



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0056818
(43) 공개일자 2017년05월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/686 (2013.01)
G01N 33/68 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0160095
(22) 출원일자 2015년11월16일
심사청구일자 2015년11월16일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
권오란
서울특별시 용산구 서빙고로 69, 105동 3401호
김지연
서울특별시 서초구 고무래로 79 반포리체아파트 103동 804호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 유전자의 발현 수준을 통한 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 수준 예측 방법

(57) 요약

본 발명은 유전자의 발현 수준을 통해 식품의 항산화능, 항염증능, 또는 지질대사 조절 수준을 예측하는 방법 및 이를 이용한 키트에 관한 것으로, 구체적으로 인체적용 실험을 통해, 시험식품 또는 대조식품을 섭취하도록 한 후, 정맥혈로부터 항산화 관련 유전자 14종, 항염증 관련 유전자 48종, 지질대사 관련 유전자 21종, 혈구 관련 유전자 2종, 및 플라그형성 및 혈액응고 관련 유전자 3종에 대해 유전자 발현 수준을 qPCR로 확인한 결과, 항산화(7종), 항염증(15종), 지질대사(9종)의 유전자 발현이 유의적으로 감소함을 확인함으로써, 본 발명은 상기 유전자들의 발현 정도의 비교를 통해 식품의 항산화능, 항염증능, 또는 지질대사 조절 수준을 예측하기 위한 방법으로써 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TLR2	IL18	PTGDR	CCL5	SIRPA	TNFRSF	SOD2	NFE2L2	GK	ACACB	MOGAT3	ACTB
B	TLR4	IL8	IFNA1	CCL3	PTPN6	CCR3	GPX3	CYBA	LPAR2	ECI1	PLB1	B2M
C	SOC53	CXCL10	IFNB1	CCL4	GRB2	CRLF1	GPX1	NCF1	LDLR	HADHA	NOX5	GAPDH
D	SOC56	CXCL9	IRF7	NFKBIA	ESR1	UTAF	GPX4	TXNRD1	LRP1	ACACD5B	PTDSS1	HPRT1
E	TNF	CXCL11	IRF3	MIF	STAT3	PEAR1	CAT	AGER	RSAD2	AGPAT6	APOE	RPL13A
F	IL6	CD80	IFNAR1	SELL	BCL6	ICAM1	HMOX1	CCL21	HMGCR	DGKA	AKT1	
G	IL12B	CD86	CCL22	ITGAL	EGFR	VCAM1	NOS2	IL4R	SLC27A1	DGKH	BCL2	
H	IL12A	CD40	CCL2	CR1	TNFRSF18	SOD1	CYBB	DGAT1	SCD	DGKQ	ILR1	

(52) CPC특허분류

C12Q 2600/158 (2013.01)

(72) 발명자

임예니

서울특별시 서초구 서초대로74길 27, 강남역 한화
오벨리스크 405호

안영숙

서울특별시 광진구 자양로 109 구의현대홈시티
1504호

이유진

서울특별시 송파구 올림픽로 135 리센츠아파트 25
5동 1402호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ00845002

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 공동연구사업-농업현장실용화기술개발사업(2단계)

연구과제명 건강기능식품 등록을 위한 기능성 연구

기 여 율 1/1

주관기관 이화여자대학교 산학협력단

연구기간 2012.02.01 ~ 2015.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

- 1) 개체로부터 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- 2) 시험 식품을 개체에 투여하고 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- 3) 상기 단계 1) 및 단계 2)의 시료로부터 항산화 관련 유전자의 발현 수준 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- 4) 상기 단계 3)의 항산화 관련 유전자 또는 단백질의 시험 식품 섭취 전후의 상대적 발현 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계를 포함하는 식품의 항산화능을 예측하는 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 항산화 관련 유전자는 SOD2, HMOX1, CYBA, NCF1, CYBB, TXNRD1, 또는 AGER 유전자인 것을 특징으로 하는 식품의 항산화능을 예측하는 방법.

청구항 3

- 1) 개체로부터 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- 2) 시험 식품을 개체에 투여하고 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- 3) 상기 단계 1) 및 단계 2)의 시료로부터 항염증 관련 유전자의 발현 수준 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- 4) 상기 단계 3)의 항염증 관련 유전자 또는 단백질의 시험 식품 섭취 전후의 상대적 발현 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계를 포함하는 식품의 항염증능을 예측하는 방법.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 항염증 관련 유전자는 SLC27A1, SCD, MOGAT, APOE, GK, LPAR2, LDLR, ACACB, 또는 DGKQ 유전자인 것을 특징으로 하는 식품의 항염증능을 예측하는 방법.

