로 비알코올성 지방간일 수 있고, 간 지방증 또는 비알코올성 지방간, 구체적으로 고지방(high fat) 식이에 의해 유도되는 비알코올성 지방간인 것이 보다 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

[0023] 본 발명의 조성물은 유전자 표적 치료의 일환으로서, AXL을 표적으로 하는 대사성 질환 치료제를 제공한다.

[0024] 상기 AXL 유전자는 수용체 티로신 키나아제(receptor tyrosine kinase, RTX)로, 명칭은 '통제되지 않는'을 의미하는 그리스어에서 파생되었다. AXL 단백질은 세포 내 신호 전달, 세포 골격 기능 및 유전자 발현과 같은 생물학적 과정을 조절하며, 혈소판, 단핵구, 간, 해마 및 소뇌에서 발현되는 것으로 알려져 있으나, AXL의 발현 또는 활성 촉진을 통한 지방간 치료에 대해서는 아직 보고된 바가 없다.

[0025] 상기 AXL 유전자의 뉴클레오티드 서열을 서열번호 1에 나타내었다. 또한, 상기 유전자는 뉴클레오티드 서열이 유전자 은행에 등록(Gene ID: BC058230.1)되어 있으므로 당업자라면 쉽게 입수가 가능할 것이다.

[0026] 상기 AXL 단백질의 아미노산 서열을 서열번호 2에 나타내었다.

[0027] 본 발명에 따른 AXL 단백질의 범위는 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 단백질 및 상기 단백질의 기능적 동등물을 포함한다. "기능적 동등물"이란 아미노산의 부가, 치환 또는 결실의 결과, 상기 서열번호 2의 아미노산 서열과 적어도 70% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 더 더욱 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 것으로, 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 단백질과 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 단백질을 말한다. "실질적으로 동질의 생리활성"이란 대사성 질환의 예방 또는 치료 활성을 의미한다.

[0028] 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터는 재조합 바이러스 벡터, 플라스미드 벡터, 코스미드 벡터 또는 박테리오파아지 벡터일 수 있으며, 바람직하게는 재조합 바이러스 벡터일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0029] 상기 재조합 바이러스는 아데노 바이러스, 아데노 부속 바이러스(adeno-associated virus), 레트로 바이러스, 헤르페스 심플렉스 바이러스 및/또는 렌티바이러스일 수 있으며, 바람직하게는 아데노 바이러스일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0030] 상기 AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 간에서 지방 생합성을 억제하는 효과가 있다.

[0031] 본 발명에 따른 약학 조성물은 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 이때, 약제학적으로 허용되는 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세 결정성셀룰로스, 폴리비닐피로리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필 히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0032] 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[0033] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효량은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0034] 본 발명에 따른 약학 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0035] 구체적으로 본 발명의 약학 조성물의 유효량은 환자의 연령, 성별, 상태, 체중, 체내에 활성 성분의 흡수도, 불활성율 및 배설속도, 질병종류, 병용되는 약물에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 1kg 당 0.001 내지 150mg, 바람직하게는 0.01 내지 100mg을 매일 또는 격일 투여하거나, 1일 1 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감 될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0037] 본 발명의 다른 일 양태는 AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 인간을 제외한 동물에게 투여하여 간 내 지방 생합성을 억제시키는 방법에 관한 것이다.

[0038] 본 발명의 방법은 상술한 AXL 단백질 또는 상기 AXL 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 이용하기 때문에, 상술한 내용과 중복된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.

[0040] 본 발명의 또 다른 일 양태는 상술한 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 대사성 질환의 치료방법에 관한 것이다.

[0041] 상기 "개체"란 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는, 인간 또는 비-인간인 영장류, 마우스(mouse), 개, 고양이, 말 및 소 등의 포유류를 의미한다.

[0043] 본 발명의 또 다른 일 양태는 AXL 유전자의 수준 또는 AXL 단백질의 수준을 측정하는 물질을 포함하는, 대사성 질환 진단용 조성물에 관한 것이다.

[0044] 본 발명에서 "진단"이란 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 병리 상태, 즉 대사성 질환의 존재 또는 특징을 확인하는 행위를 의미한다.

[0045] 본 발명에서 상기 AXL 유전자의 수준을 측정하는 물질은 AXL 유전자를 증폭할 수 있는 프라이머 또는 프로브일 수 있고, 상기 AXL 단백질의 수준을 측정하는 물질은 AXL 단백질을 특이적으로 인식하는 항체일 수 있으나, 유전자의 발현 또는 활성 수준을 측정할 수 있는 제제라면 제한 없이 포함될 수 있다.

[0046] 본 발명에서 "프라이머"는 짧은 자유 3말단 수산화기를 가지는 핵산 서열로 상보적인 주형(template)과 염기쌍을 형성할 수 있고 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 중합효소 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오사이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성을 개시할 수 있다.

[0047] 본 발명에서 "프로브"란 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧게는 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 표지(Labelling)되어 있어서 특정 mRNA의 존재 유무를 확인할 수 있다. 프로브는 올리고 뉴클레오티드 프로브, 단쇄 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 적당한 프로브의 선택 및 혼성화 조건은 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.

[0048] 본 발명에서 "항체"란 항원성 부위에 대해서 지시되는 특이적인 단백질 분자를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항체는 마커 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 다클론 항체, 단클론 항체 및 재조합 항체를 모두 포함한다.

[0049] 본 발명의 유전자는 핵산 서열이 유전자 은행에 등록되어 있으므로 당업자는 상기 서열을 바탕으로 이들 유전자의 특정 영역을 특이적으로 증폭하는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 쌍 또는 프로브를 디자인할 수 있다.

[0050] 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 또는 프로브는 포스포르아미다이트 고체 지지체 방법, 또는 기타 널리 공지된 방법을 사용하여 화학적으로 합성할 수 있다. 이러한 핵산 서열은 또한 당해 분야에 공지된 많은 수단을 이용하여 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 비-제한적인 예로는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오티드 하나 이상의 동족체로의 치환, 및 뉴클레오티드 간의 변형, 예를 들면, 하전되지 않은 연결체(예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체(예:

포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)로의 변형이 있다.

[0052] 본 발명의 또 다른 일 양태는 다음의 단계를 포함하는 대사성 질환의 진단을 위한 정보제공방법에 관한 것이다.

[0053] 생물학적 시료에 존재하는 AXL 유전자의 발현량 또는 단백질의 양을 측정하는 단계; 및

[0054] 상기 측정 결과를 정상 대조군 시료의 AXL 유전자의 발현량 또는 단백질의 양과 비교하는 단계.

[0055] 상기 AXL 유전자의 발현량 또는 단백질의 양이 정상 대조군의 AXL 유전자의 발현량 또는 단백질의 양과 비교하여 감소하는 경우 대사성 질환, 구체적으로 지방간이 진행된 것으로 판정할 수 있다.

[0056] 상기 방법은 포유류, 특히 인간을 대상으로 포함한다.

[0057] 구체적으로는, 상기 인간은 대사성 질환이 발병했을 것으로 의심되는 사람 또는 의심되지 않는 사람으로 대사성 질환 진단 여부가 필요한 사람을 포함한다.

[0058] 상기 "생물학적 시료"는 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액 및 뇨로 이루어질 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0059] 상기 시료는 검출에 사용하기 전에 전처리할 수 있으며, 예를 들어, 여과, 증류, 추출, 농축, 방해 성분의 불활성화, 시약의 첨가 등을 포함할 수 있다. 또한, 상기 시료로부터 핵산 및 단백질을 분리하여 검출에 사용할 수 있다.

[0060] 본 발명에서 "유전자 발현량 측정"이란 대사성 질환의 진행 여부를 확인하기 위하여 간 조직 세포에서 상기 유전자의 mRNA 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, mRNA의 양을 측정하여 이루어진다. 이를 위한 분석 방법으로는 예를 들어, 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RTPCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting), DNA 칩 등이 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0061] 본 발명에서 "단백질 발현량 측정"이란 대사성 질환의 진행 여부를 확인하기 위하여 간 조직 세포에서 본 발명의 유전자로부터 발현된 단백질의 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, 단백질의 양을 측정하여 이루어진다. 이를 위한 분석 방법으로는 웨스턴 블랏, ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석(Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS), 단백질 칩(protein chip) 등이 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0063] 본 발명의 또 다른 일 양태는 개체 내 AXL의 발현 또는 활성 정도를 증가시키는 물질을 선별하는 단계를 포함하는 대사성 질환 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

[0064] 상기 방법에서 개체 내 AXL의 발현 또는 활성 정도를 측정하고 대사성 질환 치료용 후보물질 투여 시, 상기 AXL의 발현 또는 활성 정도가 기존 대비 증가되는 경우 상기 후보물질은 대사성 질환 치료제로 이용될 수 있다.

