

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges
Eigentum

Internationales Büro

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum
8. Mai 2014 (08.05.2014)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2014/068092 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
C12Q 1/68 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2013/072878

(22) Internationales Anmeldedatum:
1. November 2013 (01.11.2013)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2012 110 469.7
1. November 2012 (01.11.2012) DE

(72) Erfinder; und

(71) Anmelder : MAKRANTONAKI, Eugenia [DE/DE];
Westerstraße 42, 27793 Wildeshausen (DE).
ZOUBOULIS, Christos C. [DE/DE]; Ilsensteinweg 8,
14129 Berlin (DE).

(72) Erfinder: ADJAYE, James; Konkordia Str. 35, 40219
Düsseldorf (DE).

(74) Anwalt: FUCHS PATENTANWÄLTE; Westhafenplatz
1, 60327 Frankfurt am Main (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW,
BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ,
RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,
SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts (Regel 48 Absatz
2 Buchstabe g)

(54) Title: METHOD FOR DETERMINING AGE INDEPENDENTLY OF SEX

(54) Bezeichnung : VERFAHREN ZUR GESCHLECHTSUNABHÄNGIGEN BESTIMMUNG VON ALTERUNG

(57) Abstract: The invention relates to a method for determining the aging condition of a subject. The method makes it possible to make conclusions about the age of a subject and conditions of the subject associated with the age - including independently of the sex - on the basis of certain nucleic acids or proteins and the expression level thereof. The invention further relates to a group of genes, the expression level of which depends on the aging condition of the particular subject - including independently of the sex. The invention further relates to the determination of the expression level of the genes and the use of the corresponding expression levels to determine aging conditions. The invention further relates to devices, in particular arrays and chips, that can be used to determine the aging condition of a subject.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Bestimmung des Alterungszustandes eines Subjekts. Das Verfahren erlaubt es, ausgehend von bestimmten Nukleinsäuren oder Proteinen und deren Expressionslevel Rückschlüsse auf das Alter und mit dem Alter verbundene Zustände eines Subjektes - auch unabhängig vom Geschlecht - zu ziehen. Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem eine Gruppe von Genen, deren Expressionslevel vom Alterungszustand des jeweiligen Subjekts - auch unabhängig vom Geschlecht - abhängt. Darüber hinaus betrifft die Erfindung die Bestimmung des Expressionslevels der Gene sowie die Benutzung der entsprechenden Expressionslevel zur Bestimmung von Alterungszuständen. Diese Erfindung betrifft auch Vorrichtungen, insbesondere Arrays und Chips, die zur Bestimmung des Alterungszustandes eines Subjekts eingesetzt werden können.



WO 2014/068092 A2

Verfahren zur geschlechtsunabhängigen Bestimmung von Alterung

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Bestimmung des Alterungszustandes eines Subjekts. Das Verfahren erlaubt es, ausgehend von bestimmten Nukleinsäuren oder Proteinen und deren Expressionslevel Rückschlüsse auf das Alter und mit dem Alter verbundene Zustände eines Subjektes – auch unabhängig vom Geschlecht – zu ziehen. Mit dem Alter verbundene Zustände im Sinne dieser Erfindung können insbesondere altersassoziierte Erkrankungen sein.

Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem eine Gruppe von Genen, deren Expressionslevel vom Alterungszustand des jeweiligen Subjekts – auch unabhängig vom Geschlecht – abhängt. Darüber hinaus betrifft die Erfindung die Bestimmung des Expressionslevels der Gene sowie die Benutzung der entsprechenden Expressionslevel zur Bestimmung von Alterungszuständen.

Diese Erfindung betrifft auch Vorrichtungen, insbesondere Arrays und Chips, die zur Bestimmung des Alterungszustandes eines Subjekts eingesetzt werden können.

Alterung ist ein komplexer multifaktorieller Prozess, der nach heutiger Auffassung sowohl erblichen als auch äußeren Einflüssen unterliegt. Die genauen Mechanismen des Alterns sind nicht bekannt. Es gibt jedoch mehrere Theorien zu Alterungsmechanismen, die sich nicht zwangsläufig gegenseitig ausschließen, sondern die durchaus als parallele oder sequentielle Prozesse im Sinne einer multifaktoriellen Genese Einfluss auf den Gesamtprozess des Alterns haben können. Diese Theorien umfassen zum einen Veränderungen der Erbinformationen und deren Struktur, wie zum Beispiel eine fortschreitende Verkürzung der Telomere, chromosomale Anomalien und gehäuftes Auftreten von Mutationen ausgelöst oder begleitet von einer verringerten Kapazität zur DNA-Reparatur. Zum anderen wird vermutet, dass oxidativer Stress, auch im Zusammenhang mit Fehlfunktionen von Mitochondrien, sowie ein verstärktes Auftreten von fehlgefalteten Proteinen, ausgelöst durch eine Verringerung der Proteinfaltungskapazität und/oder eine Verringerung des Abbaus fehlgefalteter Proteine, mit dem Altern in Verbindung stehen. Es ist jedoch nach wie vor nicht bekannt, ob diese beobachteten Effekte Grund oder Folge des Alterns sind.

Durch die steigende Lebenserwartung ist zu erwarten, dass altersbedingte Erscheinungen in Zukunft von verstärkter gesellschaftlicher Bedeutung sein werden. Es gibt daher weltweit große Bemühungen, den Einfluss verschiedenster Faktoren auf das Altern näher zu bestimmen und eventuelle alterungsverlangsamende Einflüsse bzw. vorbeugende Maßnahmen für altersassoziierte Krankheiten zu finden. Von zentraler Bedeutung für die Untersuchung von Einflüssen auf das Altern ist hierbei eine Bestimmung des Fortschreitens des Alterns, bzw. des gesunden Alterns, anhand von objektiven, klar definierten und reproduzierbar bestimmbar Parametern. Diese Parameter müssen sich in mindestens einer messbaren Eigenschaft in verschiedenen Alterungszuständen unterscheiden.

Aus WO 2010/104573 A1 ist bereits ein Verfahren bekannt, wonach bestimmte Gene identifiziert werden sollen, die zur Bestimmung des Alters eines Subjektes dienen können. Die Ermittlung des Alterungszustandes ist nach der dort beschriebenen Methode allerdings sehr schwierig, weil die Proben, an denen das Verfahren durchgeführt werden soll, schwer zugänglich sind und teilweise chirurgische Eingriffe erfordern. Die Ermittlung des Alterungszustandes nach dem dort beschriebenen Verfahren ist mithin sehr schwierig.

