

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 (43) 공개일자	10-2010-0104930 2010년09월29일
(51) Int. Cl.	(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내 (72) 발명자 홍미숙 서울특별시 종로구 숭인2동 766 청계종로힐스테이트아파트106동 902호 박희준 서울특별시 동대문구 이문동 삼성레미안1차 101동 1102호 (뒷면에 계속) (74) 대리인 전종일		

전체 청구항 수 : 총 7 항

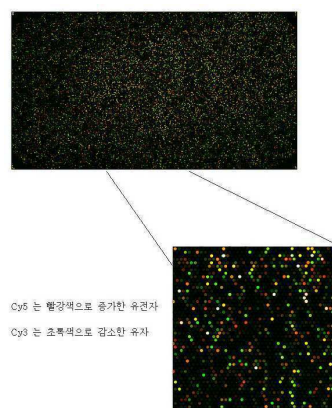
(54) 파킨슨 질환 진단용 cDNA 마이크로어레이 칩, 이를 이용한 파킨슨 질환의 스크리닝방법 및 파킨슨 질환 치료제의 스크리닝 방법

(57) 요약

본 발명은 파킨슨 및 파킨슨유사질환의 동물모델에서 엠피티피(MPTP, 1-methyl-4phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)에 대하여 특이적인 발현 양상을 보이는 유전자를 이용한 cDNA 마이크로어레이 칩, 상기 칩을 이용하여 파킨슨 질환을 스크리닝하는 방법, 및 상기 칩을 이용한 파킨슨 질환 치료제의 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

본 발명에 의하여 파킨슨 관련 질환에 대한 관련성 및 조기 진단 정보를 얻을 수 있으며, 나아가 파킨슨질환에 대한 체계적인 진단 및 예측을 가능하게 하여 유전자 발현과 관련된 치료제 개발에 유용하게 사용할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

정주호

서울특별시 광진구 광장동 332-9 극동빌라 다동
202호

이혜정

경기도 성남시 분당구 이매동 이매촌 동신3단지아
파트 303동 1204호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R11-2005-014

부처명 한국과학재단

연구관리전문기관

연구사업명 우수연구센터지원육성사업

연구과제명 침자극 및 치료기전관련 특이유전자발굴 및 약물유전체학적연구

기여율

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2005년 06월 10일 ~ 2014년 02월 28일

특허청구의 범위

청구항 1

엠티피피(MPTP, 1-methyl-4phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)에 특이적으로 발현양상이 증가되거나 또는 감소되는 유전자를 포함하는 것을 특징으로 하는 파킨슨질환 진단용 마이크로어레이칩.

청구항 2

제1항에 있어서, 엠티피피에 특이적으로 발현양상이 증가되는 유전자는 하기의 표 1로 구성된 군에서 선택한 어느 하나인 것을 특징으로 하는 파킨슨질환 진단용 마이크로어레이칩.

[표 1]

발현양상이 2배이상 증가한 유전자					
Cd74	Gucylb3	Adamts20	Atf7	Otud3	Olf959
Olf1148	Gbp5	Cyp2c70	Creg2	Btd6	Negr1
Ncstn	Nfib	Zmat4	Ins2	Csh2	Camta2
Cdcp1	Olf1226	Unc13b	Tcfcp2	Clec2g	Srcrb4d
Slc35a4	Prss32	Gpr98	Coq6	Ttc15	Blcap
Ppil4	Eif4b	Dnajc17	Mthfs	Adcy1	Epdr2
Egfbp2	Mobkl1a	Gm92	Fmo2	Asc12	Ipmk
Snora69	R3hdm1	Ucn	Olf616	Trak1	Chrna9
Htr5a	Spr2g	Nanos1	Hpsc2	Pcsk1n	Wsb1
P140	Ube4a	Usp48	Tclb2	Ids	Cep78
Agtr11	Acaala	Slc6a11	Birc7	Stard5	Olf711
Cabp7	Crat	Eif2b1	Actr1b	Eif2c3	Fhl3
Psm4	Myold	Bmp2k	Trp53rk	Tbcd4	Vlrj2
Rxfp2	Phxr2	Dnajc5g	Camsap1	Cttn	Olf1463
Sgip1	Mlt6	Galnt2	Capn1	Mnat1	Lrdd
Eya3	Nkx1-2	Slc8a3	Gm166	Olf530	Col9a3
Cstf1	Vlrc4	Scyl1	Dmx12	Zswim5	Scotin
Nat11	Rnase1	Vpreb3	Nos3as	Myod1	Spr1a
Lphn3	Abcb1b	Crim2	Dcald	Mup3	Ppie
Zbtb10	Ctrl	Olf549	Solh	Stambp11	Jarid1a
Evx1	Sass6	Glt1d1	Dmbx1	Folr1	Scgb3a2
Fbxo27	Ssh1	Col25a1	Trak1	Slc2a8	Mib1
Fate1	Ces1	Dppa5	Foxb2	Elmo1	Olf577
Rab33a	Klk1	Fbx16	Abhd7	Ddx58	Mreg
Shank3	Synpo	Scrt1	Katnal1	Lbx2	Mett11d1
Wdr77	Oat11	Mier1	Umps	Trp73	Colec12
Sema5b	Scand1	Il17rd			

