(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0078995
(43) 공개일자 2024년06월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*G01N 33/68* (2006.01) *C12Q 1/6883* (2018.01)
(52) CPC특허분류
*G01N 33/6893* (2013.01)
*C12Q 1/6883* (2022.01)
(21) 출원번호 10-2022-0161823
(22) 출원일자 2022년11월28일
심사청구일자 2023년11월16일

(71) 출원인
**재단법인 아산사회복지재단**
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
**울산대학교 산학협력단**
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
**김경곤**
서울특별시 송파구 올림픽로 435, 108동 2302호(신천동, 파크리오)
**김범준**
서울특별시 강남구 개포로 264, 112동 903호(개포동, 개포 래미안 포레스트)
(74) 대리인
**이명진**

전체 청구항 수 : 총 15 항

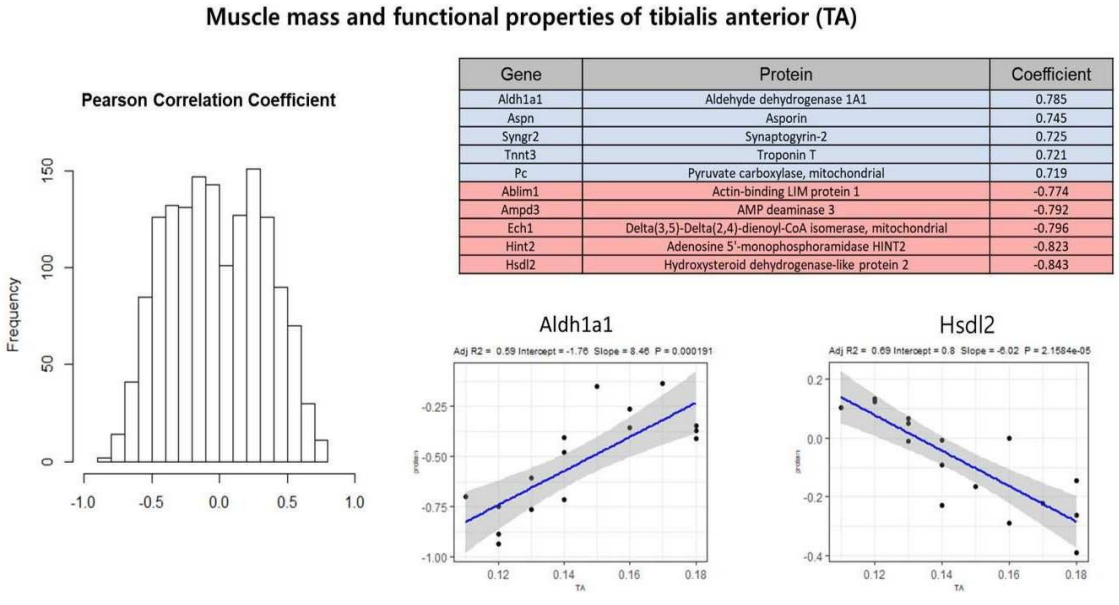
(54) 발명의 명칭 **근감소증 진단용 바이오마커 및 이를 이용한 근감소증 진단방법**

## (57) 요 약

본 발명은 근감소증 진단을 위한 조성물 등에 관한 것으로서, 근감소증 동물모델의 단백체에 대한 정성적, 정량적 분석을 통해 높은 정확도와 민감도로 근감소증을 진단할 수 있는 바이오마커를 발굴하여 완성된 것이다. 특히, 본 발명에 따른 바이오마커들은 근육량, Grip strength, Rotarod 지수, 및 Inverted strength 등의 근감

(뒷면에 계속)

## 대 표 도



소증 관련 지표들과 양 또는 음의 상관관계에 있는 것이 확인되었다. 따라서, 근육량 및 근기능 측정에 의존했던 종래의 방법 대신, 본 발명의 마커들을 이용한 분자 진단을 통해 근감소증을 진단할 수 있으며, 나아가 상기 마커들과 근 기능의 연관성을 통해 근감소증의 중증도에 대한 판단도 가능하다. 특히, 근감소증 지표들과 일관된 상관관계를 보이는 바이오마커들은 근감소증 치료를 위한 타겟으로도 활용이 가능할 것으로 예상된다. 나아가, 근감소증은 노화와 밀접한 관련이 있는 질환이므로, 본 발명에 따른 바이오마커들은 항노화 치료 표적 확보 및 노화 제어 기술 개발의 기반이 될 것으로 예상된다.

(52) CPC특허분류
*C12Q 2600/158* (2013.01)
*G01N 2333/78* (2013.01)
*G01N 2333/914* (2013.01)
*G01N 2333/978* (2013.01)
*G01N 2800/10* (2013.01)

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

Asporin, PADI2 (Protein-arginine deiminase type-2), Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2 (Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 근감소증 진단용 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준은 정상인 대비 근감소증 환자에서 증가되어 있는 것을 특징으로 하는, 근감소증 진단용 조성물.

### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2의 단백질 또는 mRNA 수준은 정상인 대비 근감소증 환자에서 감소되어 있는 것을 특징으로 하는, 근감소증 진단용 조성물.

### 청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은 Aldehyde dehydrogenase 1A1, Synaptogyrin-2, Troponin T, Pyruvate carboxylase, mitochondrial, Annexin A3, Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2, Ribosome-binding protein 1, Ig gamma-3 chain C region, Ornithine aminotransferase (mitochondrial), Four and a half LIM domains protein 3, Threonine--tRNA ligase 1 (cytoplasmic), Striatin-3, Protein unc-45 homolog B, Heat shock 70 kDa protein 4, Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase (mitochondrial), Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D, Actin-binding LIM protein 1, AMP deaminase 3, Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase (mitochondrial), ATP-binding cassette sub-family C member 9, Sorting nexin-3, Serine/threonine-protein phosphatase PGAM5 (mitochondrial), Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A, Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 3, Long-chain fatty acid transport protein 1, Valacyclovir hydrolase, Myozenin-3, [Pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring)] inase isozyme 4 (mitochondrial), 및 NADPH-cytochrome P450 reductase로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA의 수준을 측정하는 제제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 근감소증 진단용 조성물.

### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 단백질 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적인 항체 또는 앱타머인 것을 특징으로 하는, 근감소증 진단용 조성물.

### 청구항 6

제1항에 있어서,

상기 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트 또는 프로브인 것을 특징으로 하는, 근감소증 진단용 조성물.

**청구항 7**

제1항에 있어서,

상기 단백질 또는 mRNA 수준은 혈액, 전혈, 혈장, 림프액, 소변, 타액, 조직, 근육조직, 세포, 기관, 골수, 미세침흡인 검체, 중심부바늘생검(core needle biopsy) 검체, 및 진공흡입생검 검체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상에서의 수준인, 근감소증 진단용 조성물.

**청구항 8**

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 근감소증 진단용 키트.

**청구항 9**

하기 단계를 포함하는, 근감소증의 진단을 위한 정보제공방법:

(S1) 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 단계; 및

(S2) 상기 단계 (S1)에서 측정된 피검체의 단백질 또는 mRNA 수준을 대조군과 비교하는 단계.

**청구항 10**

제9항에 있어서,

상기 방법은 상기 단계 (S1)에서 측정된 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 높은 경우, 근감소증을 앓고 있거나, 근감소증이 발병할 위험이 있는 것으로 판단하는 단계를 더 포함하는 것인, 근감소증의 진단을 위한 정보제공방법.

**청구항 11**

제9항에 있어서,

상기 방법은 상기 단계 (S1)에서 측정된 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2 (hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 낮은 경우, 근감소증을 앓고 있거나, 근감소증이 발병할 위험이 있는 것으로 판단하는 단계를 더 포함하는 것인, 근감소증의 진단을 위한 정보제공방법.

**청구항 12**

제9항에 있어서,

상기 방법은 상기 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 Aldehyde dehydrogenase 1A1, Synaptogyrin-2, Troponin T, Pyruvate carboxylase, mitochondrial, Annexin A3, Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2, Ribosome-binding protein 1, Ig gamma-3 chain C region, Ornithine aminotransferase (mitochondrial), Four and a half LIM domains protein 3, Threonine--tRNA ligase 1 (cytoplasmic),

Striatin-3, Protein unc-45 homolog B, Heat shock 70 kDa protein 4, Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase (mitochondrial), Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D, Actin-binding LIM protein 1, AMP deaminase 3, Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase (mitochondrial), ATP-binding cassette sub-family C member 9, Sorting nexin-3, Serine/threonine-protein phosphatase PGAM5 (mitochondrial), Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A, Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 3, Long-chain fatty acid transport protein 1, Valacyclovir hydrolase, Myozenin-3, [Pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring)] inase isozyme 4 (mitochondrial), 및 NADPH-cytochrome P450 reductase로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA의 수준을 측정하는 단계를 더 포함하는 것인, 근감소증의 진단을 위한 정보제공방법.

**청구항 13**

제9항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 혈액, 전혈, 혈장, 림프액, 소변, 타액, 조직, 근육조직, 세포, 기관, 골수, 미세침흡인 검체, 중심부바늘생검(core needle biopsy) 검체, 및 진공흡입생검 검체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인, 근감소증의 진단을 위한 정보제공방법.

**청구항 14**

제9항에 있어서,

상기 단백질 수준은 단백질 칩 분석, 면역 측정법, 리간드 바인딩 어세이, MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, SELDI-TOF (Sulface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, 방사선 면역 분석, 방사 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역전기영동, 조직면역 염색, 보체 고정 분석법, 2차원 전기영동 분석, 액상 크로마토그래피-질량분석 (liquid chromatography-Mass Spectrometry; LC-MS), LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry), 웨스턴 블랏팅, ELISA (enzyme linked immunosorbentassay), 및 FACS로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법으로 측정되는 것을 특징으로 하는, 근감소증의 진단을 위한 정보제공방법.

**청구항 15**

제9항에 있어서,

상기 mRNA 수준은 PCR, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅 (northern blotting), 서던 블랏팅 (southern blotting), In situ 교잡법, DNA 칩, 및 RNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법으로 측정되는 것을 특징으로 하는, 근감소증의 진단을 위한 정보제공방법.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 근감소증 진단을 위한 바이오마커 및 이를 이용한 근감소증 진단방법 등에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0002] 근감소증 (Sarcopenia)는 골격근량의 감소로 근력과 신체 기능이 떨어지는 질환으로, 2016년에 미국에서 (ICD-10-CM), 그리고 2021년에 한국에서 (KCD-8)에서 진단 코드를 부여받은 정식 질환이다. 근감소증의 원인은 다양하지만, 가장 흔한 것은 단백질 섭취 저하 및 운동량 부족이다. 특히 필수 아미노산의 섭취 및 흡수가 부족하여 근감소증이 나타나는 비율이 매우 높다. 근감소증의 또 다른 흔한 원인으로는 노화와 동반된 호르몬 부족이 있다. 골격근 (skeletal muscle)은 인체를 구성하는 가장 큰 기관으로서 인체의 40 내지 50%을 차지한다. 골격근은 30세 이후부터 매년 약 1%씩 감소하는 경향을 보이다가 65세 이후부터는 급격히 감소한다. 노화가 진행됨에

따라 근육의 기능적 능력도 점차 감소하는데, 근육량의 감소와 함께 근력 및 근 기능이 모두 감소한 경우 근감소증으로 진단된다.

[0003] 근육은 운동 기관으로서 매우 중요할 뿐만 아니라, 뼈, 혈관, 심장, 신경 등 신체 전반에 걸쳐 영향을 미친다. 특히 뼈는 근육에 의해 움직이고, 밀도를 유지하기 때문에 근육이 약해지면 뼈도 약해져 골다공증이 생기기 쉽다. 또한, 근육이 감소하면 근육에서 만들어지는 여러 인자들이 감소하거나 혹은 과분비되어 새로운 혈관 및 신경의 형성을 방해하며, 결국 인지기능 저하와 같은 심각한 질환을 유발할 수 있다. 이 뿐만 아니라 근육 감소는 지방간, 심장비대, 췌장 기능 저하, 당뇨병 등의 질환과도 밀접한 관계가 있다.

[0004] 근감소증은 심각한 단계로 진행되기 전에 조기에 발견하고 관리하는 것이 중요하다. 70대가 되면 근육량이 30대 내지 40대에 비해 30%가량 줄어들지만, 근육이 없어진 자리를 지방이 채우면서 체중은 유지되기 때문에 근육 감소를 알아채지 못하는 경우가 많다. 근육량이 지나치게 감소하여 관절 기능이나 전신 컨디션의 저하가 동반된 경우에는 영양이나 운동요법을 통한 치료가 어려울 수 있다. 현재 근감소증의 진단은 근육량, 근력, 및 근 기능을 확인하여 이루어진다. 근육량은 이중 에너지 방사선 흡수법 (dual energy X-ray absorptiometry), 바이오임피던스 측정법, CT, MRI 등의 방법을 통해 측정되지만, 골격근량과 근력 간의 연관성이 높지 않아 진단 방법으로서는 한계가 있다. 근력은 다리 근력 또는 악력으로 측정하며, 근 기능은 보행 속도 측정, short physical performance battery (SPPB 검사), 400미터 보행 검사, 6분 보행 검사 중 1 내지 2가지를 실시하여 측정한다. 그러나 근육량은 연령, 성별, 키, 몸무게, 지방량에 따라 정상치가 상이하므로 근력 및 근기능 판단을 위한 기준이 정확하지 않다. 또한, 노인들에게는 이와 같은 테스트를 수행하는 것 자체가 부담이 되는 문제가 있다.

[0005] 따라서, 보다 객관적인 기준으로 근감소증 여부를 간편하게 판단할 수 있는 새로운 진단방법에 대한 요구가 있다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제10-2022-0147428호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 근감소증과 관련된 기능적 특징과 상관관계를 보이는 근육조직 단백질 바이오마커를 발굴하여 완성된 것이다.

[0008] 따라서, 본 발명의 목적은 상기 바이오마커들의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 근감소증 진단용 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 상기 바이오마커들의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 근감소증 진단용 키트를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 바이오마커들의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 근감소증의 진단방법 및 이를 위한 정보제공방법을 제공하는 것이다.