[0065] 상기 방법은 개체에 대상 물질 처리 전에 개체 내 AXL의 발현 또는 활성 정도를 측정하고 처리 후에 이를 측정하여 비교할 수도 있고, 여러 개체 중 일부 개체에 대상 물질을 처리하여 비교군과 상기 발현 또는 활성 정도를 비교할 수도 있다.

[0066] 상기 AXL의 발현 또는 활성 정도를 측정하는 단계는 중합효소반응(PCR), 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블롯팅(Northern blotting), DNA 칩, 웨스턴 블롯팅(Western blotting), ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선 면역 분석(Radioimmunoassay, RIA), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트(rocket) 면역전기영동, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 단백질 칩, 및 *In vitro* kinase assay(IKKB)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 방법으로 측정할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0067] 상기 방법에서 개체에 대상 물질을 처리하는 방법은 특별히 한정되지 않으며, 예를 들면 개체로부터 얻어진 생

물학적 시료에 처리할 수 있다. 생물학적 시료는 전술한 바의 시료일 수 있다.

[0068] 상기 "대상 물질"은 본 발명의 AXL의 발현 또는 활성 정도에 영향을 미치는지 여부를 검사하기 위하여 스크리닝에서 이용되는 미지의 물질을 의미한다. 상기 대상 물질은 화학물질, 뉴클레오타이드, 안티센스-RNA, siRNA(small interference RNA) 및 천연물 추출물을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0069] 본 발명은 지방간 예방 또는 치료용 조성물, 진단용 조성물, 진단을 위한 정보제공방법에 관한 것이다. 본 발명의 마커인 AXL의 발현 및 활성을 조절하여 지방간 치료제 개발에 유용하게 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0070] 도 1a 내지 1c는 본 발명의 일 실시예에 따라, 고지방 식이(HFD) 또는 일반 식이(NCD) 급이 시 AXL 녹아웃(knockout)이 마우스의 크기(도 1a), 체중(도 1b) 및 음식 섭취량(도 1c)에 미치는 영향을 확인한 도이다. WT (n=6), AXL KO (n=7)

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따라, 고지방 식이(HFD) 또는 일반 식이(NCD) 급이 시 AXL 녹아웃(knockout)이 마우스의 간의 크기 및 질량에 미치는 영향을 확인한 도이다. WT (n=6), AXL KO (n=7)

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라, 고지방 식이(HFD) 또는 일반 식이(NCD) 급이 시 AXL 녹아웃(knockout)이 마우스의 피하 백색 지방조직의 크기 및 질량에 미치는 영향을 확인한 도이다. WT (n=6), AXL KO (n=7)

도 4a 내지 4c는 본 발명의 일 실시예에 따라, 고지방 식이(HFD) 급이 시 AXL 녹아웃(knockout)이 마우스의 포도당 내성(도 4a), 인슐린 내성(도 4b) 및 공복 혈당/혈청 인슐린 수준(도 4c)에 미치는 영향을 확인한 도이다. WT (n=6), AXL KO (n=7)

도 5a 및 5b는 본 발명의 일 실시예에 따라, 고지방 식이(HFD) 급이 시 AXL 녹아웃(knockout)이 마우스의 간(도 5a) 및 피하 백색 지방조직(도 5b)의 지방 생합성 관련 단백질(ACC, FAS, PPARr 및 SREBP1c) 수준에 미치는 영향을 확인한 도이다. WT (n=6), AXL KO (n=7)

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0071] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0072] GraphPad Prism을 통계 분석에 사용하였으며, 실험의 결과는 최소 3개의 개별 실험으로부터 얻은 Mean±Standard error로 표기하였다. 그룹 간의 차이는 Tukey 사후 테스트를 통해 ANOVA로 분석되었으며, 데이터 쌍의 비교는 Student's t-test로 하였다. p 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다. 실험 결과의 정량 분석은 Image J 소프트웨어(버전 1.47)를 사용하여 수행되었다.

[0074] **실시예 1. 고지방 식이 *Axl* 녹아웃 마우스의 비만 및/또는 간 지방증 발병 가능성 확인**

[0075] Axl 야생형(wild type, WT) 마우스 및 Axl 녹아웃(knockout, KO)($Axl^{-/-}$) 마우스(C57BL/6)는 고려대학교(Korea university) 전태훈 교수 랩에서 제공받아 사용하였다. 마우스는 통제된 환경(12/12h 명/암 사이클; 습도 50-60%; 주변 온도 22 ℃에 수용되었다. 모든 마우스 실험은 기관 지침에 따른 시설에서 수행되었으며, 실험 프로토콜은 한국생명공학연구원 및 충남대학교 기관심사위원회의 승인을 받았다.

[0076] 먼저, 7주령 WT 및 Axl KO 마우스(C57BL/6)에 대하여, 60%의 칼로리가 지방으로 구성된 고지방 식이(high fat diet, HFD)(D12492; Research Diets, USA) 또는 일반 식이(normal chow diet, NCD)를 급이하고, 급이 13주(NCD) 또는 17주(HFD) 차의 크기(도 1a), 체중 변화(도 1b) 및 음식 섭취량(도 1c)을 확인하였다.

[0077] 다음으로, 상기의 고지방 식이(HFD) 또는 일반 식이(NCD)를 급이한 마우스를 급이 17주 차에 희생시키고, 간(도 2) 및 피하 백색 지방조직(Subcutaneous white adipose tissue, sWAT)(도 3)의 크기 및 질량을 확인하였다.

[0079] 도 1a 내지 1c에서 확인할 수 있듯이, 일반 식이(NCD)를 먹인 Axl KO 마우스는 동일한 식이를 먹인 WT 마우스(littermates)와 비교하여 유사한 체중을 나타내었다. 반면, 고지방 식이(HFD)를 먹인 Axl KO 마우스의 경우 음식 섭취량에는 차이가 없었으나, 크기와 체중은 유의하게 증가하였다.

[0080] 또한, 도 2 및 3에서 확인할 수 있듯이, 일반 식이(NCD)를 먹인 Axl KO 마우스에서는 아무 변화가 없었으나, 고지방 식이(HFD)를 먹인 Axl KO 마우스의 경우 간 및 sWAT 질량이 모두 유의하게 증가하였다.

[0082] **실시예 2. 고지방 식이 *Axl* 녹아웃 마우스의 포도당 내성(GTT) 및 인슐린 내성(ITT) 평가**

[0083] [Glucose tolerance test (GTT)]

[0084] 4주령 WT 및 Axl KO 마우스(C57BL/6)에 대하여, 60%의 칼로리가 지방으로 구성된 고지방 식이(HFD)(D12492)를 16주 동안 급이한 후, 16 시간 동안 금식시키고 공복 혈당(fasting glucose level)을 측정하였다. 그 다음, 복강 내 포도당(1g/kg body weight)을 투여하고 일정 시간마다(15, 30, 45 및 60 분) 혈당을 측정하였다.

[0085] [Insulin tolerance test (ITT)]

[0086] 4주령 WT 및 Axl KO 마우스(C57BL/6)에 대하여, 60%의 칼로리가 지방으로 구성된 고지방 식이(HFD)(D12492)를 16주 동안 급이한 후, 16 시간 동안 금식시키고 공복 혈당(fasting glucose level)을 측정하였다. 그 다음, 복강 내 인슐린(0.75 unit/kg body weight; 91077C; Sigma-Aldrich)을 투여하고 일정 시간마다(15, 30, 45 및 60 분) 혈당을 측정하였다.

[0088] 도 4a 내지 4c에서 확인할 수 있듯이, 고지방 식이(HFD)를 먹인 Axl KO 마우스의 경우 WT 마우스에 비하여 포도당 내성 및 인슐린 내성이 모두 유의하게 손상되었으며(도 4a 및 4b), 또한 Axl KO 마우스의 공복 혈당 및 혈청 인슐린 수준은 WT 마우스(littermates)와 비교하여 유의하게 더 높은 것으로 나타났다(도 4c).

[0090] **실시예 3. 고지방 식이 *Axl* 녹아웃 마우스의 지방 생합성 관련 단백질의 변화 확인**

[0091] 7주령 WT 및 Axl KO 마우스(C57BL/6)에 대하여, 60%의 칼로리가 지방으로 구성된 고지방 식이(HFD)(D12492)를 급이하고, 급이 26주 차에 희생시켰다.

[0092] 먼저, 간 및 피하 백색 지방조직(sWAT) 내 ACC, FAS, PPARr 및 SREBP1c의 단백질 발현량을 웨스턴 블랏을 이용하여 확인하였다. 1차 항체로서 항-pACC(S79), 항-ACC, 항-FAS, 항-PPARγ, 항-SREBP1c 항체 또는 항-GAPDH 항체를 사용하였고, 2차 항체로서 HRP 접합 항-마우스 IgG 항체를 사용하였다. 단백질의 발현을 비교하기 위한 대조군으로는 GAPDH를 대상으로 선정하였다. 이때, 항-pACC(S79), 항-ACC, 항-FAS 및 항-GAPDH 항체는 Cell Signaling Technology(USA)에서, 항-PPARγ 및 항-SREBP1c 항체는 Santa Cruz Biotechnology(USA)에서 입수하였으며, HRP 접합 항-마우스 IgG 항체는 Koma biotech(Korea)로부터 입수하였다.

