(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0022924
(43) 공개일자 2017년03월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/18 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) *C12Q 1/68* (2006.01)
G01N 33/50 (2017.01) *G01N 33/53* (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/1875 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0105067
(22) 출원일자 2016년08월18일
심사청구일자 2016년08월18일
(30) 우선권주장
1020150115874 2015년08월18일 대한민국(KR)
1020150115875 2015년08월18일 대한민국(KR)

(71) 출원인
한국원자력의학원
서울특별시 노원구 노원로 75 (공릉동)
(72) 발명자
이기호
서울특별시 도봉구 시루봉로 71 (방학동, 청구아파트) 603동 403호
신현진
서울특별시 강동구 천호대로199길 10 (길동, 지에스강동자이아파트) 108동 101호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

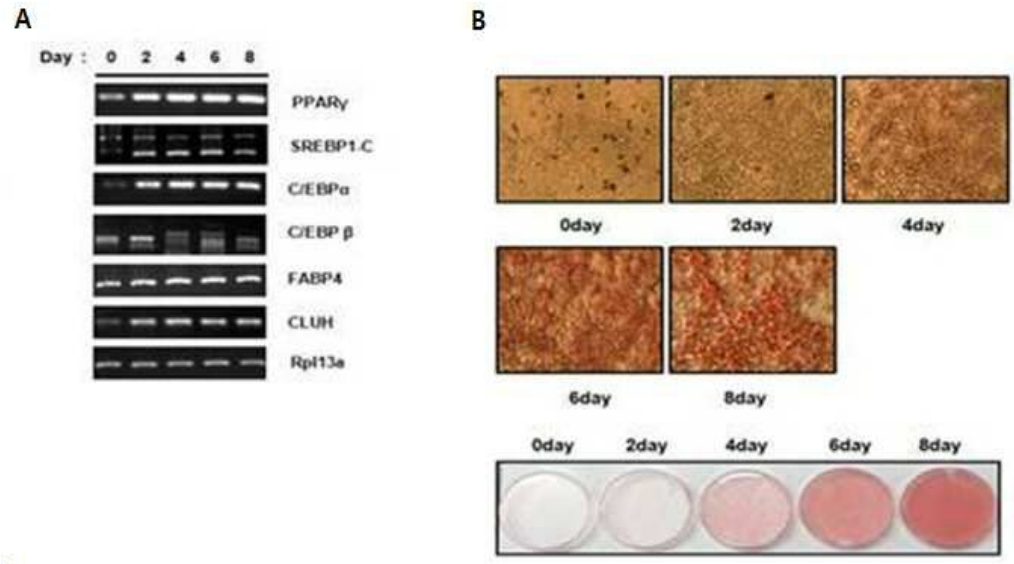
전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 **비만 치료 또는 예방용 약학 조성물**

(57) 요 약

본 발명의 CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 또는 BMPER (BMP binding endothelial regulatr)은 지방세포로의 분화 및 지방 축적에 관여하므로, 이를 억제하여 지방 세포로의 분화를 억제할 수 있으며, 비만을 치료 또는 예방할 수 있다. 또한, 상기 CLUH 또는 BMPER의 발현 수준을 측정하여 비만을 진단하고, 비만 치료제, 및 지방세포로의 분화 조절제를 스크리닝할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 48/00 (2013.01)
C12Q 1/6883 (2013.01)
C12Q 1/6886 (2013.01)
G01N 33/5008 (2013.01)
G01N 33/53 (2013.01)
G01N 33/6893 (2013.01)
C12Q 2600/136 (2013.01)
G01N 2500/10 (2013.01)
G01N 2800/044 (2013.01)

(72) 발명자
정원희
서울특별시 서초구 서운로9길 54 (서초동, 봉화하이츠빌라) 202호
송지영
서울특별시 영등포구 여의동로3길 10 (여의도동, 여의도자이아파트) 101동 3802호
이은주
서울특별시 송파구 백제고분로18길 7 (잠실동, 현대아파트) 103동 701호
함용호
서울특별시 노원구 수락산로6길 12 (상계동)
김성섭
대전광역시 유성구 엑스포로 448 307동 1404호 (전민동,엑스포아파트)
홍성희
서울특별시 도봉구 도봉로180가길 32 (도봉동, 중흥에스클래스) 101동 1402호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711029867
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 바이오의료기술개발사업
연구과제명 오믹스 기반 간암 비만 조절인자 발굴 및 비만으로 인한 간암진행 연구
기 여 율 40/100
주관기관 한국원자력의학원
연구기간 2015.12.01 ~ 2016.11.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711029200
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 바이오의료기술개발사업
연구과제명 암특이적 세포사멸 유도 예후인자를 타겟으로 한 항암 검증물질 개발 및 신약타겟검증
기 여 율 30/100
주관기관 한국원자력의학원
연구기간 2015.10.01 ~ 2016.09.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711031812
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국원자력의학원
연구사업명 한국원자력의학원연구운영비지원사업
연구과제명 방사선 암창조경제 실용화기술개발
기 여 율 30/100
주관기관 한국원자력의학원
연구기간 2016.01.01 ~ 2016.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 및 BMPER (BMP binding endothelial regulator) 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 비만 치료 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 CLUH 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 것인, 약학 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 것인, 약학 조성물.

청구항 4

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 비만 진단용 조성물.

청구항 5

제4항의 비만 진단용 조성물을 포함하는, 비만 진단용 키트.

청구항 6

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 지방 세포 분화 억제용 조성물.

청구항 7

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 단계를 포함하는 비만 진단을 위한 정보의 제공 방법.

청구항 8

(a) 비만 치료제 후보 물질을 CLUH 또는 BMPER 유전자가 발현되는 세포에 처리하는 단계;

(b) 상기 (a) 단계에서 비만 치료제 후보 물질을 처리한 세포에서 CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 상기 (b) 단계에서 측정한 발현량 또는 활성이 비만 치료제 후보 물질을 처리하지 않은 대조군 세포보다 감

소하는 경우, 해당 비만 치료제 후보 물질을 비만 치료제로 판단하는 단계를 포함하는, 비만 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 발현량 또는 활성을 측정하는 단계는 상기 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 유전자의 mRNA의 발현수준을 측정하는 것인, 비만 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 10

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 비만 치료제의 스크리닝용 키트.

청구항 11

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 비만 치료제의 효능 검정용 키트.

청구항 12

(a) 지방세포 분화 촉진제 후보 물질을 CLUH 또는 BMPER 유전자가 발현되는 세포에 처리하는 단계;

(b) 상기 (a) 단계에서 지방세포 분화 촉진제 후보 물질을 처리한 세포에서 CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 상기 (b) 단계에서 측정한 발현량 또는 활성이 지방세포 분화 촉진제 후보 물질을 처리하지 않은 대조군 세포보다 증가하는 경우, 해당 지방세포 분화 촉진제 후보 물질을 지방세포 분화 촉진제로 판단하는 단계를 포함하는, 지방세포 분화 촉진제의 스크리닝 방법.

청구항 13

(a) 지방세포 분화 억제제 후보 물질을 CLUH 또는 BMPER 유전자가 발현되는 세포에 처리하는 단계;

(b) 상기 (a) 단계에서 지방세포 분화 억제제 후보 물질을 처리한 세포에서 CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및

(c) 상기 (b) 단계에서 측정한 발현량 또는 활성이 지방세포 분화 억제제 후보 물질을 처리하지 않은 대조군 세포보다 감소하는 경우, 해당 지방세포 분화 억제제 후보 물질을 지방세포 분화 억제제로 판단하는 단계를 포함하는, 지방세포 분화 억제제의 스크리닝 방법.

청구항 14

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방세포 분화 촉진제의 스크리닝용 키트.

청구항 15

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방세포 분화 억제제의 스크리닝용 키트.

청구항 16

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방세포 분화 촉진제의 효능 검정용 키트.

청구항 17

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방세포 분화 억제제의 효능 검정용 키트.

청구항 18

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는, 비만 진단을 위한 마커 검출용 조성물.

청구항 19

제18항의 조성물을 포함하는 비만 진단을 위한 마커 검출용 키트.

청구항 20

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자를 과발현 시키는 제제를 포함하는 지방 세포 분화 촉진용 조성물.

청구항 21

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방 세포로의 분화 진단 마커 검출용 조성물.

청구항 22

CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방 세포로의 분화 진단용 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 및 BMPER (BMP binding endothelial regulator) 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 비만 치료 또는 예방용 약학 조성물 및 지방세포로의 분화를 억제하거나 촉진시키는 약학 조성물에 관한 것이다. 또한, 상기 단백질 또는 상기 유전자의 발현량 또는 활성을 측정하는 제제를 포함하는 비만 진단용 조성물 및 상기 단백질 또는 상기 유전자의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계를 포함하는 비만 치료제 또는 지방세포로의 분화 조절제의 스크리닝 방법, 비만 진단을 위한 정보의 제공 방법에 관한 것이다. 더 나아가, 상기 단백질 또는 상기 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 비만 치료제 또는 분화 조절제의 스크리닝용 키트 및 비만 치료제 또는 분화 조절제의 효능 검정용 키트에 관한 것이다. 더 나아가, 비만 진단을 위한 마커

검출용 조성물 및 키트에 관한 것이다. 더 나아가, 지방세포로의 분화를 측정할 수 있는 마커 검출용 조성물 및 키트에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 비만은 유전적, 대사적, 환경적, 그리고 행동학적인 복잡한 요인의 상호작용에 의해 발생하는 생물학적 현상으로서, 일반적으로 체중과다로 인식되고 있다. 의학적으로는 BMI(body mass index)가 30 이상(즉, 표준체중의 30% 이상)인 경우이거나 BMI가 27 이상인 경우 비만으로 분류하는데, 현대인들은 서구화된 식단과 적은 운동량으로 인하여 과체중 및 비만이 증가하고 있다.

[0004] 국제보건기구(World Health Organisation, WHO)에 따르면, 전 세계적으로 10억 이상의 성인이 과체중이고, 그 중 적어도 300만 명 이상이 임상적으로 비만이며, 매년 25,000명 이상이 과체중과 관련된 질환에 의해 사망하는 것으로 보고되었다. 특히 비만은 고혈압, 제2형 당뇨병, 암, 담낭질환, 고지혈증, 동맥경화 등과 같은 각종 성인병을 일으키는 중요한 요인으로 알려져 있다. 비만의 원인을 유전적 원인으로만 보기는 어려우며, 에너지 균형을 파괴하는 유전적, 환경적 복합 요인이 비만의 중요 원인라는 인식이 확산되고 있다.

[0005] 지방세포에 저장된 지방은 체내의 중요한 에너지원으로 사용된다. 그러나, 비만이 진행됨에 따라서 지방세포는 수적으로 증가할 뿐만 아니라 과다한 지방세포의 분화에 의한 다량의 중성지방 합성은 지방세포의 크기 증가를 포함한 형태적 변화와 여러 유전자 발현의 변화를 동반한다. 지방세포의 크기 증가는 잉여 에너지를 중성지방의 형태로 합성 및 저장함으로써 유도된다. 한편, 지방의 저장에 따라 지방세포의 크기 증가는 그 직경이 약 20배까지 늘어날 수 있으며 그 결과 세포 용적은 수천 배까지 증가되는 것으로 알려져 있다. 이러한, 지방세포의 크기는 일반적으로 식사 조절로 가능하지만 새로운 전구지방세포가 지방세포로 분화되는 과정은 식사조절로는 효과가 없기 때문에 비만의 근본적 치료 또는 억제를 제어하기 위해서는 지방세포의 분화과정을 조절하는 것이 중요하다.