[0011] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 Asporin, PADI2 (Protein-arginine deiminase type-2), Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2 (Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 근감소증 진단용 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준은 정상인 대비 근감소증 환자에서 증가되어 있는 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0014] 본 발명의 다른 구현예에서, 상기 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2의 단백질 또는 mRNA 수준은 정상인 대비 근감소증 환자에서 감소되어 있는 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0015] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 조성물은 Aldehyde dehydrogenase 1A1, Synaptogyrin-2, Troponin T, Pyruvate carboxylase, mitochondrial, Annexin A3, Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2, Ribosome-binding protein 1, Ig gamma-3 chain C region, Ornithine aminotransferase (mitochondrial), Four and a half LIM domains protein 3, Threonine--tRNA ligase 1 (cytoplasmic), Striatin-3, Protein unc-45 homolog B, Heat shock 70 kDa protein 4, Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase (mitochondrial), Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D, Actin-binding LIM protein 1, AMP deaminase 3, Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase (mitochondrial), ATP-binding cassette sub-family C member 9, Sorting nexin-3, Serine/threonine-protein phosphatase PGAM5 (mitochondrial), Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A, Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 3, Long-chain fatty acid transport protein 1, Valacyclovir hydrolase, Myozenin-3, [Pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring)] inase isozyme 4 (mitochondrial), 및 NADPH-cytochrome P450 reductase로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA의 수준을 측정하는 제제를 더 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0016] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 단백질 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적인 항체 또는 앱타머일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0017] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 mRNA 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트 또는 프로브일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0018] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 단백질 또는 mRNA 수준은 혈액, 전혈, 혈장, 림프액, 소변, 타액, 조직, 근육조직, 세포, 기관, 골수, 미세침흡인 검체, 중심부바늘생검(core needle biopsy) 검체, 및 진공흡입생검 검체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상에서의 수준일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0019] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 조성물을 포함하는, 근감소증 진단용 키트를 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 근감소증의 진단방법 및/또는 근감소증의 진단을 위한 정보제공방법을 제공한다:

[0021] (S1) 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 단계; 및

[0022] (S2) 상기 단계 (S1)에서 측정된 피검체의 단백질 또는 mRNA 수준을 대조군과 비교하는 단계.

[0023] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 방법은 상기 단계 (S1)에서 측정된 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 높은 경우, 근감소증을 앓고 있거나, 근감소증이 발병할 위험이 있는 것으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0024] 본 발명의 다른 구현예에서, 상기 방법은 상기 단계 (S1)에서 측정된 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2 (hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 낮은 경우, 근감소증을 앓고 있거나, 근감소증이 발병할 위험이 있는 것으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0025] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 방법은 상기 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 Aldehyde dehydrogenase 1A1, Synaptogyrin-2, Troponin T, Pyruvate carboxylase, mitochondrial, Annexin A3, Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2, Ribosome-binding protein 1, Ig gamma-3 chain C region, Ornithine aminotransferase (mitochondrial), Four and a half LIM domains protein 3, Threonine--tRNA ligase 1 (cytoplasmic), Striatin-3, Protein unc-45 homolog B, Heat shock 70 kDa protein 4, Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase (mitochondrial), Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D, Actin-binding LIM protein 1, AMP deaminase 3, Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase (mitochondrial), ATP-binding cassette sub-family C member 9, Sorting nexin-3, Serine/threonine-protein phosphatase PGAM5 (mitochondrial), Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A, Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 3, Long-chain fatty acid transport protein 1, Valacyclovir hydrolase, Myozenin-3, [Pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring)] inase isozyme 4 (mitochondrial),

및 NADPH-cytochrome P450 reductase로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA의 수준을 측정하는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0026] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 생물학적 시료는 혈액, 전혈, 혈장, 림프액, 소변, 타액, 조직, 근육조직, 세포, 기관, 골수, 미세침흡인 검체, 중심부바늘생검(core needle biopsy) 검체, 및 진공흡입생검 검체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0027] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 단백질 수준은 단백질 칩 분석, 면역 측정법, 리간드 바인딩 어세이, MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, SELDI-TOF (Sulface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, 방사선 면역분석, 방사 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역전기영동, 조직면역 염색, 보체 고정 분석법, 2차원 전기영동 분석, 액상 크로마토그래피-질량분석 (liquid chromatography-Mass Spectrometry; LC-MS), LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry), 웨스턴 블랏팅, ELISA (enzyme linked immunosorbentassay), 및 FACS로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법으로 측정될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0028] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 상기 mRNA 수준은 PCR, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅 (northern blotting), 서던 블랏팅 (southern blotting), In situ 교잡법, DNA 칩, 및 RNA 칩으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법으로 측정될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0029] 뿐만 아니라, 본 발명은 근감소증 진단용 제제 또는 키트를 제조하기 위한, Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 제제의 용도를 제공한다.

[0030] 뿐만 아니라, 본 발명은 근감소증의 진단을 위한, Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 제제의 용도를 제공한다.

## *발명의 효과*

[0031] 본 발명은 근감소증 진단을 위한 조성물 등에 관한 것으로서, 근감소증 동물모델의 단백체에 대한 정성적, 정량적 분석을 통해 높은 정확도와 민감도로 근감소증을 진단할 수 있는 바이오마커를 발굴하여 완성된 것이다. 특히, 본 발명에 따른 바이오마커들은 근육량, Grip strength, Rotarod 지수, 및 Inverted strength 등의 근감소증 관련 지표들과 양 또는 음의 상관관계에 있는 것이 확인되었다. 따라서, 근육량 및 근기능 측정에 의존했던 종래의 방법 대신, 본 발명의 마커들을 이용한 분자 진단을 통해 근감소증을 진단할 수 있으며, 나아가 상기 마커들과 근 기능의 연관성을 통해 근감소증의 중증도에 대한 판단도 가능하다. 특히, 근감소증 지표들과 일관된 상관관계를 보이는 바이오마커들은 근감소증 치료를 위한 타겟으로도 활용이 가능할 것으로 예상된다. 나아가, 근감소증은 노화와 밀접한 관련이 있는 질환이므로, 본 발명에 따른 바이오마커들은 항노화 치료 표적 확보 및 노화 제어 기술 개발의 기반이 될 것으로 예상된다.

## *도면의 간단한 설명*

[0032] 도 1a 및 1b는 10마리의 난소 절제 모델 마우스와 9마리의 대조군 마우스로부터 각각 확보된 근육조직 시료의 단백질 정량분석 과정을 나타낸 흐름도 (도 1a) 및 정량분석 결과 (도 1b)이다.

도 2a 및 2b는 난소 절제 모델과 대조군의 근육조직 단백체 정보에 대한 PCA 결과 (도 2a) 및 Volcano plot (도 2b)을 나타낸다.

도 3a는 Volcano plot 분석 결과 대조군 대비 난소 절제 모델의 근육조직에서 증가한 14개 단백질을 나타낸 표이다.

도 3b는 Volcano plot 분석 결과 대조군 대비 난소 절제 모델의 근육조직에서 감소한 40개 단백질을 나타낸 표이다.

도 4a 내지 4c는 난소 절제 모델의 근육에서 증가한 단백질의 Gene ontology 분석 결과를 나타낸다. 도 4a는 상기 단백질들이 관여하는 생물학적 과정을, 도 4b는 상기 단백질들의 세포학적 위치를, 도 4c는 상기 단백질들의 분자적 기능을 나타낸다.

도 5는 근육 단백질들의 정량정보와 앞정강근의 근육량 및 기능적인 특성 지수와의 상관관계 분석 결과를 나타

낸다.

도 6은 근육 단백질들의 정량정보와 Grip strength 지수와의 상관관계 분석 결과를 나타낸다.

도 7은 근육 단백질들의 정량정보와 Rotarod test 지표와의 상관관계 분석 결과를 나타낸다.

도 8은 근육 단백질들의 정량정보와 Inverted grip 지속 시간의 상관관계 분석 결과를 나타낸다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0033] 본 발명은 근감소증 진단방법 등에 관한 것으로서, 근감소증 동물모델의 단백체에 대한 정성적, 정량적 분석을 통해 높은 정확도와 민감도로 근감소증을 진단할 수 있는 바이오마커를 발굴하여 완성된 것이다. 구체적으로, 본 발명자들은 정상 그룹 및 근감소증 동물모델의 근육단백질에 대해 고분해능 질량분석기를 통해 정량적, 정성적 분석을 수행하였으며, 이를 통해 그룹 간에 유의한 차이를 보이는 바이오마커들을 선별하였다. 또한, 상기 바이오마커들과 근육량의 상관관계는 물론, Grip test 지수, Rotarod 지수, Inverted grip 지속시간과 같은 근기능 지표들과의 상관관계를 분석하여, 상기 바이오마커들이 근감소증과 관련된 근육량 및 근기능과도 강력한 상관관계에 있음을 확인하였다. 따라서, 본 발명은 종래 근육량 및 근기능 측정에만 의존하던 근감소증 진단법을 대체할 수 있는 분자 진단방법으로서 높은 정확도 및 효율로 근감소증을 진단할 수 있을 것으로 기대된다.

[0034] 따라서, 본 발명의 주요 목적은, Asporin, PADI2 (Protein-arginine deiminase type-2), Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2 (hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 제제를 유효성분으로 포함하는, 근감소증 진단용 조성물을 제공하는 것이다.

[0035] 본 발명에 있어서, “근감소증 (Sarcopenia)”이란 골격근량의 감소로 인해 근력 및 신체 기능이 떨어진 질환을 지칭한다. 근감소증은 미국에서는 2016년에 ICD-10-CM으로 진단코드를 부여 받고, 2021년에 한국에서 KCD-8로 진단코드를 부여 받아 정식으로 인정된 질환이다. 근감소증 환자는 근력이 저하됨에 따라 다양한 신체기능 이상을 보이는데, 예컨대 걸음걸이가 늦어지고 근지구력이 떨어지며, 골다공증, 낙상, 골절 등이 쉽게 발생한다. 또한 근감소증 환자는 근육의 혈액 및 호르몬 완충 작용이 줄어들어, 기초 대사량이 감소하고, 만성 질환 조절이 어렵게 되며, 당뇨병과 심혈관 질환이 쉽게 악화될 수 있다. 골격근은 운동 기관으로서도 중요하지만, 뼈, 혈관, 심장, 신경 등 신체 전반에 영향을 미치므로, 골격근의 감소로 인한 근감소증은 지방간, 심장비대, 췌장기능 저하, 당뇨병, 인지기능 저하와 같은 질환들로 이어질 수 있다.

[0036] 본 발명에 있어서, 근감소증은 노화 또는 폐경 등으로 인한 근감소증은 물론, 기타 질환에 의한 근감소증을 모두 포함한다. 상기 기타 질환으로는 예컨대 비만, 바이러스 또는 세균에 의한 감염증, 당뇨병, 암, 퇴행성 질환, 폐경, 및 퇴행성 질환 (척추 협착증 등) 등이 있으나, 근육량의 감소, 근력 저하, 및/또는 근 기능 감소를 일으킬 수 있는 질환이라면 제한 없이 포함된다.

[0037] 또한, 상기 근감소증은 근위축증, 무용성 근위축, 척수성 근위축, 근이영양증, 근경직증, 근긴장저하, 근력약화, 근육퇴행위축, 근위축성 축삭 경화증, 척수구근 근위축, 및 중증근무력증을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0038] 본 발명에 있어서, "진단"은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미하며, 근감소증의 존재 여부, 근감소증의 발병 여부, 근감소증의 발병 가능성 여부 (발병 위험도), 근감소증의 예후 등을 확인하는 것을 포함하는 의미일 수 있다.

[0039] 보다 구체적으로, 본 발명서에서 사용된 용어, "진단"은 특정 질병 또는 질환에 대한 한 객체의 감수성 (susceptibility)을 판정하는 것, 한 객체가 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 한 객체의 예후 (prognosis) (예컨대, 종양 상태의 동정, 종양의 단계 결정 또는 치료에 대한 암의 반응성 결정)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therametrics) (예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 객체의 상태를 모니터링 하는 것)를 포함한다.

[0040] 본 발명에 있어서, “Asporin”은 *Aspn* 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 지칭한다. Asporin은 Leucine-rich proteoglycan family의 구성원인 연골 세포외 단백질 (cartilage extracellular protein)이다. Asporin은 연골에서 TGF-β1에 의한 유전자 발현을 억제하여 연골 형성을 조절하며, 콜라겐 및 칼슘에 결합하여 콜라겐의 광물화를 유도할 수 있다. *ASPN* 유전자의 다형성은 골관절염 및 추간판 질환 (intervertebral disc disease)과 관련이 있는데, 근감소증과의 연관성에 대해서는 알려진 바가 없다. 본 발명자들은 근감소증 동물모델의 근육조직

단백체 분석을 통해 정상 대비 근감소증 개체에서 Asporin의 수준이 유의하게 증가되어 있으며, 특히 근육량 및 Grip strength와 양의 상관관계에 있음을 확인하였다.

[0041] 본 발명에 있어서, "PADI2 (Protein-arginine deiminase type-2)"는 아르기닌 잔기를 시트룰린으로 전환시켜 단백질의 번역 후 탈이민화 (deimination)를 유도하는 단백질로, *PADI2* 유전자에 의해 코딩된다. PADI2의 이상은 알츠하이머, 다발성 경화증, 녹내장 등과 관련이 있는 것으로 알려져 있으나, 근감소증과의 연관성은 알려진 바가 없다. 본 발명자들은 근감소증 동물모델의 근육조직 단백체 분석을 통해 정상 대비 근감소증 개체에서 PADI2의 수준이 유의하게 증가되어 있으며, 특히 Inverted grip 및 Grip strength와 같은 근 기능과 양의 상관관계에 있음을 확인하였다.

[0042] 본 발명에 있어서, "Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 (약칭 HINT2)"는 adenosine 5'-monophosphoramidase 활성을 가진 단백질로, *Hint2* 유전자에 의해 코딩된다. 상기 단백질은 purine nucleotide phosphoramidates를 가수분해하여 AMP 및 NH2를 생성한다. HINT2는 스테로이드 생합성이나 세포자멸사 (apoptosis)와 관련이 있다고 알려져 있다. 본 발명자들은 근감소증 동물모델의 근육조직 단백체 분석을 통해 정상 대비 근감소증 개체에서 HINT2의 수준이 유의하게 감소되어 있으며, 근육량 및 Grip strength와 음의 상관관계에 있음을 확인하였다.

