



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0085378
(43) 공개일자 2019년07월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6883 (2018.01) G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6883 (2018.05)
G01N 33/6893 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0003445
(22) 출원일자 2018년01월10일
심사청구일자 2018년01월10일

(71) 출원인
한국과학기술연구원
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
이지은
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
육명렬
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
리엔목특허법인

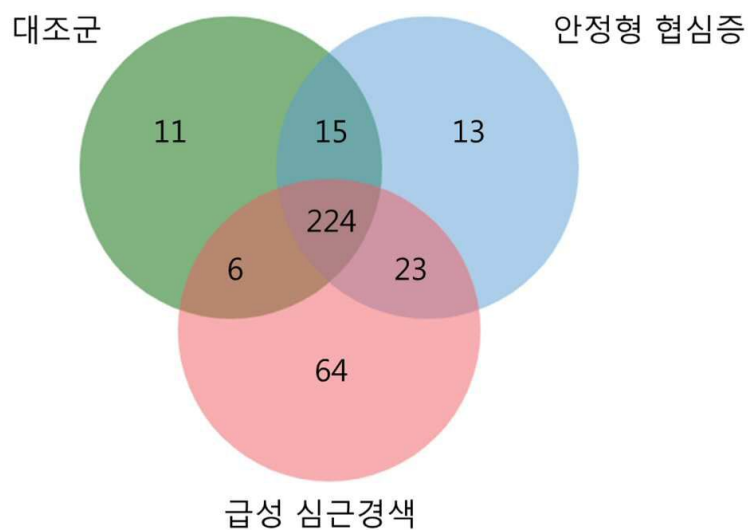
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 심혈관 질환의 진단을 위한 바이오마커 및 이의 용도

(57) 요약

일 양상에 따른 심혈관 질환, 예를 들어 급성 심근경색 및 안정형 협심증의 진단을 위한 조성물, 키트, 및 이를 이용한 진단 방법을 제공한다. 이에 따르면, 심혈관 질환, 예를 들어 급성 심근경색 및 안정형 협심증을 간편하고, 높은 정확도 및 특이도로 진단하는데 이용할 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/158 (2013.01)
G01N 2333/47 (2013.01)
G01N 2333/9123 (2013.01)
G01N 2333/916 (2013.01)
G01N 2800/32 (2013.01)

(72) 발명자

박예은

서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)

임도선

서울특별시 강남구 선릉로 206, 101동 204호(대치동, 동부센트레빌)

주형준

서울특별시 강남구 선릉로 120, 10동 1405호(대치동, 개포1,2차 우성아파트)

명세서

청구범위

청구항 1

단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 심혈관 질환의 진단용 조성물로서,

상기 단백질은 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 만노실-올리고사카라이드 1,2-알파-만노시다제 1A; 지방산-결합 단백질, 심장; 크레아틴 키나제 M-타입; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; 단백질 테글리카제 DJ-1; 코필린-1; 퓨린 뉴클레오타이드 포스포릴라제; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 혈소판 당단백질 V; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-5; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 티오세포스포스페이트 이성질화효소; 비스포스포글레세리이트 무타제; 플라빈 리덕타제(NADPH); 헤모글로빈 서브유닛 델타; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 2; 합토클로빈-연관 단백질; Ig 카파 사슬 C 영역; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 복합체 산 불안정성 서브유닛; 엑토뉴클레오타이드 피로포스파타제/포스포디에스터라제 패밀리 멤버 2; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; Ig 카파 사슬 V-III 영역 CLL; Ig 감마-1 사슬 C 영역; 펩티다제 저해제 16; 단백질 FAM3C; 및 포스포티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 심혈관 질환은 급성 심근경색 또는 협심증인 것인 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 심혈관 질환은 급성 심근경색 및 안정형 협심증 중 어느 하나인 것인 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은

아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 지방산-결합 단백질, 심장; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 비스포스포글레세리이트 무타제; 헤모글로빈 서브유닛 델타; 합토클로빈-연관 단백질; Ig 카파 사슬 C 영역; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; 및 펩티다제 저해제 16으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하고, 급성 심근경색을 진단하기 위한 것인 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은

단백질 FAM3C 및 포스포티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하고, 안정형 협심증을 진단하기 위한 것인 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 크레아틴 키나제 M-타입 및 엑토뉴클레오타이드 피로포스파타제/포스포디에스터라제 패밀리 멤버 2로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하고, 급성 심근경색 및 안정형 협심증 중 어느 하나를 진단하기 위한 조성물.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 제제는 상기 단백질 또는 이의 단편에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 또는

상기 단백질 또는 이의 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드와 동일하거나 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오타이드

드를 포함하는 핵산인 것인 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 항체는 폴리클론 항체 또는 모노클론 항체인 것인 조성물.

청구항 9

청구항 7에 있어서, 상기 핵산은 프라이머 또는 프로브인 것인 조성물.

청구항 10

단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는 심혈관 질환의 진단용 키트로서,

상기 단백질은 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 만노실-올리고사카라이드 1,2-알파-만노시다제 IA; 지방산-결합 단백질, 심장; 크레아틴 키나제 M-타입; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; 단백질 데글리카제 DJ-1; 코필린-1; 퓨린 뉴클레오타이드 포스포릴라제; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 혈소판 당단백질 V; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-5; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 티오세포스포에이트 이성질화효소; 비스포스포글레세리이트 무타제; 플라빈 리덕타제(NADPH); 헤모글로빈 서브유닛 델타; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 2; 합토클로빈-연관 단백질; Ig 카파 사슬 C 영역; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 복합체 산 불안정성 서브유닛; 엑토뉴클레오타이드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리 멤버 2; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; Ig 카파 사슬 V-III 영역 CLL; Ig 감마-1 사슬 C 영역; 펩티다제 저해제 16; 단백질 FAM3C; 및 포스포티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 키트.

청구항 11

심혈관 질환에 걸리거나 심혈관 질환에 걸릴 확률이 높을 것으로 의심되는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 단계로서,

상기 단백질은 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 만노실-올리고사카라이드 1,2-알파-만노시다제 IA; 지방산-결합 단백질, 심장; 크레아틴 키나제 M-타입; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; 단백질 데글리카제 DJ-1; 코필린-1; 퓨린 뉴클레오타이드 포스포릴라제; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 혈소판 당단백질 V; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-5; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 티오세포스포에이트 이성질화효소; 비스포스포글레세리이트 무타제; 플라빈 리덕타제(NADPH); 헤모글로빈 서브유닛 델타; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 2; 합토클로빈-연관 단백질; Ig 카파 사슬 C 영역; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 복합체 산 불안정성 서브유닛; 엑토뉴클레오타이드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리 멤버 2; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; Ig 카파 사슬 V-III 영역 CLL; Ig 감마-1 사슬 C 영역; 펩티다제 저해제 16; 단백질 FAM3C; 및 포스포티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 단계; 및

상기 측정된 발현 수준을 정상 대조군의 단백질 발현 수준과 비교하는 단계를 포함하는 심혈관 질환의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 생물학적 시료는 혈액, 혈장, 혈청, 골수액, 림프액, 타액, 누액, 점막액, 양수, 또는 이들의 조합인 것인 방법.

청구항 13

청구항 11에 있어서, 상기 측정하는 단계는 상기 생물학적 시료와, 상기 단백질 또는 이의 단편에 특이적으로 결합하는 항체를 인큐베이션시키는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 14

청구항 11에 있어서, 상기 측정하는 단계는 전기영동, 면역블로팅, 효소 결합 면역흡착 분석법(enzyme-Linked

Immunosorbent Assay: ELISA), 단백질 칩, 면역침강, 마이크로어레이, 노던(Northern) 블로팅, 폴리머라제 증폭 반응(polymerase chain reaction: PCR), 또는 이들의 조합으로 수행되는 것인 방법.

청구항 15

청구항 11에 있어서, 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 지방산-결합 단백질, 심장; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동중효소 1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 비스포스포글레세리이트 무타제; 헤모글로빈 서브유닛 델타; 및 합토클로빈-연관 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 증가한 경우, 상기 개체는 급성 심근경색에 걸리거나 급성 심근경색에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 16

청구항 11에 있어서, Ig 카파 사슬 C 영역; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; 및 펩티다제 저해제 16으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 감소한 경우, 상기 개체는 급성 심근경색에 걸리거나 급성 심근경색에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 17

청구항 11에 있어서, 단백질 FAM3C 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 증가한 경우, 상기 개체는 안정형 협심증에 걸리거나 안정형 협심증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 18

청구항 11에 있어서, 포스포티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 감소한 경우, 상기 개체는 안정형 협심증에 걸리거나 안정형 협심증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 19

청구항 11에 있어서,

크레아틴 키나제 M-타입 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 증가한 경우, 급성 심근경색에 걸리거나 급성 심근경색에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하고, 및

크레아틴 키나제 M-타입 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 감소한 경우, 안정형 협심증에 걸리거나 안정형 협심증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 20

청구항 11에 있어서,

엑토뉴클레오타이드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리 멤버 2 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 증가한 경우, 안정형 협심증에 걸리거나 안정형 협심증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하고, 및

엑토뉴클레오타이드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리 멤버 2 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 감소한 경우, 급성 심근경색에 걸리거나 급성 심근경색에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