[0007] 한편, CLUH (Clustered mitochondrial homolog)은 미토콘드리아 관련 유전자로 알려져 있으나, 그 기능에 관해서는 구체적으로 알려진 바 없다. 단지, 미토콘드리아 단백질의 mRNA와 결합하여 미토콘드리아의 생체 내 합성을 조절하며(Jie Gao et al., J. Cell Biol. Vol. 2014, 207, No. 2, 213-223, 2014.10.27), 미토콘드리아의 생체 내 합성의 관련성에 관해 일부 알려져 있을 뿐이다 (Aurelia De Pauw et al., Am J Pathol.2009, 175(3):927-939, 2009.09). CLUH가 지방세포 분화 과정에 관여하는 사실은 전혀 알려진 바 없다.

[0009] 또한, BMPER(BMP binding endothelial regulator)은 뼈 형성 단백질 (bone morphogenetic protein, BMP)과 결합하여 이의 기능을 억제한다. 상기 BMPER은 종양 성장에 관여하고 있다고 알려져 있고(J. Heinke et al., Oncogene,2012,31, 2919.2930, 2011.10.24), 죽상동맥경화증 (atherosclerosis)에 대해서 보호 효과가 있다고 알려져 있으나 (Xinchun Pi et al., Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2012, 32(9):2214.2222, 2012. 7. 5), 지방세포 분화 과정에 관여하는 사실은 전혀 알려진 바 없다.

[0011] 이러한 배경하에서, 본 발명자들은 비만을 예방 또는 치료할 수 있는 약학 조성물을 찾기 위해 노력한 결과, CLUH 또는 BMPER의 발현을 억제하여 비만을 예방 또는 치료 할 수 있으며, 이의 발현 수준을 측정하여 비만 치료제를 스크리닝 할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 하나의 목적은 CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 및 BMPER (BMP binding endothelial regulator) 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 비만 치료 또는 예방용 약학 조성물, 그리고 지방세포로의 분화를 조절하는 약학

조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 다른 하나의 목적은 CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 또는 BMPER (BMP binding endothelial regulator) 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 비만 진단용 조성물, 및 진단키트 및 지방세포로의 분화를 측정할 수 있는 조성물, 및 측정 키트를 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 유전자의 비만 진단 마커 용도 및 지방세포로의 분화를 판단할 수 있는 마커 용도를 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 단계를 포함하는 비만 진단을 위한 정보의 제공 방법 및 지방세포로의 분화 판단 방법을 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계를 포함하는 비만 치료제 또는 지방세포로의 분화 조절제의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

[0018] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 단계를 포함하는 비만 치료제 또는 지방세포로의 분화 조절제의 스크리닝용 키트를 제공하는 것이다.

[0019] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 비만 치료제 또는 지방세포로의 분화를 측정할 수 있는 효능 검정용 키트를 제공하는 것이다.

[0020] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 비만 진단 및 지방세포로의 분화 측정을 위한 마커 검출용 조성물 및 키트를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0022] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 양태는 CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 및 BMPER (BMP binding endothelial regulator) 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 비만 치료 또는 예방용 약학 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 것일 수 있다.

[0024] 본 발명의 용어 "CLUH (Clustered mitochondrial homolog)"란, 미토콘드리아 관련 유전자로서, 미토콘드리아의 생체 내 합성을 조절하는 것으로 알려져있다. 상기 CLUH을 코딩하는 유전자의 구체적인 염기서열 및 단백질 정보는 NCBI의 GeneBank 등 공지의 데이터베이스에서 얻을 수 있다(예를 들어, NM_001081158.2, NP_001074627.1.) 그러나, 상기 공지된 서열뿐만 아니라, 상기 CLUH와 동일하게 지방세포의 분화를 유도하고 지방축적을 유도하는 효과를 나타내는 한, 이의 상동 단백질 또는 변이 단백질 역시 본 발명에서 제공하는 CLUH의 범주에 포함될 수 있다. 구체적으로, 상기 CLUH을 코딩하는 유전자의 구체적인 염기서열은 서열번호 5일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0026] 본 발명의 용어 "BMPER (BMP binding endothelial regulator)"란, 뼈 형성 단백질 (bone morphogenetic protein, BMP)과 결합하여 이의 기능을 억제하는 단백질을 말한다. 상기 단백질은 BMP2- 및 BMP4-의존적 조골세포 (osteoblast) 분화와 BMP-의존적인 연골원 (chondrogenic) 세포의 분화를 억제하는 것으로 알려져 있다. 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 변이는 심각한 골격 질환과 관계된 것으로 알려져 있다. 상기 BMPER을 코딩하는 유전자의 구체적인 염기서열 및 단백질 정보는 NCBI의 GeneBank 등 공지의 데이터베이스에서 얻을 수 있다(예를 들어, NM_028472.2, NP_082748.1) 그러나, 상기 공지된 서열뿐만 아니라, 상기 BMPER과 동일하게 지방세포의 분화를 유도하고 지방축적을 유도하는 효과를 나타내는 한, 이의 상동 단백질 또는 변이 단백질 역시 본 발명에서 제공하는 BMPER의 범주에 포함될 수 있다. 구체적으로, 상기 BMPER을 코딩하는 유전자의 구체적인 염기서열은

서열번호 10일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 본 발명에서, CLUH 및 BMPER의 발현을 모두 억제하거나 또는 발현량을 함으로써, 또는 CLUH 및 BMPER 중 어느 하나의 발현을 억제하거나 발현량을 측정 함으로써, 지방세포로의 분화 억제, 비만의 진단, 예방, 또는 치료, 비만 치료제 또는 분화 조절제의 스크리닝 및 효능 검정을 할 수 있다.

[0030] 본 발명에서 용어, "상동성(homology)"은 야생형(wild type) 단백질의 아미노산 서열 또는 이를 코딩하는 염기 서열과의 유사한 정도를 나타내기 위한 것으로서, 본 발명의 아미노산 서열 또는 염기 서열과 상기와 같은 퍼센트 이상의 동일한 서열을 가지는 서열을 포함한다. 이러한 상동성은 두 서열을 육안으로 비교하여 결정할 수도 있으나, 비교대상이 되는 서열을 나란히 배열하여 상동성 정도를 분석해 주는 생물정보 알고리즘(bioinformatic algorithm)을 사용하여 결정할 수 있다. 상기 두 개의 아미노산 서열 사이의 상동성은 백분율로 표시할 수 있다. 유용한 자동화된 알고리즘은 Wisconsin Genetics Software Package (Genetics Computer Group, Madison, W, USA)의 GAP, BESTFIT, FASTA와 TFASTA 컴퓨터 소프트웨어 모듈에서 이용가능하다. 상기 모듈에서 자동화된 배열 알고리즘은 Needleman & Wunsch와 Pearson & Lipman과 Smith & Waterman 서열 배열 알고리즘을 포함한다. 다른 유용한 배열에 대한 알고리즘과 상동성 결정은 FASTP, BLAST, BLAST2,PSIBLAST와 CLUSTAL W를 포함하는 소프트웨어에서 자동화되어 있다.

[0032] 본 발명의 용어 "발현 또는 활성을 억제할 수 있는 제제"란, 유전자에서 발현되어 생산되는 전사체 또는 단백질의 생성을 억제할 수 있는 물질을 의미한다. 상기 제제로는 유전자에 결합하여 전사수준에서 억제하는 전사인자; 전사되어 합성된 전사체에 결합하여 전사체를 분해하는 miRNA, siRNA, shRNA 등의 간섭 RNA; 상기 CLUH 또는 BMPER의 발현을 억제하거나 활성을 억제하는 화합물, 그 예로 저분자 화합물질; 발현된 단백질과 결합할 수 있는 항체, 앱타머, 안타고니스트 등이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0033] 본 발명의 용어 "간섭 RNA(short interfering RNA)"란, 유전자의 활성을 억제하는 RNAi를 유발시킬 수 있는 이중가닥 RNA를 의미한다. 본 발명에 있어서 상기 간섭 RNA는 CLUH 또는 BMPER의 발현을 억제할 수 있는 miRNA, siRNA, shRNA 등이 될 수 있는데, 상기 간섭 RNA는 CLUH 또는 BMPER 유전자의 발현 또는 활성을 억제시키기만 하면 어떠한 형태의 것도 가능하다. 예를 들면, 화학합성 또는 생화학적 합성 또는 생체내 합성에 의해 수득되는 siRNA, 혹은 약 40개 염기 이상의 이중가닥 RNA가 체내에서 분해된 10개 염기대 이상의 이중가닥 RNA 등을 사용할 수 있다.

[0034] 구체적으로, CLUH의 발현을 억제하는 siRNA는 서열번호 3의 siRNA, 또는 서열번호 4의 siRNA 등이 될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 또한, BMPER의 발현을 억제하는 siRNA는 서열번호 8의 siRNA, 또는 서열번호 9의 siRNA 등이 될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0036] 상기 간섭 RNA는 상기 각 단백질을 코딩하는 유전자의 일부에 대하여 이에 제한되지 않으나 구체적으로 약 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 100%의 상동성을 가지는 서열로 구성될 수 있고, 이중가닥 부분을 포함하는 RNA 또는 그의 개변체를 사용할 수도 있다.

[0038] 본 발명의 용어 “저분자 화합물질”이란, 상기 CLUH 또는 BMPER의 발현을 억제하거나 활성을 억제할 수 있는 한, 제한되지 않고 본 발명에 포함될 수 있으며, 천연 유래의 물질 또는 합성된 물질일 수 있다. 구체적으로, 유기합성물질, 또는 천연물질 일 수 있다.

[0040] 본 발명의 용어 "항체"란, 단백질 또는 펩티드 분자의 항원성 부위에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질성 분자를 의미하는데, 이러한 항체는, 각 유전자를 통상적인 방법에 따라 발현벡터에 클로닝하여 상기 마커 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 얻고, 얻어진 단백질로부터 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 상기 항체의 형태는 특별히 제한되지 않으며 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체 또는 항원 결합성을 갖는 것이면 그것의 일부도 본 발명의 항체에 포함되고 모든 면역 글로불린 항체가 포함될 수 있을 뿐만 아니라, 인간화 항체 등의 특수 항체

를 포함할 수도 있다. 아울러, 상기 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 완전한 형태뿐만 아니라 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 항체 분자의 기능적인 단편이란 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 의미하며 Fab, F(ab'), $F(ab')_2$ 및 Fv 등이 될 수 있다. 본 발명의 목적상, 상기 항체는 CLUH 또는 BMPER 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 항체가 될 수 있다.

[0042] 본 발명의 용어 "앱타머(aptamer)"란, 소정의 표적 분자에 대한 결합 활성을 갖는 핵산 분자를 의미한다. 상기 앱타머는 RNA, DNA, 수식(modified) 핵산 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 직쇄상 또는 환상의 형태일 수 있는데, 대체로, 상기 앱타머를 구성하는 뉴클레오티드의 서열이 짧을수록 화학합성 및 대량 생산이 보다 용이하고, 비용면에서의 장점이 우수하며, 화학수식이 용이하고, 생체 내 안정성이 우수하며, 독성이 낮다고 알려져 있다.

[0043] 본 발명의 목적상 상기 앱타머는 CLUH 또는 BMPER 단백질에 결합함으로써, 상기 단백질의 활성을 억제할 수 있는 수단으로 해석될 수 있다.

[0045] 본 발명의 용어 "안타고니스트(antagonist)"란, 수용체의 생물학적 활성을 직접 또는 간접적으로 감소시킬 수 있는 분자를 의미하며, 수용체의 리간드와 함께 사용하는 경우에 상기 리간드의 작용을 감소시킬 수 있는 분자를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0046] 본 발명의 목적상 상기 안타고니스트는 CLUH 또는 BMEPR 단백질의 활성을 억제하는 분자라면 제한 없이 포함하며, 구체적인 예로 상기 안타고니스트는 CLUH 또는 BMPER 단백질에 결합하여 활성을 억제하는 분자를 의미하나, 이에 제한되지 않는다.