Im Stand der Technik ist kein Verfahren bekannt, mit dem der Alterungszustand eines Subjekts einfach und mit hinreichender Zuverlässigkeit bestimmt werden kann. Es ist aus dem Stand der Technik ebenfalls nicht bekannt, in wie fern die Expressionslevel bestimmter Biomarker geschlechtsspezifische Unterschiede aufweisen. Für die Verwendung von Genen als Biomarker ist es jedoch von immenser Bedeutung, dass eine Bestimmung des Alterungszustandes eines Subjektes geschlechtsunabhängig möglich ist. Dies ist nicht der Fall, wenn das entsprechende Gen als Biomarker nur für jeweils eines der Geschlechter geeignet ist. Bei den bisher bekannten Biomarkern für Alterung ist die Situation sogar noch unvorteilhafter, da nicht einmal bekannt ist, ob diese geschlechtsunabhängig verwendet werden können. Dadurch kann es zu Fehlinterpretationen der erhobenen Daten kommen.

Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, das eine zuverlässige und schnelle, auch geschlechtsunabhängige Bestimmung des Alterungszustandes eines Subjektes

ermöglicht. Zusätzlich ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung eine zuverlässige und schnelle, auch geschlechtsunabhängige Bestimmung des gesunden Alterungszustandes eines Subjektes zu ermöglichen, so dass man individuelle Abweichungen, die zu Erkrankungen führen können, feststellen kann. Die Aufgabe wird durch ein Verfahren gelöst, das folgende Schritte umfasst:

- a. Bereitstellung einer Zellprobe eines Subjekts,
- b. Bestimmung des Expressionslevels mindestens eines Gens in der Zellprobe, dessen Expressionslevel in dieser Zellprobe vom Alterungszustand des Subjekts abhängig ist,
- c. Vergleich des Expressionslevels des Gens mit mindestens einem Vergleichswert, wobei der Vergleichswert der Expressionslevel des entsprechenden Gens in einer Vergleichsprobe ist und wobei der Alterungszustand der Vergleichsprobe bekannt ist.

Als Subjekte, deren Zellen sich zur Bereitstellung einer Zellprobe eignen, kommen Lebewesen in Frage, insbesondere Tiere. Bevorzugte Subjekte sind Säugetiere, ein bevorzugtes Subjekt ist der Mensch.

„Expressionslevel“ bezeichnet erfindungsgemäß den Gehalt an Genprodukt eines bestimmten Gens pro Zelle. Das Genprodukt kann sowohl in Form von RNA als auch in Form von Proteinen vorliegen. Die Bestimmung des Expressionslevels kann also die Bestimmung der Menge eines Proteins oder einer Nukleinsäure, insbesondere RNA, umfassen.

„Alterungszustand“ bezeichnet erfindungsgemäß bevorzugt das postnatale Alter des Subjekts. Bei Zellproben aus Zellkulturen ist der Alterungszustand bevorzugt als die Passagenzahl der jeweiligen Kultur anzusehen. Der Alterungszustand kann auch das Vorhandensein einer altersassoziierten Erkrankung oder eines anderen altersassoziierten Zustands sein. Altersassoziierte Erkrankungen sind insbesondere Krebserkrankungen aber auch Autoimmunerkrankungen z.B. bullöse Dermatosen, Lupus erythematoses, infektiöse Erkrankungen z.B. Erysipel, Harnwegsinfekt, Pneumonie, Zoster, Stoffwechselerkrankungen z.B. metabolisches Syndrom, vaskuläre Erkrankungen z.B. chronische venöse Insuffizienz, arterielle Verschlusskrankheit, neurodegenerative Erkrankungen z.B. M. Alzheimer, M. Parkinson, muskuloskeletale Erkrankungen z.B. Osteoporose,

Erkrankungen der inneren Organe z.B. Koronarherzkrankheit, COPD, Präkanzerosen und Tumore der Haut, z.B. aktinische Keratosen, Basalzellkarzinom, Plattenepithelkarzinom, Beinulcera (offenes Bein).

Der Vergleichswert wird erfindungsgemäß bevorzugt bestimmt, indem die Expressionslevel aus Zellproben von Subjekten mit bekanntem Alterungszustand bestimmt werden. Der Vergleichswert kann beispielsweise ermittelt werden, indem eine Gruppe von wenigstens 2, bevorzugt wenigstens 5 und besonders bevorzugt wenigstens 10 Vergleichssubjekten im Hinblick auf den Expressionslevel des betrachteten Gens oder der betrachteten Gene untersucht werden (Vergleichsprobe). Es werden also bei den Vergleichssubjekten dieselben Schritte a und b durchgeführt wie bei dem zu untersuchenden Subjekt. Das Ergebnis liefert den Vergleichswert und erlaubt eine relative Aussage hinsichtlich des Alterungszustandes des untersuchten Subjekts. Es liegt auf der Hand, dass hiermit hinsichtlich fast beliebiger Alterungszustände Aussagen möglich sind. Das Vergleichssubjekt bzw. die Vergleichssubjekte gehören vorzugsweise derselben Spezies an, wie das zu untersuchende Subjekt.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Zellprobe ein fixiertes tierisches Gewebe, insbesondere eine Hautprobe, eine Speichelprobe, eine Abstrichzellprobe, eine Blutprobe, eine Urinprobe oder eine Stuhlprobe. In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst die Zellprobe wenigstens ein Homogenisat von Zellen. Die Zellprobe kann aus Zell- oder Gewebekulturen oder aus Geweben lebender Organismen, insbesondere einer Hautprobe, einer Speichelprobe, einer Abstrichzellprobe, einer Blutprobe, einer Urinprobe oder einer Stuhlprobe nach entsprechender Präparation gewonnen werden.

Erfindungsgemäß eignen sich als Zellproben sowohl Zellen mit weiblichem als auch Zellen mit männlichem Genotyp. Erfindungsgemäß können Präparationen der Haut, Präparationen der Schleimhaut, eine Abstrichzellprobe, eine Blutprobe oder eine Urinprobe als Zellproben verwendet werden. Dies ist besonders vorteilhaft, weil Haut, orale, genitale und anale Schleimhaut, Blut, Urin und Stuhl im Allgemeinen leicht zur Probenentnahme zugänglich ist. Ganz besonders als Zellprobe geeignet sind in diesem Zusammenhang nicht-sonnenexponierten Hautstellen, da die Alterung dort weitestgehend unabhängig von externen Faktoren verläuft. Nicht-sonnenexponierte Hautstellen sind typischerweise die

Innenseite des Oberarms oder die Innenseite des Oberschenkels sowie das Gesäß.