[0093] 다음으로, 간 및 피하 백색 지방조직(sWAT)을 수집하여 4 ℃에서 밤새 4 % 파라포름알데하이드에 고정하였다. 고정된 샘플을 파라핀에 삽입하고, 5 m 섹션으로 절단한 후 슬라이드에 장착하여 유사한 인접 섹션이 있는 일련의 6개 슬라이드를 제작하였다. 각 시리즈의 한 슬라이드는 H&E(hematoxylin & eosin) 염색하였다.

[0095] 도 5a 및 5b에서 확인할 수 있듯이, 고지방 식이(HFD)를 먹인 Axl KO 마우스에서 지방 생합성 관련 단백질(ACC, FAS, PPARr 및 SREBP1c) 수준이 증가하였다. 또한, H&E 염색 결과 sWAT 지방세포의 크기 및 간 지방증이 Axl WT 마우스에 비하여 Axl KO 마우스에서 더 많이 유도되었음을 알 수 있었다.

[0097] [서열목록]

[0098] <110> The Industry & Academic Cooperation in Chungnam National University (IAC)

[0099] <120> Composition for preventing and treating fatty liver comprising AXL

[0100] <130> P2021-0290

[0101] <160> 2

[0102] <170> KoPatentIn 3.0

[0104] <210> 1

[0105] <211> 4200

[0106] <212> DNA

[0107] <213> AXL

[0109] <400> 1

[0110] ggaggagttg agccagccga ggggctcccg ctgtgccagg cgggcagtgc caaatcccag 60

[0111] gagccctgcc ccctttccta gcgaggtgcc catcaacttc ggaagaaagt ttggcatcaa 120

[0112] tctgagctgt tggtgtctgg aggatgggca gggtcccgct ggcctggtgg ttggcgctgt 180

[0113] gctgctgggg gtgtgcagcc cataaggaca cacagaccga ggctggcagc ccgtttgtgg 240

[0114] ggaacccagg gaatatcaca ggtgccagag gactcacggg gacacttcgg tgtgagctcc 300

[0115] aggttcaggg ggaacccccc gaggtggtgt ggcttcgaga tggacagatc ctagaactgg 360

[0116] ctgataacac ccagacccag gtgcctctgg gcgaagactg gcaagatgaa tggaaagttg 420

[0117] tcagtcagct cagaatctca gccctgcaac tttcagatgc aggggagtac cagtgtatgg 480

[0118] tgcatctaga aggacggacc tttgtgtctc agccgggctt tgtagggctg gaaggtctcc 540

[0119] cgtacttcct ggaggagcct gaggacaaag ctgtgcctgc caacacccct ttcaacctaa 600

[0120] gctgccaggc ccagggaccc ccggaacccg tgaccctact ctggcttcaa gatgctgtcc 660

[0121] ccctggcccc agtcacagga cacagctccc agcacagtct gcaaactcca ggcctgaaca 720

[0122] agacatcttc tttctcatgt gaagcccaca atgccaaggg agtcaccacc tcccgcacag 780

[0123] ccaccatcac agtgctcccc cagaggcctc accatctcca cgtggtttcc agacaaccta 840

[0124] cggagctaga ggtagcttgg acccctggcc tgagtggcat ctacccgctc acccactgca 900

[0125] acctgcaggc cgtgctgtca gacgatgggg tgggtatctg gctgggaaag tcagatcctc 960

[0126] ctgaagaccc cctcaccttg caagtatcag tgccccccca ccagcttcgg ctggaaaagc 1020

[0127] tccttcctca caccccgtat cacatccgga tatcctgcag cagcagccag ggcccctcac 1080

[0128] cttggaccca ctggcttcct gtggagacca cagagggagt gcccttgggt ccccctgaga 1140

[0129] acgttagcgc catgcggaat gggagccagg tcctcgtgcg ttggcaggag ccaagggtgc 1200

[0130] ccctgcaagg caccctgtta gggtaccggc tggcatatcg aggccaggac acccccgagg 1260

[0131] tacttatgga tatagggcta actcgagagg tgaccttgga actgcggggg gacaggcctg 1320

[0132] tggctaacct gactgtgtct gtgacagcct atacctcggc tggggatggg ccctggagcc 1380

[0133] ttcctgtgcc cctagagccc tggcgcccag tgagtgaacc cccacctcgc gccttctcgt 1440

[0134] ggccttggtg gtatgtactg ctgggagcac ttgtggctgc cgcctgcgtc ctcatcttgg 1500

[0135] ccctgttcct tgtccatcgg aggaagaagg agactcgata tggggaggtg tttgagccaa 1560

[0136] ccgtggaaag aggtgaactg gtagtcaggt accgtgtccg aaagtcctac agccggcgga 1620

[0137] ccactgaagc caccttgaac agtctgggca tcagtgaaga gctgaaggag aaactacgag 1680

[0138] acgtcatggt agatcggcat aaggtggcct tggggaagac cctgggagaa ggagaatttg 1740

[0139] gcgctgtgat ggaaggtcag ctcaatcagg atgactccat cctcaaggtc gctgtgaaga 1800

[0140] ccatgaaaat tgccatctgc acaagatcag agctggagga tttcctgagt gaagctgtct 1860

[0141] gcatgaagga atttgaccac cccaacgtca tgaggctcat tggcgtctgt tttcagggct 1920

[0142] ctgacagaga gggtttccca gaacctgtgg tcatcttgcc tttcatgaaa cacggagacc 1980

[0143] tacacagttt cctcctgtac tcccggctcg gggaccagcc agtgttcctg cccactcaga 2040

[0144] tgctagtgaa gttcatggcc gacattgcca gtggtatgga gtacctgagt accaagagat 2100

[0145] tcatacatcg ggacctggct gccaggaact gcatgctgaa tgagaacatg tccgtgtgtg 2160

[0146] tggcagactt cgggctctcc aagaagatct acaacgggga ttactaccgc caagggcgca 2220

[0147] ttgccaagat gccagtcaag tggattgcta ttgagagtct ggcagatcgg gtctacacca 2280

[0148] gcaagagcga tgtgtggtcc ttcggtgtga caatgtggga gatcgccacc cgaggccaaa 2340

[0149] ctccctatcc aggggtggag aacagtgaga tttacgacta cctgcgtcaa ggaaatcggc 2400

[0150] tgaaacagcc tgtggactgt ctggacggcc tgtatgccct gatgtctcgg tgctgggaac 2460

[0151] tgaaccctcg agaccggcca agttttgcgg agctccggga agacttggag aacacactga 2520

[0152] aggctctgcc ccctgctcag gagccagatg aaatcctcta tgtcaacatg gatgagggcg 2580

[0153] gaagccacct tgaaccccgt ggggctgctg gaggagctga ccccccaacc caacctgatc 2640

[0154] ctaaggattc ctgtagctgt ctcactgcag ctgacgtcca ctcagctgga cgctatgtcc 2700

[0155] tttgtccttc tacagcccca ggacccactc tgtctgctga cagaggctgc ccagcacctc 2760

[0156] cagggcagga ggacggagcc tgagacaatc ttccacctgg gacatcctct caggacccaa 2820

[0157] gctaggcact gccactgggg gaaagctcac ccccccactc cgtcactcca ggccttctcc 2880

[0158] ccagatgcag aatggccttc cctcccttct cagatgcagt ccatgcctta tgcaccctat 2940

[0159] ccataacagt ttcaagggat cgtctcacat cttccatccc agcgttctag attttaaggt 3000

[0160] ttgagtttag agttcaaagt tctcaaagat gatgagtctt tggaccgaga tgcttgtttc 3060

[0161] taggtctgca gcgctgttgc tatagacagg cccactgctc gaaggctctg agattctatg 3120

[0162] gctctagatt tttctggctc tataattcgt ggcaatgctc ccatggtttt aggttgcacg 3180

[0163] actctgagat tccaggacct aaggcttcta gactttattt ttctggagcc aggggtcctg 3240

[0164] tcagtggaag attgtagatt tttaaattct aaagattcta ggcatgaagg ttctaaggca 3300

[0165] tactgcttct ccagtttaac agtttagggc tcatgttgga atactccaga tcataatgtt 3360

[0166] tcaaactttt attttttta atttctaaga ccccagtgat ggtcaactac agattctgaa 3420

[0167] gccttatgac catagattct tttatataaa aatcctgtat ctcaaggaaa tatgattcta 3480

[0168] gactctgaaa ttccaaagct ttaagagtct ccagatggag tttctaagct atgatgtggt 3540

[0169] gataatctaa agtttagtcc aaggttctag attcctaagc ttccacgtca tctgctccca 3600

[0170] ggattccaga ttattaaact ctaaaactct aatgttggcc tgatcttcgt ctcaggccct 3660

[0171] gtaggatgct gtgggtcctc agcatctaag tcacaagagg ctccagttaa cgaggactaa 3720

[0172] tgagacacca aagttctaac cacttctaat gctggacacc tctaggttct atgctgcttt 3780

[0173] ttgcctttct agcacataat taaatgccca agaatacata tgtctaaaga tcttaaatct 3840

[0174] ctaagcacta tggagccaat gttttgagtg tctgagattc taaaggtcca cagtctagag 3900

[0175] tattaggtac gactccaagg gtgggcgctt gtagccatcc taagtccttt ccctccttaa 3960

[0176] gcacctatgc tcctcctctc cttgtgtggg gtacacccca ccttaagcct gtgcgatgca 4020

[0177] ctgggaatgc ctgctttcct ccaagggatg ggtcatctcc cctcatttgg ggccatgttg 4080

[0178] ccccttgagc cagtccccta tgcctgttct gaagtgtgga ctctggtgcc tccagagagg 4140

[0179] ctcagatcac ataaaacttt tgtcagtcac taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