[0043] 본 발명에 있어서, "HSDL2 (Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)"는 산화환원효소 (oxidoreductase) 활성을 갖는 단백질로, *Hsdl2* 유전자에 의해 코딩된다. 상기 단백질은 간, 신장, 전립선, 고환, 및 난소 등에서 특히 높은 수준으로 발현되며, 지방대사의 주요 조절 인자로도 알려져 있는데, HSDL2의 기능 이상은 신경아교종이나 난소암 등과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 본 발명자들은 근감소증 동물모델의 근육조직 단백체 분석을 통해 정상 대비 근감소증 개체에서 HSDL2의 수준이 유의하게 감소되어 있으며, 근육량 및 Grip strength와 음의 상관관계에 있음을 확인하였다.

[0044] Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2는 4가지의 대표적인 근감소증 진단 기준 (근육량, Grip test 지수, Rotarod 지수, 및 Inverted grip 지수) 중 2가지 이상에서 동일한 양상의 상관관계 (양 또는 음의 상관관계)에 있음이 확인된 단백질들이다. 특히, 상기 단백질들은 모두 Grip test 및 근육량과 강력한 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. 따라서, Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2 중 하나 이상의 수준을 측정함으로써 근감소증을 정확히 진단할 수 있을 뿐만 아니라, 근육량 및 근 기능과의 연관성을 기초로 근감소증의 중증도에 대한 판단도 가능하다. 예컨대, 근감소증 환자에서 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준이 높을수록 근육량 및 근 기능은 더욱 낮은 것으로 판단되어 근감소증 중증도가 높은 것으로 진단될 수 있다. 혹은, 근감소증 환자에서 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2의 단백질 또는 mRNA 수준이 낮을수록 근육량 및 근 기능은 더욱 낮은 것으로 판단되어 근감소증 중증도가 높은 것으로 진단될 수 있다.

[0045] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 조성물은 Aldehyde dehydrogenase 1A1, Synaptogyrin-2, Troponin T, Pyruvate carboxylase, mitochondrial, Annexin A3, Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2, Ribosome-binding protein 1, Ig gamma-3 chain C region, Ornithine aminotransferase (mitochondrial), Four and a half LIM domains protein 3, Threonine--tRNA ligase 1 (cytoplasmic), Striatin-3, Protein unc-45 homolog B, Heat shock 70 kDa protein 4, Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase (mitochondrial), Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D, Actin-binding LIM protein 1, AMP deaminase 3, Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase (mitochondrial), ATP-binding cassette sub-family C member 9, Sorting nexin-3, Serine/threonine-protein phosphatase PGAM5 (mitochondrial), Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A, Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 3, Long-chain fatty acid transport protein 1, Valacyclovir hydrolase, Myozenin-3, [Pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring)] inase isozyme 4 (mitochondrial), 및 NADPH-cytochrome P450 reductase로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA의 수준을 측정하는 제제를 더 포함할 수 있다. 상기 단백질 (유전자)들은 정상 개체 대비 근감소증 동물모델에서 통계적으로 유의하게 증가 또는 감소하고, 근육량 및 근 기능 판단 요소 (근육량, Grip test 지수, Rotarod 지수, 및 Inverted grip 지수)와 양 또는 음의 상관관계에 있음이 확인된 마커들이다.

[0046] 본 발명에 있어서, Asporin, PADI2, Aldehyde dehydrogenase 1A1, Synaptogyrin-2, Troponin T, Pyruvate carboxylase, mitochondrial, Annexin A3, Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2, Ribosome-binding protein 1, Ig gamma-3 chain C region, Ornithine aminotransferase (mitochondrial), Four and a

half LIM domains protein 3, Threonine--tRNA ligase 1 (cytoplasmic), Striatin-3, Protein unc-45 homolog B, Heat shock 70 kDa protein 4, Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase (mitochondrial), 및 Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D는 정상 대조군 대비 근감소증 환자에서 증가되어 있는 것을 특징으로 한다. 특히, 상기 단백질들은 근육량이 적거나 근 기능이 낮은 환자에서 더욱 증가되어 있을 수 있다.

[0047] 본 발명에 있어서, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, HSDL2, Actin-binding LIM protein 1, AMP deaminase 3, Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase (mitochondrial), ATP-binding cassette sub-family C member 9, Sorting nexin-3, Serine/threonine-protein phosphatase PGAM5 (mitochondrial), Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A, Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 3, Long-chain fatty acid transport protein 1, Valacyclovir hydrolase, Myozenin-3, [Pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring)] inase isozyme 4 (mitochondrial), 및 NADPH-cytochrome P450 reductase는 정상 대조군 대비 근감소증 환자에서 감소되어 있는 것을 특징으로 한다. 특히, 상기 단백질들은 근육량이 적거나 근 기능이 낮은 환자에서 더욱 감소되어 있을 수 있다.

[0048] 본 명세서에 있어서, "수준이 증가되어 있다"는 것은, 검출되지 않던 것이 검출된 것, 또는 정상적인 수준보다 상대적으로 검출량이 많아지는 것을 의미한다. 예를 들어, 수준이 "증가"되어 있다는 것은, 실험군의 수준이 대조군의 그것에 비교하여 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10% 또는 그 이상, 예를 들어, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 또는 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상 높은, 및/또는 0.5배, 1.1배, 1.2배, 1.4배, 1.6배, 1.8배 또는 그 이상 높은 것을 의미한다. 구체적으로는, 대조군의 그것에 비해 1 내지 1.5배, 1.5 내지 2배, 2 내지 2.5배, 2.5 내지 3배, 3 내지 3.5배, 3.5 내지 4배, 4 내지 4.5배, 4.5 내지 5배, 5 내지 5.5배, 5.5 내지 6배, 6 내지 6.5배, 6.5 내지 7배, 7 내지 7.5배, 7.5 내지 8배, 8 내지 8.5배, 8.5 내지 9배, 9 내지 9.5배, 9.5 내지 10배, 또는 10배 이상 증가한 것을 의미할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 이의 반대적 용어의 의미는 당업자라면 상기 정의에 준하여, 반대 의미를 가지는 것으로 이해 가능하다.

[0049] 본 명세서에서 사용된 용어, "측정"은 목적하는 물질 (본 발명의 경우 근감소증 바이오마커 유전자의 mRNA 또는 단백질)의 존재 (발현) 여부를 측정 및 확인하는 것, 또는 목적하는 물질의 존재 수준 (발현 수준)의 변화를 측정 및 확인하는 것을 모두 포함하는 의미이다. 즉, 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 것은 발현 여부를 측정하는 것 (즉, 발현 유무를 측정하는 것), 또는 상기 단백질의 질적, 양적 변화 수준을 측정하는 것을 의미한다. 상기 측정은 정성적인 방법 (분석)과 정량적인 방법을 모두 포함하여 제한 없이 수행될 수 있다. 단백질 수준의 측정에 있어서 정성적 방법과 정량적 방법의 종류는 당업계에 잘 알려져 있으며, 본 명세서에서 기술한 실험법들이 이에 포함된다. 각 방법 별로 구체적 단백질 수준 비교 방식은 당업계에 잘 알려져 있다. 따라서 상기 목적 단백질 검출은 바이오마커 단백질의 존재 여부의 검출, 또는 상기 단백질 수준의 증가(상향 조절) 또는 감소(하향 조절)를 확인하는 것을 포함하는 의미이다.

[0050] 본 명세서에서 사용된 용어, "분석"은 바람직하게는 "측정"을 의미하는 것일 수 있고, 상기 정성분석은 목적하는 물질의 존재 여부를 측정 및 확인하는 것을 의미하는 것일 수 있으며, 상기 정량분석은 목적하는 물질의 존재 수준(발현 수준) 또는 양의 변화를 측정 및 확인하는 것을 의미하는 것일 수 있다. 본 발명에서 분석 또는 측정은 정성적인 방법과 정량적인 방법을 모두 포함하여 제한 없이 수행될 수 있으며, 바람직하게는 정량적인 측정이 수행되는 것일 수 있다.

[0051] 상기 조성물이 mRNA의 수준을 측정하기 위한 것인 경우, 상기 mRNA의 수준을 측정하는 제제는 mRNA에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트 또는 프로브일 수 있다. 본 발명에 따른 바이오마커 유전자들의 mRNA에 특이적인 프라이머 세트 또는 프로브를 포함하는 본 발명의 조성물은 공지된 RNA를 감지하는 방법에 필요한 제제를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물을 이용하여 공지된 RNA를 감지하는 방법을 제한없이 사용함으로써 피검체에서 상기 바이오마커들의 mRNA의 수준을 측정할 수 있다.

[0052] 본 발명에서 상기 "프라이머"는 표적 유전자 서열을 인지하는 단편으로서, 정방향 및 역방향의 프라이머 쌍을 포함하나, 바람직하게는, 특이성 및 민감성을 가지는 분석 결과를 제공하는 프라이머 쌍이다. 프라이머의 핵산 서열이 시료 내 존재하는 비-표적 서열과 불일치하는 서열이어서, 상보적인 프라이머 결합 부위를 함유하는 표적 유전자 서열만 증폭하고 비특이적 증폭을 유발하지 않는 프라이머일 때, 높은 특이성이 부여될 수 있다.

[0053] 본 발명에서 상기 "프로브"란 시료 내의 검출하고자 하는 표적 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질을 의미하며, 상기 결합을 통하여 특이적으로 시료 내의 표적 물질의 존재를 확인할 수 있는 물질을 의미한다. 프로브의 종류는 당 업계에서 통상적으로 사용되는 물질로서 제한은 없으나, 바람직하게는 PNA (peptide nucleic acid), LNA (locked nucleic acid), 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, RNA 또는 DNA일 수 있으며, 가장 바람직

하게는 PNA이다. 보다 구체적으로, 상기 프로브는 바이오 물질로서 생물에서 유래되거나 이와 유사한 것 또는 생체 외에서 제조된 것을 포함하는 것으로, 예를 들어, 효소, 단백질, 항체, 미생물, 동식물 세포 및 기관, 신경세포, DNA, 및 RNA일 수 있으며, DNA는 cDNA, 게놈 DNA, 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, RNA는 게놈 RNA, mRNA, 올리고뉴클레오타이드를 포함하며, 단백질의 예로는 항체, 항원, 효소, 펩타이드 등을 포함할 수 있다.

[0054] 본 발명에 따른 바이오마커 (단백질 또는 유전자)의 정보 (아미노산 서열, 핵산 서열 등)는 공지되어 있으므로, 당업자라면 이를 바탕으로 상기 단백질을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브, 또는 안티센스 뉴클레오티드를 용이하게 디자인할 수 있을 것이다. 프라이머 또는 프로브는 포스포아미다이트(phosphoramidite) 고체지지체 합성법이나 기타 널리 공지된 방법을 이용하여 화학적으로 합성할 수 있으며, 모든 기능적 등가물을 포함한다. 또한 프라이머 또는 프로브는 mRNA와의 혼성화를 방해하지 않는 범위에서 당해 기술 분야에 공지된 방법에 따라 다양하게 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 예로는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오티드 하나 이상의 동족체로의 치환 및 뉴클레오티드 간의 변형, 예를 들면 하전되지 않은 연결체 (예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체 (예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등), 그리고 형광 또는 효소를 이용한 표지물질(labeling material)의 결합 등이 있다.

[0055] 본 발명의 조성물이 단백질의 수준을 측정하기 위한 것인 경우에 단백질의 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적인 항체 또는 앱타머일 수 있다.

[0056] 본 명세서에서 사용된 용어, "항체"는 항원성 부위에 대해서 지시되는 특이적인 단백질 분자를 의미한다. 본 발명의 목적상, 항체는 마커 단백질에 대해 특이적으로 결합하는 항체를 의미하며, 다클론 항체, 단클론 항체 및 재조합 항체를 모두 포함한다. 또한 항원-항체 결합성을 갖는 것이면 전체 항체의 일부도 본 발명의 항체에 포함되며, 본 발명 단백질에 특이적으로 결합하는 모든 종류의 면역글로불린 항체가 포함된다. 예를 들어 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 갖는 완전한 형태의 항체뿐 아니라 항체 분자의 기능적인 단편, 즉 항원 결합 기능을 갖는 Fab, F(ab'), F(ab')2 및 Fv 등을 포함한다. 나아가 본 발명의 항체에는 본 발명 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 것이라면 인간화 항체, 키메릭 항체 등의 특수 항체와 재조합 항체도 포함된다.

[0057] 본 명세서에서 사용된 용어, "앱타머 (aptamer)"는 시료 내의 검출하고자 하는 분석물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질로 그 자체로 안정된 삼차 구조를 가지는 단일 가닥 핵산(DNA, RNA, 또는 변형 핵산)을 의미하는 것으로, 특이적으로 시료 내의 표적 단백질의 존재를 확인할 수 있다. 앱타머의 제조는 일반적인 앱타머의 제조 방법에 따라, 확인하고자 하는 표적 단백질에 대해 선택적이고 높은 결합력을 가지는 올리고뉴클레오티드의 서열을 결정하여 합성한 후, 올리고뉴클레오티드의 5' 말단이나 3' 말단을 앱타머 칩의 관능기에 결합할 수 있도록, -SH, -COOH, -OH 또는 $NH_2$로 변형을 시킴으로써 이루어질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0058] 본 발명의 조성물은 상기 바이오마커 단백질을 감지하는 방법에 필요한 제제를 추가적으로 포함할 수 있으며, 본 조성물을 이용하여 공지된 단백질을 감지하는 방법을 제한없이 사용하여 피검체 (또는 피검체로부터 수득한 생물학적 시료)에서 단백질의 발현 수준을 측정할 수 있다.