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 엠티피피에 특이적으로 발현양상이 감소되는 유전자는 표 2로 구성된 군에서 선택한 어느 하나인 것을 특징으로 하는 파킨슨질환 진단용 마이크로어레이칩.

[표 2]

발현양상이 2배이상 감소한 유전자							
Cxcl5	Rpl39	Dync1li2	Nsun4	Tspan6	Pde4dip	Btd14b	Rpl14
Scd1	Akt3	Ar16ip4	Uck2	Sema6c	Dock9	Pde4dip	Ptpn9
Eaf1	Atf7ip	Plscr2	Vps35	Atp5e	Dut	Gimap4	Phf23
Hras1s3	Hmgal	Plscr1	Slc4a7	Zfp87	Kcnh2	Eea1	Spnb2
Dlgh1	Lef1	Chd3	Pdzn4	Arhgap26	Ttc4	Palm	Tnrc9
Tmem132b	Zmat5	Hspd1	Bmp15	Nt5c2	Pes1	Slk	Tesc
Pacsin1	Ptdss2	Psm12	Thbs1	Paqr6	Cdc5l	Smap1	Polh

Cpt2	Hrb	Atbf1	Garnl3	Krt8	Itpr1	Apln	Cited2
Mak	Npylr	Snw1	Ankrd26	Wsb2	Adamts9	Foxp4	Zfp369
Ptptrt	Lrrc3b	Tmsb10	Psmel	Txndc14	Prkcb1	Cbln1	Tmc4
McpH1	Lct	Sparcl1	Ncl	F8a	Zpbp2	Lrriq2	Mif
Txndc9	Mrpl49	Sin3b	Acdb3	Cart	Nisch	Cbx2	Hmx2
Slc9a1	Rbm10	Ckb	Slc45a4	Igsf1	Rps19bp1	Rbbp6	Ncoa6ip
Hcrt	Dbpht1	Siva	Col8a1	Gmps	Pdia6	Fem1c	Crsp2
Rad23b	Ktn1	Nkx6-2	Slc25a35	Sp8	Crsp3	Rorc	Ifi27
Grsf1	Zfp533	Phlda1	Mitd1	Cit	Zic2	Chchd8	Myb
Taok3	Dl13	Nap113	Hipk3	Golga5	Rbx1	Ngef	Uqcrq
Larpl	Hdgfrp3	Rwdd3	Golph4	Mtap1b	St8sia2	Caskin1	Ccnk
Ard1	Trim68	Mrgpra2	Lbx1	Morc4	Alkbh7	St8sia4	Gab2
Sec14l3	Golga5	Tgoln2	Col17a1	Cfdp1	Leprot11	Nek3	Tusc1
Pmch	Ankrd26	Zfp60	Ifi27	Sirt2	Pou3f3	Pram1	Olf307
Smcr8	Pvr12	Zfyve19	Lhx8	Atbf1	Dgkz	Nup153	Xlkd1
Mrg1	Ankrd6	Agpat1	Nefh	Adc	Atbf1	Copg2as2	Pitpnc1
Kcne11	H2afy3	Rab28	Yy1	Il121	Ube2i	Cd247	Drd5
Ncoa2	Pnma3	Zcchc10	Ankrd12	Cenpk	Larp6	Foxk2	Eps15l1
Olf1023	Tmco3	Edn3	Surf5	Gcc1	Mrps17	Etnk2	Nap115
Bin1	Gm484	Tmem157	Raver2	Nexn	Hax1	Ranbp1	Olf1512
Rps6kl1	Clql3	Olf1087	Bcl6	Zdhc1	Gpr88	Ep400	Aof2
Prdx1	Catsper2	Taf61	Grm5	Tox	Arhgef5	Asx11	Duoxa1
Lat2	Irx2	Rps12	Tm6sf1	Prei4	Pole3	Sox11	Laspl