[0048] 본 발명의 용어 "비만" 이란, 에너지 불균형에 의하여 과다한 체지방을 가진 상태(condition) 또는 질환(disease)을 의미한다. 본 발명에 따른 약학 조성물을 개체에 투여함으로써 체중을 감량하여 비만을 예방 또는 치료할 수 있다.

[0050] 본 발명의 용어 "예방"이란, 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여로 비만의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0052] 본 발명의 용어 "치료"란, 본 발명의 약학 조성물을 투여함으로써, 비만의 증세가 호전되거나 이롭게 변경시키는 모든 행위를 의미한다.

[0053]

[0054] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 3T3-L1 세포주를 이용하여, 지방세포로의 분화 및 지방 축적과 CLUH 또는 BMPER의 관련성을 확인한 결과, 지방세포로의 분화 및 지방 축적 과정에서 CLUH 또는 BMPER의 발현이 증대되는 것을 확인하였다 (도 1 및 3).

[0055] 본 발명의 다른 실시예에 의하면, siRNA를 이용하여 CLUH 또는 BMPER의 발현을 억제하였을 때 지방세포로의 분화가 억제되며, 지방 축적 역시 감소하는 것을 확인하였다(도 2 및 4).

[0057] 본 발명의 또 다른 실시예에 의하면, 인간 간엽줄기세포(human mesenchymal stem cell), 및 생쥐의 지방 전구세포인 3T3L1, C3H10T1/2의 지방세포로의 분화 과정에서 CLUH 또는 BMPER 발현량을 측정한 결과, CLUH 또는 BMPER 발현량이 증대됨을 확인하였다 (도 5 및 6).

[0059] 따라서, 본 발명자들은 CLUH 또는 BMPER이 지방세포로의 분화 및 지방 축적에 관여되어, 이의 발현을 조절함으로써 비만을 예방 또는 치료 할 수 있으며, 더 나아가 이의 발현수준을 측정하여 비만을 진단하거나 비만 치료제를 스크리닝 할 수 있음을 알 수 있었다.

[0061] 본 발명의 약학적 조성물은, 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함하는 비만 치료 또는 예방용 약학 조성물의 형태로 제조될 수 있는데, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occuring carrier)를 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명에서, 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0062] 본 발명의 약학 조성물에 포함된 상기 제제의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 최종 조성물 총중량을 기준으로 0.0001 내지 50 중량%, 보다 바람직하게는 0.01 내지 10 중량%의 함량으로 포함할 수 있다.

[0064] 상기 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있는데, 본 발명의 용어 "약제학적으로 유효한 양"이란 의학적 치료 또는 예방에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료 또는 예방하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 질환의 중증도, 약물의 활성, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 사용된 본 발명의 조성물의 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율 치료기간, 사용된 본 발명의 조성물과 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하다.

[0066] 본 발명의 약학조성물의 투여량은 사용목적, 질환의 중독도, 환자의 연령, 체중, 성별, 기왕력, 또는 유효성분으로서 사용되는 물질의 종류 등을 고려하여 당업자가 결정할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 약학 조성물을 사람을 포함하는 포유동물에 하루 동안 10 내지 100 ㎎/㎏, 보다 바람직하게는 10 내지 30 ㎎/㎏으로 투여할 수 있고, 본 발명의 조성물의 투여빈도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 1일 1회 내지 3회 투여하거나 또는 용량을 분할하여 수회 투여할 수 있다.

[0068] 본 발명은 다른 양태로서, 비만 치료 또는 예방용 약학 조성물을 비만 또는 비만의 발병 위험이 있는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 비만의 예방 또는 치료 방법을 제공한다. 상기 조성물은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 것일 수 있다.

[0070] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 및 BMPER (BMP binding endothelial regulator) 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 비만 진단용 조성물을 제공한다.

[0071] 상기 조성물은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 것일 수 있다.

[0073] 본 발명의 용어, “CLUH (Clustered mitochondrial homolog)”, 및 "BMPER (BMP binding endothelial regulatr)"는 상술한 바와 같다.

[0075] 본 발명의 용어, “단백질의 수준 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정할 수 있는 제제”는, 구체적으로, 상기 CLUH 또는 BMPER 유전자의 mRNA에 특이적으로 결합하는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 쌍, 프로브 또는 상기 CLUH 또는 BMPER 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 앱타머, 안타고니스트 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0076] 상기 항체, 앱타머, 및 안타고니스트는 상술한 바와 동일하다.

[0078] 본 발명의 용어 "프라이머"란, 짧은 자유 3말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 상보적인 템플레이트(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고 템플레이트 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오사이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성을 개시할 수 있다. PCR 조건, 센스 및 안티센스 프라이머의 길이는 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다. 또한, 상기 프라이머는 변형시킬 수 있으며, 예를 들어 메틸화, 캡화, 뉴클레오타이드의 치환 또는 뉴클레오타이드 간의 변형, 예를 들면, 하전되지 않은 연결체(예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체(예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)로의 변형이 있을 수 있다. 아울러, 상기 프라이머 쌍을 사용하여 증폭시킨 PCR 산물을 보다 효과적으로 인식하기 위하여, 상기 프라이머의 5' 또는 3' 말단에 형광물질 등으로 표지할 수 있다. 이때, 사용되는 형광물질은 특별히 이에 제한되지 않으나, FAM(6-carboxyfluorescein), HEX(2',4',5',7',-tetrachloro-6-carboxy-4,7-dichlorofluorescein), NED™ 등을 사용할 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 프라이머 쌍은 서열번호 1 및 2; 또는 서열번호 6 및 7의 서열을 가지는 프라이머일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0080] 본 발명의 용어 "프로브"란, 유전자 또는 mRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧게는 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하는데, 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(single stranded DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double stranded DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있고, 보다 용이하게 검출하기 위하여 라벨링될 수 있다.

[0082] 본 발명의 용어, "진단"이란, 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것으로서, 본 발명의 목적상, 비만 여부를 확인하는 것일 수 있다.

[0084] 본 발명의 비만 진단용 조성물을 이용하여, 정상인과 비만이 의심되는 개체로부터 분리된 시료의 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정하여 비만이 의심되는 개체의 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현 수준이 정상인보다 증가된 경우, 비만으로 판정할 수 있다. 이 때, 정상인은 비만이 아닌 개체를 의미한다.

[0086] 본 발명은 또 다른 양태로서, 상기 비만 진단용 조성물을 포함하는, 비만 진단용 키트를 제공한다.

[0087] 상기 비만 진단용 조성물은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 것일 수 있다.

[0089] 본 발명의 "키트"는 최적의 반응 수행 조건을 기재한 사용설명서를 추가로 포함할 수 있다. 사용설명서는 팜플렛 또는 전단지 형태의 안내 책자, 키트에 부착된 라벨, 및 키트를 포함하는 패키지의 표면상에 설명을 포함한다. 또한, 안내서는 인터넷과 같이 전기 매체를 통해 공개되거나 제공되는 정보를 포함할 수 있다.

[0090] 상기 키트는 RT-PCR 키트 또는 DNA 분석용 (예, DNA 칩) 키트, 또는 단백질 칩 키트일 수 있다.

[0091] 구체적인 일례로서, 본 발명의 키트는 RT-PCR을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있다. RT-PCR 키트는, CLUH 또는 BMPER에 대한 특이적인 각각의 프라이머 쌍 외에도 RT-PCR 키트는 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액(pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오타이드(dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNAse 억제제, DEPC-수(DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다. 또한 정량 대조군으로 사용되는 유전자에 특이적인 프라이머 쌍을 포함할 수 있다.

[0092] DNA 칩 키트는, 일반적으로 편평한 고체 지지판, 전형적으로는 현미경용 슬라이드보다 크지 않은 유리 표면에 핵산 종을 격자형 배열(gridded array)로 부착한 것으로, 칩 표면에 핵산이 일정하게 배열되어, DNA 칩 상의 핵산과 칩 표면에 처리된 용액 내에 포함된 상보적인 핵산 간에 다중 혼성화(hybridization) 반응이 일어나 대량 병렬 분석이 가능하도록 하는 도구이다.

[0093] 상기 단백질 칩 키트는 마커에 대한 하나 이상의 항체가 기판 위의 정해진 위치에 배열되어 고밀도로 고정화되어 있는 키트일 수 있다. 단백질 칩을 이용하는 방법은 시료에서 단백질을 분리하고, 분리한 단백질을 단백질 칩과 혼성화시켜서 항원-항체 복합체를 형성하고, 이를 판독하여 단백질의 존재 또는 발현수준을 확인할 수 있다.

[0095] 본 발명의 비만 진단용 키트를 이용하여, 비만이 의심되는 개체의 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 수준을 측정함으로써, 비만 여부를 판단할 수 있다.

[0097] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 지방 세포 분화 억제용 조성물을 제공한다.

[0098] 상기 조성물은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제를 포함하는 것일 수 있다.

[0100] 본 발명의 용어, “CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현 또는 활성을 억제하는 제제”는 상술한 바와 같다.

[0101] 본 발명의 지방 세포 분화 억제용 조성물은 CLUH 또는 BMPER의 발현 또는 활성을 억제시킴으로써, 지방 세포로의 분화를 억제할 수 있다.

[0103] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 단계를 포함하는 비만 진단을 위한 정보의 제공방법을 제공한다.

[0104] 상기 비만 진단을 위한 정보의 제공 방법은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질의 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0105] 본 발명의 "비만 진단을 위한 정보의 제공방법"은, 정상인과 비만이 의심되는 개체로부터 분리된 시료의 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 각각 측정하여 비만이 의심되는 개체의 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자의 발현수준이 정상인보다 증가된 경우, 비만으로 판정할 수 있다. 이 때, 정상인은 비만이 아닌 개체를 의미한다.

[0106] CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준의 측정은 상기 CLUH 또는 BMPER 유전자의 mRNA에 특이적으로 결합하는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 쌍, 프로브 또는 상기 CLUH 또는 BMPER 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 앱타머, 안타고니스트를 이용하여 측정할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0107] 본 발명의 용어 "개체"란, 상기 비만이 발병될 가능성이 있거나, 또는 발병된 인간을 포함한 모든 동물을 의미한다.

[0108] 본 발명의 용어 "분리된 시료"란, 상기 개체로부터 분리되고, 상기 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 mRNA를 포함하여, 본 발명에서 상기 단백질 또는 유전자의 발현수준을 측정할 수 있는 시료를 의미하는데, 상기 시료는 특별히 이에 제한되지 않으나, 일 예로서, 분리된 조직 또는 분리된 세포가 될 수 있다.