[0059] 본 발명에 따른 조성물은 진단을 필요로 하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료의 분석을 위해 사용될 수 있다. 본 발명에 있어서 "생물학적 시료"란 근감소증을 진단하거나 이의 발병 위험도 등을 예측하고자 하는 피검체로부터 채취된 것이라면 제한 없이 포함될 수 있다. 예를 들어, 상기 생물학적 시료는 혈액, 전혈, 혈장, 소변, 타액, 조직, 근육조직, 세포, 기관, 골수, 미세침흡인 검체, 중심부바늘생검(core needle biopsy) 검체, 및 진공흡입생검 검체 등으로부터 선택될 수 있다. 더 구체적으로, 상기 생물학적 시료는 전혈 (whole blood), 백혈구 (leukocytes), 말초혈액 단핵 세포 (peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층 (buffy coat), 혈장 (plasma), 혈청 (serum), 객담 (sputum), 눈물 (tears), 점액 (mucus), 세비액 (nasal washes), 비강 흡인물 (nasal aspirate), 호흡 (breath), 소변 (urine), 정액 (semen), 침 (saliva), 복강 세척액 (peritoneal washings), 복수 (ascites), 낭종액 (cystic fluid), 뇌척수막 액 (meningeal fluid), 양수 (amniotic fluid), 선액 (glandular fluid), 췌장액 (pancreatic fluid), 림프액 (lymph fluid), 흉수 (pleural fluid), 유두 흡인물 (nipple aspirate), 기관지 흡인물 (bronchial aspirate), 활액 (synovial fluid), 관절 흡인물 (joint aspirate), 기관 분비물 (organ secretions), 세포 (cell), 세포 추출물 (cell extract) 및 뇌척수액 (cerebrospinal fluid) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상일 수 있으나, 바람직하게는, 본 발명에 따른 조성물은 비침습적 진단 (예컨대, 액체 생검)을 위한 것으로서, 혈액, 전혈, 혈장, 혈청, 및 림프액으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다. 또는, 상기 생물학적 시료는 근육조직일 수 있으며, 바람직하게는 앞정

강근 (tibialis anterior), 장지신근 (extensor digitorum longus), 및 장딴지근 (gastrocnemius) 조직일 수 있다.

[0060] 상기 생물학적 시료는 검출 또는 진단에 사용하기 전에 전처리할 수 있다. 예를 들어, 균질화 (homogenization), 여과, 증류, 추출, 농축, 방해 성분의 불활성화, 시약의 첨가 등을 포함할 수 있다. 상기 시료는 단백질 마커의 탐지 감도를 증가시키도록 준비될 수 있는데, 예를 들어 피험체로부터 수득한 시료는 음이온 교환 크로마토그래피, 친화도 크로마토그래피, 크기별 배제 크로마토그래피 (size exclusion chromatography), 액체 크로마토그래피, 연속추출 (sequential extraction) 또는 젤 전기영동 등의 방법을 이용하여 전처리될 수 있다.

[0061] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 조성물을 포함하는, 근감소증 진단용 키트를 제공할 수 있다.

[0062] 본 발명에 있어서, "키트 (kit)"란 특히 시료 내에 포함되어 있는, 본 발명에 따른 바이오마커들의 mRNA 또는 단백질의 양을 측정하여 근감소증을 진단할 수 있는 검진용 기기 또는 세트 등을 의미하며, 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 상기 유전자들의 발현량을 측정할 수 있는 형태라면 제한이 없다. 예컨대, 상기 키트는 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트, ELISA 키트, 단백질 칩 키트, 래피드 (Rapid) 키트, 질량분석 키트, 또는 MRM (Multiple reaction monitoring) 키트 등 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 따라서, 본 발명의 키트에는 표적 단백질을 마커로 인식하는 항체 또는 mRNA를 마커로 인식하는 프라이머 세트, 프로브뿐만 아니라 분석 방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치가 포함될 수 있다. 이때, 상기 유전자, mRNA, 또는 단백질의 발현 수준을 검출하는 물질은 1회 이상 횟수에 제한 없이 작용시킬 수 있으며, 각 물질을 적용하는 선후에는 제한이 없고, 각 물질의 적용은 동시에 진행될 수도 있고 미시에 진행될 수도 있다.

[0063] 또한, 본 발명에 따른 키트는, 본 발명에 따른 진단방법 등이 기재된 설명서를 더 포함할 수 있다.

[0064] 본 발명의 또 다른 목적은, 하기 단계를 포함하는, 근감소증의 진단방법 또는 근감소증의 진단을 위한 정보제공 방법을 제공하는 것이다:

[0065] (S1) 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 단계; 및

[0066] (S2) 상기 단계 (S1)에서 측정된 피검체의 단백질 또는 mRNA 수준을 대조군과 비교하는 단계.

[0067] 또한, 본 발명은, (a) 근감소증으로 의심되는 피검체 및 대조군에서 분리된 생물학적 시료에서 Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA의 수준을 측정하는 단계; 및

[0068] (b) 피검체의 Asporin 및/또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA의 수준이 대조군의 Asporin 및/또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA의 수준에 비해 증가하고/증가하거나 (예컨대, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 또는 그 이상); 피검체의 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 및/또는 HSDL2의 단백질 또는 mRNA의 수준이 대조군의 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 및/또는 HSDL2의 단백질 또는 mRNA의 수준에 비해 감소한 경우 (예컨대, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 또는 그 이상), 상기 결과를 상기 피검체를 근감소증 발병 위험이 높은 피검체임을 나타내는 (반영하는; indicating) 결과로 판단하는 단계를 포함하는, 근감소증의 발병에 대한 감수성이 높은 피검체인지 결정 (혹은 분석)하기 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0069] 본 발명에 있어서, 상기 “피검체”는 근감소증의 진단, 근감소증의 발병 가능성, 근육량, 및/또는 근 기능에 대한 진단을 필요로 하는 개체로서, 본 발명에서 상기 "목적하는 개체"란 인간을 포함하는 포유 동물로, 예를 들면, 인간, 래트, 마우스, 모르모트, 햄스터, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 소, 말, 돼지, 양 및 염소로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 바람직하게는 인간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 피검체는 근감소증이 발생하였거나 그 발생이 의심되는 자로, 근감소증의 적절한 치료가 필요하거나 예상되는 환자를 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0070] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 방법은 상기 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 Aldehyde dehydrogenase 1A1, Synaptogyrin-2, Troponin T, Pyruvate carboxylase, mitochondrial, Annexin A3, Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2, Ribosome-binding protein 1, Ig gamma-3 chain C region, Ornithine aminotransferase (mitochondrial), Four and a half LIM domains protein 3, Threonine--tRNA ligase 1 (cytoplasmic), Striatin-3, Protein unc-45 homolog B, Heat shock 70 kDa protein 4, Long-chain specific

acyl-CoA dehydrogenase (mitochondrial), Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D, Actin-binding LIM protein 1, AMP deaminase 3, Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase (mitochondrial), ATP-binding cassette sub-family C member 9, Sorting nexin-3, Serine/threonine-protein phosphatase PGAM5 (mitochondrial), Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A, Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 3, Long-chain fatty acid transport protein 1, Valacyclovir hydrolase, Myozenin-3, [Pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring)] inase isozyme 4 (mitochondrial), 및 NADPH-cytochrome P450 reductase로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA의 수준을 측정하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0071] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 방법은 상기 단계 (S1)에서 측정된 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 높은 경우, 근감소증으로 진단하거나; 근감소증이 발병할 위험이 있는 것 (근감소증이 발병할 가능성이 높은 것)으로 판단하거나; 근육량이 정상인에 비해 적은 것으로 판단하거나; 및/또는 근 기능이 정상인에 비해 낮은 것으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0072] 본 발명의 다른 구현예에서, 상기 방법은 상기 방법은 상기 단계 (S1)에서 측정된 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2 (hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 낮은 경우, 근감소증으로 진단하거나; 근감소증이 발병할 위험이 있는 것 (근감소증이 발병할 가능성이 높은 것)으로 판단하거나; 근육량이 정상인에 비해 적은 것으로 판단하거나; 및/또는 근 기능이 정상인에 비해 낮은 것으로 판단하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0073] 본 발명에 따른 진단방법은 Receiver operating characteristics 분석시 Area under curve가 0.7 이상, 0.75 이상, 0.8 이상, 0.85 이상, 0.9 이상, 0.93 이상, 0.95 이상, 0.96 이상, 0.97 이상, 0.98 이상, 또는 0.99 이상일 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 진단방법은 특이도 및/또는 민감도가 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 93% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상일 수 있다.

[0074] 본 발명에 따른 바이오마커, 생물학적 시료 등과 관련된 구체적인 설명은 전술하였으므로 생략한다.

[0075] 본 발명에서 사용된 용어, "정보제공방법(method for providing information)"이란, 질환의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법으로서, 개체의 생물학적 시료를 분석하거나, 본 발명에 따른 바이오마커들의 수준의 증감을 확인하여 질환의 발병이나 발병 가능성(위험성)에 대한 정보를 획득하는 방법을 의미한다. 예컨대, 본 발명에 따른 바이오마커의 수준을 측정하고 대조군과 비교하여 개체에서 근감소증이 발병할 가능성이 있는지, 또는 근감소증이 발병할 가능성이 상대적으로 높은지, 또는 근감소증이 이미 발병하였는지에 대한 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 방법을 통하여 근감소증 발병 위험성, 즉, 고위험군에 대해서도 예측할 수 있으며, 이를 근감소증의 예방 및 치료에 관한 정보를 제공하는 방법으로서도 사용할 수도 있다.

[0076] 본 발명에 있어서, "대조군 (control)"은 정상 개체 또는 근감소증을 앓는 개체로부터 분리된 생물학적 시료일 수 있다.

[0077] 본 발명에 있어서, 단백질 수준을 측정하는 방법은 당업계에 공지된 단백질 측정 방법에 의한 것이라면 특별한 제한은 없으나, 단백질 칩 분석, 면역 측정법, 리간드 바인딩 어세이, MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, SELDI-TOF (Sulface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 분석, 방사선 면역 분석, 방사 면역 확산법, 오우크테로니 면역 확산법, 로케트 면역전기영동, 조직면역 염색, 보체 고정 분석법, 2차원 전기영동 분석, 액상 크로마토그래피-질량분석 (liquid chromatography-Mass Spectrometry; LC-MS), LC-MS/MS (liquid chromatography-Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry), 웨스턴 블랏팅, ELISA (enzyme linked immunosorbentassay), 및 FACS 등의 방법에 의해 측정할 수 있다.

[0078] 본 발명에 있어서, mRNA 수준을 측정하는 방법은 당업계에 공지된 mRNA 측정 방법에 의한 것이라면 특별한 제한은 없으나, PCR, RNase 보호 분석법, 노던 블랏팅(northern blotting), 서던 블랏팅(southern blotting), In situ 교잡법, DNA 칩, 및/또는 RNA 칩 등의 방법에 의해 측정할 수 있다.

[0079] 또한, 본 발명은 근감소증 진단용 진단기기를 제공할 수 있다.

[0080] 본 발명의 상기 진단기기의 측정부는 목적하는 개체로부터 얻어진 생물학적 시료에 대하여 본 발명에 따른 바이오마커, 예컨대, Asporin, PADI2 (Protein-arginine deiminase type-2), Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2 (Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 이용하여 단백질 또는 유전자의 발현 수준을

측정할 수 있다. 상기 측정부에서 상기 제제를 이용하여 상기 단백질 또는 유전자의 발현 정도를 확인함으로써 근감소증을 진단하거나, 근감소증의 발병 위험이 높은 것으로 진단할 수 있다.

[0081] 본 발명의 상기 진단기기는, 상기 측정부에서 얻어진 상기 단백질 또는 유전자의 발현 정도로부터 개체의 근감소증의 유무, 중증도, 또는 유형 등을 예측하여 출력하는 검출부를 추가로 더 포함할 수 있다.

[0082] 본 발명에서 상기 검출부는, 상기 측정부에서 얻어진 상기 단백질 또는 유전자의 발현 정도의 범주에 따라 근감소증에 관한 정보를 생성하여 분류함으로써 근감소증을 진단할 수 있다.

[0083] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 근감소증의 치료방법을 제공한다:

[0084] (S1) 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 수준을 측정하는 단계;

[0085] (S2) 상기 단계 (S1)에서 측정된 피검체의 단백질 또는 mRNA 수준을 대조군과 비교하여, 피검체의 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 증가하거나; 피검체의 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2 (hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 감소한 경우, 상기 피검체를 근감소증으로 진단하는 단계; 및

[0086] (S3) 상기 단계 (S2)에서 근감소증으로 진단된 피검체에서 근감소증을 치료하는 단계.

[0087] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 단계 (S1)에서 측정된 피검체의 단백질 또는 mRNA 수준을 대조군과 비교하여, 피검체의 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 증가하거나; 피검체의 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2 (hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 감소한 경우, 상기 피검체는 근감소증으로 진단될 수 있으며, 또한 당업계에서 통용되는 근감소증의 치료법 적용시 근육량이 증가하거나, 근 기능이 개선될 것으로 예상될 수 있다.

[0088] 또한, 본 발명은 근감소증의 치료제에 대한 반응자 특성화 방법 (즉, 동반진단 방법)으로서, 상기 방법은 하기 단계를 포함하고:

[0089] (a) 피검체로부터 분리된 생물학적 시료에서 Asporin, PADI2, Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2, 및 HSDL2로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 단백질 또는 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계; 및

[0090] (b) 상기 단계 (a)에서 측정된 피검체의 단백질 또는 mRNA 수준을 대조군과 비교하여, 피검체의 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 증가하거나; 피검체의 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2 (hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 감소한 경우, 상기 피검체를 근감소증 치료제에 대한 반응자로 판정하는 단계,

[0091] 상기 근감소증 치료제는 Bimagrumab, Trevogrumab, Sarconeos, ARM-210, NA (cell therapy), NT-1654, AVGN7 (gene therapy), ATA 842, VB-102 (protein), Peptide of follistatin, AAV gene therapy, TEI-SARM2, Metformin 및 비타민 D 보충제 중 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 근감소증 치료제에 대한 반응자 특성화 방법을 제공한다.

[0092] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 반응자 특성화 방법은 상기 단계 (a)에서 측정된 피검체의 단백질 또는 mRNA 수준을 대조군과 비교하여, 피검체의 Asporin 또는 PADI2의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 증가하거나; 피검체의 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 또는 HSDL2 (hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2)의 단백질 또는 mRNA 수준이 대조군에 비해 감소한 경우, 상기 피검체를 당업계에서 통용되는 근감소증의 치료법과 함께 상기 근감소증 치료제를 처방하였을 때 더 우수한 치료 효과가 나타날 것으로 예측할 수 있다.

[0093] 상기 우수한 치료 효과란, 기타 근감소증 환자에 비해 근육량 증가 및/또는 근 기능 개선 효과가 더 높게 또는 더 신속하게 나타나는 것 등을 포함한다. 또한, 상기 근감소증의 치료법으로는 식이조절, 단백질 보충, 재활치료, 운동 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0094] 즉, 본 발명은 본 발명은 근감소증 환자의 치료를 위한 동반진단 방법을 제공한다. 본 발명에서 사용된 용어, “동반진단 (companion diagnostics)”은 특정 약물 처방이나 치료법에 대한 환자의 반응 (예상 회복 정도 등)을 측정하는데 사용되는 생물학적 진단 방법으로, 동반진단을 이용한 맞춤 의료를 통해 치료법의 부작용에 따르는 위험을 감소시키는 보다 안전한 처방이 가능하다.