청구항 5

- 1) 개체로부터 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- 2) 시험 식품을 개체에 투여하고 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- 3) 상기 단계 1) 및 단계 2)의 시료로부터 지질대사 관련 유전자의 발현 수준 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- 4) 상기 단계 3)의 지질대사 관련 유전자 또는 단백질의 시험 식품 섭취 전후의 상대적 발현 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계를 포함하는 식품의 지질대사 조절 수준을 예측하는 방법.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 지질대사 관련 유전자는 SLC27A1, SCD, MOGAT, APOE, GK, LPAR2, LDLR, ACACB, 또는 DGKQ 유전자인 것을 특징으로 하는 식품의 지질대사 조절 수준을 예측하는 방법.

청구항 7

SOD2, HMOX1, CYBA, NCF1, CYBB, TXNRD1, 또는 AGER 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 식품의 항산화능 예측용 키트.

청구항 8

TLR4, TNF- α , IL-6, CCL22, PTGDR, IFNA1, STAT3, BCL6, ITGAL, GRB2, TNFRSF1B, AKT1, BCL2, CRLF1, 또는 SELL 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 식품의 항염증능 예측용 키트.

청구항 9

SLC27A1, SCD, MOGAT, APOE, GK, LPAR2, LDLR, ACACB, 또는 DGKQ 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 식품의 지질대사 조절 수준 예측용 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 유전자의 발현 수준을 통해 식품의 항산화능, 항염증능, 또는 지질대사 조절 수준을 예측하는 방법 및 이를 이용한 키트에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 산소는 지구상에서 가장 많은 원소로서 건조 대기 중의 21%를 차지하고 있으며, 우리 몸은 산소를 호흡하여 에너지를 획득한다. 그러나 이와 같이 생명 유지에 절대적으로 필요한 산소이지만 안정한 분자상태인 기저삼중항 산소(ground state triplet oxygen)가 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학반응 등의 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 슈퍼옥사이드 라디칼(superoxide radical($O_2^{\cdot -}$)), 하이드록실 라디칼(hydroxyl radical($HO\cdot$)), 하이드로젠 퍼옥사이드(hydrogen peroxide (H_2O_2))과 같은 반응성이 매우 큰 자유기(free radical)인 활성산소(active oxygen)로 전환되면 생체에 치명적인 산소독성을 일으키는 양면성을 지니고 있다. 또한 우리 몸은 수없이 많은 산화적 손상 속에 노출되어 있다. 대표적인 것이 활성산소, 혹은 유해산소라고 하는 것인데 우리가 생명을 유지하기 위해 먹고 숨을 쉬는 한 부득이하게 우리 몸에서 생길 수밖에 없는 물질이다. 이들 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 당, DNA 등과 반응하여 파괴작용을 함으로써 노화는 물론 암을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨씨병 등의 뇌질환과 심장질환, 허혈, 동맥경화, 피부손상, 염증, 류마티스, 자가면역질환 등의 각종 질병을 일으키는 원인이 되고 있다. 또한 지질과산화 반응 결과 생성되는 체내 지질 과산화물도 세포에 대한 산화적 파괴로 인한 각종 기능장애를 야기함으로써 노화 등 각종 질병의 원인이 되기도 한다.

[0004] 이처럼 다양한 질병의 원인이 되고 있는 자유기(free radical) 즉, 활성산소로 인해 우리 몸이 노화되고 손상되는 것을 막아주는 물질을 항산화제(antioxidants)라고 한다. 항산화제는 인체 내에 자연적으로 존재하는 것과 외부에서 투여해 주는 것으로 나눌 수 있는데 인체 내에 자연적으로 존재하는 항산화제로는 슈퍼옥사이드 디스뮤타제(Superoxide Dismutase, SOD), 글루타치온(Glutathione), 페록시다제(Ferroxidase) 등의 효소가 있으며, 외부에서 투여해 주는 것으로 비타민 E, C, 베타카로틴이 있으며 미네랄 중에는 셀레늄이 대표적이다. 이러한 항산화제는 약물로 복용하는 것도 가능하지만 장기간 과량의 항산화제를 투여했을 때 발생할 수 있는 부작용에 대해 주의해야 할 필요가 있다.

[0006] 염증반응은 생체의 세포나 조직에 어떠한 기질적 변화를 가져오는 침습으로 인한 손상을 재생하기 위한 생체방어 반응과정으로서 국소의 혈관, 체액의 각종 조직세포 및 면역세포 등이 작용한다. 정상적으로 외부 침입균에 의하여 유도되는 염증반응은 생체를 보호하기 위한 방어 시스템인 반면, 비정상적으로 과도한 염증반응이 유도되면 다양한 질환들이 나타나게 되는데, 이러한 질환들을 염증질환이라 한다. 상기 염증질환은 외부 자극에 의하여 활성화된 표적세포로부터 분비되는 다양한 염증 매개물질이 염증을 증폭 및 지속시켜 인체의 생명을 위협하는 질환으로서 급성염증, 류마티스 관절염과 같은 관절 내에서의 만성염증 질환 등이 있다. 이러한 염증질환을 유도하는 핵심적인 염증 매개물질은 프로스타글란딘류(Prostaglandins), 수산화 지방산류(Hydroxy fatty acids) 등이며, 이들은 사이클로옥시게나제(Cyclooxygenase, COX) 및 리폭시게나제(Lipoxygenase)에 의하여 전구체인 아라키돈산(Arachidonic acid)으로부터 생성된다. 그런데, 서구화된 식생활 및 운동부족, 환경오염 등에 의하여 현대인에게 다양한 급성 및 만성 염증 질환이 점차 증가하는 추세에 있다.