[0181] <210> 2

[0182] <211> 888

[0183] <212> PRT

[0184] <213> AXL

[0186] <400> 2

[0187] Met Gly Arg Val Pro Leu Ala Trp Trp Leu Ala Leu Cys Cys Trp Gly

[0188] 1 5 10 15

[0189] Cys Ala Ala His Lys Asp Thr Gln Thr Glu Ala Gly Ser Pro Phe Val

[0190] 20 25 30

[0191] Gly Asn Pro Gly Asn Ile Thr Gly Ala Arg Gly Leu Thr Gly Thr Leu

[0192] 35 40 45

[0193] Arg Cys Glu Leu Gln Val Gln Gly Glu Pro Pro Glu Val Val Trp Leu

[0194] 50 55 60

[0195] Arg Asp Gly Gln Ile Leu Glu Leu Ala Asp Asn Thr Gln Thr Gln Val

[0196] 65 70 75 80

[0197] Pro Leu Gly Glu Asp Trp Gln Asp Glu Trp Lys Val Val Ser Gln Leu

[0198] 85 90 95

[0199] Arg Ile Ser Ala Leu Gln Leu Ser Asp Ala Gly Glu Tyr Gln Cys Met

[0200] 100 105 110

[0201] Val His Leu Glu Gly Arg Thr Phe Val Ser Gln Pro Gly Phe Val Gly

[0202] 115 120 125

[0203] Leu Glu Gly Leu Pro Tyr Phe Leu Glu Glu Pro Glu Asp Lys Ala Val

[0204] 130 135 140

[0205] Pro Ala Asn Thr Pro Phe Asn Leu Ser Cys Gln Ala Gln Gly Pro Pro

[0206] 145 150 155 160

[0207] Glu Pro Val Thr Leu Leu Trp Leu Gln Asp Ala Val Pro Leu Ala Pro

[0208] 165 170 175

[0209] Val Thr Gly His Ser Ser Gln His Ser Leu Gln Thr Pro Gly Leu Asn

[0210] 180 185 190

[0211] Lys Thr Ser Ser Phe Ser Cys Glu Ala His Asn Ala Lys Gly Val Thr

[0212] 195 200 205

[0213] Thr Ser Arg Thr Ala Thr Ile Thr Val Leu Pro Gln Arg Pro His His

[0214] 210 215 220

[0215] Leu His Val Val Ser Arg Gln Pro Thr Glu Leu Glu Val Ala Trp Thr

[0216] 225 230 235 240

[0217] Pro Gly Leu Ser Gly Ile Tyr Pro Leu Thr His Cys Asn Leu Gln Ala

[0218] 245 250 255

[0219] Val Leu Ser Asp Asp Gly Val Gly Ile Trp Leu Gly Lys Ser Asp Pro

[0220] 260 265 270

[0221] Pro Glu Asp Pro Leu Thr Leu Gln Val Ser Val Pro Pro His Gln Leu

[0222] 275 280 285

[0223] Arg Leu Glu Lys Leu Leu Pro His Thr Pro Tyr His Ile Arg Ile Ser

[0224] 290 295 300

[0225] Cys Ser Ser Ser Gln Gly Pro Ser Pro Trp Thr His Trp Leu Pro Val

[0226] 305 310 315 320

[0227] Glu Thr Thr Glu Gly Val Pro Leu Gly Pro Pro Glu Asn Val Ser Ala

[0228] 325 330 335

[0229] Met Arg Asn Gly Ser Gln Val Leu Val Arg Trp Gln Glu Pro Arg Val

[0230] 340 345 350

[0231] Pro Leu Gln Gly Thr Leu Leu Gly Tyr Arg Leu Ala Tyr Arg Gly Gln

[0232] 355 360 365

[0233] Asp Thr Pro Glu Val Leu Met Asp Ile Gly Leu Thr Arg Glu Val Thr

[0234] 370 375 380

[0235] Leu Glu Leu Arg Gly Asp Arg Pro Val Ala Asn Leu Thr Val Ser Val

[0236] 385 390 395 400

[0237] Thr Ala Tyr Thr Ser Ala Gly Asp Gly Pro Trp Ser Leu Pro Val Pro

[0238] 405 410 415

[0239] Leu Glu Pro Trp Arg Pro Gly Gln Gly Gln Pro Leu His His Leu Val

[0240] 420 425 430

[0241] Ser Glu Pro Pro Pro Arg Ala Phe Ser Trp Pro Trp Trp Tyr Val Leu

[0242] 435 440 445

[0243] Leu Gly Ala Leu Val Ala Ala Ala Cys Val Leu Ile Leu Ala Leu Phe

[0244] 450 455 460

[0245] Leu Val His Arg Arg Lys Lys Glu Thr Arg Tyr Gly Glu Val Phe Glu

[0246] 465 470 475 480

[0247] Pro Thr Val Glu Arg Gly Glu Leu Val Val Arg Tyr Arg Val Arg Lys

[0248] 485 490 495

[0249] Ser Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Glu Ala Thr Leu Asn Ser Leu Gly Ile

[0250] 500 505 510

[0251] Ser Glu Glu Leu Lys Glu Lys Leu Arg Asp Val Met Val Asp Arg His

[0252] 515 520 525

[0253] Lys Val Ala Leu Gly Lys Thr Leu Gly Glu Gly Glu Phe Gly Ala Val

[0254] 530 535 540

[0255] Met Glu Gly Gln Leu Asn Gln Asp Asp Ser Ile Leu Lys Val Ala Val

[0256] 545 550 555 560

[0257] Lys Thr Met Lys Ile Ala Ile Cys Thr Arg Ser Glu Leu Glu Asp Phe

[0258] 565 570 575

[0259] Leu Ser Glu Ala Val Cys Met Lys Glu Phe Asp His Pro Asn Val Met

[0260] 580 585 590

[0261] Arg Leu Ile Gly Val Cys Phe Gln Gly Ser Asp Arg Glu Gly Phe Pro

[0262] 595 600 605

[0263] Glu Pro Val Val Ile Leu Pro Phe Met Lys His Gly Asp Leu His Ser

[0264] 610 615 620

[0265] Phe Leu Leu Tyr Ser Arg Leu Gly Asp Gln Pro Val Phe Leu Pro Thr

[0266] 625 630 635 640

[0267] Gln Met Leu Val Lys Phe Met Ala Asp Ile Ala Ser Gly Met Glu Tyr

[0268] 645 650 655

[0269] Leu Ser Thr Lys Arg Phe Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys

[0270] 660 665 670

[0271] Met Leu Asn Glu Asn Met Ser Val Cys Val Ala Asp Phe Gly Leu Ser

[0272] 675 680 685

[0273] Lys Lys Ile Tyr Asn Gly Asp Tyr Tyr Arg Gln Gly Arg Ile Ala Lys

[0274] 690 695 700

[0275] Met Pro Val Lys Trp Ile Ala Ile Glu Ser Leu Ala Asp Arg Val Tyr

[0276] 705 710 715 720

[0277] Thr Ser Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Thr Met Trp Glu Ile