[0095] 본 발명에 있어서, 상기 “치료”는 목적하는 질병과 그에 따른 대사 이상 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는

모든 행위를 의미하며, 화학 요법, 방사선 요법, 외과적 수술, 생물학적 요법, 또는 항생제 투여 등의 방법을 사용할 수 있다. 예컨대, 상기 치료는 수액처치, 약물, 혈장수혈, 식이조절, 운동, 재활치료 등을 통해 이루어질 수 있다.

[0096] 본 발명에 있어서, 상기 화학 요법(Chemotherapy)은 특정 질병의 치료를 위해 화학물질을 사용하는 행위와 그때 사용되는 약물 전체를 의미한다. 상기 약물의 예로는 Bimagrumab, Trevogrumab, Sarconeos, ARM-210, NA (cell therapy), NT-1654, AVGN7 (gene therapy), ATA 842, VB-102 (protein), Peptide of follistatin, AAV gene therapy, TEI-SARM2, Metformin 및 비타민 D 보충제 등이 있다.

[0097] 본 발명에 있어서, 상기 외과적 수술은 치유, 치료 또는 진단 효과를 얻기 위해 개체의 신체에 대하여 손(hand) 혹은 기기와 함께 손의 방법적 작용을 포함하는 어떠한 치료상 또는 진단 처치를 모두 포함한다.

[0098] 본 발명에 있어서, 상기 생물학적 요법은 생물체에서 유래된 물질이나 생물체를 이용하여 생성시킨 물질을 함유한 생물학적 제제를 이용하여 직, 간접적으로 인체의 면역체계를 이용하는 치료법을 의미하며, 상기 생물학적 제제는 물리적, 화학적 시험만으로는 그 역가와 안정성을 평가할 수 없는 백신, 알레르겐, 항원, 호르몬, 사이토카인, 효소, 혈액 및 혈장, 면역 혈청, 단클론 항체, 발효 제품, 항독소, 및 실험실 진단제 등을 포함한다.

[0099] 특히, 본 발명에 따른 바이오마커들은 근감소증과 강력한 상관관계에 있는 단백질들로서, 치료 타겟으로서의 가능성을 가지고 있다. 따라서, 근감소증의 치료를 위해, Asporin 및/또는 PADI2의 발현 억제제 또는 활성 억제제를 사용할 수 있으며, 혹은 Adenosin 5'-monophosphoramidase HINT2 및/또는 HSDL2의 발현 증진제 또는 활성화제를 사용할 수 있다.

[0101] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0103] **[실시예]**

[0104] **실시예 1. 난소절제술을 이용한 근감소증 동물모델의 제작**

[0105] 본 연구에서는 난소 절제 (Ovary-sectomization)을 통해 마우스에 근감소증을 유발하여 근감소증 동물모델을 제작했다. 구체적으로, 7주령의 C57BL/6 암컷 마우스를 구입하여 2주간 specific pathogen-free 조건에서 안정화하고 9주령에 양측 난소 제거술(ovariectomy) 또는 가짜 수술(sham surgery)을 시행하였다. 수술 후 2개월이 경과하였을 때 마우스를 희생하고, 혈액, tibialis anterior, extensor digitorum longus, 및 gastrocnemius 근육을 채취하였으며 이 중 tibialis anterior 조직에 대해 정량적 단백질체 분석을 수행하였다. 단백질체 연구를 위한 수술 후 2개월 뒤 마우스의 특징은 아래 표 1과 같다.

*표 1*

[0106]

| | 2 months after surgery | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Sham (n = 9) | OVX (n = 10) | Δ change | P |
| Body weight (g) | 23.0 ± 1.2 | 30.1 ± 2.5 | 30.9% | <0.001 |
| BMD (g/cm3) | 0.074 ± 0.003 | 0.068 ± 0.003 | -9.5% | <0.001 |
| Fat mass (g) | 1.08 ± 0.45 | 4.75 ± 1.12 | 339.8% | <0.001 |
| Lean mass (g) | 18.8 ± 1.0 | 23.3 ± 1.6 | 23.9% | <0.001 |
| Sarcopenic index (%) | | | | |
| Soleus | 0.037 ± 0.004 | 0.030 ± 0.007 | -18.9% | 0.027 |
| Tibialis anterior | 0.173 ± 0.029 | 0.129 ± 0.013 | -25.4% | <0.001 |
| Extensor digitorum longus | 0.041 ± 0.007 | 0.026 ± 0.012 | -36.6% | 0.005 |
| Gastrocnemius | 0.532 ± 0.035 | 0.400 ± 0.020 | -24.8% | <0.001 |
| Grip strength (g/g body weight) | 6.91 ± 0.54 | 5.28 ± 0.46 | -23.6% | <0.001 |
| Latency time to fall (s) | 85.3 ± 24.5 | 54.9 ± 8.7 | -35.6% | 0.006 |
| Grid hanging time (s) | 66.8 ± 63.1 | 8.6 ± 3.3 | -87.1% | 0.024 |

[0108] **실시예 2. 프로테오믹 분석을 위한 샘플 준비**

[0109] Tibialis anterior 근육 조직은 5% 소듐 도데실 설페이트 (sodium dodecyl sulfate) 및 50 mM 트리에틸암모늄 중탄산염 (triethylammonium bicarbonate; pH 7.55, Thermo Fisher Scientific)을 혼합하여 100 μL 용해 완충하였다. 그리고 Adaptive focused acoustics 기법을 이용하여 lysis를 수행하였으며 trypsin/LysC mixture (Promega, Madison, WI, USA)을 제외하고는 제조사에 기재된 방법에 따라 샘플을 S trap-기반 트립신 분해로 처리하였다. 건조된 펩타이드는 0.1% 포름산으로 재구성하였고, 펩타이드 농도를 측정하기 위하여 NanoDrop One 분광 광도계(ThermoFisher Scientific)에서 205 nm 파장에서의 흡광도를 측정하였다. 각 샘플의 4 ㎍ 펩타이드를 개별 분석에 할당하고 건조하였다. 모든 남아있는 펩타이드는 분광 라이브러리 생성을 위해 조합하였다.

[0111] **실시예 3. 정량적 프로테오믹스를 위한 질량 분석법 분석**

[0112] 개별 근육 peptide 시료는 다음과 같은 LC-MS/MS 설정으로 SCIEX TripleTOF 5600+ 시스템 질량 분석기를 사용하여 분석하였다: LC 분리를 위해, 트랩 칼럼으로 Eksigent 마이크로 트랩 카트리지 (ChromXP C18CL, 5 μm, 120 Å)를, 분석 칼럼으로 Eksigent 컬럼 (C18-CL, 0.3 x 150 mm, 입자 크기 3 μm, 구멍 크기 120 Å)으로 하고 컬럼 온도는 40 ℃로 유지한 상태에서 ekspert™ nanoLC 425 (Eksigent, Dublin, CA)를 사용하였다. 샘플을 100% 용리액 A : 0.1% 포름산을 사용하여 10 ㎕/min의 유속으로 트랩 컬럼에 로딩하였다. 10분 후, 펩타이드는 용리액 A 및 용리액 B : 100% acetonitrile 중 0.1% 포름산을 사용하여 5 ㎕/min에서 87분 단위 (용리액 B는 68분에 걸쳐 3 내지 25%, 5분에 걸쳐 25 내지 35%, 2분에 걸쳐 35 내지 80%, 3분 동안 80% 유지, 1분 동안 80 내지 3% 유지, 8분 동안 3% 유지)로 분리하였다. 질량분석은 Sequential window acquisition of all theoretical mass spectra (SWATH) 모드에서 SCIEX 기술 노트에 따라, 100개의 variable windows를 사용하여 작동하였다. SWATH 매개변수는 다음과 같이 설정하였다: 하한 m/z 400; 상한 m/z 1250; window overlap(Da) 1.0; CES는 작은 windows에 대해 5, 큰 windows에 대해 8, 가장 큰 windows에 대해 10으로 설정하였다. MS2 스펙트럼은 고감도 모드에서 2.5 ms 동안 100-1500 m/z 범위에서 수집되었으며, 총 사이클 시간은 2.8초였다. 질량분석법을 이용한 근육 단백질들의 분석 과정은 도 1a에 나타냈다.

[0114] **실시예 4. SWATH Data 분석**

[0115] 개별 샘플에 대한 SWATH-MS 데이터는 *in-house* 소변 프로테옴 분광 라이브러리와 함께 DIA-NN 1.7.10을 사용하여 처리하였다. 스펙트럼은 기본 설정으로 검색하였으나, m/z 범위는 전구체의 경우 400-1250이고 조각 이온(fragment ion)의 경우 100-1500 이었다. Diann R 패키지 (https://github.com/vdemichev/diann-rpackage)에 구현된 MaxLFQ 알고리즘(PMID: 24942700)을 사용하여 단백질 정량 값을 수득하였다. 단백질 강도 값은 0.01 이상의 q-값을 통과하는 전구체 및 단백질 그룹에 대하여 필터링하였다.

[0117] **실시예 5. 통계적 분석**

[0118] 샘플 간 단백질 강도의 차등 분석을 위해 무료 소프트웨어 Perseus(version 1.6.14.0)를 사용하였다. 정규화된 단백질 강도의 값은 log2 스케일로 변환하였다. 각 샘플의 유형을 그룹화하였으며, 적어도 하나 그룹에서 최소 90%가 필요하였다. 결측 값은 기본 매개변수(width: 0.3, downshift: 1.8)를 사용하여 정규 분포에서 추출한 난수로 대체하였다. 샘플 간의 통계적으로 유의한 차이를 찾기 위하여, Benjamini-Hochberg FDR(0.05 컷오프)을 사용하여 T-검정을 수행하였다. 볼케이노 플롯(volcano plot)과 박스 플롯(box plot)의 시각화는 InstantClue 소프트웨어를 사용하여 수행하였다.

[0120] **[실험예]**

[0121] **실험예 1. 근감소증과 관련된 바이오마커 발견을 위한 SWATH 분석**

[0122] 근감소증과 관련된 바이오마커 후보를 선별하기 위하여 10개의 난소 절제 모델의 마우스 근육 조직과 9개의 대조군 마우스 근육 조직에 대해 상기 실시예에 기재된 방법으로 단백질을 추출하고 SWATH-MS에 의한 단백질 정성 및 정량 분석을 수행하였다. 획득된 peptide의 Spectrum에 대해서는 DIA-NN을 이용하여 정량정보와 정성정보를 추출하였으며 도 1b와 같이 총 2,086개의 단백질들을 정량하였다.

[0124] **실험예 2. 근감소증 모델의 근육 단백체의 특징 확인**

[0125] 대조군에서 1개, 난소 절제군에서 1개의 outlier를 제거하고 Principal component analysis를 수행한 결과, 도 2a와 같이 난소 절제 모델 그룹과 대조군 그룹이 잘 나누어지는 것을 확인하였다. 또한 대조군을 기준으로 단백질의 정량값에 대한 Fold change와 P value를 이용하여 volcano plot을 수행한 결과, 도 2b와 같이 난소 절제 모델의 근육 조직에서 14개의 단백질들이 증가하고 30개의 단백질들이 감소하는 것을 확인하였다.

[0126] Volcano plot 분석에서 대조군 대비 난소 절제 모델의 근육 조직에서 증가하는 14개의 단백질들은 도 3a에 나타내었다. Pregnacy zone protein은 난소 절제 모델에서 대조군 대비 3배 증가하는 것으로 나타났으며 Plasma protease C1 inhibitor 역시 2.6배 증가하는 것으로 나타났다.

[0127] Volcano plot 분석에서 대조군 대비 난소 절제 모델의 근육 조직에서 감소하는 40개의 단백질들은 도 3b에 나타내었다. Myosin-binding protein C, fast-type은 대조군 대비 난소 절제 모델의 근육에서 0.38배로 감소하는 것으로 나타났으며 platelet factor 4는 0.48배로 감소하는 것으로 나타났다.

[0128] Volcano plot 분석에서 대조군 대비 난소 절제 모델의 근육조직에서 증가된 단백질들에 대해 gene ontology 분석을 수행한 결과, 상기 단백질들은 muscle contraction, injured axon 조절에 관여하는 단백질들로 확인되었다 (도 4a). 또한, 또한 상기 단백질들의 cellular compartment에 대해 분석한 결과, 대부분 contractile muscle, supramolecular fiber에 관련된 세포학적 위치를 가지는 것으로 나타났다 (도 4b). 상기 결과로부터, 난소 절제에 의해 근감소가 일어나면 다른 근육보다는 tibialis anterior (앞정강근) 근육에 대한 단백질들이 증가하고 이를 통해 근감소 및 근육의 기능적인 감소가 일어나는 것으로 예상할 수 있다. 또한, 이들 단백질들의 분자적 기능을 확인한 결과, Actin binding 및 Action filament biding 기능을 가지는 것으로 나타났다 (도 4c).

[0130] **실험예 3. 근육양과 상관관계를 보이는 근육 단백질의 발굴**

[0131] Missing value replacement를 수행하여 정량성을 확인한 1,527개의 단백질들의 정량 정보와 앞정강근 근육의 양과의 상관관계를 분석하여 Pearson correlation coefficient를 확인하였다. 그 결과, 도 5에 나타낸 바와 같이, Aldh1a1, Aspn, Syngr2, Tnnt3 및 Pc 단백질은 근육의 양과 양의 상관관계를 가지는 것으로 나타났다. 또한 Ablim1, Ampd3, Ech1, Hint2 및 Hsd12 단백질은 근육의 양과 음의 상관 관계를 보이는 것으로 나타났다.

[0133] **실험예 4. Grip test 지수와 상관관계를 보이는 근육 단백질의 발굴**

[0134] 근육의 기능과 관련된 지수인 Grip test 지수와 근육 단백질들의 양과 상관관계를 분석하여 Pearson correlation coefficient를 확인하였다. 그 결과, 도 6에 나타낸 바와 같이, Anxa3, Hnrnpc, Rrbp1, Padi2 및 Aspn은 근육의 힘과 양의 관계를 나타내었다. 그리고 Hsd12, Fam162a, Mcu, Hint2 및 Bphl은 근육의 힘과 음의 상관관계를 보이는 것으로 나타냈다. 이 결과는 근육의 힘을 근육 내 단백질의 정량관계를 통해 나타낼 수 있음을 시사한다.