[0008] 현대사회는 고지방, 고당, 고염식과 같은 고칼로리의 식생활과 운동부족, 과도한 스트레스 등과 같은 반복적인 생활습관에 의해 비만, 당뇨, 고혈압, 동맥경화 등과 같은 다양한 대사성 질환이 급격히 증가하고 있다. 특히, 비만은 섭취에너지와 소비에너지의 불균형에 의한 에너지 대사이상으로서, 결과적으로 지방세포에 중성지방이 과도하게 축적된 상태로 정의된다. 비만의 가장 큰 원인은 고에너지나 고지방을 함유한 음식의 섭취 및 운동부족으로 인한 체중의 증가나 체내지방 축적이며, 세포학적으로 비만은 지방세포의 분화와 지질대사의 과잉으로 인해 형성된 비대 지방세포의 산물로 영향을 받고 있다.

[0009] 비만은 단순히 외형상의 문제뿐만 아니라 체중 증가와 더불어 고혈압, 제2형 당뇨병, 고혈압, 심장질환, 뇌졸중, 관절염, 동맥경화, 암 등의 심각한 성인병을 유발할 확률이 높아진다고 보고되어 있다. 이에 최근에는 비만에 대한 예방과 치료에 대한 연구들이 활발히 진행 중이며, 이러한 연구들은 주로 지방세포의 분화억제, 지방세포내의 지질축적 억제, 축적된 지질의 분해 등을 중심으로 이루어지고 있다.

[0011] 한편, 항산화, 항염증, 및 지질대사 수준을 예측하는 방법에 관한 선행기술로서 대한민국 공개특허 10-2010-0009720에는 염증성 질환 진단용 cDNA 마이크로어레이 칩에 대해 개시하였고, 대한민국 공개특허 10-2012-0104517에는 류마티스 관절염의 치료, 진단 및 모니터링 방법에 관하여 개시하였으나, 본 발명의 유전자의 발현 정도를 이용한 식품의 항산화, 항염증, 및 지질대사 수준을 예측하는 방법에 관하여는 현재까지 알려진 바가 없다.

[0013] 이에, 본 발명자들은 식품 또는 단일성분의 섭취 후, 항산화, 항염증, 또는 지질대사 수준을 예측하는 방법을 찾고자 노력하던 중, 인체적용 실험을 통해, 시험식품 또는 대조식품을 섭취하도록 한 후, 정맥혈로부터 항산화 관련 유전자 14종, 항염증 관련 유전자 48종, 지질대사 관련 유전자 21종에 대해 유전자 발현 수준을 qPCR로 확인한 결과, 항산화(7종), 항염증(15종), 지질대사(9종)의 유전자 발현이 유의적으로 감소함을 확인함으로써, 본 발명은 상기 유전자들의 발현 정도의 비교를 통해 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 수준을 예측하기 위한 방법 및 이를 이용한 키트로써 유용하게 사용할 수 있음을 밝힘으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 본 발명의 목적은 유전자의 발현 정도를 통해 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 수준을 예측하는 방법 및 이를 이용한 키트를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

- [0018] 1) 개체로부터 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0019] 2) 시험 식품을 개체에 투여하고 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0020] 3) 상기 단계 1) 및 단계 2)의 시료로부터 항산화 관련 유전자의 발현 수준 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [0021] 4) 상기 단계 3)의 항산화 관련 유전자 또는 단백질의 시험 식품 섭취 전후의 상대적 발현 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계를 포함하는 식품의 항산화능을 예측하는 방법을 제공한다.
- [0022] 또한, 본 발명은
- [0023] 1) 개체로부터 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0024] 2) 시험 식품을 개체에 투여하고 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0025] 3) 상기 단계 1) 및 단계 2)의 시료로부터 항염증 관련 유전자의 발현 수준 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [0026] 4) 상기 단계 3)의 항염증 관련 유전자 또는 단백질의 시험 식품 섭취 전후의 상대적 발현 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계를 포함하는 식품의 항염증능을 예측하는 방법을 제공한다.
- [0027] 또한, 본 발명은
- [0028] 1) 개체로부터 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0029] 2) 시험 식품을 개체에 투여하고 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0030] 3) 상기 단계 1) 및 단계 2)의 시료로부터 지질대사 관련 유전자의 발현 수준 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [0031] 4) 상기 단계 3)의 지질대사 관련 유전자 또는 단백질의 시험 식품 섭취 전후의 상대적 발현 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계를 포함하는 식품의 지질대사 조절 수준을 예측하는 방법을 제공한다.
- [0032] 또한, 본 발명은 SOD2, HMOX1, CYBA, NCF1, CYBB, TXNRD1, 또는 AGER 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 식품의 항산화능 예측용 키트를 제공한다.
- [0033] 또한, 본 발명은 TLR4, TNF- α , IL-6, CCL22, PTGDR, IFNA1, STAT3, BCL6, ITGAL, GRB2, TNFRSF1B, AKT1, BCL2, CRLF1, 또는 SELL 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 식품의 항염증능 예측용 키트를 제공한다.
- [0034] 아울러, SLC27A1, SCD, MOGAT, APOE, GK, LPAR2, LDLR, ACACB, 또는 DGKQ 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 식품의 지질대사 조절 수준 예측용 키트를 제공한다.