Der Alterungszustand der Haut erlaubt auch Rückschlüsse auf den Alterungszustand aller anderen der Alterung unterworfenen Gewebe. Insbesondere erlaubt der Alterungszustand der Haut Rückschlüsse auf den Alterungszustand anderer Gewebe ektodermalen Ursprungs. Gewebe ektodermalen Ursprungs im Sinne dieser Erfindung sind bevorzugt das zentrale Nervensystem, das periphere Nervensystem, Zähne, Haare und Nägel.

Der Alterungszustand der Haut, der Schleimhaut, des Blutes, des Urins und des Stuhls erlaubt Rückschlüsse auf den Alterungszustand aller anderen der Alterung unterworfenen Gewebe.

Bei toten Organismen können Zellproben aus jedem Gewebe zur Bestimmung des Alterungszustandes dienen.

Der Vergleich des Expressionslevels des Gens mit mindestens einem Vergleichswert, wobei der Vergleichswert der Expressionslevel des entsprechenden Gens in einer Vergleichsprobe ist und wobei der Alterungszustand der Vergleichsprobe bekannt ist, wird durchgeführt, um eventuelle Übereinstimmungen oder Unterschiede des an der Zellprobe gemessenen Expressionslevels mit dem Expressionslevel des Vergleichswerts zu bestimmen.

Die vorliegende Erfindung umfasst eine Gruppe von Genen mit altersabhängiger Expressionsveränderung und deren Verwendung als Biomarker für Alterung und/oder altersassoziierte Zustände. Die Bestimmung des Expressionslevels kann dabei sowohl auf RNA- als auch auf Proteinebene erfolgen, mit dem Fachmann bekannten Methoden.

Bevorzugte Methoden zur Bestimmung des Expressionslevels sind Northern blotting, RNase Protektion, real-time PCR, Makro- und Mikroarrays, SILAC, markierungsfreie absolute Quantifizierung, Western blotting, ELISA, Immunzyto- und Immunhistochemie.

Für die Bestimmung des Expressionslevels auf RNA-Ebene sind bevorzugt klassische elektrophoretische Verfahren zu verwenden. Dies sind insbesondere Northern blotting und RNase Protektion, weiter bevorzugt sind PCR-basierte Verfahren wie z.B. real-time PCR. Besonders bevorzugt sind Hybridisierungsverfahren wie Makro- und Mikroarrays zu verwenden. Eine besonders bevorzugte Methode ist die real-time PCR.

Für die Bestimmung des Expressionslevels auf Proteinebene sind bevorzugt massenspektrometrische Verfahren zu verwenden. Dies sind insbesondere SILAC und markierungsfreie absolute Quantifizierung. Besonders bevorzugt sind Antikörper-basierte Verfahren wie Western blotting, ELISA und Immunzyto- und Immunhistochemie zu verwenden. Eine besonders bevorzugte Methode ist die Immunhistochemie.

Eine bevorzugte Anwendung der Erfindung besteht in der Analyse des Einflusses kosmetischer und medizinischer Produkte auf den Alterungszustand, insbesondere die Hautalterung. Zu diesem Zweck können beispielsweise die Hautalterung verlangsamende Produkte auf definierte Hautstellen aufgetragen werden und der Effekt mit Hilfe der Analyse der Genexpression der beschriebenen Gene an behandelten und unbehandelten Stellen verglichen werden. Es können auch Prädispositionen für bestimmte altersbedingte Erkrankungen identifiziert werden.

Eine weitere bevorzugte Anwendung der Erfindung besteht in der Analyse des Einflusses medizinischer Produkte auf die Alterung bestimmter Gewebe oder des Gesamtorganismus. Zu diesem Zweck können beispielsweise die Alterung bestimmter Gewebe oder des Gesamtorganismus verlangsamende Produkte systemisch eingenommen werden und der Effekt mit Hilfe der Analyse der Genexpression der beschriebenen Gene an Zellproben der Haut vor und nach der Einnahme der medizinischen Produkte verglichen werden. Es können auch Prädispositionen für bestimmte altersbedingte Erkrankungen identifiziert werden.

Eine weitere bevorzugte Anwendung besteht in der Analyse beispielsweise an Tatorten gefundener Spuren, welche eine Einschränkung des Alters des Täters ermöglicht und so den Kreis möglicher Verdächtiger einengen kann. So ist dem entsprechenden Fachmann bekannt, dass oft Hautschuppen, Haare oder andere

Gewebe von Tätern am Tatort sichergestellt werden können, die dann für eine entsprechende Analyse im Sinne der Erfindung verwendet werden können.

Eine weitere mögliche Anwendung besteht in der Analyse von Zellen aus Zellkulturen. Insbesondere können mögliche alterungsfördernde oder alterungsverlangsamende Faktoren beispielsweise in Hochdurchsatz-Screening-Verfahren getestet werden, indem der Genexpressionslevel der in dieser Erfindung beschriebenen Gene unter Einfluss der jeweiligen Faktoren mit entsprechenden Vergleichswerten von unbehandelten Zellkulturen qualitativ und quantitativ verglichen wird.

Die Gene sind vorzugsweise ausgewählt aus folgenden humanen Genen oder Homologen davon:

RDH16 (Unigene ID Hs.134958, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 1, Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2),

MGC3101 (Unigene ID Hs.301394, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 3, Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 4),

C9orf112 (Unigene ID Hs.292570, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 5, Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 6),

STK40 (Unigene ID Hs.471768, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 7, Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 8),

TOM1L2 (Unigene ID Hs.462379, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 9, Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 10),

GAMT (Unigene ID Hs.81131, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 11, Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 12),

MFSD3 (Unigene ID Hs.7678, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 13, Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 14),

C19orf24 (Unigene ID Hs.591383, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 15, Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 16),

TRIM33 (Unigene ID Hs.26837, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 17,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 18),

LRIG3 (Unigene ID Hs.253736, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 19,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 20),

DOCK9 (Unigene ID Hs.596105, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 21,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 22),

NLGN2 (Unigene ID Hs.26229, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 23,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 24),

B3GALT3 (Unigene ID Hs.418062, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 25,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 26),

FZD7 (Unigene ID Hs.173859, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 27,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 28),

TUBAL3 (Unigene ID Hs.163079, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 29,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 30),

MMP27 (Unigene ID Hs.534479, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 31,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 32),

CORIN (Unigene ID Hs.518618, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 33,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 34),

PPARD (Unigene ID Hs.696032, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 35,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 36),

SIRT6 (Unigene ID Hs.423756, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 37,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 38),

CPT1B (Unigene ID Hs.439777, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 39,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 40) und

MATN4 (Unigene ID Hs.278489, Nukleotidsequenz SEQ ID NO: 41,
Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 42).