[0136] **실험예 5. Rotarod 지수와 상관관계를 보이는 근육 단백질의 발굴**

[0137] 근육의 기능 지표 중의 다른 형태인 Rotarod test의 지표와의 근육 단백질의 정량 정보와의 상관관계를 분석하여 Pearson correlation coefficient를 확인하였다. 그 결과, 도 7에 나타낸 바와 같이, Ighg3, Oat, Fhl3, Tars1 및 Strn3 단백질들은 Rotarod test 결과와 양의 상관 관계를 보이는 것으로 나타났다. Abcc9, Snx3, Pgam5, Gspt1 및 Map2k3는 Rotarod test 결과와는 음의 상관관계를 보였다.

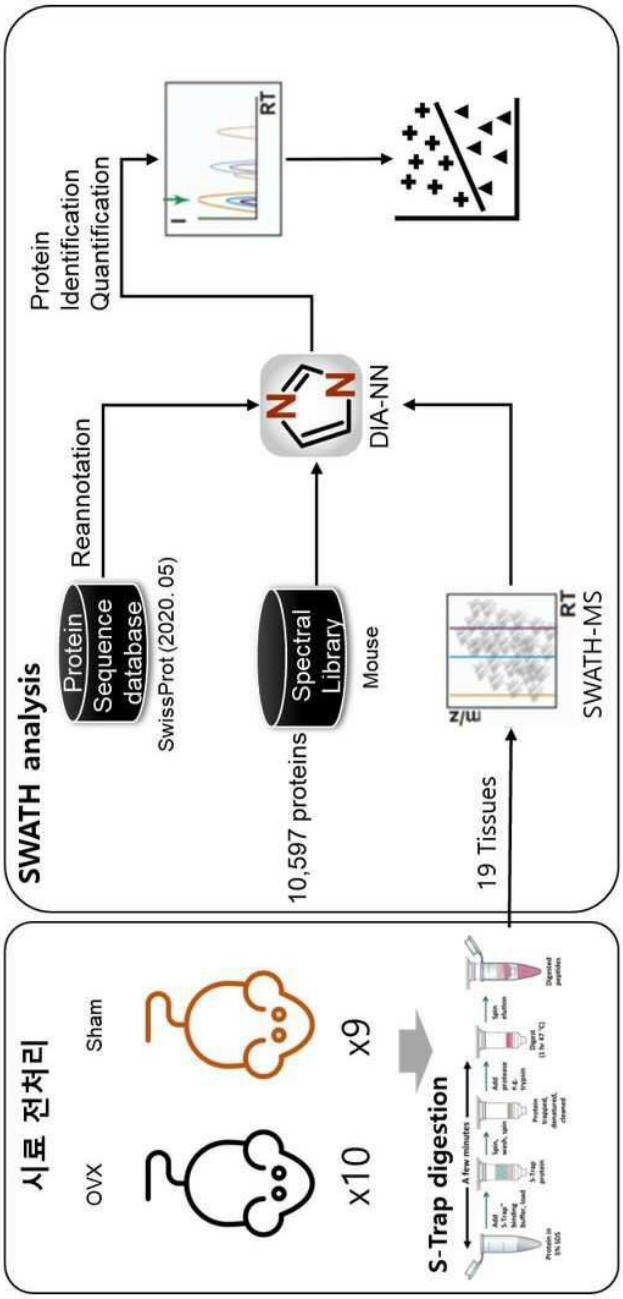
[0139] **실험예 6. Inverted grip 지속 시간과 상관관계를 보이는 근육 단백질의 발굴**

[0140] 근육의 기능의 또 다른 지표인 inverted grip 지속 시간과 근육 단백질들의 정량 정보와의 상관관계를 분석하여 Pearson correlation coefficient를 확인하였다. 그 결과, 도 8에 나타낸 바와 같이, Unc45b, Hspa4, Acadl, Padi2 및 Ppid는 inverted grip 지속 시간과 매우 강한 양의 관계를 보였다. Unc45b는 inverted grip 지속 시간과 Pearson correlation 지수 0.859를 보였다. 그리고 Slc27a1, Bphl, Myoz3, Pdk4와 Por 단백질의 정량 정보는 inverted grip 지속 시간과 강한 음의 상관 관계를 보이는 것으로 나타났다.

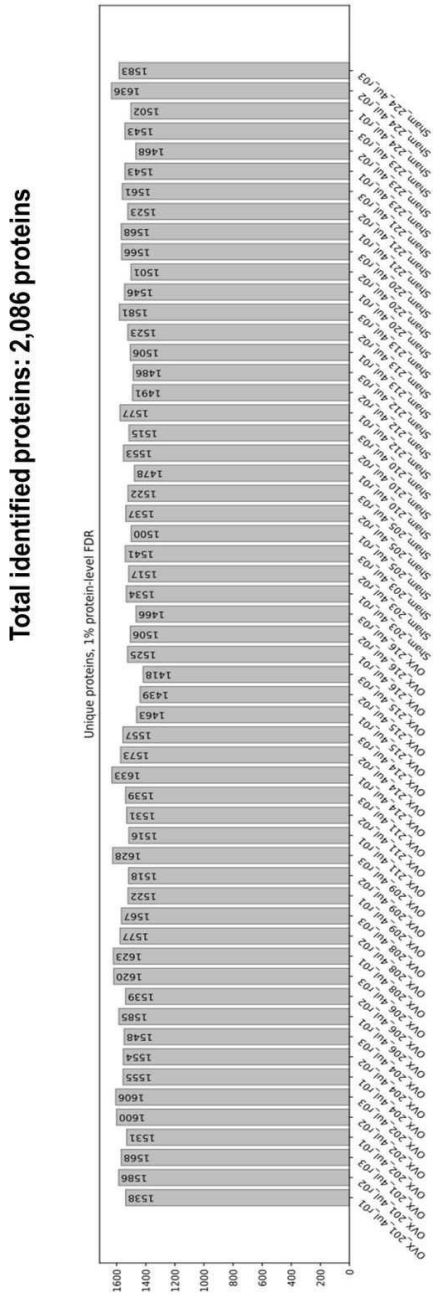
[0142] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야 한다.

도면

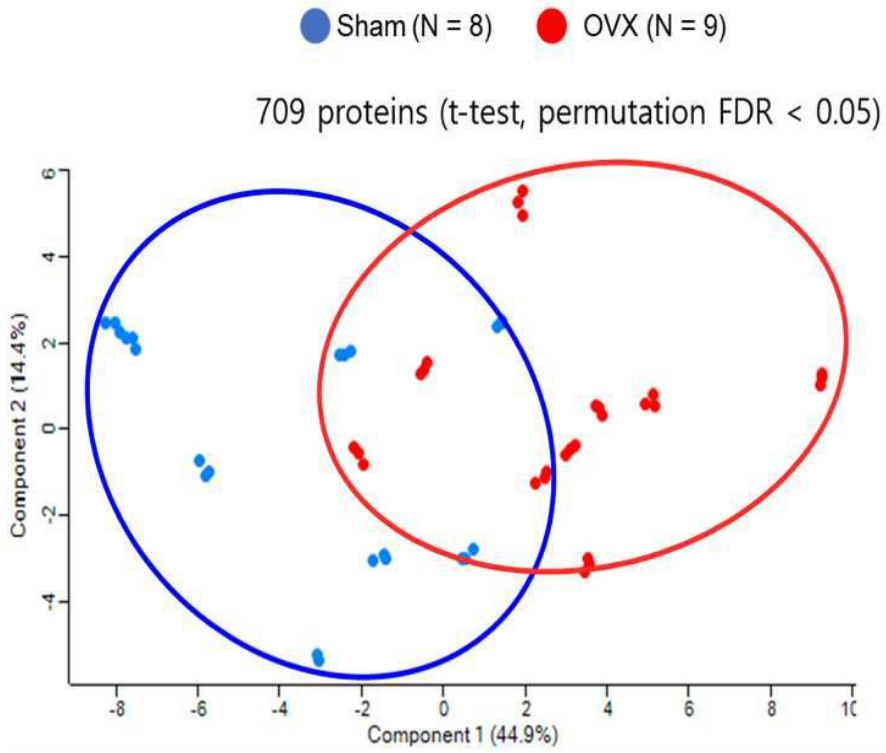
도면1a


시료 전처리
OVX
Sham
x10
x9
S-Trap digestion
19 Tissues
SWATH-MS
RT
m/z
10,597 proteins
Spectral Library
Mouse
SwissProt (2020. 05)
Protein Sequence database
Reannotation
DIA-NN
SWATH analysis
Protein Identification Quantification
RT

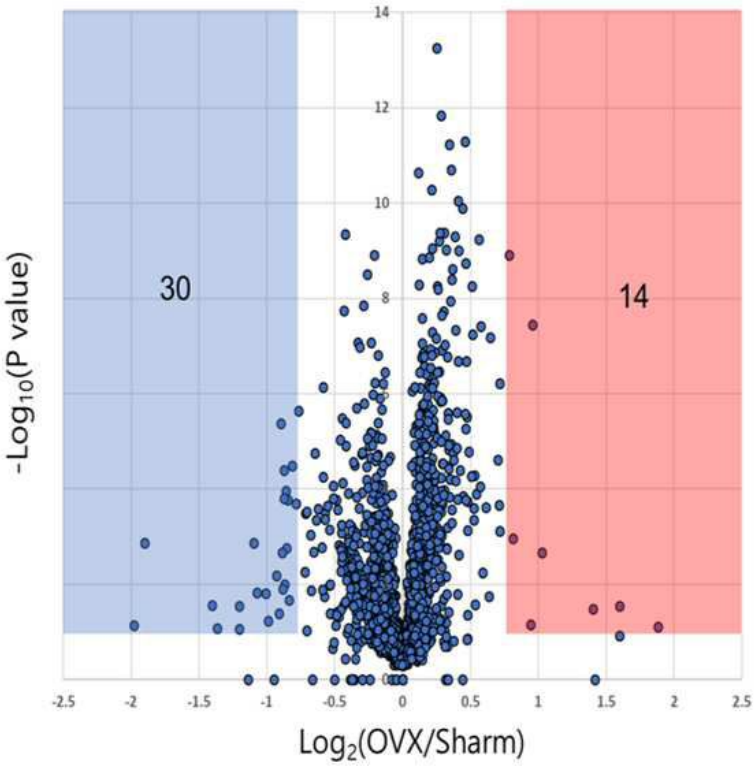
도면1b


Total identified proteins: 2,086 proteins
Unique proteins, 1% protein-level FDR
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0

도면2a


Sham (N = 8)
OVX (N = 9)
709 proteins (t-test, permutation FDR < 0.05)
Component 2 (14.4%)
Component 1 (44.9%)
6
4
2
0
-2
-4
-8
-6
-4
-2
0
2
4
6
8

도면2b




DEPs: Differential expressed proteins
→ Ratio ≥ 1.5, ≤ 0.7
→ Benjamini-Hochberg FDR ≤ 0.05

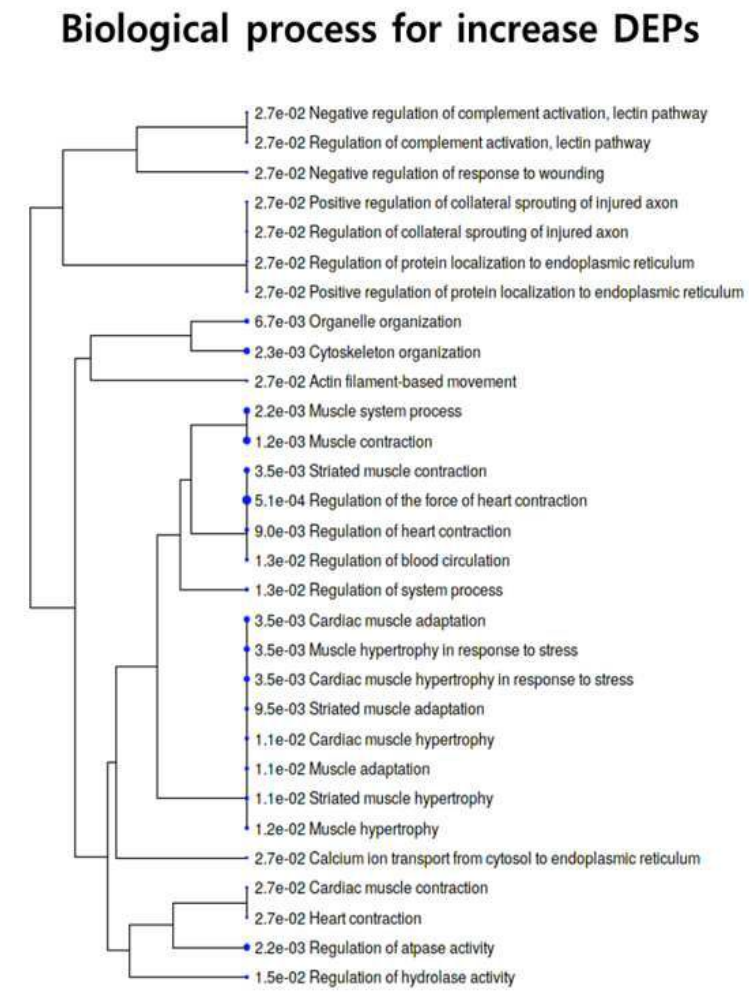
도면3a

| Acession number | Protein name | P value | Ratio (OVX/Sharm) | Group |
|---|---|---|---|---|
| Q61838 | Pregnancy zone protein | 0.029 | 3.0 | Increase |
| P97290 | Plasma protease C1 inhibitor | 0.033 | 2.6 | Increase |
| P57780 | Alpha-actinin-4 | 0.002 | 2.0 | Increase |
| O55143 | Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2 | 0.000 | 1.9 | Increase |
| P68372 | Tubulin beta-4B chain | 0.001 | 1.8 | Increase |
| Q8K4G5 | Actin-binding LIM protein 1 | 0.000 | 1.7 | Increase |
| Q02566 | Myosin-6 | 0.000 | 1.6 | Increase |
| P1354 | Myosin-8 | 0.001 | 1.6 | Increase |
| Q8R0N6 | Hydroxyacid-oxoacid transhydrogenase, mitochondrial | 0.000 | 1.6 | Increase |
| Q922F4 | Tubulin beta-6 chain | 0.000 | 1.6 | Increase |
| P09541 | Myosin light chain 4 | 0.000 | 1.6 | Increase |
| P58774 | Tropomyosin beta chain | 0.017 | 1.6 | Increase |
| Q99P72 | Reticulon-4 | 0.000 | 1.5 | Increase |
| A2AQP0 | Myosin-7B | 0.006 | 1.5 | Increase |