발명의 효과

- [0036] 본 발명에서 인체적용 실험을 통해, 시험식품 또는 대조식품을 섭취하도록 한 후, 정맥혈로부터 항산화 관련 유전자 14종, 항염증 관련 유전자 48종, 지질대사 관련 유전자 21종에 대해 유전자 발현 수준을 qPCR로 확인한 결과, 항산화(7종), 항염증(15종), 지질대사(9종)의 유전자 발현이 유의적으로 감소함을 확인함으로써, 본 발명은 상기 유전자들의 발현 정도의 비교를 통해 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 수준을 예측하는 방법 및 이를 이용한 키트로써 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0038] 도 1은 본 발명의 개체를 대상으로 한 실험의 계획을 나타낸 도이다.
- 도 2는 본 발명에서 사용한 유전자들을 나타낸 도이다.
- 도 3은 항염증 관련 유전자들의 발현 수준 변화를 나타낸 도이다.

도 4는 항산화 관련 유전자들의 발현 수준 변화를 나타낸 도이다.

도 5는 지질대사 관련 유전자들의 발현 수준 변화를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0040] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0042] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
- [0043] 1) 개체로부터 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0044] 2) 시험 식품을 개체에 투여하고 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0045] 3) 상기 단계 1) 및 단계 2)의 시료로부터 항산화 관련 유전자의 발현 수준 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [0046] 4) 상기 단계 3)의 항산화 관련 유전자 또는 단백질의 시험 식품 섭취 전후의 상대적 발현 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계를 포함하는 식품의 항산화능을 예측하는 방법을 제공한다.
- [0047] 상기 항산화 관련 유전자는 SOD2, HMOX1, CYBA, NCF1, CYBB, TXNRD1, 또는 AGER 유전자인 것이 바람직하다.
- [0048] 또한, 본 발명은
- [0049] 1) 개체로부터 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0050] 2) 시험 식품을 개체에 투여하고 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0051] 3) 상기 단계 1) 및 단계 2)의 시료로부터 항염증 관련 유전자의 발현 수준 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [0052] 4) 상기 단계 3)의 항염증 관련 유전자 또는 단백질의 시험 식품 섭취 전후의 상대적 발현 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계를 포함하는 식품의 항염증능을 예측하는 방법을 제공한다.
- [0053] 상기 항염증 관련 유전자는 SLC27A1, SCD, MOGAT, APOE, GK, LPAR2, LDLR, ACACB, 또는 DGKQ 유전자인 것이 바람직하다.
- [0054] 또한, 본 발명은
- [0055] 1) 개체로부터 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0056] 2) 시험 식품을 개체에 투여하고 생물학적 시료를 채취하는 단계;
- [0057] 3) 상기 단계 1) 및 단계 2)의 시료로부터 지질대사 관련 유전자의 발현 수준 또는 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [0058] 4) 상기 단계 3)의 지질대사 관련 유전자 또는 단백질의 시험 식품 섭취 전후의 상대적 발현 수준을 대조군 시료와 비교하는 단계를 포함하는 식품의 지질대사 조절 수준을 예측하는 방법을 제공한다.
- [0059] 상기 지질대사 관련 유전자는 SLC27A1, SCD, MOGAT, APOE, GK, LPAR2, LDLR, ACACB, 또는 DGKQ 유전자인 것이 바람직하다.
- [0060] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 생물학적 시료는 피검체로부터 DNA를 포함하는 시료를 얻는 것이면 어느 것이나 포함된다. 예를 들면, 상기 생물학적 시료는 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 조직, 세포, 기관, 골수, 타액, 객담 및 뇌척수액인 것이 바람직하지만 이에 한정되지 않으며, 혈액인 것이 가장 바람직하다.
- [0061] 또한, 상기 단계 1)의 개체는 인간, 마우스, 랫드를 포함하는 포유동물인 것이 바람직하고, 인간인 것이 가장 바람직하다.
- [0062] 상기 단백질의 발현 수준의 측정은 면역크로마토그래피 어세이, 면역학적 도트(Immunodot) 어세이, 루미넥스(Luminex) 어세이, 엘라이자 어세이, 단백질 마이크로어레이 어세이, 면역염색법 어세이 및 웨스턴 블랏 어세이