[0110] 본 발명은 또 다른 양태로서, (a) 비만 치료제 후보 물질을 CLUH 또는 BMPER 유전자가 발현되는 세포에 처리하는 단계; (b) 상기 (a) 단계에서 비만 치료제 후보 물질을 처리한 세포에서 CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및 (c) 상기 (b) 단계에서 측정한 발현량 또는 활성이 비만 치료제 후보 물질을 처리하지 않은 대조군 세포보다 감소하는 경우, 해당 비만 치료제 후보 물질을 비만 치료제로 판단하는 단계를 포함하는 비만 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0111] 상기 비만 치료제의 스크리닝 방법은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질의 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0113] 본 발명의 용어, “비만 치료제”는 비만인 개체에서 지방 세포 분화로의 억제를 유도하여, 체지방 감소, 지방 축적 저해, 체중 감소 등의 효과를 가지는 물질을 의미한다. 핵산, 단백질, 기타 추출물 또는 천연물, 또는 화합물 등이 될 수 있고, 구체적으로, 저분자 화합물, 유기합성물질, 천연물질, microRNA, siRNA, shRNA, 항체, 앱타머 등이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0115] 본 발명의 용어, "비만 치료제 후보 물질"은 상기와 같은 비만 치료제가 될 수 있는 가능성이 있는 물질의 의미하는 것으로, 통상적인 선정방식에 따라 비만 치료의 가능성을 지닌 것으로 추정되거나 또는 무작위적으로 선정된 개별적인 핵산, 단백질, 기타 추출물 또는 천연물, 또는 화합물 등이 될 수 있고, 구체적으로, 저분자 화합물, 유기합성물질, 천연물질, microRNA, siRNA, shRNA, 항체, 앱타머 등이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0117] 본 발명에서 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성의 측정은 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 유전자의 mRNA의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0118] 구체적으로, 상기 CLUH 또는 BMPER 유전자의 mRNA 발현수준을 측정하는 것은 상기 유전자의 mRNA에 특이적으로 결합하는 안티센스 올리고뉴클레오티드, 프라이머 쌍, 프로브 또는 이들의 조합을 이용할 수 있고, 이는 역전사효소 중합효소반응, 경쟁적 역전사효소 중합효소반응, 실시간 역전사효소 중합효소반응, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅 및 DNA 마이크로어레이 칩으로 구성된 군으로부터 선택되는 분석법을 이용하여 수행될 수 있으나, 상기에 제한되지 않는다.

[0119] 또한, 상기 CLUH 또는 BMPER 단백질의 발현수준을 측정하는 것은 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 앱타머, 안타고니스트 또는 이들의 조합을 이용할 수 있고, 이는 웨스턴 블랏팅, ELISA, 방사선면역분석법, 방사면역확산법, 오우크레로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트 면역전기영동, 면역조직화학염색, 면역침전분석, 보체고정분석, FACS 및 단백질 칩으로 구성된 군으로부터 선택되는 분석법을 이용하여 수행될 수 있으나, 상기에 제한되지 않는다.

[0121] 본 발명의 용어 "대조군"이란 비만 치료제 후보 물질을 처리하지 않은 CLUH 또는 BMPER을 발현하는 세포 또는 조직으로 상기 후보 물질을 처리한 군과 병렬 관계에 속하는 세포 또는 조직을 의미한다.

[0123] 본 발명의 용어 “비만 치료제의 스크리닝 방법”은, 지방세포로 분화하는 과정에 CLUH 및 BMPER의 발현이 관련

됨을 확인함으로써, 상기 CLUH 및 BMPER의 활성 및 발현을 치료제 후보 물질을 처리하지 않은 대조군 세포와 비교하는 방식으로 고안되었다. 비만을 예방 또는 치료할 수 있는 후보 물질의 부재 하에 세포에서의 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 수준을 측정하고, 또한, 상기 후보 물질의 존재 하에서 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 수준을 측정하여 양자를 비교한 후, 상기 후보 물질이 존재할 때의 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 수준이 상기 후보 물질의 부재 하에서의 수준보다 감소시키는 물질을 비만의 예방 또는 치료용 제제로 예측할 수 있다.

[0124] 이러한 스크리닝 방법에 의하여 얻어진 물질은 이후의 비만 예방 또는 치료제 개발 과정에서 선도물질(leading compound)로서 작용하게 되며, 선도 물질이 CLUH 또는 BMPER 또는 이를 암호화하는 유전자에 대한 저해 효과를 나타낼 수 있도록 그 구조를 변형시키고 최적화함으로써, 새로운 비만 예방 또는 치료제를 개발할 수 있으며, 이러한 물질은 CLUH 또는 BMPER 또는 이를 암호화하는 유전자에 대해 부분적 또는 완전한 활성 억제 효과를 나타내게 되므로 비만 관련 질환들을 예방 또는 치료할 수 있다.

[0126] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 및 BMPER (BMP binding endothelial regulator) 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 비만 치료제의 스크리닝용 키트를 제공한다.

[0127] 상기 비만 치료제의 스크리닝용 키트는 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0129] 본 발명의 비만 치료제의 스크리닝용 키트를 이용하여, 비만 치료제 후보 물질로부터 비만 치료제를 선정할 수 있다.

[0130] 본 발명에서 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제, 및 키트는 상술한 바와 같다.

[0132] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 비만 치료제의 효능 검정용 키트를 제공한다.

[0133] 상기 비만 치료제의 효능 검정용 키트는 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0135] 본 발명에서 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제 및 키트는 상술한 바와 같다.

[0137] 본 발명의 "비만 치료제의 효능 검정용 키트"는 상기 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하고, 비만 치료제가 처리된 CLUH 또는 BMPER을 발현하는 세포에서 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 유전자의 발현수준을 측정 가능한 키트일 수 있다. 상기 측정된 CLUH 또는 BMPER의 발현수준이 낮을수록 효과적인 비만 치료제인 것으로 검정할 수 있다.

[0139] 본 발명의 "비만 치료제의 효능 검정용 키트"는 상기 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하고, 비만 치료제가 처리된 CLUH 또는 BMPER를 발현하는 세포에서 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 유전자의 발현수준을 측정 가능한 키트일 수 있다. 상기 CLUH 또는 BMPER의 발현수준이 낮을수록 효과적인 비만 치료제인 것으로 검정할 수 있다.

[0141] 본 발명은 또 다른 양태로서, (a) 지방세포 분화 촉진제 후보 물질을 CLUH 또는 BMPER 유전자가 발현되는 세포

에 처리하는 단계; (b) 상기 (a) 단계에서 지방세포 분화 촉진제 후보 물질을 처리한 세포에서 CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및 (c) 상기 (b) 단계에서 측정한 발현량 또는 활성이 지방세포 분화 촉진제 후보 물질을 처리하지 않은 대조군 세포보다 감소하는 경우, 해당 지방세포 분화 촉진제 후보 물질을 지방세포 분화 촉진제로 판단하는 단계를 포함하는 지방세포 분화 촉진제의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0142] 상기 지방세포 분화 촉진제의 스크리닝 방법은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0144] 본 발명의 용어, "지방세포 분화 조절제"는 지방세포로의 분화를 촉진하거나 억제할 수 있는 모든 물질 (핵산, 단백질, 기타 추출물 또는 천연물, 또는 화합물 등)을 의미하며, 구체적으로 상기 분화 조절제는 MLPH의 과발현을 유도하거나, 발현을 저해함으로써 지방세포로의 분화를 촉진하거나 억제할 수 있으며, 또는, 지방세포로의 분화 촉진 또는 억제 과정에서 MLPH의 발현량에 유의미한 변화를 일으킬 수 있는 물질이라면 본 발명에 포함된다. "지방세포 분화 촉진제" 및 "지방세포 분화 억제제"가 "지방세포 분화 조절제"에 포함된다.

[0146] 본 발명의 용어, "지방세포 분화 촉진제 후보 물질"은 통상적인 선정방식에 따라 지방 세포 분화를 촉진할 수 있는 가능성을 지닌 것으로 추정되거나 또는 무작위적으로 선정된 개별적인 핵산, 단백질, 기타 추출물 또는 천연물, 또는 화합물 등이 될 수 있고, 구체적으로, 저분자 화합물, 유기합성물질, 천연물질, microRNA, siRNA, shRNA, 항체, 앱타머 등이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0148] 본 발명의 용어 “단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성의 측정”, 및 “대조군”은 상술한 바와 같다.

[0150] 본 발명의 용어 “지방세포 분화 촉진제의 스크리닝 방법”은, 지방세포로 분화하는 과정에 CLUH 또는 BMPER의 발현이 관련됨을 확인함으로써, CLUH 또는 BMPER의 활성 및 발현을 지방세포 분화 촉진제 후보 물질을 처리하지 않은 대조군 세포와 비교하는 방식으로 고안되었다. 지방세포의 분화를 촉진할 수 있는 후보 물질의 부재 하에 세포에서의 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 수준을 측정하고, 또한, 상기 후보 물질의 존재 하에서 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 수준을 측정하여 양자를 비교한 후, 상기 후보 물질이 존재할 때의 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 수준이 상기 후보 물질의 부재 하에서의 수준보다 증가시키는 물질을 지방세포 분화 촉진제로 예측할 수 있다.

[0152] 본 발명은 또 다른 양태로서, (a) 지방세포 분화 억제제 후보 물질을 CLUH 또는 BMPER 유전자가 발현되는 세포에 처리하는 단계; (b) 상기 (a) 단계에서 지방세포 분화 억제제 후보 물질을 처리한 세포에서 CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성을 측정하는 단계; 및 (c) 상기 (b) 단계에서 측정한 발현량 또는 활성이 지방세포 분화 억제제 후보 물질을 처리하지 않은 대조군 세포보다 감소하는 경우, 해당 지방세포 분화 억제제 후보 물질을 지방세포 분화 억제제로 판단하는 단계를 포함하는 지방세포 분화 억제제의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0153] 상기 지방세포 분화 억제제의 스크리닝 방법은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0155] 본 발명의 용어, "지방세포 분화 억제제 후보 물질"은 통상적인 선정방식에 따라 지방 세포 분화를 억제할 수 있는 가능성을 지닌 것으로 추정되거나 또는 무작위적으로 선정된 개별적인 핵산, 단백질, 기타 추출물 또는 천연물, 또는 화합물 등이 될 수 있고, 구체적으로, 저분자 화합물, 유기합성물질, 천연물질, microRNA, siRNA, shRNA, 항체, 앱타머 등이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0157] 본 발명의 용어 “단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현량 또는 활성의 측정”, 및 “대조군”은 상술한 바와 같다.

[0159] 본 발명의 용어 “지방세포 분화 억제제의 스크리닝 방법”은, 지방세포로 분화하는 과정에 CLUH 또는 BMPER의 발현이 관련됨을 확인함으로써, CLUH 또는 BMPER의 활성 및 발현을 지방세포 분화 억제제 후보 물질을 처리하지 않은 대조군 세포와 비교하는 방식으로 고안되었다. 지방세포의 분화를 억제할 수 있는 후보 물질의 부재 하에 세포에서의 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 수준을 측정하고, 또한, 상기 후보 물질의 존재 하에서 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 수준을 측정하여 양자를 비교한 후, 상기 후보 물질이 존재할 때의 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준 또는 상기 유전자가 코딩하는 단백질의 수준이 상기 후보 물질의 부재 하에서의 수준보다 감소시키는 물질을 지방세포 분화 억제제로 예측할 수 있다.

[0160] 이러한 스크리닝 방법에 의하여 얻어진 물질은 지방세포 분화 억제제로 사용될 수 있으며, 특히 비만의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

[0162] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방 세포 분화 촉진제의 스크리닝용 키트를 제공한다.

[0163] 상기 지방 세포 분화 촉진제의 스크리닝용 키트는 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0165] 본 발명의 지방 세포 분화 촉진제의 스크리닝용 키트를 이용하여, 지방 세포 분화 촉진제 후보 물질로부터 지방세포 분화 촉진제를 선정할 수 있다.

[0166] 본 발명에서 “CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제” 및 “키트”는 상술한 바와 같다.

[0168] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방 세포 분화 억제제의 스크리닝용 키트를 제공한다.

[0169] 상기 지방 세포 분화 억제제의 스크리닝용 키트는 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0171] 본 발명의 지방 세포 분화 억제제의 스크리닝용 키트를 이용하여, 지방 세포 분화 억제제 후보 물질로부터 지방세포 분화 억제제를 선정할 수 있다.

[0172] 본 발명에서 “CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제” 및 “키트”는 상술한 바와 같다.

[0174] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방세포 분화 촉진제의 효능 검정용 키트를 제공한다.