Csnk2b	Ssbpl	Rsrc1	Dcst1	Paqr7	Mum1	Srebf1	Wdr40c
Lanc12	Car5a	Ankrd40	Lpxn	Kndc1	Yipf5	Cox6a1	Krt10
Eiflay	Arhgap10	Atic	Onecut2	Otud7a	Ebf3	Rnf113a2	Dfna5h
Mccc2	Hexim2	Zfp612	Mapt	Top1	Pdelc	Ets1	Rheb11
Pnrc1	Rngtt	Rbbp6	Itpr2	Tshz3	Tram1	Ncam1	Paqr9
Zbtb24	Olf309	Dusp3	Frmd4b	Sox8	Smarcel	Lrfn1	Dapk3
Amigo1	Ube2q	Nudc	Hdgf	Ccdc28b	Irs1	Zp2	Dst
Asph	Pcnt	Atpif1	Dpys15	Wdr23	Ngfr	Efcbp1	Alk
Klhl6	Cdk13	Nr2f6	Rnf157	Cyld	Cntn6	Tloc1	Sec15l2
Ergic3	Pdap1	Gsto1	E2f7	Bcl6	Tuft1	Vtila	Cst6
Scamp5	Fycol	Titf1	Sucla2	Grm5	Nsun4	Itih3	Pgea1
Aqp9	Rbms1	Zhx2	Ubc	Tm6sf1	Uck2	Pde4dip	Trh
Rcl1	Mrpl30	Hdac9	Usp40	Etfldh	Sdf211	Vps35	Hspa8
Pde3b	Neb1	ORF28	Robo2	Tnc	Zfp383	Slc4a7	Adprh
Rnf121	Mrps33	Sulf2	Bex4	Lhx5	Eif4a1	Pdzrn4	Cldn23
Slc29a3	Resp18	Ndufc1	Cart	Strn4	Osbp19	Bmp15	Gtpbp4
Git2	Cdh4	Stkl1ip	Jmjd2a	Olf806	Ift122	Thbs1	Wdr22
Wac	Atp2b3	Hnrap	Ar14c	Ebf3	Rabgef1	Garnl3	Dock9
Ccnk	Gtf2ird2	Akap2	Slc31a1	Pdelc	Gpr156	Ankrd26	Dut
Cntn2	Maf	Atcay	Arid3b	Myef2	Copa	Psmel	Kcnh2
Dmpk	Marcks11	Scg3	Ddr2	Ikbkg	Rpl17	Ncl	Ttc4
Rad54l2	Timm44	Tmc4	Map3k14	Tfdp2	Rpl5	Acdb3	Pes1
Cant1	Clmn	Hplbp3	Pacsin1	Yipf5	Stx8	Slc45a4	Cdc5l
Gm691	Rpl36a1	Dpp8	Tob2	Dcst1	Mnat1	Col8a1	Itpr1
Ascc3l1	Wipi2	Dmn	Gdf7	Rnf130	Marcks11	Slc25a35	Adamts9
Trmt1	Abhd5	Plcb4	Tsc2	T2bp	Chrd11	Mitd1	Prkcb1
Atp10d	Rrs1	Igl-V1	Pelp1	Inhbb	Svil	Hipk3	Zpbp2
Tbpl1	Pcbd1	Ccdc73	Pkd113	Tmed1	Slitrk6	Golph4	Nisch
Acrv1	Abcb4	Tiaf2	Onecut3	Chac1	Prmt6	Lbx1	Rps19bp1
Nif3l1	Ankrd12	Pou3f3	Mapt	Pole3	Rad54l	Col17a1	Pdia6
Cd59a	Surf5	Dgkz	Mum1	Fndc4	Exoc1	Lhx8	Crsp3
Habp4	Raver2	Atbf1	Mrps17	St8sia2	Ifrg15	Nefh	Zic2
Ssbp3	Lpxn	Larp6	Hax1	Alkbh7	St13	Yy1	Rbx1
Usp42	Onecut2	Arhgef5	Gpr88	Leprot11	Cxcl10	Snaip	