심혈관 질환, 예를 들어 급성 심근경색 및 안정형 협심증의 진단을 위한 바이오마커, 이를 검출하기 위한 조성물, 키트, 및 이를 이용한 진단 방법에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 심혈관 질환(cardiovascular 질환: CVD)은 세계 보건 기구(World Health Organization)에 따르면, 세계 사망률 중1위의 질병이며, 2015년 약 1770만 명이 심혈관 질환으로 사망하였는데, 이는 전 세계 사망률의 31%를 차지하며, 2030년까지 2360만 명이 심혈관 질환으로 사망할 것으로 예상되고 있다.
- [0003] 가장 대표적인 심혈관 질환인 관상동맥 질환은 나이가 증가함에 따라 관상동맥의 혈관 벽에 콜레스테롤이 쌓여 동맥 경화가 진행되면서 혈관의 안쪽이 점점 비좁아 지게 되고, 이로 인해 혈류량이 부족해지면서 심장을 움직일 수 있는 혈액이 부족해져 심근 허혈이 야기될 수 있다. 허혈 상태가 되면 흉부 통증 및 흉부 압박감을 느끼게 되는데, 이것이 협심증이라고 한다. 또한, 관상동맥이 더 좁아지고 완전히 막혀 혈액이 더 이상 통하지 않는 상태가 되면 그 부분의 심근 세포가 괴사하여 증상이 오랜 시간 동안 유지되는데, 이를 급성 심근 경색이라고 한다. 협심증과 심근 경색의 경우 대부분 증상이 없다가 혈관에 생긴 동맥경화 부분이 파열되거나 혈전이 생기면서 증상이 갑작스럽게 나타나게 된다.
- [0004] 따라서 초기 단계에서 심혈관 질환을 진단하기 위하여 혈액 단백질 수준에서 위험을 예측하고 치료 효과를 반영할 수 있는 바이오마커의 발굴이 지속적으로 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 심혈관 질환의 진단용 조성물을 제공한다.
- [0006] 심혈관 질환의 진단용 키트를 제공한다.
- [0007] 심혈관 질환의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

- [0008] 일 양상은 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 체제를 포함하는 심혈관 질환의 진단용 조성물로서, 상기 단백질은 아스파르테이트 아미노트란스퍼라제, 세포질성; 만노실-올리고사카라이드 1,2-알파-만노시다제 IA; 지방산-결합 단백질, 심장; 크레아틴 키나제 M-타입; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; 단백질 데글리카제 DJ-1; 코필린-1; 퓨린 뉴클레오타이드 포스포릴라제; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 혈소판 당단백질 V; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-5; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 티오세포스포에이트 이성질화효소; 비스포스포글레세리이트 무타제; 플라빈 리덕타제(NADPH); 헤모글로빈 서브유닛 델타; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 2; 합토글로빈-연관 단백질; Ig 카파 사슬 C 영역; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 복합체 산 불안정성 서브유닛; 액토뉴클레오타이드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리 멤버 2; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; Ig 카파 사슬 V-III 영역 CLL; Ig 감마-1 사슬 C 영역; 펩티다제 저해제 16; 단백질 FAM3C; 및 포스포티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D로 이루어진 군으로부터 선택된 조성물을 제공한다.
- [0009] 용어 "심혈관 질환(cardiovascular disease)"은 심장과 주요 동맥에 발생하는 질환을 말한다. 상기 심혈관 질환은 예를 들어 고혈압, 허혈성 심장 질환, 관상동맥질환, 협심증, 심근경색, 죽상경화증(동맥경화증), 뇌혈관 질환, 뇌졸중 및 부정맥을 포함할 수 있다. 상기 심혈관 질환은 예를 들어 심근경색 및 협심증이다. 상기 심근경색(myocardial infarction)은 심장의 관상동맥 중 어느 하나라도 혈전증이나 혈관의 빠른 수축(연축) 등에 의해 급성으로 막히거나, 심장의 전체 또는 일부분에 산소와 영양 공급이 급격하게 줄어들어서 심장 근육의 조직이나 세포가 죽는(괴사) 질환을 말한다. 상기 협심증은 동맥경화증 때문에 만성적으로 협착이 되어서 생기는 협심증을 (만성)안정형 협심증, 죽상경화병변이 파열되어 혈전이 생겨서 급작스럽게 협착이 심해져서 생기는 협심증을 불안정형 협심증, 또는 죽상경화병변이 별로 없음에도 불구하고 혈관의 연축에 의해 혈류 장애가 발생하여 초래되는 협심증을 변이형(이형성) 협심증을 포함할 수 있다. 심근경색증은 심장 근육의 일부가 파괴(괴사)되는 경우이고, 협심증은 괴사되지는 않지만 혈관 내 혈액의 흐름이 원활하지 않아 가슴에 통증이 생기는 것일 수 있다.
- [0010] 상기 아스파르테이트 아미노트란스퍼라제, 세포질성 단백질은 L-아스파르테이트 또는 L-시스테인으로부터 L-글루타메이트를 생합성하는 효소로서, 글루타메이트의 수준을 조절하는 주요인자로 알려져 있다. 아스파르테이트

아미노트랜스퍼라제는 뇌 신경보호에서 글루타메이트의 소거제(scavenger)로 기능할 수 있다. 상기 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제는 인간에서 Uniprot 번호 P17174의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

- [0011] 상기 만노실-올리고사카라이드 1,2-알파-만노시다제 IA은 아스파라긴-연결 올리고사카라이드의 성숙에 관련되는 효소로서, 올리고-만노스 올리고사카라이드 $\text{Man}_3(\text{GlcNAc})_2$ 에서 말단 (1→2)-연결 알파-D-만노스 잔기를 분해하는 활성이 있다. 상기 만노실-올리고사카라이드 1,2-알파-만노시다제 IA은 인간에서 Uniprot 번호 P33908의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0012] 상기 지방산-결합 단백질, 심장은 긴 사슬 지방산 및 그의 아실-CoA 에스테르의 세포내 전달에 기능을 할 수 있다. 상기 지방산-결합 단백질, 심장은 인간에서 Uniprot 번호 P05413의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0013] 상기 크레아틴 키나제 M-타입은 CKM 또는 CKMM으로도 불리고, ATP와 다양한 인산화 폴리펩티드(예, 크레아틴 포스페이트) 간에 인산기의 전달을 촉매할 수 있다. 상기 크레아틴 키나제 M-타입은 인간에서 Uniprot 번호 P06732의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0014] 상기 백혈구 엘라스타제 저해제는 호중구 프로테아제 엘라스타제, 카텝신(cathepsin) G, 단백질분해효소(proteinase)-3, 키마제(chymase), 키모트립신, 및 칼리크레인(kallikrein-3)의 활성을 조절할 수 있다. 상기 백혈구 엘라스타제 저해제는 인간에서 Uniprot 번호 P30740의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0015] 상기 Rho GDP-해리 저해제 2는 Rho 단백질에서 GDP의 해리를 저해함으로써 GDP/GTP 교환 반응을 조절할 수 있다. 상기 Rho GDP-해리 저해제 2는 인간에서 Uniprot 번호 P52566의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0016] 상기 단백질 테글리카제 DJ-1은 단백질 또는 뉴클레오타이드의 아미노기와 글리옥살의 카르보닐기 간에 형성된 마이야르 첨가물(Maillard adduct)의 당제거반응(deglycation)을 촉매할 수 있다. 상기 단백질 테글리카제 DJ-1은 인간에서 Uniprot 번호 Q99497의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0017] 상기 코필린-1은 F-액틴에 결합하여 F-액틴 pH-민감성 탈중합 활성을 나타낼 수 있고, 세포내골격의 동역학을 조절할 수 있다. 상기 코필린-1은 인간에서 Uniprot 번호 P23528의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0018] 상기 퓨린 뉴클레오타이드 포스포릴라제는 베타-(데옥시)리보뉴클레오타이드 분자의 인산기 제거 분해를 촉매할 수 있다. 상기 퓨린 뉴클레오타이드 포스포릴라제는 인간에서 Uniprot 번호 P00491의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0019] 상기 D-도파크롬 데카르복실라제는 카르복시기제거(decarboxylation)에 의한 D-도파크롬의 토토머화를 촉매하여 5,6-디히드록시인돌(dihydroxyindole)을 생성할 수 있다. 상기 D-도파크롬 데카르복실라제는 인간에서 Uniprot 번호 P30046의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0020] 상기 코악토신-유사 단백질은 칼슘-비의존적 방식으로 F-액틴에 결합할 수 있다. 상기 코악토신-유사 단백질은 인간에서 Uniprot 번호 Q14019의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0021] 상기 아데닐레이트 키나제 동종효소 1은 ATP 및 AMP 간의 말단 인산기의 가역적 전달을 촉매할 수 있다. 상기 아데닐레이트 키나제 동종효소 1은 인간에서 Uniprot 번호 P00568의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0022] 상기 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-1은 대부분의 세포내 단백질의 단백질성 분해에 관련된 20S 코어 프로테아좀 복합체의 구성성분이다. 상기 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-1은 인간에서 Uniprot 번호 P20618의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0023] 상기 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7은 대부분의 세포내 단백질의 단백질성 분해에 관련된 20S 코어 프로테아좀 복합체의 구성성분이다. 상기 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7은 인간에서 Uniprot 번호 014818의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0024] 상기 Rho GDP-해리 저해제 1은 Rho 단백질에서 GDP의 해리를 저해함으로써 GDP/GTP 교환 반응을 조절할 수 있다. 상기 Rho GDP-해리 저해제 1은 인간에서 Uniprot 번호 P52565의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0025] 상기 혈소판 당단백질 V는 von Willebrand factor(vWF) 수용체로 기능하는 GPIb-V-IX 복합체의 구성성분으로서 혈관벽에 vWF-의존적 혈소판 부착을 매개할 수 있다. 상기 혈소판 당단백질 V는 인간에서 Uniprot 번호 P40197의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0026] 상기 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-5는 대부분의 세포내 단백질의 단백질성 분해에 관련된 20S 코어 프로테아좀 복합체의 구성성분이다. 상기 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-5는 인간에서 Uniprot 번호 P28074의 아미노산

서열을 포함할 수 있다.