RDH16 kodiert für "retinol dehydrogenase 16".

MGC3101 kodiert für "dysbindin domain-containing protein 1".

C9orf112 kodiert für "WD repeat-containing protein 85".

STK40 kodiert für "serine/threonine-protein kinase 40".

TOM1L2 kodiert für "TOM1-like protein 2".

GAMT kodiert für "guanidinoacetate N-methyltransferase".

MFSD3 kodiert für "major facilitator superfamily domain-containing protein 3".

C19orf24 kodiert für "uncharacterized membrane protein C19orf24".

TRIM33 kodiert für "E3 ubiquitin-protein ligase TRIM33".

LRIG3 kodiert für "leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains protein 3".

DOCK9 kodiert für "dedicator of cytokinesis protein 9".

NLGN2 kodiert für "neuroligin-2".

B3GALT3 kodiert für "UDP-GalNAc:beta-1,3-N-acetylgalactosaminyltransferase 1".

FZD7 kodiert für "frizzled-7".

TUBAL3 kodiert für "tubulin alpha chain-like 3".

MMP27 kodiert für "matrix metalloproteinase-27".

CORIN kodiert für "atrial natriuretic peptide-converting enzyme".

PPARD kodiert für "peroxisome proliferator-activated receptor delta".

SIRT6 kodiert für "NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-6".

CPT1B kodiert für "Carnitine O-palmitoyltransferase 1B".

MATN4 kodiert für "Matrilin-4".

Diese Gene haben altersabhängige Expressionslevel, insbesondere in menschlichen Hautzellen. Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens können die Expressionslevel eines oder mehrerer Gene untersucht werden. Es ist ein besonderer Vorteil, dass die Expressionslevel in Hautproben ermittelt werden können.

Die hierin erwähnten Gene sind im angehängten Sequenzprotokoll gezeigt. Neben dem Gen selbst sind dort auch die entsprechenden Proteine gezeigt. Es liegt auf der Hand, dass die Sequenzen der Gene aufgrund natürlich vorkommender Polymorphismen in verschiedenen Individuen unterschiedlich sein können. Trotzdem können diese Gene, welche Polymorphismen enthalten, im Rahmen der vorliegenden Erfindung verwendet werden. Daher werden von den hierin bezeichneten Genen im Rahmen dieser Beschreibung auch solche Gene verstanden, die leichte Abweichungen in den Sequenzen zeigen. Es werden mithin auch solche Gene von den hierin gewählten Bezeichnungen umfasst, die hinsichtlich der im Sequenzprotokoll gezeigten Polynucleotide eine Sequenzübereinstimmung von wenigstens 95%, bevorzugt wenigstens 96%, weiter bevorzugt wenigstens 97%, mehr bevorzugt wenigstens 98% und besonders bevorzugt wenigstens 99% aufweisen. Natürlich sind auch solche Ausführungsformen erfindungsgemäß, bei denen die Sequenzübereinstimmung 100% beträgt. Die Sequenzübereinstimmung kann mit dem Fachmann bekannten Computerprogrammen ermittelt werden, etwa mit Programmen aus dem Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 (von Genetics Computer Group, Madison, USA), insbesondere BESTFIT, FASTA und GAP, die auf dem Algorithmus von Smith und Waterman basieren. Die Programme können mit den Standardeinstellungen verwendet werden, die der Hersteller empfiehlt.

Folgende Gene sind erfindungsgemäß geeignet: SIRT6, RDH16, CPT1B, MGC3101, C9orf112, STK40, TOM1L2, GAMT, MFSD3, C19orf24, TRIM33, LRIG3, DOCK9, NLGN2, B3GALT3, FZD7, TUBAL3, MMP27, MATN4, CORIN, PPARD und Kombinationen davon.

Folgende Gene sind erfindungsgemäß bevorzugt: RDH16, MGC3101, C9orf112, STK40, TOM1L2, GAMT, MFSD3, C19orf24, TRIM33, LRIG3, DOCK9, NLGN2, B3GALT3, FZD7, TUBAL3, MMP27, CORIN, PPARD und Kombinationen davon.

Folgende Gene sind erfindungsgemäß auch bevorzugt: SIRT6, CPT1B, RDH16, STK40, GAMT, LRIG3, DOCK9, FZD7, MATN4, MMP27, CORIN, PPARD und Kombinationen davon.

In bevorzugten Ausführungsformen werden die Expressionslevel von wenigstens 2, weiter bevorzugt wenigstens 3, weiter bevorzugt wenigstens 4, weiter bevorzugt wenigstens 5, weiter bevorzugt wenigstens 6, weiter bevorzugt wenigstens 7, weiter bevorzugt wenigstens 8, weiter bevorzugt wenigstens 9, weiter bevorzugt wenigstens 10, weiter bevorzugt wenigstens 11, weiter bevorzugt wenigstens 12, weiter bevorzugt wenigstens 13, weiter bevorzugt wenigstens 14, weiter bevorzugt wenigstens 15, weiter bevorzugt wenigstens 16, weiter bevorzugt wenigstens 17, weiter bevorzugt wenigstens 18, weiter bevorzugt wenigstens 19, weiter bevorzugt wenigstens 20 und besonders bevorzugt 21 der erfindungsgemäß bevorzugt untersuchten Gene verwendet. Es können sogar mehr als 21 Gene verwendet werden.

Folgende Gene werden erfindungsgemäß besonders bevorzugt untersucht: C9orf112, STK40, TOM1L2, GAMT, MFSD3, C19orf24, TRIM33, LRIG3, DOCK9, NLGN2, B3GALT3 und FZD7. Diese Gene haben geschlechtsunabhängig altersabhängig verschiedene Expressionslevel, was erfindungsgemäß sehr vorteilhaft ist.