인 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

- [0064] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 인체적용 실험을 통해, 시험식품 또는 대조식품을 섭취하도록 한 후(도 1 참조), 정맥혈로부터 항산화 관련 유전자 14종, 항염증 관련 유전자 48종, 지질대사 관련 유전자 21종에 대해 유전자 발현 수준을 qPCR로 확인한 결과(도 2 참조), 항산화(7종), 항염증(15종), 지질대사(9종)의 유전자 발현이 유의적으로 감소함을 확인하였다(도 3 내지 5 참조).
- [0065] 따라서, 본 발명은 상기 유전자들의 발현 정도의 비교를 통해 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 수준을 예측하기 위한 방법 및 이를 이용한 키트로써 유용하게 사용될 수 있다.
- [0067] 또한, 본 발명은 SOD2, HMOX1, CYBA, NCF1, CYBB, TXNRD1, 또는 AGER 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 식품의 항산화능 예측용 키트를 제공한다.
- [0068] 또한, 본 발명은 TLR4, TNF- α , IL-6, CCL22, PTGDR, IFNA1, STAT3, BCL6, ITGAL, GRB2, TNFRSF1B, AKT1, BCL2, CRLF1, 또는 SELL 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 식품의 항염증능 예측용 키트를 제공한다.
- [0069] 아울러, SLC27A1, SCD, MOGAT, APOE, GK, LPAR2, LDLR, ACACB, 또는 DGKQ 유전자의 mRNA 또는 이의 단백질 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 식품의 지질대사 조절 수준 예측용 키트를 제공한다.
- [0070] 본 발명에서 “mRNA 발현수준 측정”이란 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 조절 수준을 예측하기 위하여 생물학적 시료에서 항산화, 항염증, 또는 지질대사 관련 유전자들의 mRNA 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로 mRNA의 양을 측정한다. 이를 위한 분석 방법으로는 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Real-time RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting), DNA 칩 등이 있으나 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0071] 본 발명에서 “단백질 발현수준 측정”이란 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 조절 수준을 예측하기 위하여 생물학적 시료에서 항산화, 항염증, 또는 지질대사 관련 유전자로부터 발현된 단백질의 존재 여부와 발현 정도를 확인하는 과정으로, 바람직하게는, 상기 유전자의 단백질에 대하여 특이적으로 결합하는 항체를 이용하여 단백질의 양을 확인할 수 있다. 이를 위한 분석 방법으로는 웨스턴 블랏, 엘라이자(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역 확산법, 로켓트(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석(Flowcytometry, FACS), 단백질 칩(protein chip) 등이 있으나 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0072] 상기 키트는 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 조절 수준 예측에 사용될 수 있는 어떠한 형태의 키트도 될 수 있으나 바람직하게는 역전사-중합효소 연쇄반응(reverse transcription - polymerase chain reaction) 키트, 면역학적 도트 키트, 엘라이자(ELISA) 키트, 면역 크로마토그래피 키트, 루미넥스 어세이 키트, 단백질 마이크로 어레이 키트, 및 DNA 칩 키트 중 어느 하나인 것이 생물학적 시료 중의 mRNA 또는 단백질의 발현 변화를 신속하고 정확하게 측정하여 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 조절 수준 예측할 수 있으므로 좋다. 바람직하게, 상기 식품의 항산화, 항염증, 또는 지질대사 조절 수준 예측용 키트는 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치를 더 포함하여 구성될 수 있다.
- [0074] 이하, 본 발명을 하기 실시예 및 실험예에 의해서 상세히 설명한다.
- [0075] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해서 한정되는 것은 아니다.
- [0077] <실시예 1> 개체 선정
- [0078] 본 발명을 위한 개체는 만 30세 이상, 체질량 지수 (BMI) 23-30 kg/m²의 과체중 또는 비만이며 LDL-콜레스테롤

수준이 높은 (130 mg/dL 이상) 성인 남녀를 대상으로 분당차병원(대한민국, 경기도)에서 모집하여 시행하였다.

[0079] 구체적으로, 도 1에 나타난 바와 같이 진행하였으며, 실험은 무작위배정, 이중맹검, 위약대조식품 비교 시험으로 진행하였고, 선정된 개체들은 시험식품군 또는 대조군으로 무작위 배정하였다(도 1). 배정된 개체들은 8주간의 시험시간 동안 시험식품 또는 대조식품을 섭취하였으며, 식품을 섭취 하기전(0주)과 섭취 후(8주)에 각 개체들의 공복 혈액을 채취하여, RNA를 추출한 후 cDNA를 합성하여 도 2에 나타난 바와 같이, qRT-PCR panel 통한 항염증, 항산화, 지질대사 관련 유전자 발현 분석을 진행하였다.