- [0027] 상기 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f는 GRB2 및 GRB7을 포함한 하류 신호전달 경로에서 역할을 할 수 있다. 상기 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f는 인간에서 Uniprot 번호 Q5SQ64의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0028] 상기 티오세포스포스페이트 이성질화효소는 포도당신생과정(gluconeogenesis)에 관련된 것일 수 있다. 상기 티오세포스포스페이트 이성질화효소는 인간에서 Uniprot 번호 P60174의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0029] 상기 비스포스포글레세레이트 무타제는 2,3-비스포스포글레세레이트(bisphosphoglycerate)의 수준을 조절함으로써 헤모글로빈 산소 친화도를 조절하는 기능을 할 수 있다. 상기 비스포스포글레세레이트 무타제는 인간에서 Uniprot 번호 P07738의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0030] 상기 플라빈 리덕타제(NADPH)는 다양한 플라빈의 NADPH-의존성 환원을 촉매할 수 있다. 상기 플라빈 리덕타제(NADPH)는 인간에서 Uniprot 번호 P30043의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0031] 상기 헤모글로빈 서브유닛 델타는 폐로부터 다양한 말초 조직으로 산소 전달에 관여할 수 있다. 상기 헤모글로빈 서브유닛 델타는 인간에서 Uniprot 번호 P02042의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0032] 상기 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 2는 인슐린-유사 성장 인자-매개 성장 및 발생을 저해할 수 있다. 상기 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 2는 인간에서 Uniprot 번호 P18065의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0033] 상기 합토클로빈-연관 단백질은 아포리포단백질 L-I(apoL-I)-함유 고밀도 지질단백질(HDL)과 연관된 유인원-특이적 혈장 단백질일 수 있다. 상기 합토클로빈-연관 단백질은 인간에서 Uniprot 번호 P00739의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0034] 상기 Ig 카파 사슬 C 영역은 면역글로불린 중쇄의 불변 영역일 수 있다. 상기 Ig 카파 사슬 C 영역은 인간에서 Uniprot 번호 P01834의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0035] 상기 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 복합체 산 불안정성 서브유닛은 단백질 복합체, 수용체-리간드 결합 또는 세포의 부착과 관련된 단백질 간 상호작용에 관련될 수 있다. 상기 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 복합체 산 불안정성 서브유닛은 인간에서 Uniprot 번호 P35858의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0036] 상기 엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리 멤버 2는 세포의 액체에서 리소포스포지질을 가수분해하여 리소포스파티드산(lysophosphatidic acid: LPA)을 생성할 수 있다. 상기 엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리 멤버 2는 인간에서 Uniprot 번호 Q13822의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0037] 상기 Ig 감마-3 사슬 C 영역은 면역글로불린 중쇄의 불변 영역일 수 있다. 상기 Ig 감마-3 사슬 C 영역 인간에서 Uniprot 번호 P01860의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0038] 상기 Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len은 항원 인식에 관련된 면역글로불린 경쇄의 가변 도메인의 V 영역일 수 있다. 상기 Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len은 인간에서 Uniprot 번호 P01625의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0039] 상기 Ig 카파 사슬 V-III 영역 CLL은 항원 인식에 관련된 면역글로불린 경쇄의 가변 도메인의 V 영역일 수 있다. 상기 Ig 카파 사슬 V-III 영역 CLL은 인간에서 Uniprot 번호 P04207의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0040] 상기 Ig 감마-1 사슬 C 영역은 면역글로불린 중쇄의 불변 영역일 수 있다. 상기 Ig 감마-1 사슬 C 영역은 인간에서 Uniprot 번호 P01857의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0041] 상기 펩티다제 저해제 16은 심장근육세포의 성장을 저해할 수 있다. 상기 펩티다제 저해제 16은 인간에서 Uniprot 번호 Q6UXB8의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0042] 상기 단백질 FAM3C는 망막 박판(retinal laminar) 형성에 관여될 수 있고 상피의 중간엽 전이를 촉진할 수 있다. 상기 단백질 FAM3C는 인간에서 Uniprot 번호 Q92520의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0043] 상기 포스파티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D는 포스파티딜이노시톨 글리칸에 의해 매달려있는(anchored) 단백질에서 이노시톨 포스페이트 연결을 가수분해하여 막에서 상기 단백질을 방출시키는 기능을 할 수 있다. 상기 포스파티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D는 인간에서 Uniprot 번호 P80108의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

- [0044] 상기 단편(fragment)은 상기 단백질의 일부로서, 면역원성 폴리펩티드일 수 있다.
- [0045] 상기 조성물은 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 지방산-결합 단백질, 심장; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 비스포스포글레세리이트 무타제; 헤모글로빈 서브유닛 델타; 합도글로빈-연관 단백질; Ig 카파 사슬 C 영역; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; 및 펩티다제 저해제 16으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 체제를 포함하고, 급성 심근경색을 진단하기 위한 것일 수 있다. 상기 조성물은 정상 대조군 및 안정형 협심증으로부터 급성 심근경색을 구별하여 급성-심근경색을 정확도 높게 진단하는데 사용될 수 있다.
- [0046] 상기 조성물은 단백질 FAM3C 및 포스포타디일노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 체제를 포함하고, 안정형 협심증을 진단하기 위한 것일 수 있다. 상기 조성물은 정상 대조군 및 급성 심근경색으로부터 안정형 협심증을 구별하여 안정형 협심증을 정확도 높게 진단하는데 사용될 수 있다.
- [0047] 상기 조성물은 크레아틴 키나제 M-타입 및 액토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스터라제 패밀리 멤버 2로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 체제를 포함하고, 급성 심근경색 및 안정형 협심증 중 어느 하나를 진단하기 위한 것일 수 있다. 상기 조성물은 급성 심근경색과 안정형 협심증을 정확도가 높게 구별하여 진단하는데 사용될 수 있다.
- [0048] 상기 체제는 상기 단백질 또는 이의 단편에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편일 수 있다. 상기 항체는 폴리클론 항체 또는 모노클론 항체일 수 있다. 용어 "항체(antibody)"는 용어 "면역글로불린(immunoglobulin)"과 상호교환적으로 사용될 수 있다. 상기 항체는 폴리클론 항체 또는 모노클론 항체일 수 있다. 상기 항체는 전장 항체일 수 있다. 상기 항원 결합 단편은 항원 결합 부위를 포함하는 폴리펩티드를 말한다. 상기 항원 결합 단편은 단일-도메인 항체(single-domain antibody), Fab, Fab', 또는 scFv일 수 있다. 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 고체 지지체에 부착된 것일 수 있다. 상기 고체 지지체는 예를 들어, 금속 칩, 플레이트, 또는 웰(well)의 표면이다.
- [0049] 상기 체제는 상기 단백질 또는 이의 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오티드와 동일하거나 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산일 수 있다. 상기 핵산은 프라이머 또는 프로브일 수 있다. 상기 프라이머 또는 프로브는 그의 말단 또는 내부에 형광 물질, 화학발광물질(chemiluminescent) 또는 방사성 동위원소 등으로 표지된 것일 수 있다.
- [0050] 다른 양상은 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 체제를 포함하는 심혈관 질환 진단용 키트로서, 상기 단백질은 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 만노실-올리고사카라이드 1,2-알파-만노시다제 IA; 지방산-결합 단백질, 심장; 크레아틴 키나제 M-타입; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; 단백질 데글리카제 DJ-1; 코펠린-1; 퓨린 뉴클레오티드 포스포릴라제; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 혈소판 당단백질 V; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-5; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 티오세포스포에이트 이성질화효소; 비스포스포글레세리이트 무타제; 플라빈 리덕타제(NADPH); 헤모글로빈 서브유닛 델타; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 2; 합도글로빈-연관 단백질; Ig 카파 사슬 C 영역; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 복합체 산 불안정성 서브유닛; 액토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스터라제 패밀리 멤버 2; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; Ig 카파 사슬 V-III 영역 CLL; Ig 감마-1 사슬 C 영역; 펩티다제 저해제 16; 단백질 FAM3C; 및 포스포타디일노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D로 이루어진 군으로부터 선택된 키트를 제공한다.
- [0051] 상기 키트는 심혈관 질환의 진단에 필요한 시료를 더 포함할 수 있다. 상기 키트는 고체 지지체, 항체 또는 항원 결합 단편의 면역학적 검출을 위하여 기질, 적합한 완충용액, 발색 효소, 형광물질로 표지된 2차 항체, 또는 발색 기질을 포함할 수 있다. 상기 키트는 핵산 검출을 위하여, 중합효소, 완충제, 핵산, 조효소, 형광물질, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 상기 중합 효소는 예를 들어 Taq 중합효소이다.
- [0052] 다른 양상은 심혈관 질환에 걸리거나 심혈관 질환에 걸릴 확률이 높은 것으로 의심되는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 단계로서,
- [0053] 상기 단백질은 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 만노실-올리고사카라이드 1,2-알파-만노시다제

IA; 지방산-결합 단백질, 심장; 크레아틴 키나제 M-타입; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; 단백질 테글리카제 DJ-1; 코필린-1; 퓨린 뉴클레오타이드 포스포릴라제; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 혈소판 당단백질 V; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-5; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 티오세포스포스페이트 이성질화효소; 비스포스포글레세리이트 무타제; 플라빈 리덕타제(NADPH); 헤모글로빈 서브유닛 델타; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 2; 합토클로빈-연관 단백질; Ig 카파 사슬 C 영역; 인슐린-유사 성장 인자-결합 단백질 복합체 산 불안정성 서브유닛; 엑토뉴클레오타이드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리 멤버 2; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; Ig 카파 사슬 V-III 영역 CLL; Ig 감마-1 사슬 C 영역; 펩티다제 저해제 16; 단백질 FAM3C; 및 포스포티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 단계; 및