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 유전자는 칼슘시그널링 경로 관련유전체 및 이들의 수용체, 싸이클린 에이앰피 경로관련 유전자, 신경세포 방어 수용체 및 리간드, 전사인자 주에서 선택한 어느 하나인 것을 특징으로 하는 파킨슨질환 진단용 마이크로어레이칩.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중의 어느 한 항의 파킨슨질환 진단용 마이크로어레이칩을 이용하여 파킨슨 질환의 스크리닝 방법.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중의 어느 한 항의 파킨슨질환 진단용 마이크로어레이칩을 이용하여 파킨슨 질환 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 파킨슨 질환 치료제는 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 펩티드, 작은 분자의 화합물, 항체 및 상기 표적 유전자의 프로모터에 결합하여 유전자 발현량을 조절하는 물질로 이루어진 군에서 하나이상 선택된 것임을 특징으로 하는 파킨슨 질환 치료제의 스크리닝 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 파킨슨 및 파킨슨유사질환의 동물모델에서 엠포티피에 대하여 특이적인 발현 양상을 보이는 유전자를 이용한 cDNA 마이크로어레이 칩, 상기 칩을 이용하여 파킨슨 질환을 스크리닝하는 방법, 및 상기 칩을 이용한 파킨슨 질환 치료제의 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 파킨슨 질환은 진전, 근육의 강직, 그리고 몸동작이 느려지는 서동 및 자세의 불안정을 보이는 특발성 신경 퇴행성 질환이다. 파킨슨 질환의 진전과 경축은 기저핵의 선조체에서 도파민성 활성의 결핍으로 인한 콜린성 활성의 상대적인 과다에서 유래된다. 본 연구의 발명에서는 흑질선조체의 도파민 신경세포를 파괴하는 물질인 엠포티피를 사용하여 파킨슨질환 동물모델을 제조하였다.

[0003] 파킨슨 질환에 대한 많은 연구들이 진행되어지고, 정상인의 뇌에서 흑색선조체 부위의 신경세포들이 변성되고 이곳에서 만들어지는 도파민이라 불리는 신경전달 물질의 결핍이 파킨슨병을 유도한다고 알려져 있으며, 이러한 파킨슨 환자의 5-10%는 가족성 유전적 요인으로 분류되어지고 있다. 최근에는 파킨슨 관련 유전자들의 역할이 분자 생물학적 수준에서 밝혀지고 있으며, 약물치료의 타겟 선정이나 치료제 개발에서 관련 유전자의 규명이 매우 중요하게 평가되고 있다. 따라서 파킨슨에 관여하는 치료제, 및 치료 방법 개발을 위한 스크리닝에서 관련 유전자의 발현 정도의 차이를 밝히는 일은 염증성 질환의 진단, 치료, 예방 등에 있어서 매우 중요한 사항으로 평가 받고 있다.

[0004] 디엔에이 마이크로어레이 시스템은 어레이상에 집적된 생분자(bio-molecules)에 따라 올리고뉴클레오타이드 마이크로어레이, 시디엔에이 (cDNA) 마이크로어레이, 및 게놈 마이크로어레이로 분류된다. 그 중 시디엔에이 마이크로어레이 칩은 제작이 간편하며, 비교적 쉽게 콘텐츠의 확보와 이에 따른 질병 특이적 칩을 제작함으로써 간단하고, 효과적으로 질병의 유무를 예측 판단할 수 있게 한다.

[0005] 따라서 파킨슨 질환을 스크리닝 할 수 있도록 고안된 cDNA 마이크로어레이 칩은 파킨슨 질환의 예방, 진단, 및 치료에 유용하게 사용 될 수 있으며, 이러한 칩의 사용으로 파킨슨 질환에 관여하는 유전자 발현의 변화를 측정하는 한편, 파킨슨 질환에 있어서의 신호전달 메카니즘(mechanism)까지 확인 할 수 있게 되어, 파킨슨 및 파킨슨 유사 질환의 연구 및 치료에 있어서 유용한 도구로 사용할 수 있다. 그러나 아직까지 파킨슨 질환의 진단에

관련된 체계적이고 유용한 칩은 개발되지 않은 상태이다.

[0006] 이에 본 발명자들은 파킨슨 질환의 스크리닝 및 상기 질환에 대한 치료제 개발을 위한 효과적인 방법을 찾고자 노력한 결과, 동물모델을 이용한 마이크로어레이 분석방법에 의하여 파킨슨 질환에서만 특이적으로 발현이 증가 또는 감소하는 유전자들을 동정할 수 있음을 밝혀내고, 본 발명을 완성하였다.