[0080] 도 2에 나타난 유전자들의 명칭은 표 1 내지 표 3에 나타내었다.

표 1

[0081]

유전자 명칭	전체 명칭	유전자 ID
염증성 매개체 및 신호전달(48종)		
TLR2	Toll-like receptor 2	7097
TLR4	Toll-like receptor 4	7099
SOCS3	Suppressor of cytokine signaling 3	9021
SOCS6	Suppressor of cytokine signaling 6	9306
TNF	Tumor necrosis factor	7124
IL6	Interleukin 6 (interferon, beta 2)	3569
IL12B	Interleukin 12B	3593
IL12A	Interleukin 12A	3592
IL1B	Interleukin 1, beta	3553
IL8	Interleukin 8	3576
CXCL10 (IP-10)	Chemokine (C-X-C motif) ligand 10	3627
CXCL9 (MIG)	Chemokine (C-X-C motif) ligand 9	4283
CXCL11 (I-TAC)	Chemokine (C-X-C motif) ligand 11	6373
CD80	CD80 molecule	941
CD86	CD86 molecule	942
CD40	CD40 molecule, TNF receptor superfamily member 5	958
PTGDR	Prostaglandin D2 receptor (DP)	5729
IFNA1	Interferon, alpha 1	3439
IFNB1	Interferon, beta 1, fibroblast	3456
IRF7	Interferon regulatory factor 7	3665
IRF3	Interferon regulatory factor 3	3661
IFNAR1	Interferon (alpha, beta and omega) receptor 1	3454
CCL22	Chemokine (C-C motif) ligand 22	6367
CCL2 (MCP1)	Chemokine (C-C motif) ligand 2	6347
CCL5 (RANTES)	Chemokine (C-C motif) ligand 5	6352
CCL3 (MIP-1a)	Chemokine (C-C motif) ligand 3	6348
CCL4 (MIP-1b)	Chemokine (C-C motif) ligand 4	6351
NFKBIA (IkBa)	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	4792
MIF	Macrophage migration inhibitory factor (glycosylation-inhibiting factor)	4282
SELL (CD62L)	Selectin L	6402
ITGAL	Integrin, alpha L (antigen CD11A (p180), lymphocyte function-associated antigen 1; alpha polypeptide)	3683
CR1	Complement component (3b/4b) receptor 1 (Knops blood group)	1378
SIRPA (SHPS-1)	Signal-regulatory protein alpha	140885
PTPN6 (SHP1)	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 6	5777
GRB2	Growth factor receptor-bound protein 2	2885
ESR1	Estrogen receptor 1	2099
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3 (acute-phase response factor)	6774
BCL6	B-cell CLL/lymphoma 6	604
EGFR	Epidermal growth factor receptor	1956
TNFRSF1B	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B	7133
TNFRSF18	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 18	8784

CCR3	Chemokine (C-C motif) receptor 3	1232
CRLF1	Cytokine receptor-like factor 1	9244
LITAF	Lipopolysaccharide-induced TNF factor	9516
AKT1	Akt murine thymoma viral oncogene homolog 1	207
BCL2	B-cell CLL/lymphoma 2	596
IL1R1	Interleukin 1 receptor, type I	3554
NOX5	NADPH oxidase 5	79400

표 2

[0083]

유전자 명칭	전체 명칭	유전자 ID
플라그 형성 및 혈액 응고(3종)		
PEAR1	Platelet endothelial aggregation receptor 1	375033
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1	3383
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule 1	7412
항산화(14종)		
SOD1	Superoxide dismutase 1, soluble	6647
SOD2	Superoxide dismutase 2, mitochondrial	6648
GPX3	Glutathione peroxidase 3 (plasma)	2878
GPX1	Glutathione peroxidase 1	2876
GPX4	Glutathione peroxidase 4	2879
CAT	Catalase	847
HMOX1 (HO-1)	Heme oxygenase (decycling) 1	3162
NOS2 (iNOS)	Nitric oxide synthase 2, inducible	4843
CYBB (NOX2)	Cytochrome b-245, beta polypeptide	1536
NFE2L2	Nuclear factor, erythroid 2-like 2	4780
CYBA	Cytochrome b-245, alpha polypeptide	1535
NCF1	Neutrophil cytosolic factor 1	653361
TXNRD1 (TrxR)	Thioredoxin reductase 1	7296
AGER (RAGE)	Advanced glycosylation end product-specific receptor	177

표 3

[0085]