- [0054] 상기 측정된 발현 수준을 정상 대조군의 단백질 발현 수준과 비교하는 단계를 포함하는 심혈관 질환의 진단을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0055] 상기 방법은 심혈관 질환에 걸리거나 심혈관 질환에 걸릴 확률이 높을 것으로 의심되는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 단백질 또는 이의 단편의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함한다.
- [0056] 상기 개체는 포유동물, 예를 들면, 인간, 소, 말, 돼지, 개, 양, 염소, 또는 고양이일 수 있다. 상기 개체는 심혈관 질환에 걸리거나 심혈관 질환에 걸릴 확률이 높을 것으로 의심되는 개체일 수 있다.
- [0057] 상기 생물학적 시료는 상기 개체로부터 수득된 시료를 말한다. 상기 생물학적 시료는 예를 들면 혈액, 혈장, 혈청, 골수액, 림프액, 타액, 누액, 점막액, 양수, 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0058] 상기 측정하는 단계는 상기 생물학적 시료와, 상기 단백질 또는 이의 단편에 특이적으로 결합하는 항체를 인큐베이전시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0059] 상기 측정하는 단계는 전기영동, 면역블로팅, 효소 결합 면역흡착 분석법(enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA), 단백질 칩, 면역침강, 마이크로어레이, 노던(Northern) 블로팅, 폴리머라제 증폭 반응(polymerase chain reaction: PCR), 또는 이들의 조합으로 수행될 수 있다. 상기 전기영동은 SDS-PAGE, 등전점 전기영동, 2차원 전기영동, 또는 이들의 조합일 수 있다. 상기 PCR은 실시간 PCR 또는 역전사 PCR일 수 있다.
- [0060] 상기 측정된 발현 수준을 정상 대조군의 단백질 발현 수준과 비교하는 단계를 포함한다.
- [0061] 상기 정상 대조군은 건강한 사람이거나 심혈관 질환에 걸리지 않은 개체로서 음성 대조군을 의미한다.
- [0062] 상기 방법은 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 지방산-결합 단백질, 심장; 백혈구 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리 저해제 2; D-도파크롬 데카르복실라제; 코악토신-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; Rho GDP-해리 저해제 1; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 비스포스포글레세리이트 무타제; 헤모글로빈 서브유닛 델타; 및 합토클로빈-연관 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 증가한 경우, 상기 개체는 급성 심근경색에 걸리거나 급성 심근경색에 걸릴 확률이 높을 것으로 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0063] 상기 방법은 Ig 카파 사슬 C 영역; Ig 감마-3 사슬 C 영역; Ig 카파 사슬 V-IV 영역 Len; 및 펩티다제 저해제 16으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 감소한 경우, 상기 개체는 급성 심근경색에 걸리거나 급성 심근경색에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0064] 상기 방법은 단백질 FAM3C 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 증가한 경우, 상기 개체는 안정형 협심증에 걸리거나 안정형 협심증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0065] 상기 방법은 포스포티딜이노시톨-글리칸-특이적 포스포리파제 D 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 감소한 경우, 상기 개체는 안정형 협심증에 걸리거나 안정형 협심증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0066] 상기 방법은 크레아틴 키나제 M-타입 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 증가한 경우, 급성 심근경색에 걸리거나 급성 심근경색에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하고, 및 크레아틴 키나제 M-타입 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 감소한 경우, 안정형 협심증에 걸리거나 안정형 협심증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다. 크레아틴 키나제 M-타입 또는 이의 단편의 측

정된 발현 수준을 통해 급성 심근경색과 안정형 협심증을 정확도 높게 진단할 수 있다.

[0067] 상기 방법은 엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스터라제 패밀리의 멤버 2 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 증가한 경우, 안정형 협심증에 걸리거나 안정형 협심증에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하고, 및 엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스터라제 패밀리의 멤버 2 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준이 정상 대조군에 비해 감소한 경우, 급성 심근경색에 걸리거나 급성 심근경색에 걸릴 확률이 높은 것으로 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다. 엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스터라제 패밀리의 멤버 2 또는 이의 단편의 측정된 발현 수준을 통해 급성 심근경색과 안정형 협심증을 정확도 높게 진단할 수 있다.

발명의 효과

[0068] 일 양상에 따른 심혈관 질환, 예를 들어 급성 심근경색 및 안정형 협심증의 진단을 위한 조성물, 키트, 및 이를 이용한 진단 방법에 따르면, 심혈관 질환, 예를 들어 급성 심근경색 및 안정형 협심증을 간편하고, 높은 정확도 및 특이도로 진단하는데 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0069] 도 1은 각 군의 감소된 혈청 시료에 대해 고성능 액체 크로마토그래피를 수행한 결과를 나타내는 그래프이다(x 축: 시간(분), y 축: 질량 흡광도 단위(milli Absorbance Unit: mAU)).

도 2는 정상 대조군, 안정형 협심증, 및 급성 심근경색의 혈청 시료에서 겔을 분자량에 의해서 분획하기 전후의 SDS-PAGE 겔 이미지이다(좌: 전체 겔, 우: 분획된 겔, M: 크기 마커(kDa)).

도 3은 정상 대조군, 안정형 협심증, 및 급성 심근경색의 혈청 시료에서 동정된 단백질의 수를 나타낸 벤 다이어그램이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0070] 이하 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0071] 실시예 1. 안정형 협심증 및 급성 심근 경색 환자에서 차등 발현된 단백질의 확인

[0072] 1. 시료의 수집

[0073] 고려대학교 안암병원으로부터 안정형 협심증, 급성 심근 경색 환자의 혈청시료를 각각 4개씩 수집하였다. 안정형 협심증 또는 급성 심근 경색으로 진단되지 않은 정상인의 혈청 시료 4개를 음성 대조군으로서 획득하였다.

[0074] 혈청 시료의 단백질 분해 또는 변형을 막기 위해, 혈청을 수득한 직후에 수득된 혈청에 단백질 분해효소 저해제로서 cOmplete, Mini EDTA-free 프로테아제 저해제 콕테일(Roche) 및 포스파타아제 저해제로서 PhosSTOP(Roche)을 첨가하였다. 상기 저해제는 제조자의 프로토콜에 따라 1개의 정제를 200 μ l의 인산완충식염수(phosphate buffered saline: PBS)에 녹여 50 X로 만든 후, 각 시료에 저해제의 최종 농도 1.5 X가 되도록 첨가하였다. 저해제를 첨가한 혈청 시료를 정량하고, 동일한 양으로 각각의 그룹을 풀링(pooling)하여 정량을 수행한 후 실험에 사용하기 전까지 -80℃에서 보관하였다.

[0075] 2. 혈청 시료의 감소(depletion)

[0076] 알부민이나 면역글로불린 G와 같이 혈청에 다량 존재한 단백질을 제거하기 위해, 수득된 혈청 시료를 감소하였다.

[0077] 구체적으로, 1. 에서 수득된 풀링한 혈청 시료의 최소량인 62.5 μ g/ μ l의 농도로 준비하고, 동일한 조건에서 실험을 수행하였다 준비된 혈청 시료를 제조사에서 제공하는 완충액으로 6배 희석하고, 희석된 시료를 0.22 μ m 스피너 필터에 여과하였다. 여과된 100 μ l의 시료를 Multiple Affinity Removal System(MARS) 14 컬럼(Agilent)에 주입하고, 제조자의 매뉴얼에 따라 고성능 액체 크로마토그래피를 수행하여 시료를 감소하였다. 14종의 다량 존재하는 단백질들 (알부민, 면역글로불린 G, 알파-1-항트립신, 면역글로불린 A, 트랜스페린, 합토클로빈, 피브리노겐, 알파-2-마크로글로불린, 알파-1-산성당단백질, 면역글로불린 M, 아포지질단백질 A-I, 아포지질단백질 A-II, 보체 단백질 C3, 트랜스타이레틴)이 제거된 여과물을 각각 수집하였다. 혈청 시료마다 수집된 여과물들에서 중 단백질의 양이 비슷한지 확인하기 위해, 수득된 여과물에 대해 실시간으로 자외선 흡광도를 측정하였고, 그 결과를 도 1에 나타내었다(초록색 선: 여과물의 수집이 시작되는 시점을 나타냄. 빨간색 선: 여과물의 수집이 끝

나는 시점을 나타냄).

[0078] **3. 감소된 혈청 시료의 농축 및 정량**

[0079] 3k 원심분리 필터(Amicon Ultra, Millipore)에 400 μ l의 물(HPLC 등급, J.T Baker)로 2회 및 400 μ l의 10 mM Tris 완충액(pH 8.0)을 2회 가하여 필터를 준비하였다.

[0080] 2.에서 감소된 혈청 시료를 10 mM Tris 완충액으로 5배 희석하였다. 희석된 시료를 준비된 필터에 가한 후, 14000x g의 속도로 10℃에서 10분 동안 원심분리하여 시료를 농축하였다. 그 후 시료가 포함된 필터를 10 mM Tris 완충액으로 5회 세척하였다. 새로운 튜브에 세척 후 농축된 시료가 함유된 필터를 뒤집어서 끼운 후, 3000x g의 속도로 10℃에서 2분 동안 원심분리하여 농축된 시료를 회수(recovery)하였다.

[0081] 회수된 시료를 비신크로닉산(bicinchoninic acid: BCA) 분석법으로 정량하였다.

[0082] **4. 질량 분석을 위한 시료 준비 및 겔 내 분해(In-gel digestion)**

[0083] 프로테옴 분석을 위해, 3.에서 수득된 각 그룹별로 풀링된 시료 90 μ g을 NuPAGE 겔(4 내지 12%의 Bis-Tris 겔, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 분자량에 따라 분리하였다. 겔을 쿠마시 브릴리언트 블루(Coomassie Brilliant Blue R-250)로 염색하였다. 풀링된 각각의 시료에 대하여 염색된 겔을 14개의 조각(slice)으로 나누고, 각각의 겔 조각을 마이크로 원심분리 튜브에 옮겼다. 각각의 겔 조각에 함유된 단백질을 56℃에서 이황화 결합을 환원시킨 후, 25℃의 어두운 환경에서 알킬화시키고, 트립신으로 밤새 분해하였다. 이어서, 67%의 아세토니트릴(acetonitrile: ACN)/5%의 포름산(formic acid: FA)(Wako Pure Chemicals, Osaka, Japan) 용액에서 펩티드를 추출하고 Speedvac에서 건조시킨 후 20 μ l의 0.4%(v/v) 아세트산에 용해시켰다.