[0278] 725 730 735

[0279] Ala Thr Arg Gly Gln Thr Pro Tyr Pro Gly Val Glu Asn Ser Glu Ile

[0280] 740 745 750

[0281] Tyr Asp Tyr Leu Arg Gln Gly Asn Arg Leu Lys Gln Pro Val Asp Cys

[0282] 755 760 765

[0283] Leu Asp Gly Leu Tyr Ala Leu Met Ser Arg Cys Trp Glu Leu Asn Pro

[0284] 770 775 780

[0285] Arg Asp Arg Pro Ser Phe Ala Glu Leu Arg Glu Asp Leu Glu Asn Thr

[0286] 785 790 795 800

[0287] Leu Lys Ala Leu Pro Pro Ala Gln Glu Pro Asp Glu Ile Leu Tyr Val

[0288] 805 810 815

[0289] Asn Met Asp Glu Gly Gly Ser His Leu Glu Pro Arg Gly Ala Ala Gly

[0290] 820 825 830

[0291] Gly Ala Asp Pro Pro Thr Gln Pro Asp Pro Lys Asp Ser Cys Ser Cys

[0292] 835 840 845

[0293] Leu Thr Ala Ala Asp Val His Ser Ala Gly Arg Tyr Val Leu Cys Pro

[0294] 850 855 860