Weiter bevorzugt sind die Gene ausgewählt aus C9orf112, TOM1L2, GAMT, MFSD3, C19orf24, TRIM33, LRIG3, DOCK9, NLGN2, B3GALT3 und FZD7. Diese Gene zeigen eine qualitativ gleiche altersabhängige Änderung des Expressionslevels.

Besonders bevorzugt sind die Gene ausgewählt aus TOM1L2, NLGN2, B3GALT3 und FZD7. Diese Gene zeigen eine besonders große altersabhängige Änderung des Expressionslevels.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird der Expressionslevel von FZD7 und/oder PPARD auf Proteinebene bestimmt.

In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform wird der Expressionslevel von CORIN, SIRT6, CPT1B und/oder MATN4 auf Proteinebene bestimmt.

In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform wird der Expressionslevel von CORIN, FZD7, PPARD, SIRT6, CPT1B und/oder MATN4 auf Proteinebene bestimmt.

In einer bevorzugten Ausführungsform dieser Erfindung umfasst das Verfahren die Bestimmung eines Expressionslevels eines Gens, das ausgewählt ist aus der Gruppe C9orf112, TOM1L2, GAMT, MFSD3, C19orf24, wobei ein Expressionslevel, der höher ist als der Vergleichswert, einen im Hinblick auf das oder die Vergleichssubjekte stärkere Ausprägung des Alterungszustandes bedeutet. Die Expressionslevel dieser Gene sind geschlechtsunabhängig in Individuen mit stärker ausgeprägtem Alterungszustand höher. Ein Expressionslevel gilt insbesondere dann als höher als der Vergleichswert, wenn der Expressionslevel wenigstens 5%, weiter bevorzugt wenigstens 10%, besonders bevorzugt wenigstens 20% höher ist als der Vergleichswert. Aufgrund der vorteilhaften Eigenschaften dieses Verfahrens lassen sich schon solche leichten Abweichungen robust detektieren.

In einer bevorzugten Ausführungsform dieser Erfindung umfasst das Verfahren die Bestimmung eines Expressionslevels eines Gens, das ausgewählt ist aus der Gruppe TRIM33, LRIG3, DOCK9, NLGN2, B3GALT3, FZD7, wobei ein Expressionslevel, der niedriger ist als der Vergleichswert, einen im Hinblick auf das oder die Vergleichssubjekte stärkere Ausprägung des Alterungszustandes bedeutet. Die Expressionslevel dieser Gene sind geschlechtsunabhängig in Individuen mit stärker ausgeprägtem Alterungszustand niedriger. Ein Expressionslevel gilt insbesondere dann als niedriger als der Vergleichswert, wenn der Expressionslevel wenigstens 5%, weiter bevorzugt wenigstens 10%, besonders bevorzugt wenigstens 20% niedriger ist als der Vergleichswert. Aufgrund der vorteilhaften Eigenschaften dieses Verfahrens lassen sich schon solche leichten Abweichungen robust detektieren.

Erfindungsgemäß ist weiterhin eine Vorrichtung, welche zur zuverlässigen und schnellen Bestimmung des Alterungszustandes eines Subjektes verwendet werden kann. Die Vorrichtung umfasst vorzugsweise ein Trägermaterial sowie biologische Moleküle die an präzise definierten Positionen auf dem Trägermaterial immobilisiert sind. Besonders bevorzugt ist die Vorrichtung ein Microarray

und/oder Biochip. Ein Biochip im Sinne dieser Erfindung kann sowohl ein DNA-Chip als auch ein Proteinchip sein.

Das Trägermaterial besteht bevorzugt aus Pappe, Papier, Glas oder Kunststoff.

Die biologischen Moleküle umfassen bevorzugt Antikörper, welche spezifisch mindestens ein Epitop auf mindestens einem der Proteine erkennen, die von den erfindungsgemäßen Genen kodiert werden. Die biologischen Moleküle umfassen besonders bevorzugt DNA-Moleküle mit einer linearen Sequenz von mindestens 12 Nukleotiden, wobei die Nukleotidsequenz ausgewählt ist aus der Sequenz eines der erfindungsgemäßen Gene.

Chips beinhalten als bevorzugte Ausführungsform die bevorzugten Gene. Sie dienen als Targetidentifikation von differentiell exprimierten Genen im Alter in beiden Geschlechtern durch Genomics und Proteomics, insbesondere in Form von Biochips.

Bei Biochips wird als Trägermaterial unter anderem speziell beschichteter Kunststoff oder beschichtetes Glas verwendet, auf das mit Hilfe von Maschinen die oft nur einige Mikrometer großen Tests befestigt (immobilisiert) werden. Häufig werden Biochips nach den Substanzen unterteilt, die in den Test bestimmt werden: Bei DNA-Chips werden DNA- und RNA-Fragmente nachgewiesen, bei Protein-Chips werden bestimmte Proteine - oft mit Hilfe von Antikörpern - erkannt.

Die DNA-Chip-Technologie nutzt Techniken aus der Halbleiterfertigung, um bekannte Gene auf einem fingernagelgroßen Plastik- oder Glasplättchen, dem Microarray, zu identifizieren und deren Aktivität zu messen.

Bevorzugt sind Aldehydslides. Bei Aldehydslides sind an der Oberfläche der Chips Aldehydgruppen angebracht, die die aminomodifizierten Oligonukleotide über eine Iminbildung binden (kovalente Bindung).

Weiter bevorzugt sind epoxy-modifizierte Slides. Bei epoxy-modifizierten Slides binden aminomodifizierte Oligonukleotide an der Epoxidgruppe unter Bildung eines Amins.

Weiter bevorzugt sind Streptavidin-modifizierte Slides. Bei Streptavidin-modifizierten Slides binden Biotin-modifizierte Oligonukleotide an das Protein. Das Tetramer Streptavidin besitzt vier Bindungsstellen, die je ein Biotin binden können.

Weiter bevorzugt sind NHS-Slides. Diese Slides sind mit NHS-Estergruppen beschichtet. Durch ein aminomodifiziertes Oligonukleotid bildet sich ein Amid (NHS = N-Hydroxysuccinimid).

Weiter bevorzugt sind Aminoslides. Bei Aminoslides bindet ein unmodifiziertes Oligonukleotid an einer unbestimmten Stelle, während der Bestrahlung mit Licht im UV-Bereich (unbestimmte Reaktion).