[0007] [종래기술의 문헌 정보]

[0008] 1. 설원기저. 가족성 파킨슨병의 원인 유전자. 정신약물학회지 제19권 제1호

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 엠피토피를 이용한 생쥐동물모델에서 특이적인 발현 양상을 보이는 유전자를 파킨슨 질환 진단용 마이크로어레이 칩을 제공하는데 있다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 파킨슨 질환 진단용 마이크로어레이 칩을 이용한 파킨슨 질환의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 파킨슨 질환 진단용 마이크로어레이 칩을 이용하여 파킨슨 질환 치료제의 스크리닝하는 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

[0012] 본 발명의 파킨슨질환 진단용 마이크로어레이칩은 엠피토피에 특이적으로 발현양상이 증가되거나 감소되는 유전자를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0013] 바람직하게, 엠피토피에 특이적으로 발현양상이 증가되는 유전자는 표 1로 구성된 군에서 선택한 어느 하나인 것을 특징으로 한다.

[0014] 바람직하게, 엠피토피에 특이적으로 발현양상이 감소되는 유전자는 표 2로 구성된 군에서 선택한 어느 하나인 것을 특징으로 한다.

[0015] 바람직하게, 상기 유전자는 칼슘시그널링 경로 관련유전체 및 이들의 수용체, 싸이클린 에이애피 경로관련 유전자, 신경세포 방어 수용체 및 리간드, 전사인자 중에서 선택한 어느 하나인 것을 특징으로 한다.

[0016] 또한, 본 발명의 파킨슨 질환 치료제의 스크리닝 방법은 엠피토피에 특이적으로 발현양상이 증가되거나 감소되는 유전자를 탐색하는 것을 특징으로 한다.

[0017] 바람직하게, 상기 파킨슨 질환 치료제는 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 펩티드, 작은 분자의 화합물, 항체 및 상기 표적 유전자의 프로모터에 결합하여 유전자 발현량을 조절하는 물질로 이루어진 군에서 하나이상 선택된 것을 특징으로 한다.

효 과

[0018] 따라서, 본 발명은 파킨슨 관련 질환에 대한 관련성 및 조기 진단 정보를 얻을 수 있으며, 나아가 파킨슨질환에 대한 체계적인 진단 및 예측을 가능하게 하여 유전자 발현과 관련된 치료제 개발에 유용하게 사용할 수 있는 효과가 있다.

[0019] 또한, cDNA 마이크로어레이 분석법을 이용함으로써 짧은 시간 동안 파킨슨질환 환자에서 모든 유전자 발현 양상을 동시에 모니터링할 수 있고, 표적 유전자의 선정이 쉽게 할 수 있게 되어 결과적으로는 상대적으로 짧은 시간 동안에 많은 약물의 개발을 가능하게 할 수 있게 된다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- [0020] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0021] 본 발명의 유전자는 파킨슨증후군을 유발하는 물질인 엠피티피에서 특이적으로 발현 증가되거나 감소되는 올리 고뉴클레오티드를 가지는 유전자를 포함하는 동물모델(포유동물)의 유전자이다.
- [0022] 이러한 유전자는 칼슘시그널링 경로 관련유전체 및 이들의 수용체, 싸이클린 에이앰피 경로관련 유전자, 신경세 포 방어 수용체 및 리간드, 전사인자 등이 있으며, 바람직하게는 표 1 및 표 2에 나타난 유전자이다.
- [0023] 본 발명은 동물모델에서 흑질선조체의 도파민 신경세포를 파괴하여 파킨슨질환을 유도하는 엠피티피의 존재하에 서 유전자의 발현을 측정하였다. 아울러, 유전자 발현을 비교하여 유전자 발현이 2배 이상 증가되거나 또는 2배 이상 감소되는 유전자 군을 확인하였다. 그 결과, 159개의 유전자가 유전자 발현이 2배 이상 증가함을 확인하였 고(표 1 참조), 512개의 유전자가 2배 이상 발현이 감소함을 확인하였다(표 2 참조).