[0295] Ser Thr Ala Pro Gly Pro Thr Leu Ser Ala Asp Arg Gly Cys Pro Ala

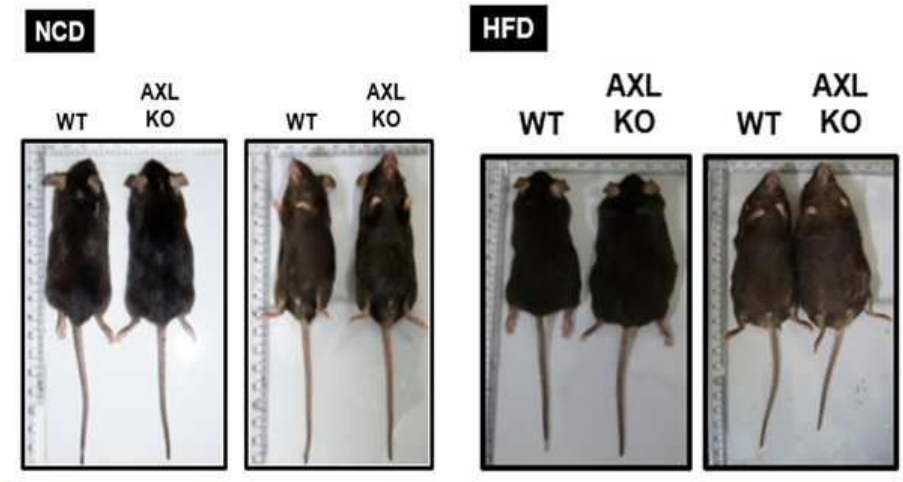
[0296] 865 870 875 880

[0297] Pro Pro Gly Gln Glu Asp Gly Ala

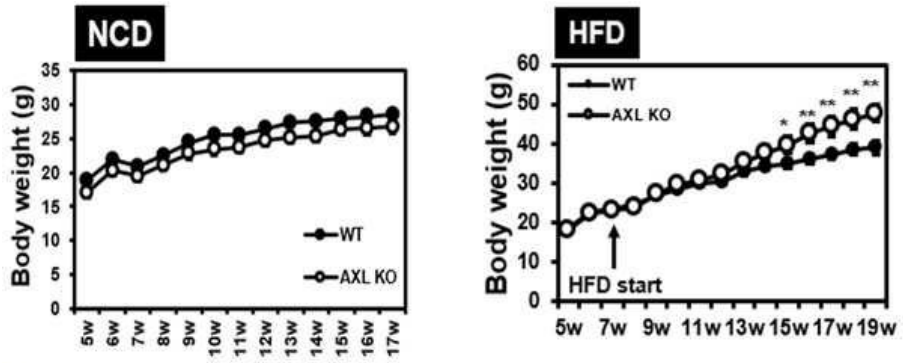
[0298] 885

도면

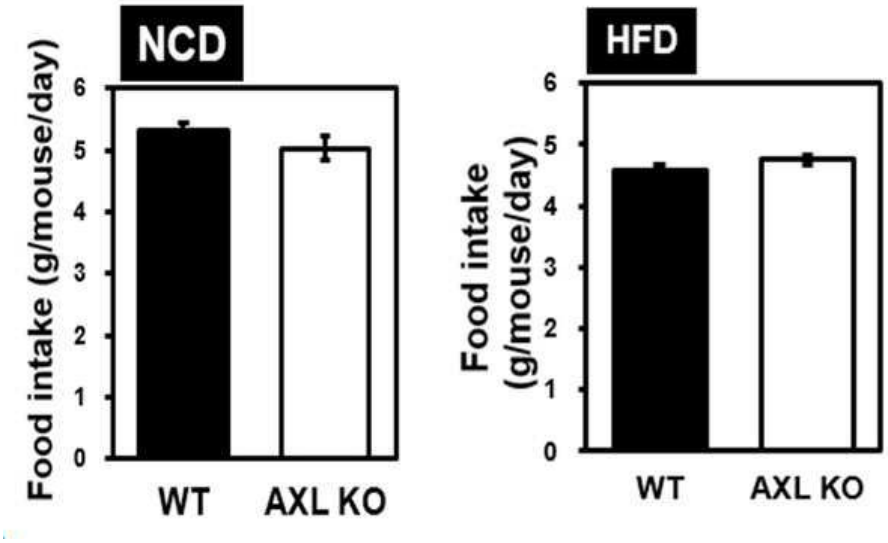
도면1a



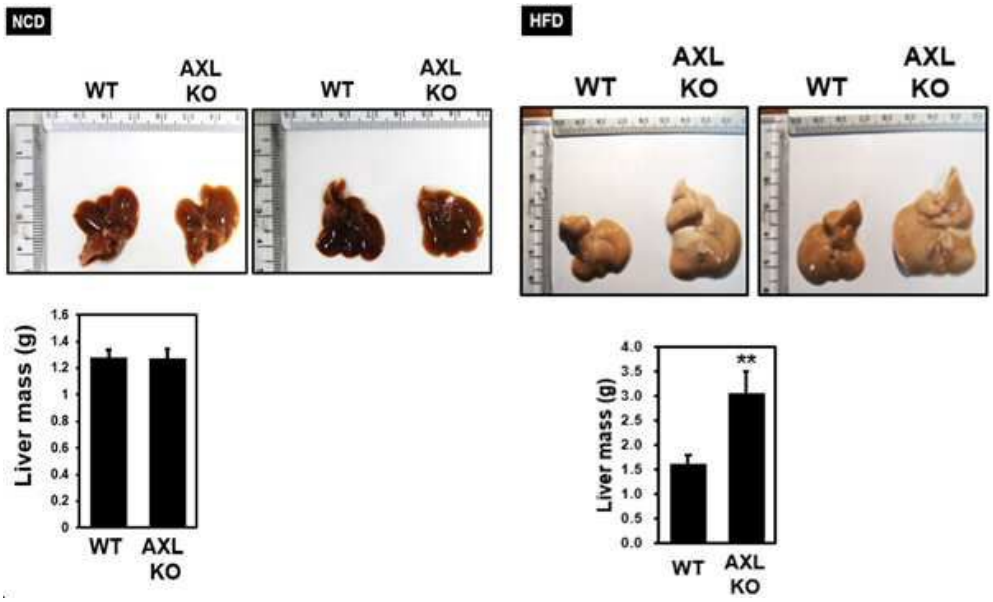
도면1b



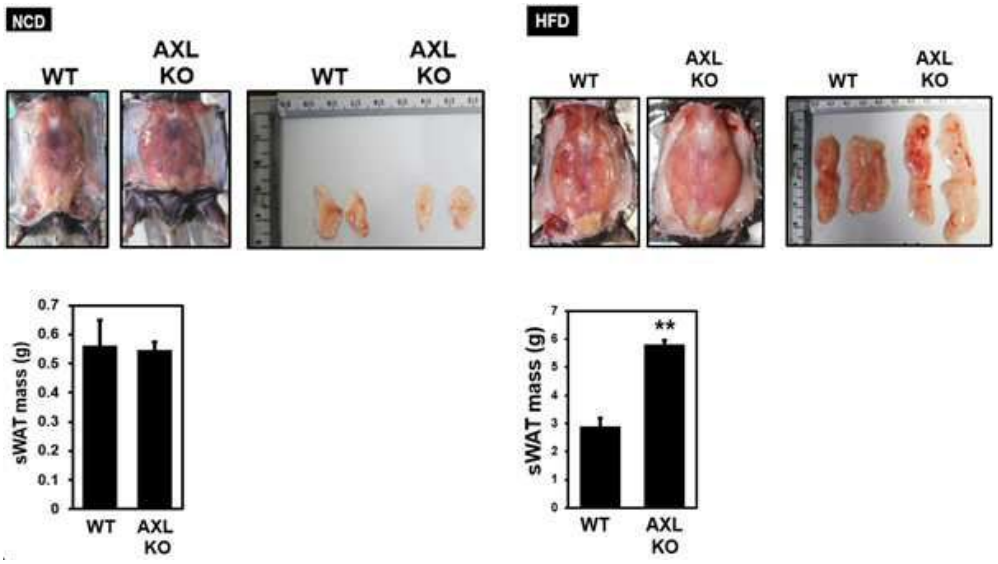
도면1c



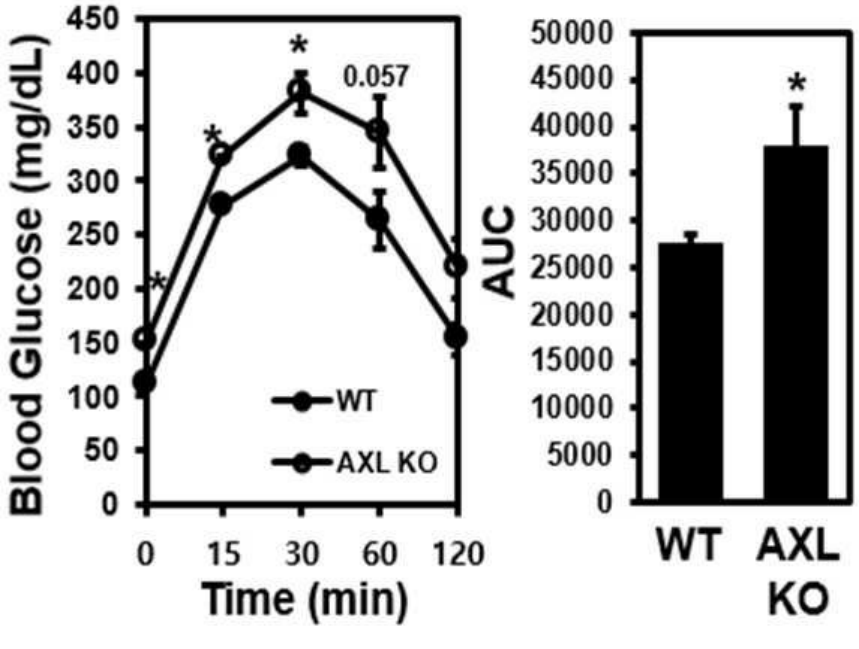
도면2



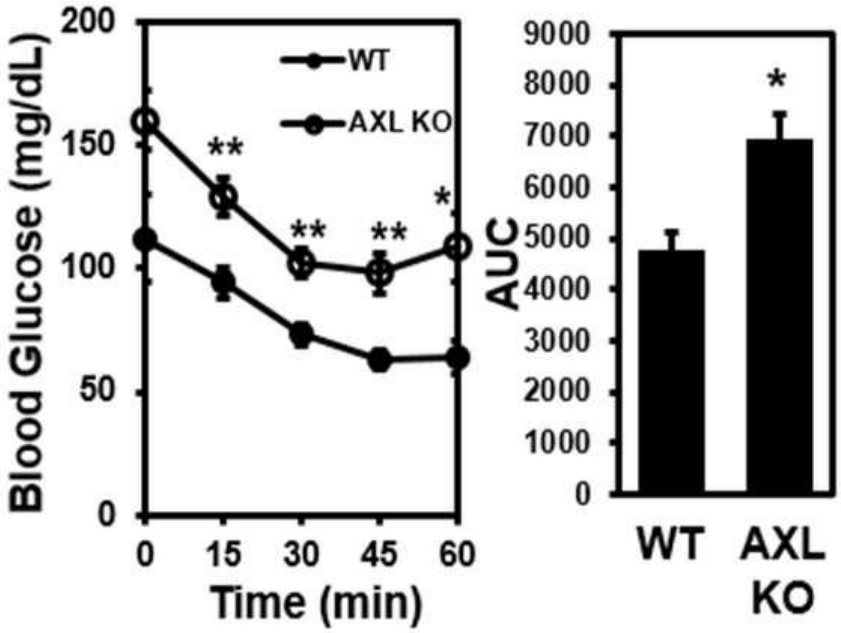
도면3


NCD
HFD
WT
AXL KO
sWAT mass (g)
**

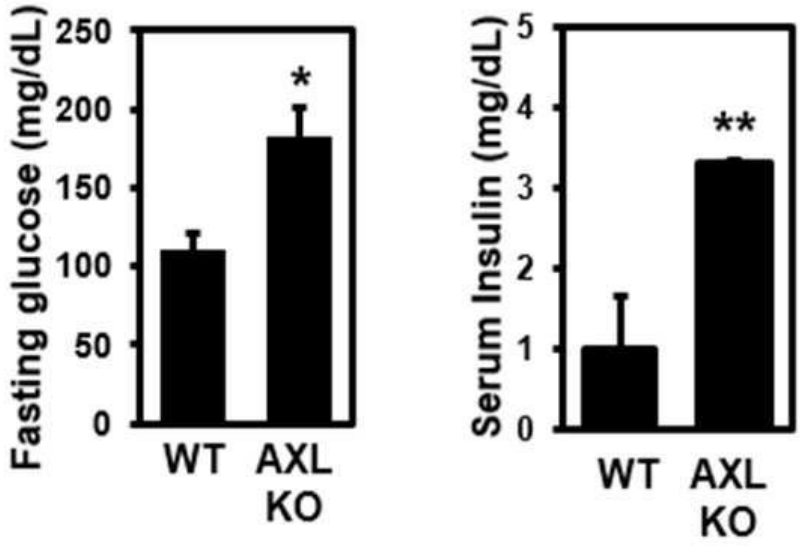
도면4a


Blood Glucose (mg/dL)
Time (min)
0.057
WT
AXL KO
AUC

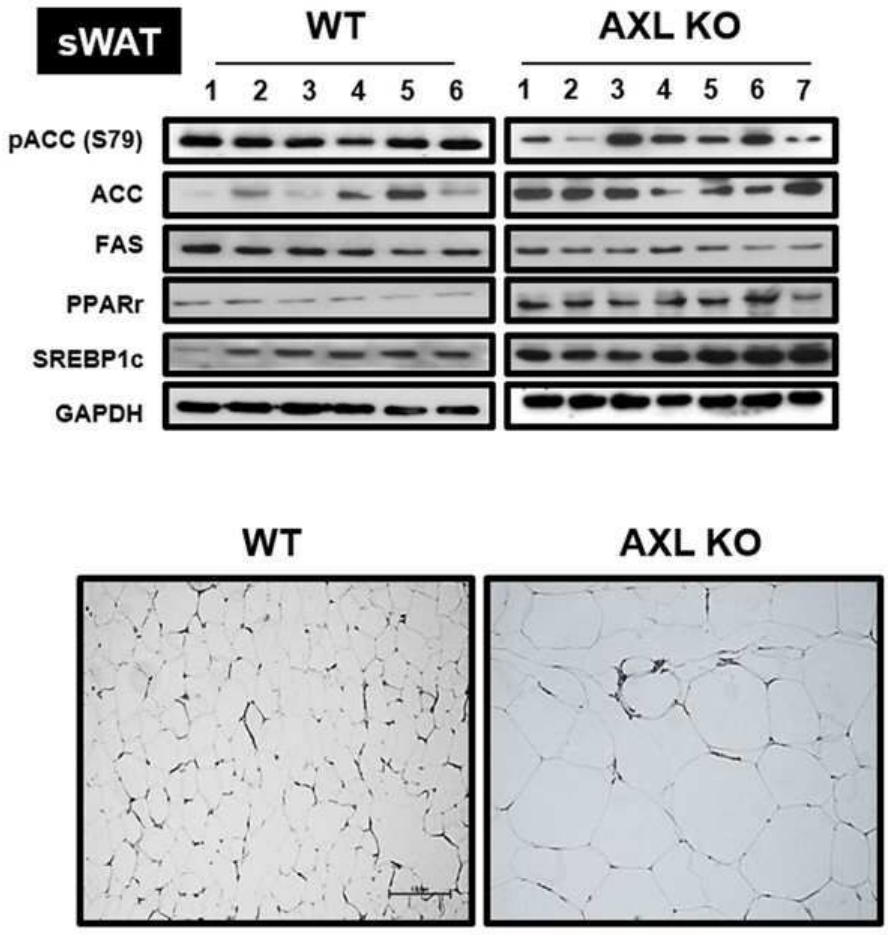
도면4b


Blood Glucose (mg/dL)
200
150
100
50
0
WT
AXL KO
**
**
**
*
0
15
30
45
60
Time (min)
AUC
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
*
WT
AXL KO