[0175] 상기 지방세포 분화 촉진제의 효능 검정용 키트는 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0176] 본 발명에서 “CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제”, “지방세포 분화 촉진제”, 및 “키트”는 상술한 바와 같다.

[0177] 본 발명의 "지방세포 분화 촉진제의 효능 검정용 키트"는 상기 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하고, 지방세포 분화 촉진제가 처리된 CLUH 또는 BMPER을 발현하는 세포에서 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 유전자의 발현 수준을 측정 가능한 키트일 수 있다. 상기 측정된 CLUH 또는 BMPER의 발현수준이 높을수록 효과적인 지방세포 분화 촉진제인 것으로 검정할 수 있다. 이와 같은 효능 검정용 키트는 일반적인 지방세포 분화 과정에서의 지방세포 분화 촉진제의 역가 검증 등에 유효하게 이용될 수 있다.

[0179] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방세포 분화 억제제의 효능 검정용 키트를 제공한다.

[0180] 상기 지방세포 분화 억제제의 효능 검정용 키트는 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0181] 본 발명에서 “CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제”, “지방세포 분화 억제제”, 및 “키트”는 상술한 바와 같다.

[0182] 본 발명의 "지방세포 분화 억제제의 효능 검정용 키트"는 상기 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하고, 지방세포 분화 억제제가 처리된 CLUH 또는 BMPER을 발현하는 세포에서 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 유전자의 발현 수준을 측정 가능한 키트일 수 있다. 상기 측정된 CLUH 또는 BMPER의 발현수준이 낮을수록 효과적인 지방세포 분화 억제제인 것으로 검정할 수 있다. 이와 같은 효능 검정용 키트는 일반적인 지방세포 분화 과정에서의 지방세포 분화 억제제의 역가 검증 등에 유효하게 이용될 수 있다.

[0184] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는, 비만 진단을 위한 마커 검출용 조성물을 제공한다.

[0185] 상기 비만 진단을 위한 마커 검출용 조성물은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0186] 본 발명에서 CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제는 상술한 바와 같다.

[0188] 본 발명의 용어, “비만 진단을 위한 마커”는 정상인 개체와 비만인 개체에서 유의한 발현량 차이를 나타내는 유기 생체 분자를 의미할 수 있다.

[0190] 본 발명의 비만 진단을 위한 마커 검출용 조성물을 이용하여, CLUH 또는 BMPER의 발현 수준과 동등 또는 그 이상의 수준으로, 비만이 아닌 개체 및 비만인 개체에서의 발현 수준이 유의한 차이를 나타내는 비만 진단을 위한 마커를 검출할 수 있다.

[0192] 본 발명은 또 다른 양태로서, 상기 비만 진단을 위한 마커 검출용 조성물을 포함하는, 비만 진단을 위한 마커 검출용 키트를 제공한다.

[0193] 상기 비만 진단을 위한 마커 검출용 조성물은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0194] 본 발명의 용어, “CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제”, “비만 진단을 위한 마커”, “비만 진단을 위한 마커 검출용 조성물”, 및 키트는 상술한 바와 같다.

[0196] 본 발명의 비만 진단을 위한 마커 검출용 키트를 이용하여, 대조군 시료에서보다 유의한 발현량 차이를 보이는 비만 진단을 위한 마커를 검출할 수 있다.

[0198] 본 발명은 또 다른 양태로서, 비만의 예방 또는 치료용 의약의 제조에 있어서, 상기 약학적 조성물의 용도를 제공한다.

[0199] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 또는 BMPER 단백질 또는 유전자의 비만 진단 마커 용도를 제공한다.

[0201] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자를 과발현 시키는 제제를 포함하는 지방 세포 분화 촉진용 조성물을 제공한다.

[0202] 본 발명의 용어, "CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자를 과발현 시키는 제제"는 CLUH, BMPER 또는 CLUH 및 BMPER 모두의 발현량을 증대시켜, 지방세포로의 분화를 촉진할 수 있는 물질이면 어느 것이든 제한이 없으며, 핵산, 단백질, 기타 추출물 또는 천연물, 또는 화합물 등이 될 수 있고, 구체적으로, 저분자 화합물, 유기합성물질, 천연물질 등이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0203] 본 발명의 지방 세포 분화 촉진용 조성물은 CLUH 또는 BMPER의 과발현을 통해 지방 세포로의 분화를 촉진할 수 있다.

[0205] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방 세포로의 분화 진단 마커 검출용 조성물을 제공한다.

[0206] 상기 지방 세포로의 분화 진단 마커 검출용 조성물은 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0208] 본 발명의 용어 "CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제", 및 "마커"는 상술한 바와 같다.

[0209] 본 발명의 용어 "지방 세포로의 분화 진단 마커"는 지방세포의 분화 진행 과정에 따라 유의적인 발현량 차이를 보이는 유기 생체 분자를 의미한다.

[0210] 본 발명의 지방 세포로의 분화 진단 마커 검출용 조성물은 지방 세포로의 분화 과정에서 CLUH 또는 BMPER과 동등한 수준 또는 그 이상의 수준으로 발현량 차이를 보이는 유기 생체 분자를 검출할 수 있다.

[0212] 본 발명은 또 다른 양태로서, CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제를 포함하는 지방 세포로의 분화 진단용 키트를 제공한다.

[0213] 상기 지방 세포로의 분화 진단용 키트는 CLUH, BMPER, 또는 CLUH 및 BMPER 단백질 또는 상기 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0214] 본 발명의 용어 "CLUH 및 BMPER 단백질 중 하나 이상의 단백질, 또는 상기 하나 이상의 단백질을 코딩하는 유전자의 발현수준을 측정하는 제제", 및 "키트"는 상술한 바와 같다.

[0215] 본 발명의 지방 세포로의 분화 진단용 키트는 CLUH 또는 BMPER 발현량을 측정함으로써, 지방 세포로의 분화 과정을 측정 및 진단할 수 있다.

발명의 효과

[0217] 본 발명의 약학 조성물은 지방세포로 분화와 지방의 축적을 억제하여, 비만을 예방 또는 치료할 수 있다. 또한,

본 발명에 의하면 CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 또는 BMPER (BMP binding endothelial regulator)의 발현 수준을 측정하여 비만 치료제를 스크리닝 할 수 있고, 기존의 비만 치료제 효능을 효과적으로 검정할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0219] 도 1은 지방의 축적 및 지방세포 분화 과정에서 CLUH의 발현이 증가하는 것을 나타낸 도이다.

도 2는 CLUH siRNA를 이용하여, CLUH을 억제하여 지방의 축적 및 지방세포 분화를 감소시키는 것을 나타낸 도이다.

도 3은 지방의 축적 및 지방세포 분화 과정에서 BMPER의 발현이 증가하는 것을 나타낸 도이다.

도 4는 BMPER siRNA를 이용하여, BMPER 발현을 억제하여 지방의 축적 및 지방세포 분화를 감소시키는 것을 나타낸 도이다.

도 5는 다양한 세포에서 CLUH 발현량을 관찰한 결과이다.

도 6은 다양한 세포에서 BMPER 발현량을 관찰한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0220] **실시예 1. CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 발현과 지방 세포분화의 관계 확인**

[0222] 1-1.T3-L1 세포주의 준비

[0223] 3T3-L1은 마우스 배아섬유아세포(mouse embryonic fibroblast) 세포주로서, 대사 질환 및 비만 연구 모델에 주로 사용된다. ATCC에서 구입한 세포주를 BCS(Bovine Calf serum)을 포함한 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에서 배양하여 사용하였다.

[0225] 1-2. 지방세포로의 분화 유도

[0226] 35 mm 디쉬에 3T3-L1 0.8 × 10^5 개의 세포를 씨딩(seeding)하여 5일이 지났을 때 0일차(0 day)로 하였다. 0 일차에는 분화 유도 칵테일(differentiation cocktail, IBMX 0.5 mM, 인슐린 10 ug/mL, 덱사메사손(dexamathson) 1uM)을 태아 소 혈청(Fetal bovine serum, FBS)을 포함한 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에 섞어 3T3-L1 세포의 지방세포로의 분화를 유도하였다. 매 2일마다 인슐린이 들어있는 배지로 1:1 배치 교체를 하였다.

[0228] 1-3. RNA 분리 및 RT-PCR

[0229] Ribospin columns(GeneAll, 대한민국)을 이용하여 RNA를 추출하였고, RNA 농도는 ND-1000 분광 광도계(spectrophotometer, NanoDrop Technologies, Inc. Wilmington, DE, USA)를 이용하여 측정하였다. 또한, iScript™ cDNA 합성 키트(Biorad, USA)를 이용하여 cDNA(complementary DNA)를 합성하였고, Maxime PCR PreMix 키트(i-StarTaq; Intron Biotechnology)를 이용하여 RT-PCR(Reverse transcriptase-polymerase chain reaction)을 수행하였다. RT-PCR에 사용된 프라이머는 하기와 같다.

표 1

[0231]

CLUH Forward	AGGGGTTCGATTTCCTGAGT	서열번호 1
CLUH Reverse	CCAGGTATCGCATGTTGATG	서열번호 2

[0233] 1-4. Oil Red O 염색

[0234] 3.7 % 포름알데하이드로 세포를 고정시킨 후, 60% 아이소프로판올로 5분간 배양하였다. 그 후, 세포 흡입(suction)을 하고 디쉬를 완전히 건조시켰다. Oil Red와 물을 3:2로 희석하여 세포를 염색시키고 1시간이 경과하면 물로 2-3번 세척하였다.

[0236] 1-5. 지방 생성 과정에서 CLUH의 발현 증가의 확인

[0237] 상술한 대로 3T3-L1 세포주를 이용하여 지방세포로의 분화를 유도하였고, 지방세포로의 분화가 진행되는 과정에서 본 발명의 CLUH 유전자의 발현이 증가되는 것을 확인하였다. 도 1의 A에 개시된 것처럼, 분화 2일차부터 CLUH의 발현이 증가되는 것을 확인하였다.

[0239] 또한, 지방세포로의 분화 여부를 알 수 있는 양성 마커인 PPAR 감마, SRE BP1-C, C/EBPα, 및 FABP4 의 발현 역시 CLUH과 마찬가지로 증가하는 것을 확인하였다.

[0241] 더 나아가, 도 1의 B에 나타난 것처럼, Oil Red O 염색을 통해 지방세포로의 분화가 활발히 일어난 것을 확인하였다.

[0243] 상기와 같은 실험결과로부터, CLUH이 지방세포로 분화하는 과정에 관여하는 것을 확인하였고, 더 나아가, 상기 CLUH을 억제함으로써 지방생성을 억제할 수 있는지 여부를 확인하고자 하였다.

[0245] **실시예 2. CLUH (Clustered mitochondrial homolog) 의 억제와 지방 축적과의 관계 확인**

[0247] 2-1. siRNA의 준비

[0248] CLUH의 억제 효과를 확인하고자, siRNA를 제작하였다. CLUH의 siRNA인, siCLUH#1(서열번호 3) 및 siCLUH#3(서열번호 4)는 주문 제작하였고, 대조군 siRNA(si-Con)는 구입하여 사용하였다 (Mbiotech, 대한민국, 서울).

표 2

[0250]

siCLUH#1	GCTTCAATCCTGACATCTT	서열번호 3
siCLUH#3	GGGCATCATTGGCAATGAT	서열번호 4
si-Con	CCUCGUGCCGUUCCAUCAGGUAGUU	서열번호 19

[0252] 2-2. siRNA를 이용한 CLUH 발현의 억제

[0253] 상술한 것과 동일한 세포 0.8 × 10^5 개를 35 mm 디쉬에 씨딩하여 4일 경과 후, Lipofectamine RNAi MAX 시약(Invitrogen, CA) 및 Opti-MEM (Invitrogen, CA) 을 이용하여 100 nM siRNA의 형질주입(transfection)을 수행하고, 그 다음날부터 분화 유도 칵테일(differentiation cocktail, IBMX 0.5 mM, 인슐린 10 ug/mL, 덱사메사손(dexamathson) 1uM을 이용하여 3T3-L1 세포를 지방분화세포로 분화하도록 유도 하였다. 매 2일마다 인슐린 처리를 하였다.