Die Funktionsweise der Protein-Chip-Technik ist vergleichbar mit einem ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) im verkleinerten Format. Dazu werden Proteine auf einem Trägerchip (Glas oder Kunststoff) in genauer Anordnung immobilisiert. Besonders bevorzugt eingesetzte Proteine sind Antikörper. Protein-Chips, bei denen die eingesetzten Proteine Antikörper sind, werden auch als Antikörper-Chips bezeichnet. Grundsätzlich bietet die Protein-Chip-Technik die Möglichkeit, jede Bindung an ein Protein in einem Assay-Format zu erfassen. Andere bevorzugte Kopplungsproteine sind Enzyme zum Nachweis bestimmter Substrate oder Antigene für den Nachweis bestimmter Antikörper in einer biologischen Probe.

Ein Protein-Chip wird mit einer biologischen Probe inkubiert und die Bindung eines biologischen Markers an das immobilisierte Protein wird in den folgenden Schritten detektiert. Die Detektionsmethode variiert je nach Versuchsaufbau, eingesetzt werden bevorzugt Immunassays in einem Verdrängungs-Format.

Ähnlich wie ein DNA-Chip im Vergleich zu einem Southern-Blot oder Northern-Blot bietet das Protein-Chip-Format mehrere Vorteile gegenüber anderen Techniken:

- Verringerung des Antikörper- und Reagenzienbedarfs
- Nachweis niedrigster Konzentrationen von Biomarkern

- Integration mehrerer Assays auf einem Chip (beispielsweise verschiedene Biomarker)
- Miniaturisierung und Automatisierung des Analysesystems für Routinediagnose

Erfindungsgemäß sind auch Detektionskits mit gebrauchsfertigen Reagenzien, All-in-one-Konzepte - bestehend aus Microarrays, Hybridisierstation, Scanner (z.B. Fluoreszenz) und Analysensoftware. Eine preislich attraktive Alternative zu den gängigen Fluoreszenz-Scannern sind Systeme, welche die Hybridisierung elektrochemisch oder über eine Silberpräzipitation an Goldnanopartikeln nachweisen.

Erfindungsgemäß sind auch Computer-Systeme mit Datenbanken, in denen Informationen gesammelt werden über die Expression von einem oder mehreren erfindungsgemäßen Polynukleotiden, die bei jungen und älteren Probanden eine differentielle Expression aufweisen.

Die Erfindung soll exemplarisch an folgendem Beispiel erläutert werden. Das Beispiel beschreibt eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung. Die Erfindung ist allerdings in keinem Fall auf eine Ausführung wie im Beispiel beschrieben beschränkt.

Beispiel 1:

Es wurden Hautproben von vier Gruppen von erwachsenen menschlichen Subjekten genommen. Dabei waren die Gruppen wie folgt:

Gruppe A: Junge Frauen (Alter $26,7 \pm 4$ Jahre, $n=7$),

Gruppe B: Alte Frauen (Alter $70,75 \pm 3,3$ Jahre, $n=4$),

Gruppe C: Junge Männer (Alter $25,8 \pm 5,2$ Jahre, $n=6$),

Gruppe D: Alte Männer (Alter $76 \pm 3,8$ Jahre, $n=7$).

Die Expression der unten beschriebenen Gene wurde für jede Gruppe separat bestimmt und gemittelt. Zur Bestimmung der Expression wurde nach Zellhomogenisierung zunächst RNA isoliert und dann mittels reverser

Transkription in DNA umgeschrieben. Diese wurde dann als Grundlage für die Herstellung biotinylierter cRNA verwendet, welche wiederum zur Hybridisierung auf human-8 BeadChips verwendet wurde. Die relative Änderung des Expressionslevels wurde als Quotient der jeweiligen Genexpressionen der älteren und der jüngeren Gruppe bestimmt. Die Quotienten sind jeweils als Logarithmus zur Basis zwei (\log_2) angegeben.

Name	NCBI Referenz	Beschreibung	Log₂ (D/C)	P - value	Log₂ (B/A)	P - value
<i>SIRT6</i>	NM_016539.1	Homo sapiens sirtuin (silent mating type information regulation 2 homolog) 6 (S. cerevisiae) (SIRT6), mRNA.	1.246	0.030	1.762	0.027
<i>RDH16</i>	NM_003708.2	Homo sapiens retinol dehydrogenase 16 (all-trans and 13-cis) (RDH16), mRNA.	1.016	0.014	1.186	0.048
<i>CPT1B</i>	NM_152246.1	Homo sapiens carnitine palmitoyltransferase 1B (muscle) (CPT1B), nuclear gene encoding mitochondrial protein, transcript variant 3, mRNA.	1.000	0.013	1.021	0.007
<i>MGC3101</i>	NM_024043.2	Homo sapiens hypothetical protein MGC3101 (MGC3101),	0.796	0.001	1.446	0.043

		mRNA.				
<i>C9orf112</i>	NM_138778.1	Homo sapiens chromosome 9 open reading frame 112 (C9orf112), mRNA.	0.690	0.000	0.479	0.050
<i>STK40</i>	NM_032017.1	Homo sapiens serine/threonine kinase 40 (STK40), mRNA.	0.621	0.011	-0.419	0.023
<i>TOM1L2</i>	NM_001033551.1	Homo sapiens target of myb1-like 2 (chicken) (TOM1L2), transcript variant 1, mRNA.	0.601	0.001	0.674	0.033
<i>GAMT</i>	NM_000156.4	Homo sapiens guanidinoacetate N-methyltransferase (GAMT), transcript variant 1, mRNA.	0.496	0.003	0.738	0.042
<i>MFSD3</i>	NM_138431.1	Homo sapiens major facilitator superfamily domain containing 3 (MFSD3), mRNA.	0.452	0.028	0.595	0.034
<i>C19orf24</i>	NM_017914.2	Homo sapiens chromosome 19 open reading frame 24 (C19orf24), mRNA.	0.395	0.049	0.627	0.043
<i>TRIM33</i>	NM_033020.2	Homo sapiens tripartite motif-containing 33 (TRIM33), transcript variant b, mRNA.	-0.396	0.002	-0.515	0.048