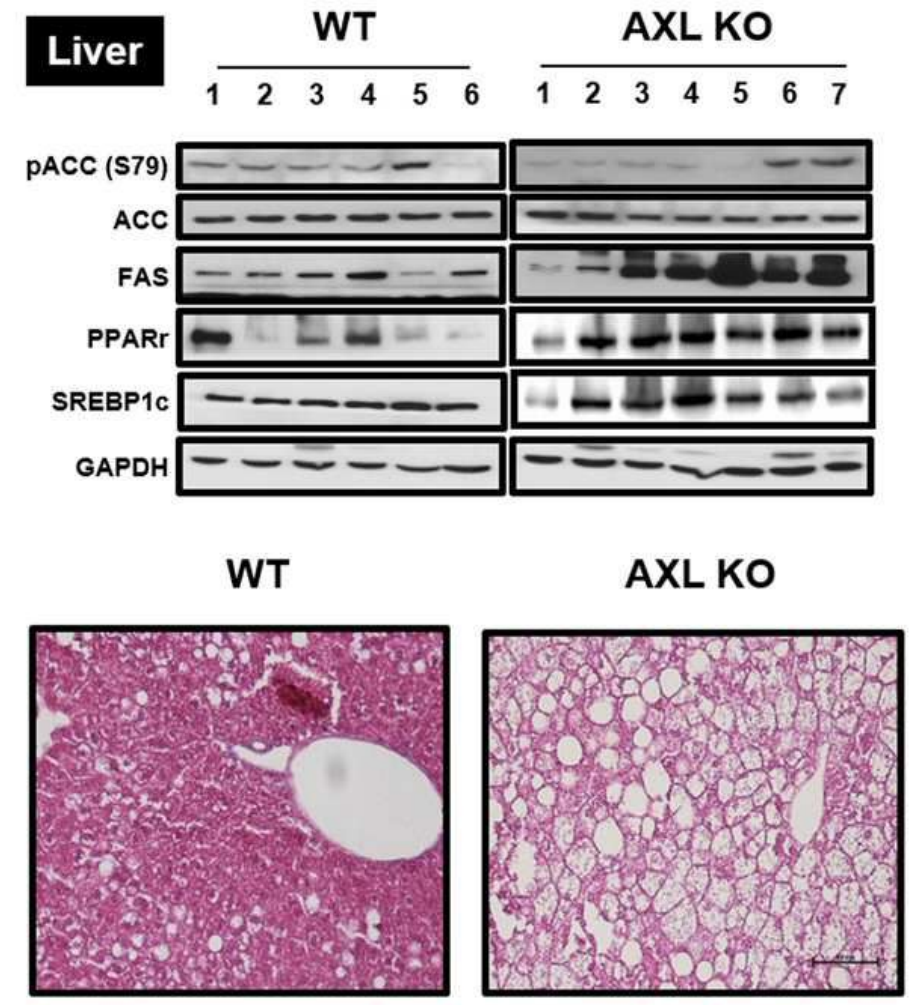
도면4c


Fasting glucose (mg/dL)
250
200
150
100
50
0
*
WT
AXL KO
Serum Insulin (mg/dL)
5
4
3
2
1
0
**
WT
AXL KO

도면5a


sWAT
WT
AXL KO
1 2 3 4 5 6
1 2 3 4 5 6 7
pACC (S79)
ACC
FAS
PPARr
SREBP1c
GAPDH
WT
AXL KO

도면5b



서 열 목 록

<110> The Industry & Academic Cooperation in Chungnam National University (IAC)