[0255] 2-3. CLUH의 발현 억제에 의한 지방세포로의 분화 억제 및 지방 축적 감소

[0256] siRNA를 이용하여 CLUH의 발현이 억제되었을 때, 지방축적에 미치는 영향을 확인하였다.

[0257] siCLUH#1 및 siCLUH#3에 의하여 유전자발현이 억제될 때 Oil red O 염색이 크게 감소하였으며, 지방 분화에 대한 양성마커인 PPAR 감마의 발현 역시 감소하는 것을 확인하였다. 특히, 두 siRNA에 의한 CLUH의 억제 모두 지방세포로의 분화를 억제하고 지방 축적을 감소시키는 것을 확인하여, CLUH에 의한 억제로 지방 세포로의 분화를 억제하고 지방 축적을 감소시킬 수 있음을 확인하였다.

[0258] 또한, 미토콘드리아 관련 유전자인 UCP-1, Tfam의 발현도 감소하는 것을 확인하였다 (도 2).

[0260] 상기와 같은 실시예로부터, CLUH 유전자의 발현을 억제하여 비만을 예방 또는 치료하거나, 또는 이의 발현 수준을 측정하여 비만 치료제를 스크리닝 할 수 있음을 확인하였다.

[0262] 또한, 본 발명자들은, BMPER (BMP binding endothelial regulator)의 발현이 지방 세포로의 분화 및 지방 축적에 미치는 영향을 확인하고자, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0264] **실시예 3. BMPER (BMP binding endothelial regulator) 발현과 지방 세포분화의 관계 확인**

[0266] 3-1.T3-L1 세포주의 준비

[0267] 3T3-L1은 마우스 배아섬유아세포(mouse embryonic fibroblast) 세포주로서, 대사 질환 및 비만 연구 모델에 주로 사용된다. ATCC에서 구입한 세포주를 BCS(Bovine Calf serum)을 포함한 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에서 배양하여 사용하였다.

[0269] 3-2. 지방세포로의 분화 유도

[0270] 35 mm 디쉬에 3T3-L1 0.8 × 10^5 개의 세포를 씨딩(seeding)하여 5일이 지났을 때 0일차(0 day)로 하였다. 0 일차에는 분화 유도 칵테일(differentiation cocktail, IBMX 0.5 mM, 인슐린 10 ug/mL, 덱사메사손(dexamathson) 1uM)을 태아 소 혈청(Fetal bovine serum, FBS)을 포함한 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에 섞어 3T3-L1 세포의 지방세포로의 분화를 유도하였다. 매 2일마다 인슐린이 들어있는 배지로 1:1 배치 교체를 하였다.

[0272] 3-3. RNA 분리 및 RT-PCR

[0273] Ribospin columns(GeneAll, 대한민국)을 이용하여 RNA를 추출하였고, RNA 농도는 ND-1000 분광 광도계(spectrophotometer, NanoDrop Technologies, Inc. Wilmington, DE, USA)를 이용하여 측정하였다. 또한, iScript™ cDNA 합성 키트(Biorad, USA)를 이용하여 cDNA(complementary DNA)를 합성하였고, Maxime PCR PreMix 키트(i-StarTaq; Intron Biotechnology)를 이용하여 RT-PCR(Reverse transcriptase-polymerase chain reaction)을 수행하였다. RT-PCR에 사용된 프라이머는 하기와 같다.

표 3

[0275]

BMPER Forward	attctctcttgtccccagca	서열번호 6
BMPER Reverse	caaatgaggctccattgtca	서열번호 7

[0277] 3-4. Oil Red O 염색

[0278] 3.7 % 포름알데하이드로 세포를 고정시킨 후, 60% 아이소프로판올로 5분간 배양하였다. 그 후, 세포 흡입(suction)을 하고 디쉬를 완전히 건조시켰다. Oil Red와 물을 3:2로 희석하여 세포를 염색시키고 1시간이 경과하면 물로 2-3번 세척하였다.

[0280] 3-5. 지방 생성 과정에서 BMPER의 발현 증가의 확인

[0281] 상술한 대로 3T3-L1 세포주를 이용하여 지방세포로의 분화를 유도하였고, 지방세포로의 분화가 진행되는 과정에서 본 발명의 BMPER 유전자의 발현이 증가되는 것을 확인하였다. 도 3의 A에 개시된 것처럼, 분화 2일차부터 BMPER의 발현이 증가되는 것을 확인하였다.

[0283] 또한, 지방세포로의 분화 여부를 알 수 있는 양성 마커인 PPAR 감마, SRE BP1-C, C/EBPα, 및 FABP4 의 발현 역시 BMPER과 마찬가지로 증가하는 것을 확인하였다.

[0285] 더 나아가, 도 3의 B에 나타난 것처럼, Oil Red O 염색을 통해 지방세포로의 분화가 활발히 일어난 것을 확인하였다.

[0287] 상기와 같은 실험결과로부터, BMPER이 지방세포로 분화하는 과정에 관여하는 것을 확인하였고, 더 나아가, 상기 BMPER을 억제함으로써 지방생성을 억제할 수 있는지 여부를 확인하고자 하였다.

[0289] **실시예 4. BMPER (BMP binding endothelial regulator) 의 억제와 지방 축적과의 관계 확인**

[0291] 4-1. siRNA의 준비

[0292] BMPER의 억제 효과를 확인하고자, siRNA를 제작하였다. BMPER의 siRNA인, siBMPER#1(서열번호 8) 및 siBMPER#3(서열번호 9)는 주문 제작하였고, 대조군 siRNA(si-Con, 서열번호 19)는 구입하여 사용하였다(Mbiotech, 대한민국, 서울).

표 4

[0294]

siBMPER#1	GCATAATGTGTGTGTTT	서열번호 8
siBMPER#3	GCACAGTATGCACTTGCAA	서열번호 9

[0296] 4-2. siRNA를 이용한 BMPER 발현의 억제

[0297] 상술한 것과 동일한 세포 0.8 × 10^5 개를 35 mm 디쉬에 씨딩하여 4일 경과 후, Lipofectamine RNAi MAX 시약(Invitrogen, CA) 및 Opti-MEM (Invitrogen, CA) 을 이용하여 100 nM siRNA의 형질주입(transfection)을 수행하고, 그 다음날부터 분화 유도 칵테일(differentiation cocktail, IBMX 0.5 mM, 인슐린 10 ug/mL, 덱사메사손(dexamathson) 1uM)을 이용하여 3T3-L1 세포를 지방분화세포로 분화하도록 유도 하였다. 매 2일마다 인슐린 처리를 하였다.

[0299] 4-3. BMPER의 발현 억제에 의한 지방세포로의 분화 억제 및 지방 축적 감소

[0300] siRNA를 이용하여 BMPER의 발현이 억제되었을 때, 지방축적에 미치는 영향을 확인하였다.

[0301] BMPER의 siRNA인 siBMPER#1 및 siBMPER#3, 대조군 siRNA인 si-Con을 처리한 3T3-L1 세포의 분화 과정에서 BMPER의 유전자 발현을 RT-PCR로 측정하였다. 그 결과, 분화 3일차에 BMPER의 발현이 억제되며, 분화의 양성 마커인 PPAR gamma의 발현도 감소되는 것을 확인하였다. 또한, BMPER의 하위인자(down stream molecule)인 Id-1의 발현도 감소하는 것을 확인하였다 (도 4의 A).

[0303] 한편, 분화 유도 6일 차에 Oil Red O 염색을 통해 확인한 결과, 상기 세포에서 지방 축적이 현저히 감소한 사실도 확인하였다 (도 4의 B).

[0305] 상기와 같은 실시예로부터, BMPER 유전자의 발현을 억제하여 비만을 예방 또는 치료하거나, 또는 이의 발현 수준을 측정하여 비만 치료제를 스크리닝 할 수 있음을 확인하였다.

[0307] **실시예 5. 사람 세포의 지방 축적 및 지방세포로의 분화 과정에서의 CLUH 및 BMPER 발현 증가**

[0309] 본 발명자들은, 상기와 같은 실시예로부터 CLUH 및 BMPER이 지방 축적 및 지방세포로의 분화에 관여함을 발견하였으며, 인간세포에서도 동일한 기능을 수행하는지 여부를 확인하고자 하였다.

[0311] 이에, 상기 실시예에서 사용된 3T3-L1 세포를 비롯한, 다양한 세포(3T3L1, C3H10T1/2, Messenchymal stem cell)에 지방 분화를 유도하여 CLUH 및 BMPER의 발현을 Real time PCR을 통해 확인하였으며, 이에 사용된 CLUH 및 BMPER의 프라이머 서열은 하기와 같다.

표 5

[0313]

hCLUH Forward	5'-GCATCCTCTTCATTCCTCTCAG-3'	서열번호 11
hCLUH Reverse	5'-CGGCTCTATCCCTGTTTCTG-3'	서열번호 12
hBMPER Forward	5'-TGTTTGAGGGTGTGCAGTATC-3'	서열번호 13
hBMPER Reverse	5'-GGGTATGTGACTAAGGTGCTG-3'	서열번호 14

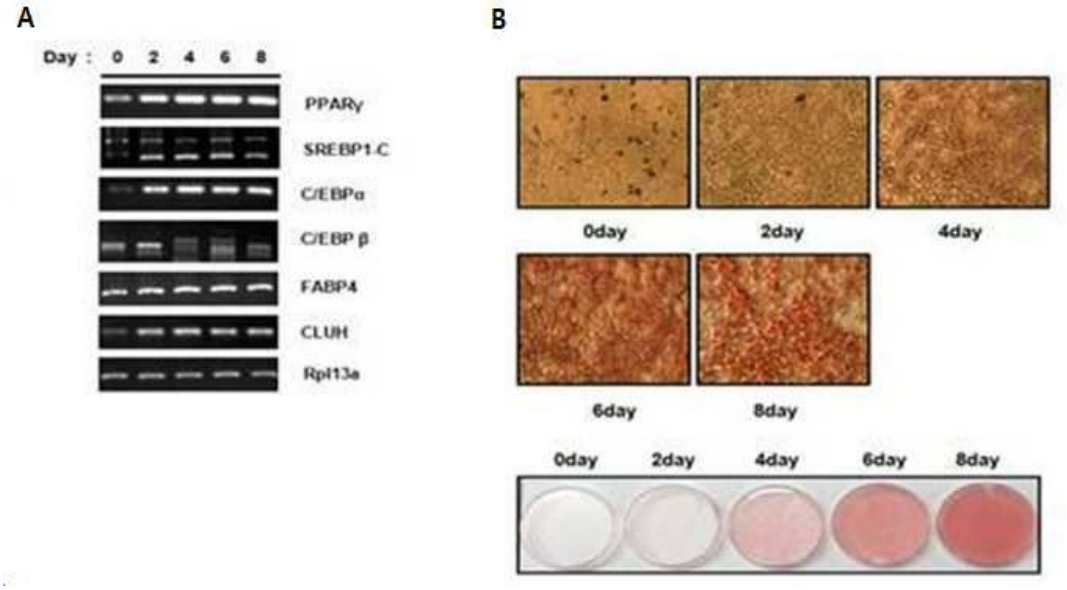
[0315] 상기 실시예와 마찬가지로, Real time PCR은 iQ SYBR Green supermix (Bio-Rad)을 이용하여 증폭하였다. Reference 유전자로는 mouse 유래 세포는 RPL13A 유전자, human 유래 세포는 β-actin 유전자를 사용하였다. primer 서열은 다음과 같다. mRPL13A (Forward 5'-CCTGCTGCTCTCAAGGTTGTT-3', 서열번호 15; Reverse 5'-CGATAGTGCATCTTGGCCTTT-3', 서열번호 16), β-actin (Forward 5'-GCACCACACCTTCTACAATGA-3', 서열번호 17; Reverse 5'-TAGCACAGCCTGGATAGCAAC-3', 서열번호 18).