[0084] 염색된 겔의 이미지에서 질량 분석에 의한 단백질 동정을 위해 분자량에 따라 분획한 겔의 이미지를 도 2에 나타내었다(좌: 전체 겔, 우: 분획된 겔).

[0085] **5. 질량 스펙트럼 분석**

[0086] 4.에서 수득한 각각의 시료 10 μ l를 Eksigent MDLC 시스템(Eksigent Technologies Dublin, CA, USA) 상에서 역상 Magic C₁₈AQ 컬럼(15 cm X 75 μ m)에 주입하였다. 상기 컬럼을 95%의 버퍼 A(0.2%의 포름산을 함유하는 100%의 물)와 5%의 버퍼 B(0.2%의 포름산을 함유하는 100%의 ACN)를 혼합한 버퍼로 평형화시켰다. 작업 유속은 다음의 구배 조건에서 0.3 μ l/분(min)으로 하였다: 0분 92% 버퍼 A 및 8% 버퍼 B, 0 내지 80분 8 내지 30 % B, 80 내지 85분 30 내지 40% B, 85 내지 90분 40 내지 80% B, 90 내지 95분 80% B, 95 내지 100분 80 내지 5% B, 100 내지 110분 5% B. 나노 HPLC 시스템을 LTQ XL-Orbitrap 질량 스펙트로미터(Thermo Scientific, San Jose, CA, USA)에 장착하였다. 분무 전압(spray voltage)은 2.0 kV로 설정하였으며, 가열된 모세관의 온도는 250℃로 설정하였다. 조사 전체-스캔 MS 스펙트라(Survey full-scan MS spectra)(300 내지 2,000 m/z)를 1 마이크로스캔(microscan) 및 100,000의 해상도(resolution)로 수득하여, 선도물질(precursor)을 선별하고 전하 상태 측정을 위한 미리보기 모드를 설정하였다. 미리보기 조사 스캔로부터 10 개의 가장 강력한 이온에 대한 MS/MS 스펙트라를 하기와 같은 옵션으로 전체 스캔에 대한 이온 트랩에서 수득하였다: 분리 간격(isolation width), 2 m/z(질량 대 전하); 표준화된 충돌 에너지(collision energy), 35%; 동적 배제 시간(dynamic exclusion duration), 240 초(sec). +1 전하 및 전하 상태가 정해지지 않은 갖는 선도 물질은 데이터-종속적으로(data-dependent) 수득하는 동안 폐기하였다. 동적 배제의 반복 수는 1, 배제 시간은 4분, 및 반복 시간은 30초(s)로 설정하였다.

[0087] 각각의 LC-MS/MS 파일을 프로테옴 Discoverer 1.4의 Sequest 알고리즘 (Thermo Scientific Inc., San Jose, CA, USA)을 이용하여 분석하였다. MS 및 MS/MS 데이터를 SwissProt 인간 데이터베이스(August 2016)와 비교 조사하였다. 조사는 두 개의 미절단(missed cleavages) 트립신 분해된 펩티드(triptic peptide)를 허용하는 것으로 제한하였다. 시스테인(cysteine)의 카르보아미도메틸화(carboamidomethylation)를 고정된 수식화(+57.021 Da)로, 메티오닌 산화(methionine oxidation)를 유동형 수식화 (+15.995 Da)로 설정하였다. 질량 허용 범위(mass tolerance)를 MS/MS 데이터에 대하여 0.5 Da 및 MS 데이터에 대하여 15 ppm으로 설정하였다. 펩티드 지정에 사용된 기준은 다음과 같다: 1 내지 8 범위의 각각의 전하 상태에 대한 최소 XCorr 수치는 각각 1.50, 2.0, 2.25, 2.5, 2.75, 3.0, 3.2, 및 3.4이었다. 디코이(decoy) 데이터 베이스 조사를 위해, 0.01의 엄격한 오류 발견 비율(False Discovery Rate: FDR)과 0.05의 완화된 FDR, 총 두 개의 목표 수치를 적용하였다. 모든 단백질은 2개 이상의 일치하는 펩티드를 이용하여 동정하였다.

[0088] **6. 라벨 프리(Label-free) 정량 분석**

[0089] 안정형 심근경색, 급성심근경색, 대조군 시료에 존재하는 단백질들의 상대적인 존재량을 표준화된 스펙트럼 존재 인자(normalized spectral abundance factor: NSAF)에 기초하여 계산하였다. 프로테오 Discoverer 1.4 소프트웨어(Thermo Scientific Inc., San Jose, CA, USA)를 사용하여 스펙트럼의 수(단백질과 일치하는 MS/MS 스펙트럼의 수)를 추출하였다. 이어서, 각각의 단백질에 대한 NSAF를 하기 수식으로 계산하였다:

$$(\text{NSAF})_k = \frac{(\text{SpC/L})_k}{\sum_{i=1}^N (\text{SpC/L})_i}$$

[0090]

[0091] 단백질 k (SpC)의 펩티드와 일치하는 MS/MS 스펙트럼의 총 수를 단백질의 길이(L)로 나눈 다음, 모든 N 단백질에 대한 SpC/L의 합으로 나누었다. NSAF를 계산하기 위하여 단백질이 존재하지 않거나 또는 검출 한계 이하인 경우에도 영점(null) 수치를 보상하고, 안정형 협심증, 급성 심근경색, 대조군의 풀링된 시료 사이의 배수 차이를 계산하기 위하여 모든 스펙트럼 카운트에 0.5의 수치를 더하였다. 안정형 협심증, 급성 심근경색, 대조군의 풀링된 시료의 3회 반복으로부터 얻은 NSAF 수치에 대하여 Benjamini-Hochberg 방식을 이용한 fdr-보정된 (adjusted) p-값을 구하여, fdr-보정된 p-값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

[0092] 7. 안정형 협심증, 급성심근경색과 관련된 단백질의 동정

[0093] 펩티드의 질량 스펙트럼 분석으로부터, 각각의 풀링된 안정형 협심증, 급성 심근경색, 대조군 시료에서 총 275, 317 및 256 종의 단백질을 동정하였다. 도 3은 각각의 시료에서 동정된 단백질의 수를 뱀 다이어그램으로 나타낸 것이다.

[0094] 도 3에 나타난 바와 같이, 안정형 협심증 풀링 시료에서만 확인된 단백질은 다음과 같다: 피브리노겐 베타 사슬 (피브리노겐 베타 사슬); BPI 폴드(fold)-함유 패밀리 B 멤버 1; 단백질 FAM3C; 중합체성 면역글로불린 수용체; 리토스타틴(Lithostathine)-1-알파 프로저(Prolow)-밀도 지질단백질 수용체-연관 단백질 1; N(4)-(베타-N-아세틸글루코스아민일)-L-아스파라기나제; 전압-의존성 칼슘 채널 서브유닛 알파-2/델타-1; 플라코필린(Plakophilin)-1; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-6; Ig 카파 사슬 V-I 영역 Lay; 스캐빈저(Scavenger) 수용체 시스템-풍부 타입 1 단백질 M130; 및 78 kDa 글루코스-조절 단백질.

[0095] 급성 심근경색 풀링 시료에서만 확인된 단백질은 다음과 같다: 미오글로빈; 액틴, 알파 심근(alpha cardiac muscle) 1; 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제, 세포질성; 지방산-결합 단백질, 심장; 백혈구(leukocyte) 엘라스타제 저해제; Rho GDP-해리(dissociation) 저해제 2; 세르핀(Serpin) B3; 필라민(Filamin)-A; D-도파크롬 데카르복실라제(dopachrome decarboxylase); 14-3-3 단백질 시그마; 코악토신(Coactosin)-유사 단백질; 아데닐레이트 키나제 동종효소 1; 글루타민 S-트랜스퍼라제 P; 프로테아좀 서브유닛 알파 타입-7; 뉴클레오시드 디포스페이트 키나제 A; 포스포글리세레이트 무타제(mutase) 2; 과산화물 디스무타제(Superoxide dismutase) [Cu-Zn]; 아넥신(Annexin) A2; 펩티도글리칸 인식 단백질 1; Rho GDP-해리 저해제 1; 아넥신 A1; 트랜스젤린(Transgelin)-2; 알파-에놀라제(enolase); 테나신(Tenascin); 갈렉틴(Galectin)-7; 헤모글로빈 서브유닛 감마-1; 림프구 항원 6 복합체 로커스 단백질 G6f; 베타-에놀라제; 단백질 G6b; P-셀렉틴; 미오신-7; 미오신-2; 14-3-3 단백질 엘스론; 알모듈린(almodulin)-유사 단백질 3; 액틴-연관 단백질 2/3 복합체 서브유닛 4; 갈렉틴(Galectin)-연관 단백질; 피루베이트(Pyruvate) 키나제 PKM; 미오신 경쇄(light) 폴리펩티드 6; 튜불린 알파-1C 사슬; 신장(Elongation) 인자 1-알파 1; 비멘틴(Vimentin); 포스포글리세레이트 키나제 1; 액틴-연관 단백질 2/3 복합체 서브유닛 3; 유비퀴틴-접합 효소 E2 L3; 양이온-비의존성 만노스-6-포스페이트 수용체; 혈관확장제(Vasodilator)-자극성 인단백질; 추정 열충격(heat shock) 70 kDa 단백질 7; 히스톤 H2A 타입 1-H; 시스타틴(Cystatin)-B; ATP 신타제(synthase) 서브유닛 베타, 미토콘드리아성; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-3; 티오레독신(Thioredoxin); 미오트로핀; 트로포미오신 알파-4 사슬; 데스모콜린(Desmocollin)-1; 알파-아밀라제 1; 라텍신(Latexin); 추정 HLA 종류 I 조직접합성(histocompatibility) 항원; 알파 사슬 H, 히스톤 H2B 형 1-K; 프로테아좀 서브유닛 베타 타입-6; 안지오펜(Angiopoietin)-연관 단백질 3; 미엘로퍼옥시다제(Myeloperoxidase); 페르미틴(Fermitin) 패밀리 상동체(homolog) 3; 및 트롬보스폰딘(thrombospondin) 모티프 13 함유 A 디스인테그린(disintegrin) 및 메탈로프로티나제(metalloproteinase).