<120> Composition for preventing and treating fatty liver comprising AXL

<130> P2021-0290

<160> 2

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 4200

<212> DNA

<213> AXL

<400> 1

ggaggagttg agccagccga ggggctcccg ctgtgccagg cgggcagtgc caaatcccag 60

gagccctgcc ccctttccta gcgaggtgcc catcaacttc ggaagaaagt ttggcatcaa 120

tctgagctgt tggtgtctgg aggatgggca gggtcccgct ggcctggtgg ttggcgctgt 180

gctgctgggg gtgtgcagcc cataaggaca cacagaccga ggctggcagc ccgtttgtgg 240

ggaacccagg gaatatcaca ggtgccagag gactcacggg gacacttcgg tgtgagctcc 300

aggttcaggg ggaacccccc gaggtggtgt ggcttcgaga tggacagatc ctagaactgg 360

ctgataacac ccagacccag gtgcctctgg gcgaagactg gcaagatgaa tggaaagttg 420

tcagtcagct cagaatctca gccctgcaac tttcagatgc aggggagtac cagtgtatgg 480

tgcatctaga aggacggacc tttgtgtctc agccgggctt tgtagggctg gaaggtctcc 540

cgtacttcct ggaggagcct gaggacaaag ctgtgcctgc caacacccct ttcaacctaa 600

gctgccaggc ccagggaccc ccggaacccg tgaccctact ctggcttcaa gatgctgtcc 660

ccctggcccc agtcacagga cacagctccc agcacagtct gcaaactcca ggcctgaaca 720

agacatcttc tttctcatgt gaagcccaca atgccaaggg agtcaccacc tcccgcacag 780

ccaccatcac agtgctcccc cagaggcctc accatctcca cgtggtttcc agacaaccta 840

cggagctaga ggtagcttgg acccctggcc tgagtggcat ctacccgctc acccactgca 900

acctgcaggc cgtgctgtca gacgatgggg tgggtatctg gctgggaaag tcagatcctc 960

ctgaagaccc cctcaccttg caagtatcag tgccccccca ccagcttcgg ctggaaaagc 1020

tccttcctca caccccgtat cacatccgga tatcctgcag cagcagccag ggcccctcac 1080

cttggaccca ctggcttcct gtggagacca cagagggagt gcccttgggt ccccctgaga 1140

acgttagcgc catgcggaat gggagccagg tcctcgtgcg ttggcaggag ccaagggtgc 1200

ccctgcaagg caccctgtta gggtaccggc tggcatatcg aggccaggac acccccgagg 1260

tacttatgga tatagggcta actcgagagg tgaccttgga actgcggggg gacaggcctg 1320

tggctaacct gactgtgtct gtgacagcct atacctcggc tggggatggg ccctggagcc 1380

ttcctgtgcc cctagagccc tggcgcccag tgagtgaacc cccacctcgc gccttctcgt 1440

ggccttggtg gtatgtactg ctgggagcac ttgtggctgc cgcctgcgtc ctcatcttgg 1500

ccctgttcct tgtccatcgg aggaagaagg agactcgata tggggaggtg tttgagccaa 1560

ccgtggaaag aggtgaactg gtagtcaggt accgtgtccg aaagtcctac agccggcgga 1620

ccactgaagc caccttgaac agtctgggca tcagtgaaga gctgaaggag aaactacgag 1680

acgtcatggt agatcggcat aaggtggcct tggggaagac cctgggagaa ggagaatttg 1740

gcgctgtgat ggaaggtcag ctcaatcagg atgactccat cctcaaggtc gctgtgaaga 1800

ccatgaaaat tgccatctgc acaagatcag agctggagga tttcctgagt gaagctgtct 1860

gcatgaagga atttgaccac cccaacgtca tgaggctcat tggcgtctgt tttcagggct 1920

ctgacagaga gggtttccca gaacctgtgg tcatcttgcc tttcatgaaa cacggagacc 1980

tacacagttt cctcctgtac tcccggctcg gggaccagcc agtgttcctg cccactcaga 2040

tgctagtgaa gttcatggcc gacattgcca gtggtatgga gtacctgagt accaagagat 2100

tcatacatcg ggacctggct gccaggaact gcatgctgaa tgagaacatg tccgtgtgtg 2160

tggcagactt cgggctctcc aagaagatct acaacgggga ttactaccgc caagggcgca 2220

ttgccaagat gccagtcaag tggattgcta ttgagagtct ggcagatcgg gtctacacca 2280

gcaagagcga tgtgtggtcc ttcggtgtga caatgtggga gatcgccacc cgaggccaaa 2340

ctccctatcc aggggtggag aacagtgaga tttacgacta cctgcgtcaa ggaaatcggc 2400

tgaaacagcc tgtggactgt ctggacggcc tgtatgccct gatgtctcgg tgctgggaac 2460

tgaaccctcg agaccggcca agttttgcgg agctccggga agacttggag aacacactga 2520

aggctctgcc ccctgctcag gagccagatg aaatcctcta tgtcaacatg gatgagggcg 2580

gaagccacct tgaaccccgt ggggctgctg gaggagctga ccccccaacc caacctgatc 2640

ctaaggattc ctgtagctgt ctcactgcag ctgacgtcca ctcagctgga cgctatgtcc 2700

tttgtccttc tacagcccca ggacccactc tgtctgctga cagaggctgc ccagcacctc 2760

cagggcagga ggacggagcc tgagacaatc ttccacctgg gacatcctct caggacccaa 2820

gctaggcact gccactgggg gaaagctcac ccccccactc cgtcactcca ggccttctcc 2880

ccagatgcag aatggccttc cctcccttct cagatgcagt ccatgcctta tgcaccctat 2940

ccataacagt ttcaagggat cgtctcacat cttccatccc agcgttctag attttaaggt 3000

ttgagtttag agttcaaagt tctcaaagat gatgagtctt tggaccgaga tgcttgtttc 3060

taggtctgca gcgctgttgc tatagacagg cccactgctc gaaggctctg agattctatg 3120

gctctagatt tttctggctc tataattcgt ggcaatgctc ccatggtttt aggttgcacg 3180

actctgagat tccaggacct aaggcttcta gactttattt ttctggagcc aggggtcctg 3240

tcagtggaag attgtagatt tttaaattct aaagattcta ggcatgaagg ttctaaggca 3300

tactgcttct ccagtttaac agtttagggc tcatgttgga atactccaga tcataatgtt 3360

tcaaactttt attttttta atttctaaga ccccagtgat ggtcaactac agattctgaa 3420

gccttatgac catagattct tttatataaa aatcctgtat ctcaaggaaa tatgattcta 3480

gactctgaaa ttccaaagct ttaagagtct ccagatggag tttctaagct atgatgtggt 3540

gataatctaa agtttagtcc aaggttctag attcctaagc ttccacgtca tctgctccca 3600

ggattccaga ttattaaact ctaaaactct aatgttggcc tgatcttcgt ctcaggccct 3660

gtaggatgct gtgggtcctc agcatctaag tcacaagagg ctccagttaa cgaggactaa 3720

tgagacacca aagttctaac cacttctaat gctggacacc tctaggttct atgctgcttt 3780

ttgcctttct agcacataat taaatgccca agaatacata tgtctaaaga tcttaaatct 3840

ctaagcacta tggagccaat gttttgagtg tctgagattc taaaggtcca cagtctagag 3900

tattaggtac gactccaagg gtgggcgctt gtagccatcc taagtccttt ccctccttaa 3960

gcacctatgc tcctcctctc cttgtgtggg gtacacccca ccttaagcct gtgcgatgca 4020

ctgggaatgc ctgctttcct ccaagggatg ggtcatctcc cctcatttgg ggccatgttg 4080

ccccttgagc cagtccccta tgcctgttct gaagtgtgga ctctggtgcc tccagagagg 4140

ctcagatcac ataaaacttt tgtcagtcac taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

4200

<210> 2

<211> 888

<212> PRT

<213> AXL

<400> 2

Met Gly Arg Val Pro Leu Ala Trp Trp Leu Ala Leu Cys Cys Trp Gly

1 5 10 15

Cys Ala Ala His Lys Asp Thr Gln Thr Glu Ala Gly Ser Pro Phe Val

20 25 30

Gly Asn Pro Gly Asn Ile Thr Gly Ala Arg Gly Leu Thr Gly Thr Leu

35 40 45

Arg Cys Glu Leu Gln Val Gln Gly Glu Pro Pro Glu Val Val Trp Leu

50 55 60

Arg Asp Gly Gln Ile Leu Glu Leu Ala Asp Asn Thr Gln Thr Gln Val

65 70 75 80

Pro Leu Gly Glu Asp Trp Gln Asp Glu Trp Lys Val Val Ser Gln Leu

85 90 95

Arg Ile Ser Ala Leu Gln Leu Ser Asp Ala Gly Glu Tyr Gln Cys Met

100 105 110

Val His Leu Glu Gly Arg Thr Phe Val Ser Gln Pro Gly Phe Val Gly

115 120 125

Leu Glu Gly Leu Pro Tyr Phe Leu Glu Glu Pro Glu Asp Lys Ala Val

130 135 140

Pro Ala Asn Thr Pro Phe Asn Leu Ser Cys Gln Ala Gln Gly Pro Pro

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Leu Leu Trp Leu Gln Asp Ala Val Pro Leu Ala Pro

165 170 175

Val Thr Gly His Ser Ser Gln His Ser Leu Gln Thr Pro Gly Leu Asn

180 185 190

Lys Thr Ser Ser Phe Ser Cys Glu Ala His Asn Ala Lys Gly Val Thr

195 200 205

Thr Ser Arg Thr Ala Thr Ile Thr Val Leu Pro Gln Arg Pro His His

210 215 220

Leu His Val Val Ser Arg Gln Pro Thr Glu Leu Glu Val Ala Trp Thr

225 230 235 240

Pro Gly Leu Ser Gly Ile Tyr Pro Leu Thr His Cys Asn Leu Gln Ala

245 250 255

Val Leu Ser Asp Asp Gly Val Gly Ile Trp Leu Gly Lys Ser Asp Pro

260 265 270

Pro Glu Asp Pro Leu Thr Leu Gln Val Ser Val Pro Pro His Gln Leu

275 280 285

Arg Leu Glu Lys Leu Leu Pro His Thr Pro Tyr His Ile Arg Ile Ser

290 295 300

Cys Ser Ser Ser Gln Gly Pro Ser Pro Trp Thr His Trp Leu Pro Val

305 310 315 320

Glu Thr Thr Glu Gly Val Pro Leu Gly Pro Pro Glu Asn Val Ser Ala

325 330 335

Met Arg Asn Gly Ser Gln Val Leu Val Arg Trp Gln Glu Pro Arg Val

340 345 350

Pro Leu Gln Gly Thr Leu Leu Gly Tyr Arg Leu Ala Tyr Arg Gly Gln

355 360 365

Asp Thr Pro Glu Val Leu Met Asp Ile Gly Leu Thr Arg Glu Val Thr

370 375 380

Leu Glu Leu Arg Gly Asp Arg Pro Val Ala Asn Leu Thr Val Ser Val

385 390 395 400

Thr Ala Tyr Thr Ser Ala Gly Asp Gly Pro Trp Ser Leu Pro Val Pro

405 410 415

Leu Glu Pro Trp Arg Pro Gly Gln Gly Gln Pro Leu His His Leu Val

420 425 430

Ser Glu Pro Pro Pro Arg Ala Phe Ser Trp Pro Trp Trp Tyr Val Leu

435 440 445

Leu Gly Ala Leu Val Ala Ala Ala Cys Val Leu Ile Leu Ala Leu Phe

450 455 460

Leu Val His Arg Arg Lys Lys Glu Thr Arg Tyr Gly Glu Val Phe Glu

465 470 475 480

Pro Thr Val Glu Arg Gly Glu Leu Val Val Arg Tyr Arg Val Arg Lys

485 490 495

Ser Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Glu Ala Thr Leu Asn Ser Leu Gly Ile

500 505 510

Ser Glu Glu Leu Lys Glu Lys Leu Arg Asp Val Met Val Asp Arg His

515 520 525

Lys Val Ala Leu Gly Lys Thr Leu Gly Glu Gly Glu Phe Gly Ala Val

530 535 540

Met Glu Gly Gln Leu Asn Gln Asp Asp Ser Ile Leu Lys Val Ala Val

545 550 555 560

Lys Thr Met Lys Ile Ala Ile Cys Thr Arg Ser Glu Leu Glu Asp Phe

565 570 575

Leu Ser Glu Ala Val Cys Met Lys Glu Phe Asp His Pro Asn Val Met

580 585 590

Arg Leu Ile Gly Val Cys Phe Gln Gly Ser Asp Arg Glu Gly Phe Pro

595 600 605

Glu Pro Val Val Ile Leu Pro Phe Met Lys His Gly Asp Leu His Ser

610 615 620

Phe Leu Leu Tyr Ser Arg Leu Gly Asp Gln Pro Val Phe Leu Pro Thr

625 630 635 640

Gln Met Leu Val Lys Phe Met Ala Asp Ile Ala Ser Gly Met Glu Tyr

645 650 655

Leu Ser Thr Lys Arg Phe Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys
660 665 670

Met Leu Asn Glu Asn Met Ser Val Cys Val Ala Asp Phe Gly Leu Ser
675 680 685

Lys Lys Ile Tyr Asn Gly Asp Tyr Tyr Arg Gln Gly Arg Ile Ala Lys
690 695 700

Met Pro Val Lys Trp Ile Ala Ile Glu Ser Leu Ala Asp Arg Val Tyr
705 710 715 720

Thr Ser Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Thr Met Trp Glu Ile

725 730 735

Ala Thr Arg Gly Gln Thr Pro Tyr Pro Gly Val Glu Asn Ser Glu Ile
740 745 750

Tyr Asp Tyr Leu Arg Gln Gly Asn Arg Leu Lys Gln Pro Val Asp Cys
755 760 765

Leu Asp Gly Leu Tyr Ala Leu Met Ser Arg Cys Trp Glu Leu Asn Pro
770 775 780

Arg Asp Arg Pro Ser Phe Ala Glu Leu Arg Glu Asp Leu Glu Asn Thr
785 790 795 800

Leu Lys Ala Leu Pro Pro Ala Gln Glu Pro Asp Glu Ile Leu Tyr Val
805 810 815

Asn Met Asp Glu Gly Gly Ser His Leu Glu Pro Arg Gly Ala Ala Gly
820 825 830

Gly Ala Asp Pro Pro Thr Gln Pro Asp Pro Lys Asp Ser Cys Ser Cys
835 840 845

Leu Thr Ala Ala Asp Val His Ser Ala Gly Arg Tyr Val Leu Cys Pro
850 855 860

Ser Thr Ala Pro Gly Pro Thr Leu Ser Ala Asp Arg Gly Cys Pro Ala

865 870 875 880

Pro Pro Gly Gln Glu Asp Gly Ala
885