유전자 명칭	전체 명칭	유전자 ID
혈구 분화(2종)		
CCL21	Chemokine (C-C motif) ligand 21	6366
IL4R	Interleukin 4 receptor	3566
지질 대사 (21종)		
DGAT1	Diacylglycerol O-acyltransferase 1	8694
GK	Glycerol kinase	2710
LPAR2 (EDG4)	Lysophosphatidic acid receptor 2	9170
LDLR	Low density lipoprotein receptor	3949
LRP1	Low density lipoprotein receptor-related protein 1	4035
RSAD2	Radical S-adenosyl methionine domain containing 2	91543
HMGCR	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase	3156
SLC27A1	Solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 1	376497
SCD	Stearoyl-CoA desaturase (delta-9-desaturase)	6319
ACACB	Acetyl-CoA carboxylase beta	32
ECI1	Enoyl-CoA delta isomerase 1	1632
HADHA	Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase/3-ketoacyl-CoA thiolase/enoyl-CoA hydratase (trifunctional protein), alpha subunit	3030
ACADSB	Acyl-CoA dehydrogenase, short/branched chain	36
AGPAT6	1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 6	137964

DGKA	Diacylglycerol kinase, alpha 80kDa	1606
DGKH	Diacylglycerol kinase, eta	160851
DGKQ	Diacylglycerol kinase, theta 110kDa	1609
MOGAT3	Monoacylglycerol O-acyltransferase 3	346606
PLB1	Phospholipase B1	151056
PTDSS1	Phosphatidylserine synthase 1	9791
ApoE	Apolipoprotein E	348

[0087] <실험예 1> qPCR panel 분석을 통한 항염증/항산화/지질대사 관련 유전자의 발현 변화 확인

[0088] 상기 <실시예 1>의 개체로부터 수득한 정맥혈에서 RNA를 추출한 후, cDNA를 합성하여 qPCR(quantitative PCR; 정량적 PCR)을 수행하였다.

[0089] 구체적으로, 전혈은 PAX gene™ blood RNA tubes(PreAnalytiX, QIAGEN/BD, Hilden, 독일)에 담아 -80° C에 보관한 후 RNA를 추출하였다. 분광 광도계(Spectrophotometer(Biospec-nano; Shimadzu Corp., Tokyo, 일본))를 이용해 총 RNA 농도와 260/280nm의 비율을 측정하였으며, 260/280 비율이 1.7~2.1인 샘플만 사용하여 이후의 분석을 진행하였다. 그런 다음, cDNA 키트(Bioneer, 대전, 대한민국)를 이용하여 추출한 RNA를 cDNA로 합성하였다.

[0090] 상기에서 합성된 cDNA를 사용하여, 96-웰에 웰당 PCR components mixture 30 μL, 0.6 μL rox dye, 1 μL template, 15 μL 2X Greenstar qPCR master mix, 13.4 μL NF water (Bioneer, 대전, 대한민국)를 넣은 다음 Step-One-Plus RT-PCR system(Applied Biosystem Foster City, CA, 미국)으로 PCR 분석을 수행하였다. PCR 조건은 95°C에서 10분간 초기변성과정을 거친 후, 95°C에서 5초, 58°C에서 25초, 72°C에서 30초로 구성하여 40사이클의 증폭 과정을 진행하였다.

[0091] 표 1 내지 표 3에 나타난 항산화 관련 유전자 14개, 항염증 관련 유전자 48개, 지질대사 관련 유전자 21개, 혈구 관련 유전자 2개, 플라그 형성 및 혈액응고 관련 유전자 3개를 분석한 후, beta-2 microglobulin(B2M)로 mRNA의 상대적인 양을 정규화시켜 발현 정도를 계산하였다.

[0092] 그 결과, 도 3 내지 도 5에 나타난 바와 같이, 대조식품을 섭취한 군보다 시험식품을 섭취한 군에서, 염증관련 유전자 15개(도 3), 산화 스트레스 관련 유전자 7개(도 4), 지질 대사관련 유전자 9개(도 5)의 발현이 감소함을 확인하였다(도 3 내지 도 5). 발현이 변화된 유전자들은 하기 표 4에 나타내었다.

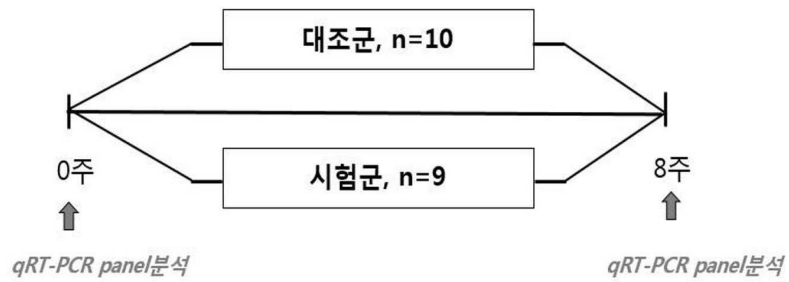
표 4

[0093]