[0096] 대조군 풀링 시료에서만 확인된 단백질은 다음과 같다: 세로트랜스페린(Serotrnsferrin); Ig 감마-2 사슬 C 영역; Ig 뮤(mu) 중쇄 질환 단백질; 추정(putative) 케라틴-87 단백질; Ig 카파(kappa) 사슬 V-I 영역 Scw; 아포 지질단백질 L1; 알파-1-안티트립신; Ig 람다(lambda) 사슬 V-III 영역 SH; Ig 카파 사슬 V-III 영역 CLL; CD59 당단백질; 및 막 일차 아민 옥시다제(membrane primary amine oxidase).

[0097] 8. 안정형 협심증, 급성심근경색과 관련된 단백질의 분석

[0098] (1) 단백질 분석

[0099] 스펙트럼 계수에 근거한 라벨 프리 정량 분석을 수행하여, fdr-보정된 p-값에 의한 유의도가 높은 단백질(82 중)을 표 1 내지 표 3에 나타내었다(fdr-보정된 p < 0.05).

표 1

[0100]

UniProt No.	유전자	스펙트럼 수 (대조군)			스펙트럼 수 (안정형 협심증)			스펙트럼 수 (급성 심근경색)			fdr-보정된 p-값
P01859	IGHG2	26	22	27	0	0	0	0	0	0	3.9E-08
P02144	MB	0	0	0	0	0	0	56	46	43	1.5E-07
P17174	GOT1	0	0	0	0	0	0	18	17	19	1.5E-07
P0CG05	IGLC2	77	83	79	0	0	0	63	58	46	2.6E-07
P30740	SERPIN B1	0	0	0	0	0	0	10	10	8	1.7E-06
O75594	PGLYRP 1	0	0	0	0	0	0	4	3	3	6.3E-06
P68032	ACTC1	0	0	0	0	0	0	32	50	31	8.3E-06
Q14019	COTL1	0	0	0	0	0	0	6	4	4	1.3E-05
P00568	AK1	0	0	0	0	0	0	6	4	4	1.3E-05
P02787	TF	39	20	23	0	0	0	0	0	0	1.8E-05
P05413	FABP3	0	0	0	0	0	0	18	15	9	3.1E-05
P52566	ARHGDI B	0	0	0	0	0	0	12	6	8	3.1E-05
P01609	IGKV1D -33	5	7	5	0	0	0	0	0	0	3.1E-05
P00488	F13A1	0	0	0	8	6	7	14	13	8	3.5E-05
P21333	FLNA	0	0	0	0	0	0	7	6	4	3.5E-05
P09211	GSTP1	0	0	0	0	0	0	4	4	6	3.5E-05
P04207	IGKV3-15	3	4	3	0	0	0	0	0	0	3.5E-05
P78417	GSTO1	0	0	0	10	6	5	13	12	10	4.7E-05
Q5SQ64	LY6G6F	0	0	0	0	0	0	2	2	3	1.1E-04
Q99497	PARK7	0	0	0	4	4	8	11	6	6	7.1E-04
Q6UXB8	PI16	7	6	3	5	5	6	0	0	0	1.0E-03
P00739	HPR	28	24	30	53	48	59	70	55	62	1.0E-03
O14818	PSMA7	0	0	0	0	0	0	5	5	2	1.4E-03
P68871	HBB	33	32	33	81	60	61	95	74	80	1.9E-03
P52565	ARHGDI A	0	0	0	0	0	0	2	5	3	2.0E-03
Q9UNN8	PROCR	3	3	4	7	4	2	0	0	0	2.2E-03
P35858	IGFALS	110	107	107	62	60	66	54	60	60	3.0E-03

표 2

[0101]

UniProt No.	유전자	스펙트럼 수 (대조군)			스펙트럼 수 (안정형 협심증)			스펙트럼 수 (급성 심근경색)			fdr-보정된 p-값
P30046	DDT	0	0	0	0	0	0	8	6	2	4.3E-03
P80108	GPLD1	28	18	24	5	8	6	22	27	21	4.3E-03
P05452	CLEC3B	75	78	87	67	73	70	66	59	61	4.5E-03
P33908	MAN1A1	0	0	0	2	0	0	16	13	14	5.1E-03
P01011	SERPIN A3	433	379	464	615	518	565	438	407	410	5.1E-03
P69905	HBA1	34	23	32	112	115	90	235	149	103	5.6E-03
Q92520	FAM3C	0	0	0	2	2	6	0	0	0	5.8E-03
P06732	CKM	3	0	0	0	0	0	28	37	29	5.9E-03
P01876	IGHA1	44	49	81	33	24	31	13	17	18	7.0E-03

P07358	C8B	75	68	94	84	92	75	52	56	48	7.2E-03
P00918	CA2	6	11	10	25	18	26	34	36	38	8.3E-03
P01024	C3	175	181	175	125	124	104	209	242	217	1.0E-02
P03951	F11	27	14	33	9	6	6	8	5	5	1.1E-02
P18065	IGFBP2	0	0	0	10	7	9	0	0	2	1.2E-02
P40925	MDH1	0	0	0	3	3	0	15	17	20	1.2E-02
P30043	BLVRB	11	7	18	33	30	33	40	31	40	1.2E-02
P02042	HBD	14	21	17	40	32	30	46	43	41	1.2E-02
P01031	C5	468	489	526	373	402	362	352	369	391	1.4E-02
P20618	PSMB1	0	0	0	7	2	6	3	2	7	1.4E-02
P02656	APOC3	12	11	10	8	7	8	5	5	3	1.5E-02
P02741	CRP	6	12	11	8	12	9	28	35	30	1.8E-02
P02751	FN1	1040	1051	851	567	611	602	421	538	462	1.8E-02
P01625	IGKV4-1	13	12	10	10	5	9	3	3	4	1.8E-02
P01857	IGHG1	37	29	45	0	0	0	9	0	0	2.2E-02
P01834	IGKC	150	183	156	139	97	118	91	87	89	2.3E-02
P23528	CFL1	0	0	0	0	0	2	6	5	6	2.4E-02
P00491	PNP	0	0	0	2	0	0	7	5	4	2.4E-02
P28074	PSMB5	0	0	2	5	9	7	6	9	7	2.4E-02
P07357	C8A	35	42	47	46	50	47	38	33	34	2.5E-02
Q6EMK4	VASN	9	6	10	10	11	9	6	6	5	2.6E-02

표 3

UniProt No.	유전자	스펙트럼 수 (대조군)			스펙트럼 수 (안정형 협심증)			스펙트럼 수 (급성 심근경색)			fdr-보정된 p-값
P01860	IGHG3	50	40	73	40	39	35	17	26	12	2.6E-02
Q9NZP8	C1RL	20	17	21	16	17	17	13	10	15	2.8E-02
P00338	LDHA	0	0	0	3	3	0	8	10	8	2.8E-02
P04275	VWF	62	56	46	39	29	34	25	30	25	2.8E-02
B9A064	IGLL5	64	56	74	77	78	65	43	54	40	2.9E-02
P60709	ACTB	29	41	32	44	46	40	68	79	68	3.0E-02
P05155	SERPIN G1	234	227	263	210	192	209	234	237	235	3.3E-02
P60174	TP11	8	8	4	15	19	17	27	24	19	3.4E-02
P17936	IGFBP3	18	24	27	15	13	13	20	15	14	3.5E-02
Q14520	HABP2	27	26	33	28	31	26	20	22	15	3.7E-02
P36955	SERPIN F1	98	75	87	62	44	58	60	62	62	4.4E-02
P40197	GP5	0	0	3	11	13	5	7	11	12	4.5E-02
P00740	F9	55	51	55	56	49	35	37	34	31	4.5E-02
P06681	C2	62	63	68	76	89	82	95	95	86	4.6E-02
P07225	PROS1	88	95	91	69	66	69	66	61	79	4.6E-02
P01042	KNG1	280	225	331	247	212	268	222	191	198	4.7E-02
P39059	COL15A 1	0	2	0	4	4	3	0	0	0	4.7E-02
P32119	PRDX2	17	14	15	21	21	21	25	25	21	4.7E-02
Q08380	LGALS3 BP	11	16	15	9	8	9	10	9	11	4.7E-02
Q13822	ENPP2	2	0	0	3	3	4	0	0	0	4.7E-02
P07996	THBS1	146	134	126	100	95	104	143	152	161	4.8E-02
P02790	HPX	838	706	856	683	694	744	720	675	680	4.8E-02
P04217	A1BG	142	115	132	141	156	158	113	111	117	4.9E-02
P07738	BPGM	2	6	3	6	5	4	16	11	12	4.9E-02
P11226	MBL2	14	14	9	7	8	9	3	4	6	5.0E-02

[0103] 그런 후 fdr -보정된 p -값에 의한 유의도가 높은 단백질들에 대하여, 안정형 협심증, 급성 심근경색, 대조군에서 상대적 존재 비율이 ≥ 2 또는 ≤ 0.5 의 차등 발현되는 단백질들을 분석하였다.

[0104] (2) 급성심근경색과 대조군에서의 단백질 분석

[0105] 37종의 단백질은 급성심근경색에서 대조군에 비해 통계적으로 존재량이 많았으며, 19종의 단백질은 존재량이 상대적으로 적었다. 차별적으로 발현되는 단백질의 상대 존재 비율 및 스펙트럼 수는 표 4(급성 심근경색에서 대조군에 비해 2배 이상 높게 발현되는 단백질)와 표 5(급성 심근경색에서 대조군에 비해 0.5배 미만으로 발현되는 단백질)에 나타내었다.