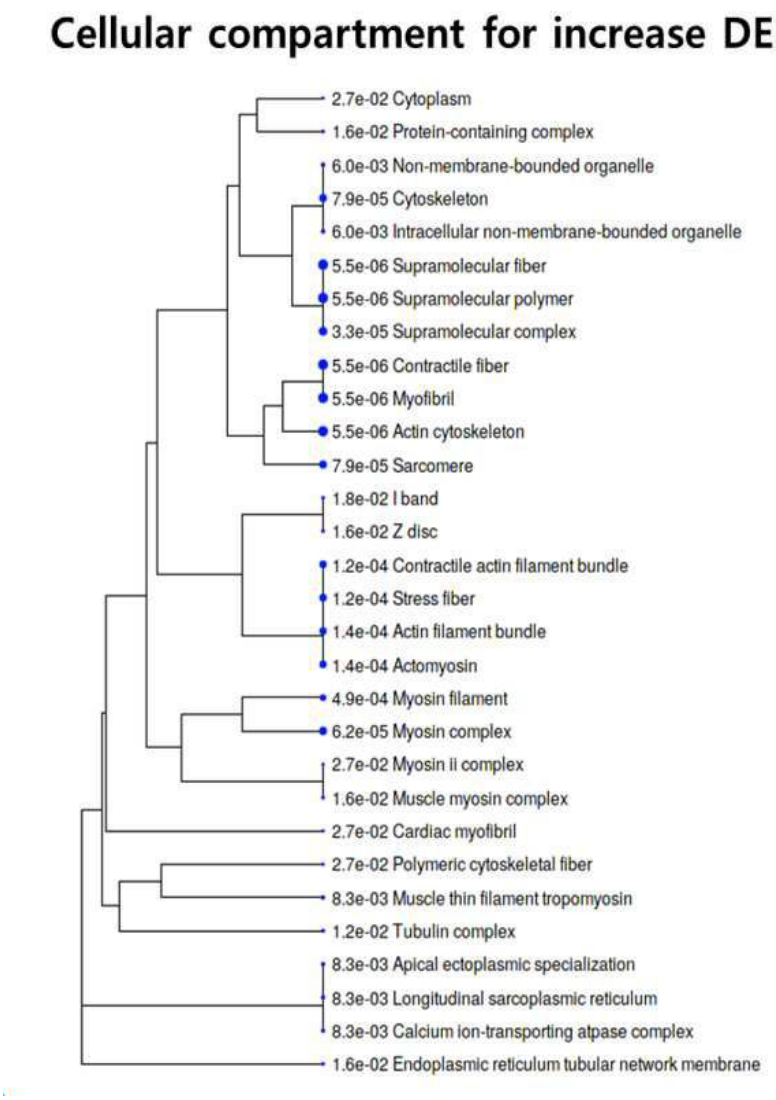
도면3b

| Acession number | Protein name | P value | Ratio (OVX/Sharm) | Group |
|---|---|---|---|---|
| Q61781 | Keratin, type I cytoskeletal 14 | 0.005 | 0.61 | Decrease |
| P50446 | Keratin, type II cytoskeletal 6A | 0.015 | 0.50 | Decrease |
| P02535 | Keratin, type I cytoskeletal 10 | 0.000 | 0.64 | Decrease |
| Q61398 | Procollagen C-endopeptidase enhancer 1 | 0.000 | 0.64 | Decrease |
| P21956 | Lactadherin | 0.002 | 0.63 | Decrease |
| P13707 | Glycerol-3-phosphate dehydrogenase | 0.013 | 0.63 | Decrease |
| P07091 | Protein S100-A4 | 0.001 | 0.62 | Decrease |
| O35367 | Keratocan | 0.000 | 0.61 | Decrease |
| Q61781 | Keratin, type I cytoskeletal 14 | 0.005 | 0.61 | Decrease |
| P19096 | Fatty acid synthase | 0.000 | 0.59 | Decrease |
| P04104 | Keratin, type II cytoskeletal 1 | 0.000 | 0.58 | Decrease |
| P31725 | Protein S100-A9 | 0.021 | 0.56 | Decrease |
| Q91V92 | ATP-citrate synthase | 0.000 | 0.56 | Decrease |
| P21107 | Tropomyosin alpha-3 chain | 0.002 | 0.55 | Decrease |
| Q8CI70 | Leucine-rich repeat-containing protein 20 | 0.000 | 0.55 | Decrease |
| P32848 | Parvalbumin alpha | 0.010 | 0.55 | Decrease |
| P01837 | Immunoglobulin kappa constant | 0.000 | 0.55 | Decrease |
| Q8VED5 | Keratin, type II cytoskeletal 79 | 0.000 | 0.55 | Decrease |
| O88990 | Alpha-actinin-3 | 0.028 | 0.43 | Decrease |
| Q80X85 | 28S ribosomal protein S7, mitochondrial | 0.002 | 0.54 | Decrease |
| Q5SX39 | Myosin-4 | 0.040 | 0.53 | Decrease |
| P61982 | 14-3-3 protein gamma | 0.007 | 0.52 | Decrease |
| Q9Z126 | Platelet factor 4 | 0.015 | 0.48 | Decrease |
| P01867 | Immunoglobulin heavy constant gamma 2B | 0.001 | 0.47 | Decrease |
| Q5XKE0 | Myosin-binding protein C, fast-type | 0.028 | 0.38 | Decrease |
| Q6IFZ6 | Keratin, type II cytoskeletal 1b | 0.000 | 0.57 | Decrease |
| Q3ULJ0 | Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like protein | 0.001 | 0.27 | Decrease |
| Q7TPR4 | Alpha-actinin-1 | 0.012 | 0.54 | Decrease |
| Q6IFX2 | Keratin, type I cytoskeletal 42 | 0.000 | 0.54 | Decrease |

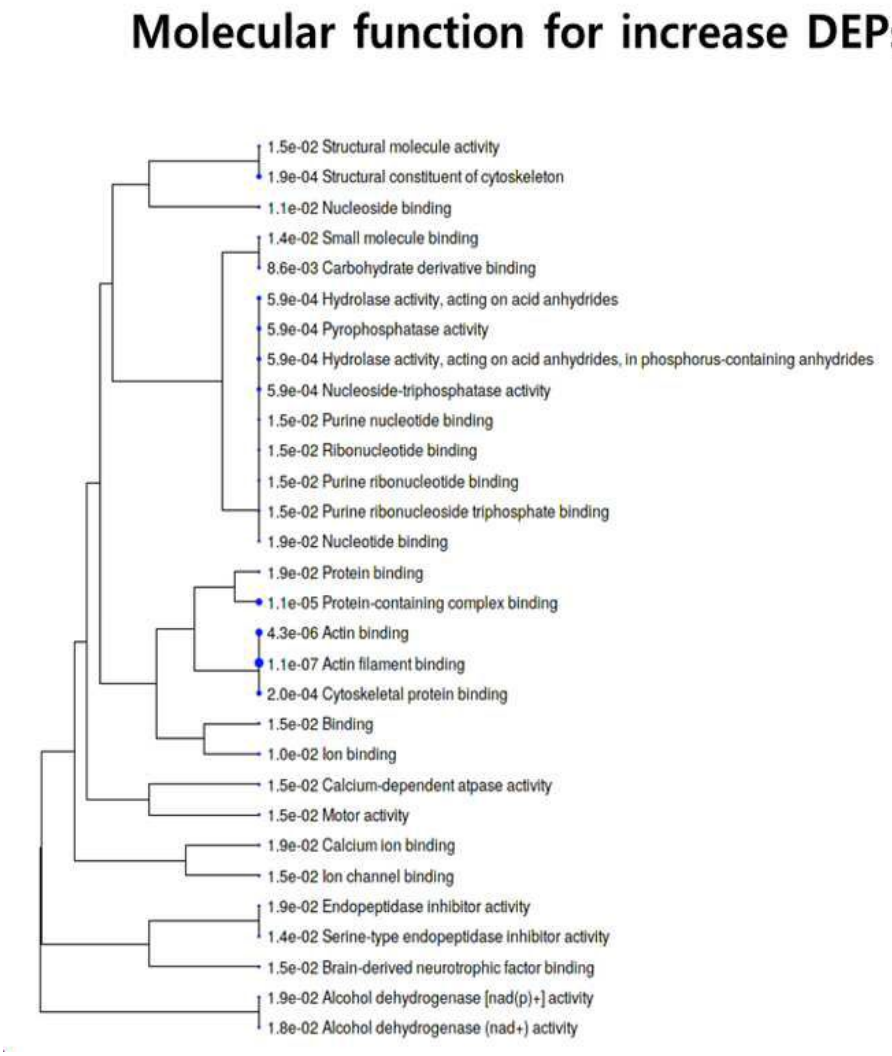
도면4a


Biological process for increase DEPs
2.7e-02 Negative regulation of complement activation, lectin pathway
2.7e-02 Regulation of complement activation, lectin pathway
2.7e-02 Negative regulation of response to wounding
2.7e-02 Positive regulation of collateral sprouting of injured axon
2.7e-02 Regulation of collateral sprouting of injured axon
2.7e-02 Regulation of protein localization to endoplasmic reticulum
2.7e-02 Positive regulation of protein localization to endoplasmic reticulum
6.7e-03 Organelle organization
2.3e-03 Cytoskeleton organization
2.7e-02 Actin filament-based movement
2.2e-03 Muscle system process
1.2e-03 Muscle contraction
3.5e-03 Striated muscle contraction
5.1e-04 Regulation of the force of heart contraction
9.0e-03 Regulation of heart contraction
1.3e-02 Regulation of blood circulation
1.3e-02 Regulation of system process
3.5e-03 Cardiac muscle adaptation
3.5e-03 Muscle hypertrophy in response to stress
3.5e-03 Cardiac muscle hypertrophy in response to stress
9.5e-03 Striated muscle adaptation
1.1e-02 Cardiac muscle hypertrophy
1.1e-02 Muscle adaptation
1.1e-02 Striated muscle hypertrophy
1.2e-02 Muscle hypertrophy
2.7e-02 Calcium ion transport from cytosol to endoplasmic reticulum
2.7e-02 Cardiac muscle contraction
2.7e-02 Heart contraction
2.2e-03 Regulation of atpase activity
1.5e-02 Regulation of hydrolase activity

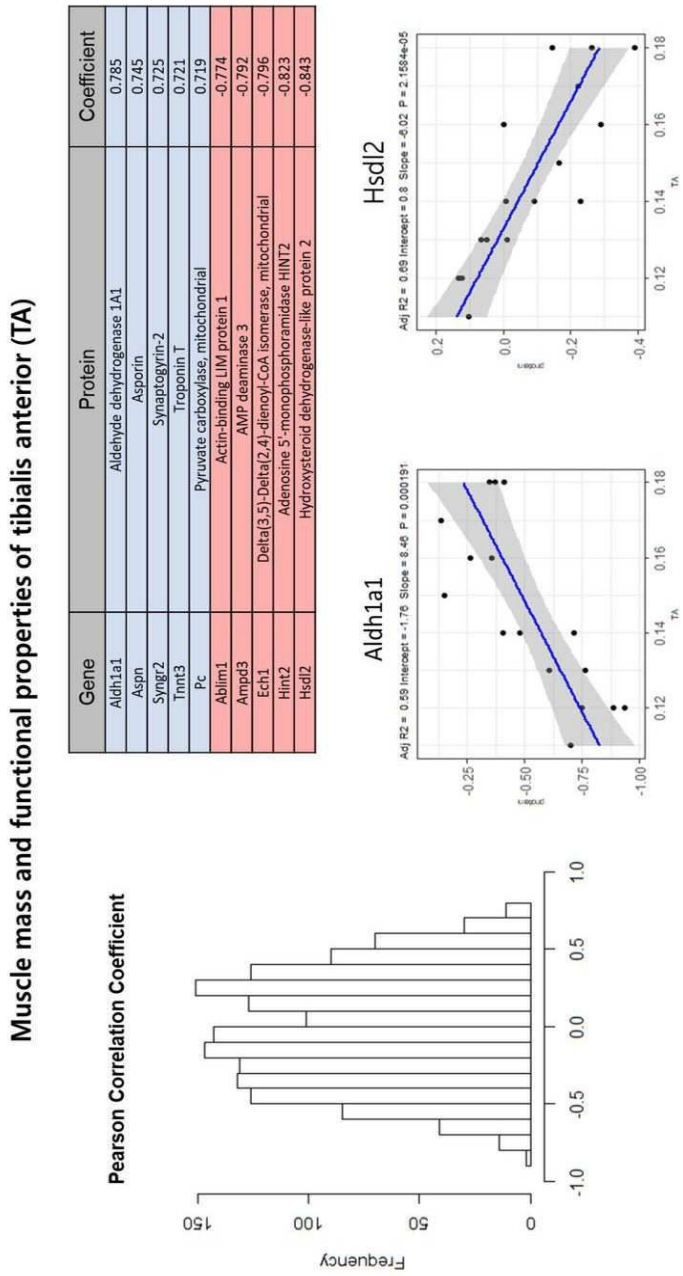
도면4b


Cellular compartment for increase DEPs
2.7e-02 Cytoplasm
1.6e-02 Protein-containing complex
6.0e-03 Non-membrane-bounded organelle
7.9e-05 Cytoskeleton
6.0e-03 Intracellular non-membrane-bounded organelle
5.5e-06 Supramolecular fiber
5.5e-06 Supramolecular polymer
3.3e-05 Supramolecular complex
5.5e-06 Contractile fiber
5.5e-06 Myofibril
5.5e-06 Actin cytoskeleton
7.9e-05 Sarcomere
1.8e-02 I band
1.6e-02 Z disc
1.2e-04 Contractile actin filament bundle
1.2e-04 Stress fiber
1.4e-04 Actin filament bundle
1.4e-04 Actomyosin
4.9e-04 Myosin filament
6.2e-05 Myosin complex
2.7e-02 Myosin ii complex
1.6e-02 Muscle myosin complex
2.7e-02 Cardiac myofibril
2.7e-02 Polymeric cytoskeletal fiber
8.3e-03 Muscle thin filament tropomyosin
1.2e-02 Tubulin complex
8.3e-03 Apical ectoplasmic specialization
8.3e-03 Longitudinal sarcoplasmic reticulum
8.3e-03 Calcium ion-transporting atpase complex
1.6e-02 Endoplasmic reticulum tubular network membrane