[0317] 그 결과, 생쥐의 지방 전구세포 (3T3L1, C3H10T1/2) 및 인간의 중간엽줄기세포 (Messenchymal stem cell, hMSC) 에서 CLUH 및 BMPER의 발현이 증대되는 것을 확인하였다 (도 5 및 6).

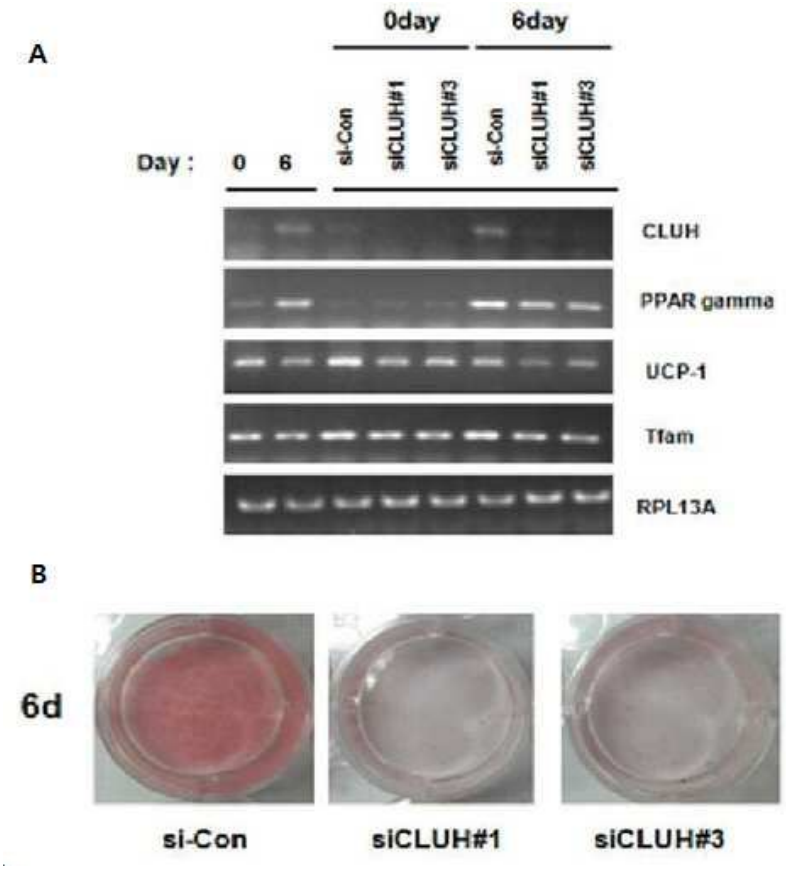
[0319] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

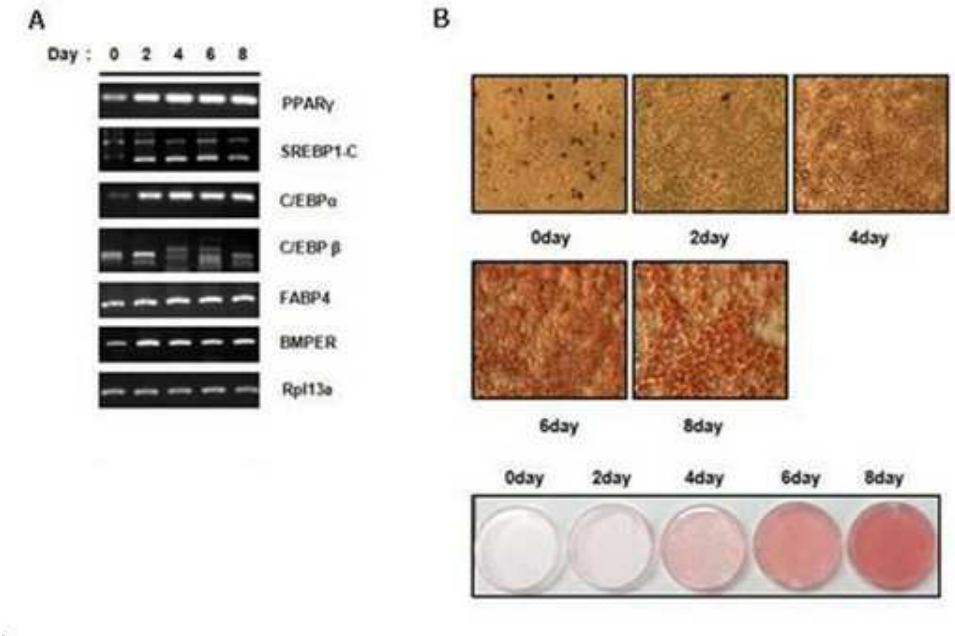
도면1


A
Day : 0 2 4 6 8
PPARγ
SREBP1-C
C/EBPα
C/EBP β
FABP4
CLUH
Rpl13a
B
0day
2day
4day
6day
8day
0day
2day
4day
6day
8day

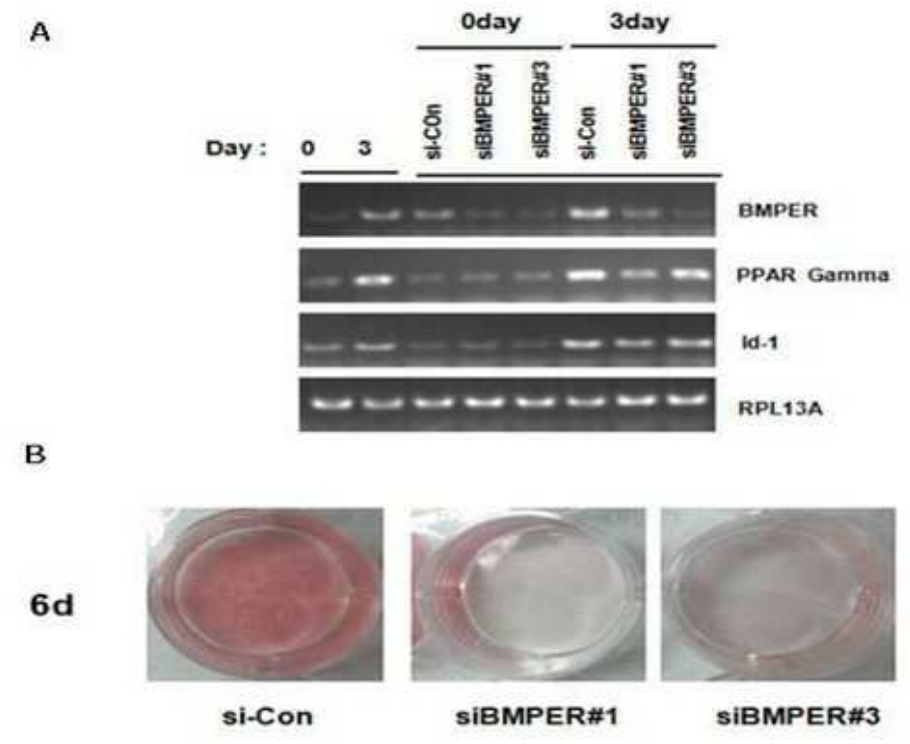
도면2


A
0day
6day
Day :
0
6
si-Con
siCLUH#1
siCLUH#3
si-Con
siCLUH#1
siCLUH#3
CLUH
PPAR gamma
UCP-1
Tfam
RPL13A
B
6d
si-Con
siCLUH#1
siCLUH#3

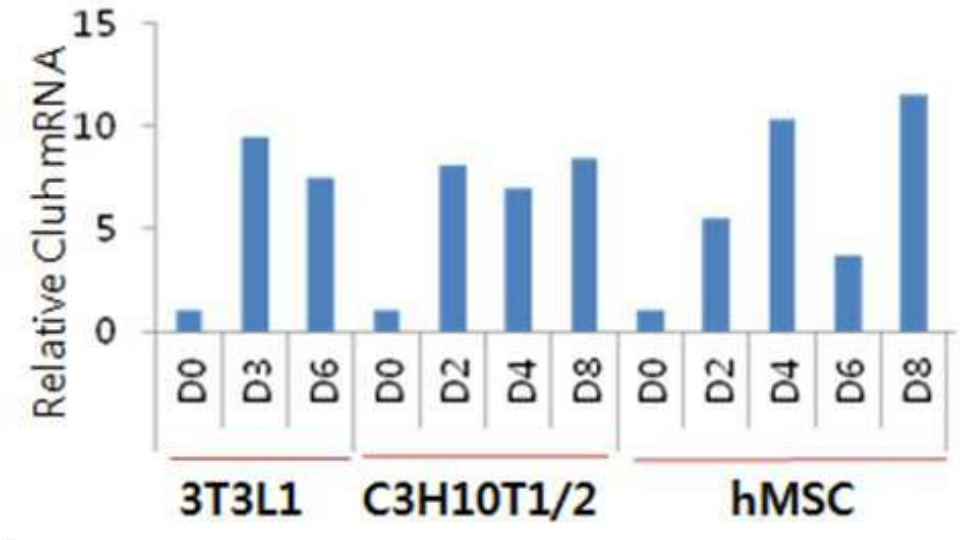
도면3


A
Day :
0
2
4
6
8
PPARγ
SREBP1-C
C/EBPα
C/EBP β
FABP4
BMPER
Rpl13a
B
0day
2day
4day
6day
8day
0day
2day
4day
6day
8day

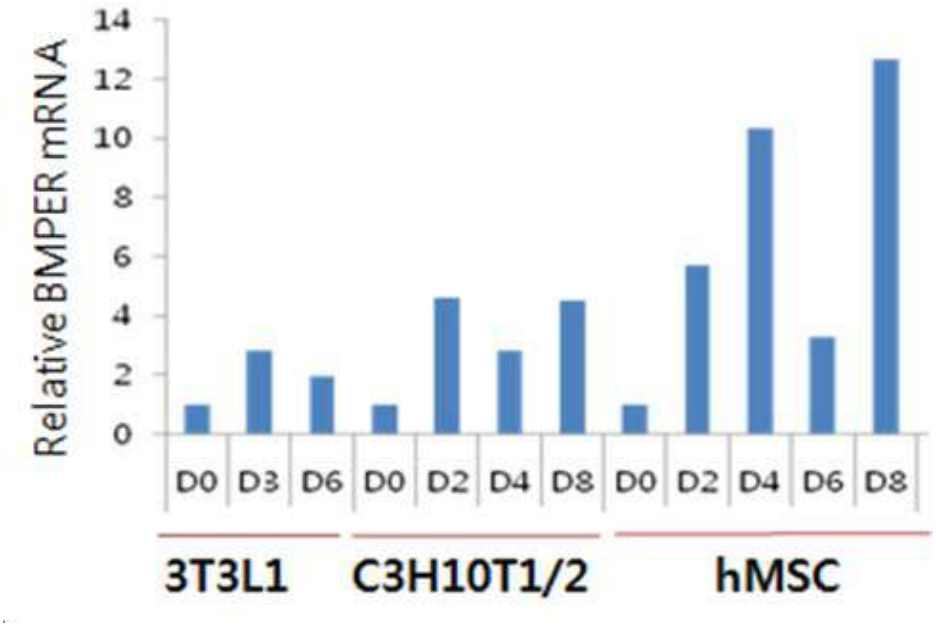
도면4


A
0day
3day
si-COn
siBMPER#1
siBMPER#3
si-Con
siBMPER#1
siBMPER#3
Day : 0 3
BMPER
PPAR Gamma
Id-1
RPL13A
B
6d
si-Con
siBMPER#1
siBMPER#3