표 4

[0106]

UniProt No.	단백질	유전자	스펙트럼 수 (급성 심근경색)			스펙트럼 수 (대조군)			NSAF 비율 (급성 심근경색/ 대조군)	fdr-보정 된 p-값
P02144	Myoglobin	MB	56	46	43	0	0	0	90.6	1.5E-07
P68032	Actin, alpha cardiac muscle 1	ACTC1	32	50	31	0	0	0	71.6	8.3E-06
P17174	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	GOT1	18	17	19	0	0	0	34.4	1.5E-07
P40925	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	MDH1	15	17	20	0	0	0	33.3	1.2E-02
P33908	Mannosyl-oligo saccharide 1,2-alpha-mann osidase IA	MAN1A1	16	13	14	0	0	0	27.5	5.1E-03
P05413	Fatty acid-binding protein, heart	FABP3	18	15	9	0	0	0	26.9	3.1E-05
P00488	Coagulation factor XIII A chain	F13A1	14	13	8	0	0	0	22.7	3.5E-05
P78417	Glutathione S-transferase omega-1	GSTO1	13	12	10	0	0	0	22.6	4.7E-05
P06732	Creatine kinase M-type	CKM	28	37	29	3	0	0	19.5	5.9E-03
P30740	Leukocyte elastase inhibitor	SERPINE1	10	10	8	0	0	0	18.3	1.7E-06
P00338	L-lactate dehydrogenase A chain	LDHA	8	10	8	0	0	0	17.2	2.8E-02
P52566	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	ARHGDI2	12	6	8	0	0	0	16.9	3.1E-05
Q99497	Protein deglycase DJ-1	PARK7	11	6	6	0	0	0	15.0	7.1E-04
P23528	Cofilin-1	CFL1	6	5	6	0	0	0	11.5	2.4E-02
P21333	Filamin-A	FLNA	7	6	4	0	0	0	11.5	3.5E-05
P00491	Purine nucleoside phosphorylase	PNP	7	5	4	0	0	0	10.8	2.4E-02
P30046	D-dopachrome decarboxylase	DDT	8	6	2	0	0	0	10.8	4.3E-03
P09211	Glutathione S-transferase P	GSTP1	4	4	6	0	0	0	9.6	3.5E-05

Q14019	Coactosin-like protein	COTL1	6	4	4	0	0	0	9.6	1.3E-05
P00568	Adenylate kinase isoenzyme 1	AK1	6	4	4	0	0	0	9.5	1.3E-05
P20618	Proteasome subunit beta type-1	PSMB1	3	2	7	0	0	0	8.4	1.4E-02
014818	Proteasome subunit alpha type-7	PSMA7	5	5	2	0	0	0	8.4	1.4E-03
P52565	Rho GDP-dissociation inhibitor 1	ARHGDIA	2	5	3	0	0	0	7.2	2.0E-03
075594	Peptidoglycan recognition protein 1	PGLYRP1	4	3	3	0	0	0	7.1	6.3E-06
P40197	Platelet glycoprotein V	GP5	7	11	12	0	0	3	7.1	4.5E-02
P28074	Proteasome subunit beta type-5	PSMB5	6	9	7	0	0	2	6.7	2.4E-02
Q5SQ64	Lymphocyte antigen 6 complex locus protein G6f	LY6G6F	2	2	3	0	0	0	5.3	1.1E-04
P69905	Hemoglobin subunit alpha	HBA1	235	149	103	34	23	32	5.0	5.6E-03
P00918	Carbonic anhydrase 2	CA2	34	36	38	6	11	10	3.6	8.3E-03
P60174	Triosephosphate isomerase	TPI1	27	24	19	8	8	4	3.0	3.4E-02
P07738	Bisphosphoglycerate mutase	BPGM	16	11	12	2	6	3	2.9	4.9E-02
P02741	C-reactive protein	CRP	28	35	30	6	12	11	2.9	1.8E-02
P30043	Flavin reductase (NADPH)	BLVRB	40	31	40	11	7	18	2.9	1.2E-02
P68871	Hemoglobin subunit beta	HBB	95	74	80	33	32	33	2.3	1.9E-03
P02042	Hemoglobin subunit delta	HBD	46	43	41	14	21	17	2.3	1.2E-02
P18065	Insulin-like growth factor-binding protein 2	IGFBP2	0	0	2	0	0	0	2.2	1.2E-02
P00739	Haptoglobin-related protein	HPR	70	55	62	28	24	30	2.1	1.0E-03

표 5

[0107]

UniProt No.	단백질	유전자	스펙트럼 수 (급성 심근경색)			스펙트럼 수 (대조군)			NSAF 비율 (급성 심근경색/ 대조군)	fdr-보정 된 p-값
P01834	Ig kappa chain C region	IGKC	91	87	89	150	183	156	0.5	2.3E-02

P35858	Insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit	IGFALS	54	60	60	110	107	107	0.5	3.0E-03
P04275	von Willebrand factor	VWF	25	30	25	62	56	46	0.5	2.8E-02
P02751	Fibronectin	FN1	421	538	462	1040	1051	851	0.4	1.8E-02
Q13822	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 2	ENPP2	0	0	0	2	0	0	0.4	4.7E-02
P02656	Apolipoprotein C-III	APOC3	5	5	3	12	11	10	0.4	1.5E-02
P39059	Collagen alpha-1(XV) chain	COL15A1	0	0	0	0	2	0	0.4	4.7E-02
P11226	Mannose-binding protein C	MBL2	3	4	6	14	14	9	0.3	5.0E-02
P01860	Ig gamma-3 chain C region	IGHG3	17	26	12	50	40	73	0.3	2.6E-02
P01625	Ig kappa chain V-IV region Len	IGKV4-1	3	3	4	13	12	10	0.3	1.8E-02
P01876	Ig alpha-1 chain C region	IGHA1	13	17	18	44	49	81	0.3	7.0E-03
P03951	Coagulation factor XI	F11	8	5	5	27	14	33	0.2	1.1E-02
Q9UNN8	Endothelial protein C receptor	PROCR	0	0	0	3	3	4	0.1	2.2E-03
P04207	Ig kappa chain V-III region CLL	IGKV3-15	0	0	0	3	4	3	0.1	3.5E-05
P01857	Ig gamma-1 chain C region	IGHG1	9	0	0	37	29	45	0.1	2.2E-02
Q6UXB8	Peptidase inhibitor 16	PI16	0	0	0	7	6	3	0.1	1.0E-03
P01609	Ig kappa chain V-I region Scw	IGKV1D-33	0	0	0	5	7	5	0.1	3.1E-05
P01859	Ig gamma-2 chain C region	IGHG2	0	0	0	26	22	27	0.0	3.9E-08
P02787	Serotransferrin	TF	0	0	0	39	20	23	0.0	1.8E-05

[0108] (3) 급성심근경색과 안정형 협심증에서의 단백질 분석

[0109] 26종의 단백질은 급성심근경색에서 안정형 협심증에 비해 통계적으로 존재량이 많았으며, 8종의 단백질은 존재량이 상대적으로 적었다. 차별적으로 발현되는 단백질의 상대 존재 비율 및 스펙트럼 수는 표 6(급성 심근경색에서 안정형 협심증에 비해 2배 이상 높게 발현되는 단백질)과 표 7(급성 심근경색에서 안정형 협심증에 비해 0.5배 미만으로 발현되는 단백질)에 나열하였다.

표 6

UniProt No.	단백질	유전자	스펙트럼 수 (급성 심근경색)			스펙트럼 수 (안정형 협심증)			NSAF 비율 (급성 심근경색/ 안정형 협심증)	fdr-보정된 p-값
POCG05	Ig lambda-2 chain C regions	IGLC2	63	58	46	0	0	0	108.3	2.6E-07

P02144	Myoglobin	MB	56	46	43	0	0	0	94.0	1.5E-07
P68032	Actin, alpha cardiac muscle 1	ACTC1	32	50	31	0	0	0	74.3	8.3E-06
P06732	Creatine kinase M-type	CKM	28	37	29	0	0	0	61.8	5.9E-03
P17174	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	GOT1	18	17	19	0	0	0	35.7	1.5E-07
P05413	Fatty acid-binding protein, heart	FABP3	18	15	9	0	0	0	27.9	3.1E-05
P30740	Leukocyte elastase inhibitor	SERPINB1	10	10	8	0	0	0	19.0	1.7E-06
P52566	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	ARHGDIB	12	6	8	0	0	0	17.5	3.1E-05
P33908	Mannosyl-oligosaccharide 1,2-alpha-mannosidase IA	MAN1A1	16	13	14	2	0	0	12.4	5.1E-03
P21333	Filamin-A	FLNA	7	6	4	0	0	0	11.9	3.5E-05
P30046	D-dopachrome decarboxylase	DDT	8	6	2	0	0	0	11.2	4.3E-03
P09211	Glutathione S-transferase P	GSTP1	4	4	6	0	0	0	10.0	3.5E-05
Q14019	Coactosin-like protein	COTL1	6	4	4	0	0	0	9.9	1.3E-05
P00568	Adenylate kinase isoenzyme 1	AK1	6	4	4	0	0	0	9.9	1.3E-05
014818	Proteasome subunit alpha type-7	PSMA7	5	5	2	0	0	0	8.7	1.4E-03
P52565	Rho GDP-dissociation inhibitor 1	ARHGDIA	2	5	3	0	0	0	7.5	2.0E-03
075594	Peptidoglycan recognition protein 1	PGLYRP1	4	3	3	0	0	0	7.4	6.3E-06
P40925	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	MDH1	15	17	20	3	3	0	7.0	1.2E-02
P01857	Ig gamma-1 chain C region	IGHG1	9	0	0	0	0	0	6.4	2.2E-02
Q5SQ64	Lymphocyte antigen 6 complex locus protein G6f	LY6G6F	2	2	3	0	0	0	5.5	1.1E-04
P23528	Cofilin-1	CFL1	6	5	6	0	0	2	5.0	2.4E-02
P00491	Purine nucleoside phosphorylase	PNP	7	5	4	2	0	0	4.9	2.4E-02
P00338	L-lactate dehydrogenase A chain	LDHA	8	10	8	3	3	0	3.6	2.8E-02
P80108	Phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D	GPLD1	22	27	21	5	8	6	3.4	4.3E-03
P02741	C-reactive protein	CRP	28	35	30	8	12	9	3.0	1.8E-02
P07738	Bisphosphoglycerate mutase	BPGM	16	11	12	6	5	4	2.4	4.9E-02