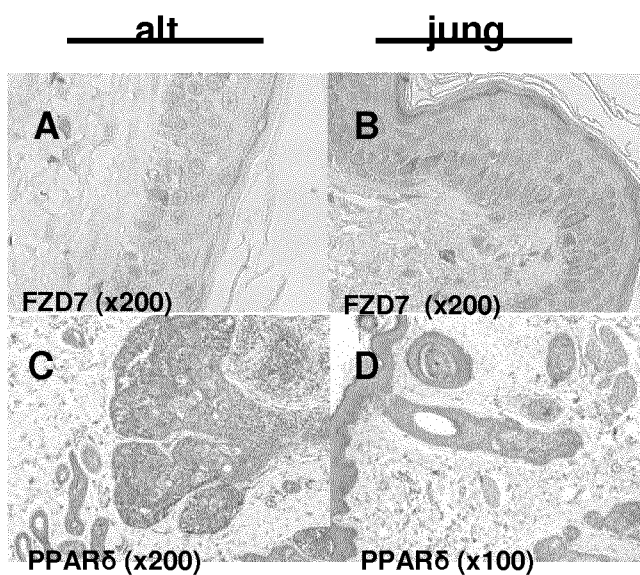
<i>LRIG3</i>	NM_153377.3	Homo sapiens leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 3 (LRIG3), mRNA.	-0.398	0.002	-0.650	0.029
<i>DOCK9</i>	NM_015296.1	Homo sapiens dedicator of cytokinesis 9 (DOCK9), mRNA.	-0.415	0.014	-0.815	0.009
<i>NLGN2</i>	NM_020795.2	Homo sapiens neuroligin 2 (NLGN2), mRNA.	-0.436	0.025	-0.476	0.049
<i>B3GALT3</i>	NM_003781.2	Homo sapiens UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,3-galactosyltransferase, polypeptide 3 (B3GALT3), transcript variant 1, mRNA.	-0.590	0.043	-0.575	0.043
<i>FZD7</i>	NM_003507.1	Homo sapiens frizzled homolog 7 (Drosophila)	-0.915	0.045	-0.910	0.026
<i>TUBAL3</i>	NM_024803.1	Homo sapiens tubulin, alpha-like 3 (TUBAL3), mRNA.	-0.915	0.029	0.673	0.043
<i>MMP27</i>	NM_022122.2	matrix metalloprotease 27	-0.982	0.048	-1.579	0.001

<i>MATN4</i>	NM_003833.2	Homo sapiens matrilin 4 (MATN4), transcript variant 1, mRNA.	-1.393	0.014	-1.823	0.003
<i>CORIN</i>	NM_006587.2	Homo sapiens corin, serine peptidase (CORIN), mRNA.	-1.935	0.035	-3.216	0.014

Das Beispiel zeigt, dass die beschriebenen Gene geschlechtsunabhängig eine altersabhängige Änderung des Expressionslevels aufweisen. Insbesondere ist ersichtlich, dass die meisten Gene eine qualitativ gleiche altersabhängige Änderung des Expressionslevels aufweisen. Weiterhin zeigt das Beispiel, dass die altersabhängige Änderung des Expressionslevels je nach Gen eine Erhöhung oder Verringerung des Expressionslevels bedeuten kann.

Beispiel 2:

Der Expressionslevel von FZD7 und von PPARD in menschlichen Hautproben von Frauen (n1=3) und Männern (n2=3) von nicht-sonnenexponierten Stellen wurde auf Proteinebene mittels Immunhistochemie bestimmt. Im Falle von FZD7 wurde im Vergleich zu Zellproben älterer Probanden in Zellproben jüngerer Probanden ein deutlich höherer Expressionslevel detektiert. Im Falle von PPARD wurde im Vergleich zu Zellproben älterer Probanden in Zellproben jüngerer Probanden ein deutlich geringerer Expressionslevel detektiert.



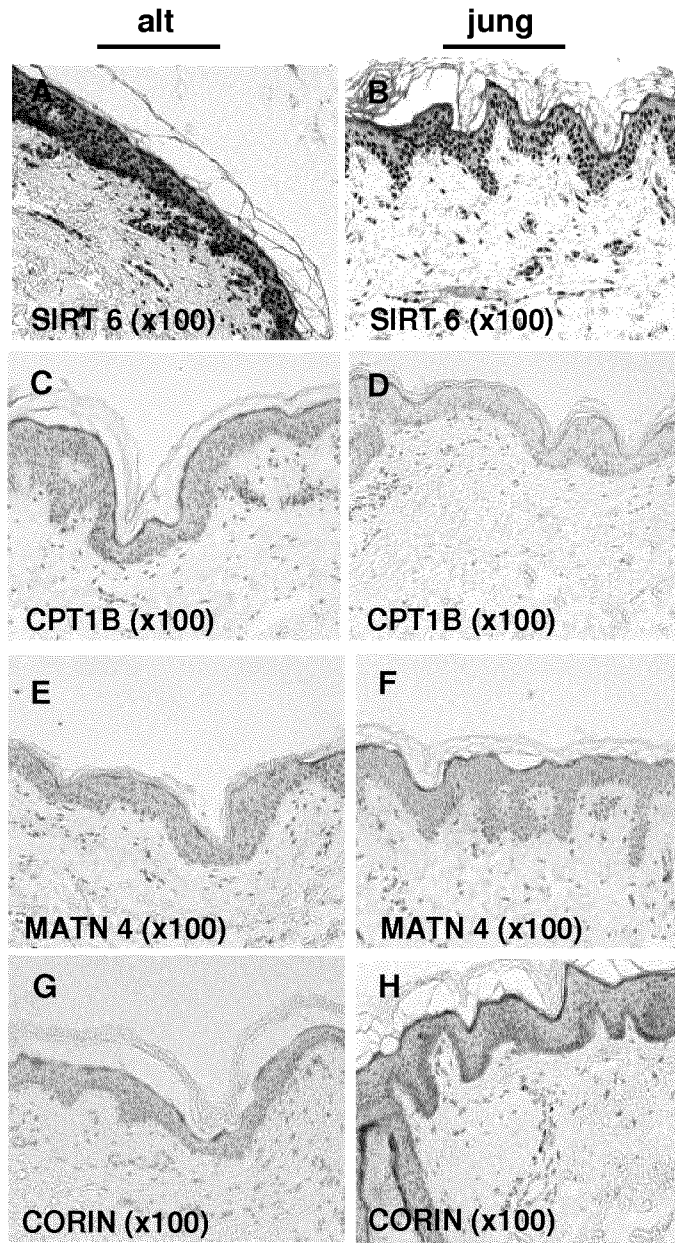
Beispiel 2 zeigt exemplarisch, dass die Bestimmung des altersabhängigen Expressionslevels eines der erfindungsgemäßen Gene auch auf Proteinebene erfolgen kann. Dies gilt insbesondere sowohl für Gene deren Expressionslevel im Alter erhöht als auch für Gene deren Expressionslevel im Alter verringert ist.