도면5


Relative Cluh mRNA
15
10
5
0
D0
D3
D6
D0
D2
D4
D8
D0
D2
D4
D6
D8
3T3L1
C3H10T1/2
hMSC

도면6



서 열 목 록

<110> KOREA INSTITUTE OF RADIOLOGICAL & MEDICAL SCIENCES

<120> A pharmaceutical composition for preventing or treating obesity

<130> KPA150898-KR-P1

<150> KR 10-2015-0115874

<151> 2015-08-18

<150> KR 10-2015-0115875

<151> 2015-08-18

<160> 19

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CLUH Forward primer

<400> 1

aggggttcga tttcctgagt 20

<210

> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CLUH Reverse primer

<400> 2

ccaggtatcg catgttgatg 20

<210> 3

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> siCLUH#1

<400> 3

gcttcaatcc tgacatctt 19

<210> 4

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> siCLUH#3

<400> 4

gggcatcatt ggcaatgat 19

<210> 5

<211> 1080

<212> DNA

<213> mus musculus

<400> 5

ggtgactccg tccttcccgc agcggccgtg gcgcgcaggg cacttgggtt agtggcgcgg 60

cgtgcggcgc ggacaggcga gccggacgcc tgctcccgcc atggtcatca agacggacga 120

gttgccggcg gccgccccgg ccgacagcgc ccgggagcac ggctcgcagg ccggcggcaa 180

ggggcggccg aacgcggctg atctcccctc ggtcatgctg ttgaatggtg actgctcaga 240

gaatttgaag aaggaagaag ggacatctga gccacctagg gaaaatgggc tagatgaggg 300

tgagcctgga gatgagacca ctggacagga agtcattgtc attcaggaca caggcttttc 360

tgtgaagatt ctggcccctg gcatcgagcc cttttccctg caggtgtccc cccaggagat 420

ggtgcaggag atccaccagg tgctcatgga ccgtgaggat acttgtcatc gtacctgctt 480

ctcactacac ttggatggca atatgctgga ccacttttca gagctacgca gtgtggaggg 540

gctgcaggag ggctcggtgc tccgagttgt ggaagagcct tacacggtgc gtgaggcccg 600

aatccatgtg cgtcatgtca gagacctcct caagagcttg gacccatctg atgccttcaa 660

tggagttgac tgtaactcct tgtccttcct gagtgtcttc actgatggtg acttaggaga 720

cagtgggaag cggaagaaag gcttggagat ggaccccatc gactgcaccc cacctgagta 780

tatcctgccg gggagccggg agcggcctct ctgtcccctg cagccccaga accgtgactg 840

gaagcccctg cagtgtctga aagtacttac catgagtggc tggaacccac ctcctgggaa 900

ccgcaagatg catggggacc tcatgtacct gtttgtgatc actgctgagg accggcaagt 960

cagcatcact gcatcgacga ggggcttcta cctgaatcag tccacggcct accacttcaa 1020

ccccaagcct gccagccccc gcttcctcag ccattcccta gtagagctgc tcaaccagat 1080

1080

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BMPER Forward primer

<400> 6

attctctctt gtccccagca 20

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BMPER Reverse primer

<400> 7

caaatgaggc tccattgtca 20

<210> 8

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> siBMPER#1

<400> 8

gcataatgtg tgtgtgttt 19

<210> 9

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> siBMPER#3

<400> 9

gcacagtatg cacttgcaa 19

<210> 10

<211> 3806

<212> DNA

<213> mus musculus

<400> 10

gccggggctg ggctagaccg cctggctggg cgttcgcgtg cgccgctgtc gcttctgagc 60

cggcatagct ccggcgccag gatcgtagtc cctcgtgcga ccctgcggat tccgcgcaga 120

gcctagtacg cccctcggtc ccgcacggag caagcgcgcg ggccggacac cgcgctcggg 180

ggccgggccg gagctgcgcg tgcgggagcc ggagctcagc cgggctccag agctgcgagc 240

gcactcggca gtcgccgccg ccgctcccca gatcccgccg ctcagccacc cctcctcccg 300

gcccagctct ggcgcggagg ggctgacggc taacccgctg agagcaactc ccttagaaaa 360

aagccgccgc attggccgag gctggccgca ggacccctcc tcccggggcg cccccactcc 420

tcccccgccg ctccgggcgc ccgcctccct cagccgactg tctcccggca cgccggccca 480

cagccctttt gactgcgagc agcggctgcc gagcagaggc ggcgacgcgg gacctgcagt 540

cgcccgggat tccctccagg tgacgatgct ctggttcttc agcgtcaggg ctctggctga 600

gcgtccttgc cgacgctcgc ctgggattac ctgctgcgtc ttgctgctgc tcaattgctc 660

cggggtcccc atgtctctgg cttcctcctt cctgacaggg tctgttgcaa aatgtgaaaa 720

tgaaggggag gtcctccaaa ttccatttat cacagacaac ccttgcataa tgtgtgtgtg 780

tttgaacaaa gaggtgactt gtaagaggga gaagtgccct gtgctgtcac gggactgtgc 840

gctggccatc aagcagagag gcgcctgctg tgaacgatgc aaaggttgta cccatgaagg 900

aagaacctac aacagttcct tcaagtggca aaccccggct gagccatgtg tccttcggca 960

gtgccaggag ggtgtggtga cagagtctga ggtgcgctgt gttgttcatt gtaaaaatcc 1020

cgcagagcat caaggagcct gctgccctac ctgcccaggc tgtgtgtttg aaggtgtgca 1080

ataccgggaa ggagaagaat ttcagccaga aggaaacaaa tgtattacat gctcctgcgt 1140

tggaggcagg acacagtgcg tgagagaagt ctgtcccatt ctctcttgtc cccagcacct 1200

tagtcacaca ccctcaggac agtgctgccc caaatgtttg ggtcagagaa aagtattcga 1260

ccttcccttt gggagctgcc tgtttcgcag tgatgtttat gacaatggag cctcatttgt 1320

ctatgataac tgcacagtat gcacttgcaa ggactcaaca atggtttgta agaagaagtg 1380

ctcccaccct ggtgtctgta acagtgatga ggatgcctgt tgtgaagact gtctcttacg 1440

ggtgcccccc gaagacatca aagtgtgcaa gttcggtagc aagattttca gggatggaga 1500

gatgtggtcc tcagtcaact gcagcatctg tgcttgtgtg aaggggaaga cagagtgtcg 1560

aaagaagcag tgtgttcctg tcagcagctg cccacagggt aaaattctca acaggaaagg 1620

atgctgtcct atctgcactg aaaaacctgg tgtgtgcaca gtattcggag atccccacta 1680

caacactttt gatgggcgga catttaactt tcaggggacg tgtcagtatg ttttgacaaa 1740

agactgctcc tccccagcct cacccttcca ggtgctggtg aagaatgatg cacggaggac 1800

ccgttccttc tcctggacca agtctgtgga gctgatgctg ggcgaaagca cagtcagcct 1860

gcagcagcac ctcactgtgc gctggaatgg ctctcgcatt gcccttccct gccacacacc 1920

ccacttccac atcgacctgg acggctacct tttgaaagtg actaccagag caggtttgga 1980

gatatcgtgg gatggagaca gttttgtgga ggtcatggct gcccctcatc tcaagggcaa 2040

gctctgtggt ctttgtggca actacaatgg tcataaacgt gatgacttga ttggtggaga 2100

tgggaacttc aagtttgacg tggatgactt tgctgaatcg tggagggtgg aatccaacga 2160

attctgcaac cgaccacaga gaaaaccagt acctgagctc tgtcaaggca cagtgaaggt 2220

gaagcttcga gcccatcgag aatgccagaa actcaagtcc tgggagttcc agacctgcca 2280

ctctacagtg gactatacca ctttctaccg gtcctgtgta acagacatgt gtgaatgtcc 2340

agtccataaa aactgttact gtgagtcatt tctggcgtat acccgtgcct gtcagagaga 2400

gggaatcaaa gtgcactggg aacctcagca gagctgtgca gccacccagt gcaaacatgg 2460

tgctgtgtat gatacctgtg gcccaggatg tgtgaagaca tgtgataact ggaatgagat 2520

cggcccatgc aataagccct gcattgcagg ttgccactgc ccagcaaatc tggtccttca 2580

taagggaagg tgcatcaagc cagtcctctg tcctcagcga tgacctttgt tctagtccat 2640

agactttgaa atccagtgtc tttgacactg acatgcaaga gccagtgaag gactgttgta 2700

tttgtgtgcc tgattctgca aatacacaga gtatatatgt gtacatatat atagatatat 2760

agatatattc gaaacatttc atcatttata taaactatag gtggattatt atatgtatat 2820

tttttgctat aagacatgta ttatttctag aatcctaata tctaagccat tggatgcatc 2880

atatacatag gtgcttttaa tttaataaga tggcatgcag actcatcagg tctctttaag 2940

agtgcgttca tgtgtcattc tggggacatt tcctaagagc cctcatgcct acctgcatta 3000

attaaagatt tgagtcagga cctttgagtg agattttctt ggagaagggt actttatctg 3060

ggggtatttt gtatttccaa agactggaat gtatgccaga gaaagatggc atgagattgg 3120

ggatgagccc tcgtgagtgc aaaccaagga gagtctgtca gatttcaccg ggtcagagct 3180

ggatattgtc ccccaaactg gatagttgcc acggaatatg tatttttcac tagcatattg 3240

ccaaataatt tcttttcatt ttttgcatat gtcatgagtc tcctcattac ttatgtgtgc 3300

aatggatatg accatttgca tgtcctgcac tgaagtcaaa ggatgtctgg ataacatttt 3360

attaaacacg aaaagctatt tggagagaac attgcacaac atataaagaa tctcagagca 3420

atttaggatt ggcaaatcca ttgagtggct aggggccatc tacgttttgt cactatctca 3480

tggtgtataa aatgaaagcc ttcggctatt ctgtctcatt actgtccagt gttgtttgct 3540

gggtactcat atgttatggg tattgggcag gagggaaggg actgctgacc agttgtttta 3600

gcttcattcc aaaagagaat tgtttctgta tttgttctaa tttactgatg ttactaacag 3660

ttattggttc ttgttttctg ttggataaat aaaaatgtca aaaagcaaaa acaaaaaacc 3720

ccacccccaa ctcactgatg ttgaaaagta aaatgttctg cattgtagta aataaaaggc 3780

ttaagattta agcaaacagt tttcaa 3806

<210> 11

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hCLUH Forward primer

<400> 11

gcatcctctt cattcctctc ag 22

<210> 12

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hCLUH Reverse primer

<400> 12

cggctctatc cctgtttctg 20

<210> 13

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hBMPER Forward primer

<400> 13

tgtttgaggg tgtgcagtat c 21

<210> 14

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hBMPER Reverse primer

<400> 14

gggtatgtga ctaaggtgct g 21

<210> 15

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mRPL13A Forward primer

<400> 15

cctgctgctc tcaaggttgt t 21

<210> 16

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mRPL13A Reverse primer

<400> 16

cgatagtgca tcttggcctt t 21

<210> 17

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> beta actin Forward primer

<400> 17

gcaccacacc ttctacaatg a 21

<210> 18

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> beta actin Reverse primer

<400> 18

tagcacagcc tggatagcaa c 21

<210> 19

<211> 25

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> si-Con

<400> 19

ccucgugccg uuccaucagg uaguu 25