표 7

UniProt No.	단백질	유전자	스펙트럼 수 (급성 심근경색)			스펙트럼 수 (안정형 협심증)			NSAF 비율 (급성 심근 경색/ 안정형 협심 증)	fdr-보정된 p-값
P01860	Ig gamma-3 chain C region	IGHG3	17	26	12	40	39	35	0.5	2.6E-02
P01625	Ig kappa chain V-IV region Len	IGKV4-1	3	3	4	10	5	9	0.4	1.8E-02
Q13822	Ectonucleotide pyrophosphatase/ phosphodiesterase family member 2	ENPP2	0	0	0	3	3	4	0.1	4.7E-02
Q92520	Protein FAM3C	FAM3C	0	0	0	2	2	6	0.1	5.8E-03
P18065	Insulin-like growth factor-binding protein 2	IGFBP2	0	0	2	10	7	9	0.1	1.2E-02
P39059	Collagen alpha-1(XV) chain	COL15A1	0	0	0	4	4	3	0.1	4.7E-02
Q9UNN8	Endothelial protein C receptor	PROCR	0	0	0	7	4	2	0.1	2.2E-03
Q6UXB8	Peptidase inhibitor 16	PI16	0	0	0	5	5	6	0.1	1.0E-03

(4) 안정형 협심증과 대조군에서의 단백질 분석

20종의 단백질은 안정형 협심증에서 대조군에 비해 통계적으로 존재량이 많았으며, 10종의 단백질은 존재량이 상대적으로 적었다. 차별적으로 발현되는 단백질의 상대 존재 비율 및 스펙트럼 수는 표 8(안정형 협심증에서 대조군에 비해 2배 이상 높게 발현되는 단백질) 및 표 9(안정형 협심증에서 대조군에 비해 0.5배 미만으로 발현되는 단백질)에 나타내었다.

표 8

UniProt No.	단백질	유전자	스펙트럼 수 (안정형 협심증)			스펙트럼 수 (대조군)			NSAF 비율 (안정형 협 심증 / 대조군)	fdr-보정 된 p-값
P18065	Insulin-like growth factor-binding protein 2	IGFBP2	10	7	9	0	0	0	17.6	1.2E-02
P00488	Coagulation factor XIII A chain	F13A1	8	6	7	0	0	0	14.5	3.5E-05
P78417	Glutathione S-transferase omega-1	GSTO1	10	6	5	0	0	0	14.4	4.7E-05
Q99497	Protein deglycase DJ-1	PARK7	4	4	8	0	0	0	11.3	7.1E-04
P20618	Proteasome subunit beta type-1	PSMB1	7	2	6	0	0	0	10.6	1.4E-02
Q92520	Protein FAM3C	FAM3C	2	2	6	0	0	0	7.5	5.8E-03
P40197	Platelet glycoprotein V	GP5	11	13	5	0	0	3	7.0	4.5E-02

P28074	Proteasome subunit beta type-5	PSMB5	5	9	7	0	0	2	6.6	2.4E-02
P00338	L-lactate dehydrogenase A chain	LDHA	3	3	0	0	0	0	4.8	2.8E-02
P40925	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	MDH1	3	3	0	0	0	0	4.8	1.2E-02
P69905	Hemoglobin subunit alpha	HBA1	112	115	90	34	23	32	3.4	5.6E-03
P39059	Collagen alpha-1(XV) chain	COL15A1	4	4	3	0	2	0	3.3	4.7E-02
Q13822	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 2	ENPP2	3	3	4	2	0	0	3.1	4.7E-02
P30043	Flavin reductase (NADPH)	BLVRB	33	30	33	11	7	18	2.6	1.2E-02
P00918	Carbonic anhydrase 2	CA2	25	18	26	6	11	10	2.4	8.3E-03
P60174	Triosephosphate isomerase	TPI1	15	19	17	8	8	4	2.3	3.4E-02
P23528	Cofilin-1	CFL1	0	0	2	0	0	0	2.3	2.4E-02
P33908	Mannosyl-oligosaccharide 1,2-alpha-mannosidase IA	MAN1A1	2	0	0	0	0	0	2.2	5.1E-03
P00491	Purine nucleoside phosphorylase	PNP	2	0	0	0	0	0	2.2	2.4E-02
P68871	Hemoglobin subunit beta	HBB	81	60	61	33	32	33	2.0	1.9E-03

표 9

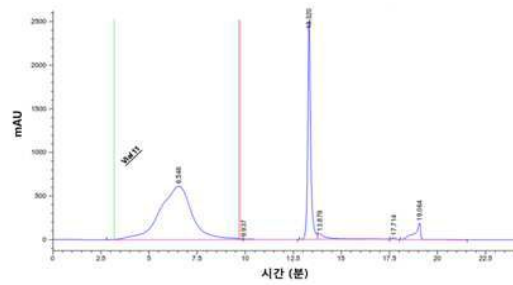
[0115]

UniProt No.	단백질	유전자	스펙트럼 수 (안정형 협심증)			스펙트럼 수 (대조군)			NSAF 비율 (안정형 협심증 / 대조군)	fdr-보정된 p-값
P01876	Ig alpha-1 chain C region	IGHA1	33	24	31	44	49	81	0.5	7.0E-03
P06732	Creatine kinase M-type	CKM	0	0	0	3	0	0	0.3	5.9E-03
P03951	Coagulation factor XI	F11	9	6	6	27	14	33	0.3	1.1E-02
P80108	Phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D	GPLD1	5	8	6	28	18	24	0.3	4.3E-03
P04207	Ig kappa chain V-III region CLL	IGKV3-15	0	0	0	3	4	3	0.1	3.5E-05
P01609	Ig kappa chain V-I region Scw	IGKV1D-33	0	0	0	5	7	5	0.1	3.1E-05
P01859	Ig gamma-2 chain C region	IGHG2	0	0	0	26	22	27	0.0	3.9E-08
P02787	Serotransferrin	TF	0	0	0	39	20	23	0.0	1.8E-05
P01857	Ig gamma-1 chain C region	IGHG1	0	0	0	37	29	45	0.0	2.2E-02
POCG05	Ig lambda-2 chain C regions	IGLC2	0	0	0	77	83	79	0.0	2.6E-07

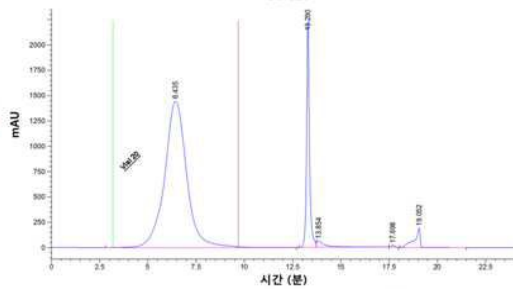
도면

도면1

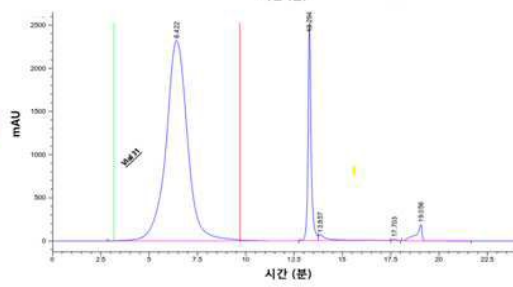
정상 대조군



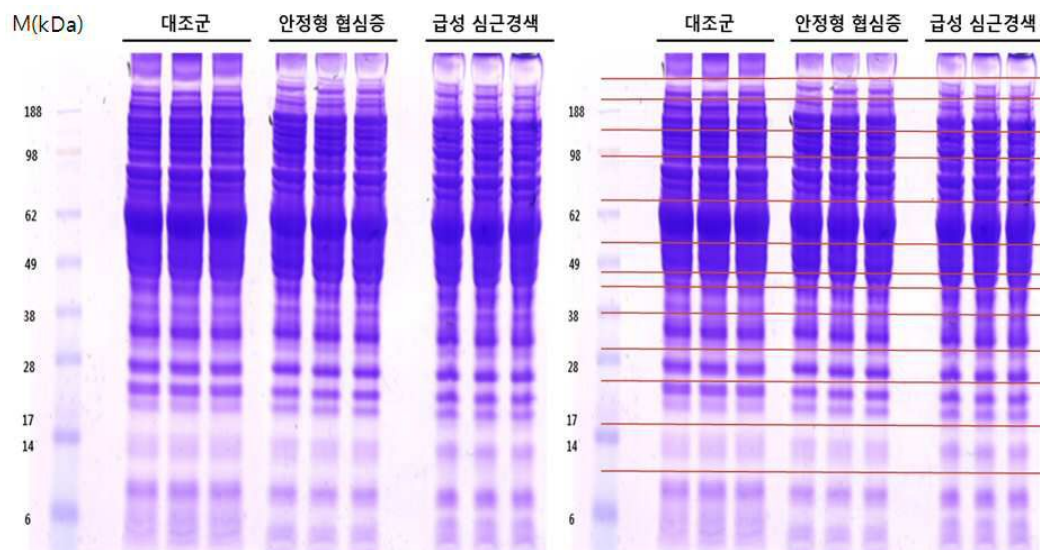
안정형 협심증



급성 심근경색



도면2



도면3