항산화 (7종)	SOD2, HMOX1, CYBA, NCF1, CYBB, TXNRD1, AGER
항염증 (15종)	TLR4, TNF-a, IL-6, CCL22, PTGDR, IFNA1, STAT3, BCL6, ITGAL, GRB2, TNFRSF1B, AKT1, BCL2, CRLF1, SELL
지질대사 (9종)	SLC27A1, SCD, MOGAT, APOE, GK, LPAR2, LDLR, ACACB, DGKQ
혈구 (1종)	CCL21
플라그형성 및 혈액응고 (1종)	PEAR1

도면

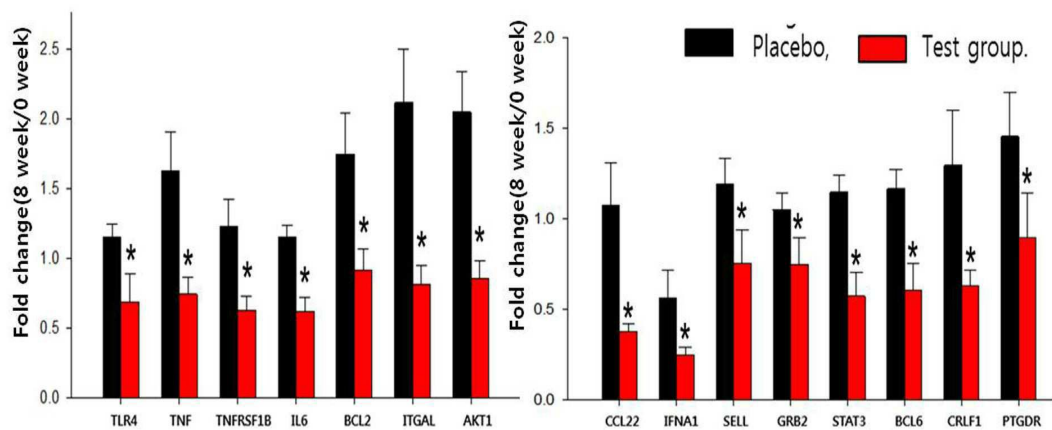
도면1



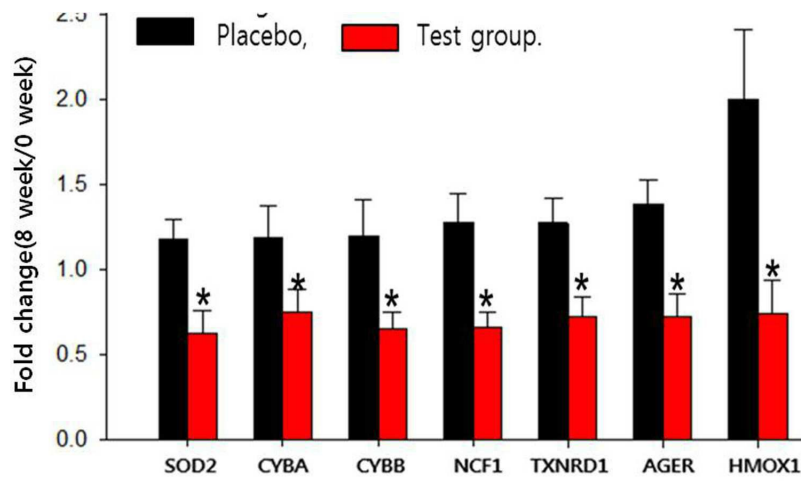
도면2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TLR2	IL18	PTGDR	CCL5	SIRPA	TNFRSF	SOD2	NFE2L2	GK	ACACB	MOGAT3	ACTB
B	TLR4	IL8	IFNA1	CCL3	PTPN6	CCR3	GPX3	CYBA	LPAR2	ECI1	PLB1	B2M
C	SODS3	CXCL10	IFNB1	CCL4	GRB2	CRLF1	GPX1	NCF1	LDLR	HADHA	NOX5	GAPDH
D	SODS6	CXCL9	IRF7	NFKBIA	ESR1	UTAF	GPX4	TXNRD1	LRP1	ACACD5B	PTDSS1	HPRT1
E	TNF	CXCL11	IRF3	MIF	STAT3	PEAR1	CAT	AGER	RSAD2	AGPAT6	APOE	RPL13A
F	IL6	CD80	IFNAR1	SELL	BCL6	ICAM1	HMOX1	CCL21	HMGCR	DGKA	AKT1	
G	IL12B	CD86	CCL22	ITGAL	EGFR	VCAM1	NOS2	IL4R	SLC27A1	DGKH	BCL2	
H	IL12A	CD40	CCL2	CR1	TNFRSF18	SOD1	CYBB	DGAT1	SCD	DGKQ	ILR1	

도면3



도면4



도면5