Beispiel 3:

Der Expressionslevel von SIRT6, CPT1B, MATN4 und CORIN in menschlichen Hautproben von Frauen (n1=3) und Männern (n2=3) von nicht-sonnenexponierten Stellen wurde auf Proteinebene mittels Immunhistochemie bestimmt. Im Falle von SIRT6 und CPT1B wurde in beiden Geschlechtern im Vergleich zu Zellproben älterer Probanden in Zellproben jüngerer Probanden ein deutlich geringerer Expressionslevel detektiert. Im Falle von MATN4 und CORIN

wurde in Zellproben jüngerer Probanden ein deutlich höherer Expressionslevel im Vergleich zu Zellproben älterer Probanden in beiden Geschlechtern detektiert.

Beispiel 3 zeigt exemplarisch, dass die Bestimmung des altersabhängigen Expressionslevels eines der erfindungsgemäßen Gene auch auf Proteinebene erfolgen kann. Dies gilt insbesondere sowohl für Gene deren Expressionslevel im Alter erhöht als auch für Gene deren Expressionslevel im Alter verringert ist.



Ansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung des Alterungszustandes eines Subjekts, umfassend
 - a. Bereitstellung einer Zellprobe des Subjekts,
 - b. Bestimmung des Expressionslevels mindestens eines Gens, dessen Expressionslevel vom Alterungszustand des Subjekts abhängig ist, und
 - c. Vergleich des Expressionslevels des Gens mit mindestens einem Vergleichswert, wobei der Vergleichswert der Expressionslevel des entsprechenden Gens in einer Vergleichsprobe ist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Expressionslevel geschlechtsunabhängig vom Alterungszustand des Subjekts abhängig ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Gen ausgewählt ist aus einem oder mehreren der folgenden humanen Gene oder einem dazu homologen Gen: CORIN (SEQ ID NO: 33), SIRT6 (SEQ ID NO: 37), CPT1B (SEQ ID NO: 39), MATN4 (SEQ ID NO: 41), RDH16 (SEQ ID NO: 1), MGC3101 (SEQ ID NO: 3), C9orf112 (SEQ ID NO: 5), STK40 (SEQ ID NO: 7), TOM1L2 (SEQ ID NO: 9), GAMT (SEQ ID NO: 11), MFSD3 (SEQ ID NO: 13), C19orf24 (SEQ ID NO: 15), TRIM33 (SEQ ID NO: 17), LRIG3 (SEQ ID NO: 19), DOCK9 (SEQ ID NO: 21), NLGN2 (SEQ ID NO: 23), B3GALT3 (SEQ ID NO: 25), FZD7 (SEQ ID NO: 27), TUBAL3 (SEQ ID NO: 29), MMP27 (SEQ ID NO: 31) und PPARD (SEQ ID NO: 35).
4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Gen ausgewählt ist aus einem oder mehreren der folgenden humanen Gene oder einem dazu homologen Gen: CORIN (SEQ ID NO: 33), RDH16 (SEQ ID NO: 1), MGC3101 (SEQ ID NO: 3), C9orf112 (SEQ ID NO: 5), STK40 (SEQ ID NO: 7), TOM1L2 (SEQ ID NO: 9), GAMT (SEQ ID NO: 11), MFSD3 (SEQ ID NO: 13), C19orf24 (SEQ ID NO: 15), TRIM33 (SEQ ID NO: 17), LRIG3 (SEQ ID NO: 19), DOCK9 (SEQ ID NO: 21), NLGN2 (SEQ ID NO: 23), B3GALT3 (SEQ ID NO: 25), FZD7 (SEQ ID NO: 27), TUBAL3 (SEQ ID NO: 29), MMP27 (SEQ ID NO: 31) und PPARD (SEQ ID NO: 35).
5. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Gen ausgewählt ist aus einem oder mehreren der folgenden humanen Gene oder einem dazu homologen Gen: C9orf112 (SEQ ID NO: 5), STK40 (SEQ ID NO: 7), TOM1L2 (SEQ ID NO: 9), GAMT (SEQ ID NO: 11), MFSD3 (SEQ ID NO: 13),

- 13), C19orf24 (SEQ ID NO: 15), TRIM33 (SEQ ID NO: 17), LRIG3 (SEQ ID NO: 19), DOCK9 (SEQ ID NO: 21), NLGN2 (SEQ ID NO: 23), B3GALT3 (SEQ ID NO: 25) und FZD7 (SEQ ID NO: 27).
6. Verfahren nach Anspruch nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei die Zellprobe eine Hautprobe, eine Schleimhautprobe, eine Abstrichzellprobe, eine Blutprobe, eine Urinprobe oder eine Stuhlprobe ist.
 7. Verfahren nach Anspruch nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei die Zellprobe eine Probe aus einem toten Organismus ist.
 8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Expressionslevel auf RNA-Ebene oder Proteinebene bestimmt wird.
 9. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Subjekt ein Säugetier ist.
 10. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zellprobe Zellen aus Zellkultur enthält.
 11. Vorrichtung zur Bestimmung des Alterungszustandes eines Subjekts, insbesondere Chip oder Array, umfassend
 - a. ein Trägermaterial
 - b. biologische Moleküle die an präzise definierten Positionen auf dem Trägermaterial immobilisiert sind.
 12. Vorrichtung nach Anspruch 11, wobei die biologischen Moleküle DNA Moleküle mit einer linearen Sequenz von mindestens 12 Nukleotiden umfassen und die Nukleotidsequenz ausgewählt ist aus der Sequenz eines der in Anspruch 3 genannten Gene.
 13. Vorrichtung nach Anspruch 10, wobei die biologischen Moleküle DNA Moleküle mit einer linearen Sequenz von mindestens 12 Nukleotiden umfassen und die Nukleotidsequenz ausgewählt ist aus der Sequenz eines der in Anspruch 4 oder 5 genannten Gene.
 14. Vorrichtung nach Anspruch 10, wobei die biologischen Moleküle Antikörper sind, welche spezifisch mindestens ein Epitop auf mindestens einem der Proteine erkennen, die von den in Anspruch 3 genannten Genen kodiert werden.
 15. Vorrichtung nach Anspruch 10, wobei die biologischen Moleküle Antikörper sind, welche spezifisch mindestens ein Epitop auf mindestens einem der Proteine erkennen, die von den in Anspruch 4 oder 5 genannten Genen kodiert werden.