도면4c

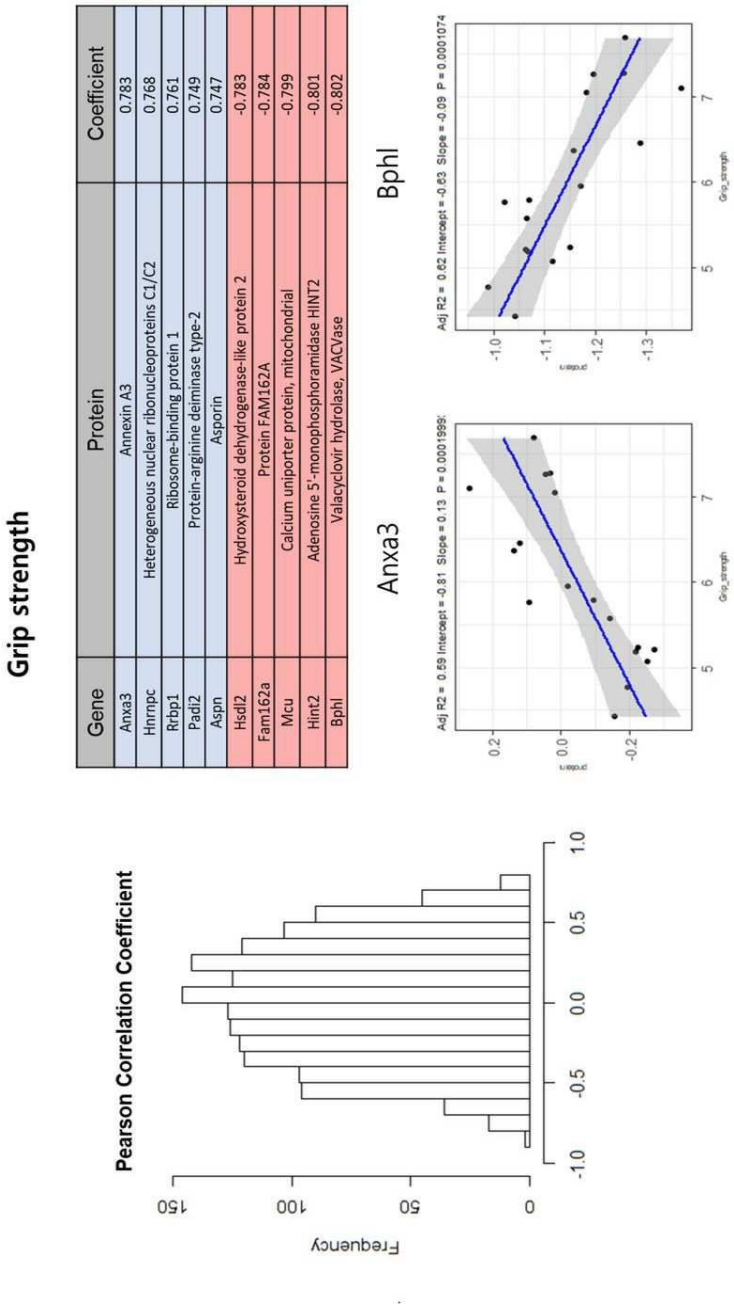

Molecular function for increase DEPs
1.5e-02 Structural molecule activity
1.9e-04 Structural constituent of cytoskeleton
1.1e-02 Nucleoside binding
1.4e-02 Small molecule binding
8.6e-03 Carbohydrate derivative binding
5.9e-04 Hydrolase activity, acting on acid anhydrides
5.9e-04 Pyrophosphatase activity
5.9e-04 Hydrolase activity, acting on acid anhydrides, in phosphorus-containing anhydrides
5.9e-04 Nucleoside-triphosphatase activity
1.5e-02 Purine nucleotide binding
1.5e-02 Ribonucleotide binding
1.5e-02 Purine ribonucleotide binding
1.5e-02 Purine ribonucleoside triphosphate binding
1.9e-02 Nucleotide binding
1.9e-02 Protein binding
1.1e-05 Protein-containing complex binding
4.3e-06 Actin binding
1.1e-07 Actin filament binding
2.0e-04 Cytoskeletal protein binding
1.5e-02 Binding
1.0e-02 Ion binding
1.5e-02 Calcium-dependent atpase activity
1.5e-02 Motor activity
1.9e-02 Calcium ion binding
1.5e-02 Ion channel binding
1.9e-02 Endopeptidase inhibitor activity
1.4e-02 Serine-type endopeptidase inhibitor activity
1.5e-02 Brain-derived neurotrophic factor binding
1.9e-02 Alcohol dehydrogenase [nad(p)+] activity
1.8e-02 Alcohol dehydrogenase (nad+) activity

도면5

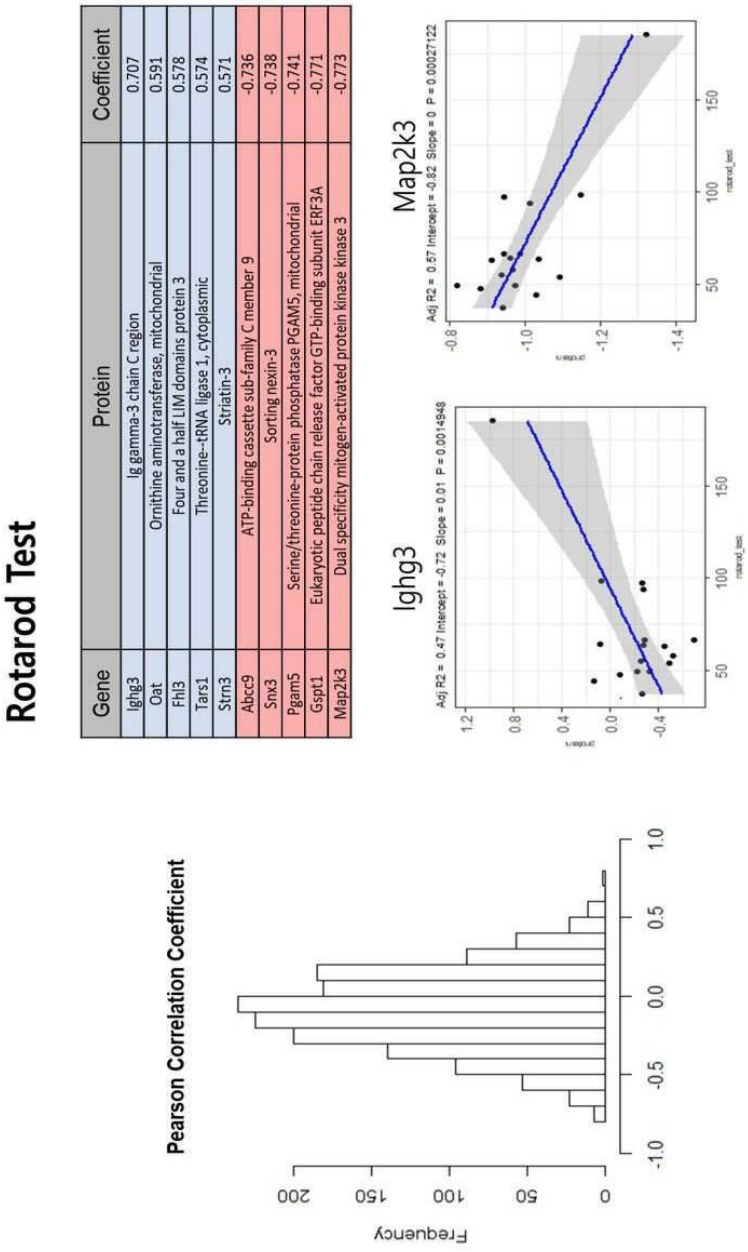



| Gene | Protein | Coefficient |
|---|---|---|
| Aldh1a1 | Aldehyde dehydrogenase 1A1 | 0.785 |
| Aspn | Asporin | 0.745 |
| Syngr2 | Synaptogyrin-2 | 0.725 |
| Tnnt3 | Troponin T | 0.721 |
| Pc | Pyruvate carboxylase, mitochondrial | 0.719 |
| Ablim1 | Actin-binding LIM protein 1 | -0.774 |
| Ampd3 | AMP deaminase 3 | -0.792 |
| Ech1 | Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase, mitochondrial | -0.796 |
| Hint2 | Adenosine 5'-monophosphoramidase HINT2 | -0.823 |
| Hsdl2 | Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2 | -0.843 |

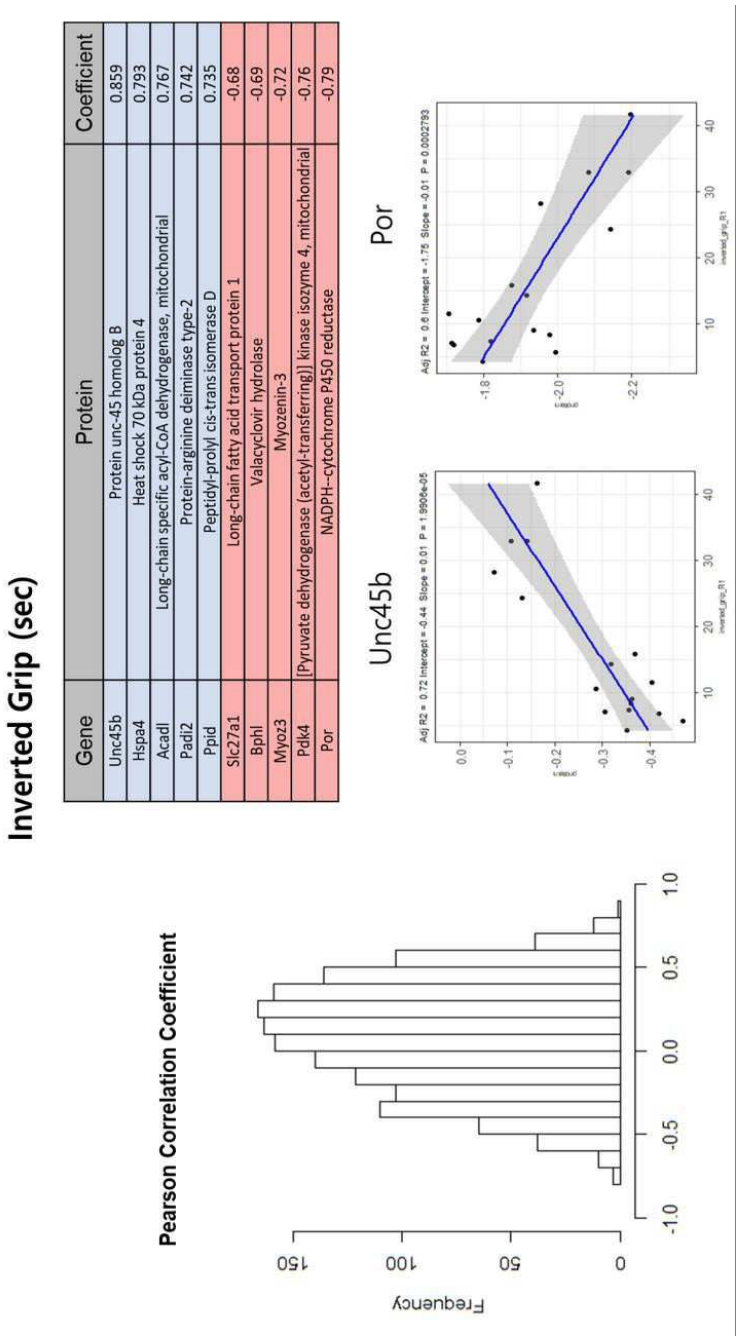
도면6


Grip strength
Gene
Protein
Coefficient
Anxa3
Annexin A3
0.783
Hnrnpc
Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2
0.768
Rrbp1
Ribosome-binding protein 1
0.761
Padi2
Protein-arginine deiminase type-2
0.749
Aspn
Asporin
0.747
Hsdl2
Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2
-0.783
Fam162a
Protein FAM162A
-0.784
Mcu
Calcium uniporter protein, mitochondrial
-0.799
Hint2
Adenosine 5'-monophosphoramidase HINT2
-0.801
Bphl
Valacyclovir hydrolase, VACVase
-0.802
Anxa3
Bphl
Pearson Correlation Coefficient
Frequency

도면7


Rotarod Test
Gene
Protein
Coefficient
Ighg3
Ig gamma-3 chain C region
0.707
Oat
Ornithine aminotransferase, mitochondrial
0.591
Fhl3
Four and a half LIM domains protein 3
0.578
Tars1
Threonine--tRNA ligase 1, cytoplasmic
0.574
Strn3
Striatin-3
0.571
Abcc9
ATP-binding cassette sub-family C member 9
-0.736
Snx3
Sorting nexin-3
-0.738
Pgam5
Serine/threonine-protein phosphatase PGAM5, mitochondrial
-0.741
Gspt1
Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A
-0.771
Map2k3
Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 3
-0.773
Ighg3
Adj R2 = 0.47 Intercept = -0.72 Slope = 0.01 P = 0.0014948
Map2k3
Adj R2 = 0.57 Intercept = -0.82 Slope = 0 P = 0.00027122
Pearson Correlation Coefficient
Frequency

도면8


Inverted Grip (sec)
Gene
Protein
Coefficient
Unc45b
Protein unc-45 homolog B
0.859
Hspa4
Heat shock 70 kDa protein 4
0.793
Acadl
Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial
0.767
Padi2
Protein-arginine deiminase type-2
0.742
Ppid
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D
0.735
Slc27a1
Long-chain fatty acid transport protein 1
-0.68
Bphl
Valacyclovir hydrolase
-0.69
Myoz3
Myozenin-3
-0.72
Pdk4
[Pyruvate dehydrogenase [acetyl-transferring]] kinase isozyme 4, mitochondrial
-0.76
Por
NADPH--cytochrome P450 reductase
-0.79
Unc45b
Por
Pearson Correlation Coefficient
Frequency