[0024] [표 1]

[0025]

발현양상이 2배이상 증가한 유전자					
Cd74	Gucylb3	Adamts20	Atf7	Otud3	Olf959
Olf1148	Gbp5	Cyp2c70	Creg2	Btd6	Negr1
Ncstn	Nfib	Zmat4	Ins2	Csh2	Camta2
Cdcp1	Olf1226	Unc13b	Tcfcp2	Clec2g	Srcrb4d
Slc35a4	Prss32	Gpr98	Coq6	Ttc15	Blcap
Ppil4	Eif4b	Dnajc17	Mthfs	Adcy1	Epdr2
Egfbp2	Mobkl1a	Gm92	Fmo2	Asc12	Ipmk
Snora69	R3hdm1	Ucn	Olf616	Trak1	Chrna9
Htr5a	Spr2g	Nanos1	Hpv2	Pcsk1n	Wsb1
P140	Ube4a	Usp48	Tclb2	Ids	Cep78
Agtr11	Acaal1	Slc6a11	Birc7	Stard5	Olf711
Cabp7	Crat	Eif2b1	Actr1b	Eif2c3	Fhl3
Psm4	Myo1d	Bmp2k	Trp53rk	Tbcd4	Vlrj2
Rxfp2	Phxr2	Dnajc5g	Camsap1	Ctn	Olf1463
Sgip1	Mlt6	Galnt2	Capn1	Mnat1	Lrdd
Eya3	Nkx1-2	Slc8a3	Gm166	Olf530	Col9a3
Cstf1	Vlrc4	Scyl1	Dmx12	Zswim5	Scotin
Nat11	Rnase1	Vpreb3	Nos3as	Myo1	Spr1a
Lphn3	Abcb1b	Crim2	Dcald	Mup3	Ppie
Zbtb10	Ctrl	Olf549	Solh	Stambp11	Jarid1a
Evx1	Sass6	Glt1d1	Dmbx1	Folr1	Scgb3a2
Fbxo27	Ssh1	Col25a1	Trak1	Slc2a8	Mib1
Fat1	Ces1	Dppa5	Foxb2	Elmo1	Olf577
Rab33a	Klk1	Fbx16	Abhd7	Ddx58	Mreg
Shank3	Synpo	Srt1	Katnal1	Lbx2	Mett11d1
Wdr77	Oat11	Mier1	Umps	Trp73	Colec12
Sema5b	Scand1	I117rd			

[0026] [표 2]

[0027]

발현양상이 2배이상 감소한 유전자							
Cxcl5	Rpl39	Dync11i2	Nsun4	Tspan6	Pde4dip	Btd14b	Rpl14
Scd1	Akt3	Ar16ip4	Uck2	Sema6c	Dock9	Pde4dip	Ptpn9
Eaf1	Atf7ip	Plscr2	Vps35	Atp5e	Dut	Gimap4	Phf23
Hras1s3	Hmgal	Plscr1	Slc4a7	Zfp87	Kcnh2	Ea1	Spnb2
Dlgh1	Lef1	Chd3	Pdzrn4	Arhgap26	Ttc4	Paln	Tnrc9
Tmem132b	Zmat5	Hspd1	Bmp15	Nt5c2	Pes1	Slk	Tesc
Pacsin1	Ptdss2	Psm12	Thbs1	Paqr6	Cdc5l	Smap1	Polh
Cpt2	Hrb	Atbf1	Garn13	Krt8	Itpr1	Apln	Cited2
Mak	Npy1r	Snw1	Ankrd26	Wsb2	Adamts9	Foxp4	Zfp369

Ptprt	Lrrc3b	Tmsb10	Psmel	Txndc14	Prkcb1	Cbln1	Tmc4
Mcph1	Lct	Sparcl1	Ncl	F8a	Zbp2	Lrrig2	Mif
Txndc9	Mrpl49	Sin3b	Acdb3	Cart	Nisch	Cbx2	Hmx2
Slc9a1	Rbm10	Ckb	Slc45a4	Igsf1	Rps19bp1	Rbbp6	Ncoa6ip
Hcrt	Dbpht1	Siva	Col8a1	Gmps	Pdia6	Fem1c	Crsp2
Rad23b	Ktn1	Nkx6-2	Slc25a35	Sp8	Crsp3	Rorc	Ifi27
Grsf1	Zfp533	Phlda1	Mitd1	Cit	Zic2	Chchd8	Myb
Taok3	Dl13	Nap113	Hipk3	Golga5	Rbx1	Ngef	Uqcrq
Larpl	Hdgfrp3	Rwd3	Golph4	Mtap1b	St8sia2	Caskin1	Ccnk
Ard1	Trim68	Mrgpra2	Lbx1	Morc4	Alkbh7	St8sia4	Gab2
Sec14l3	Golga5	Tgoln2	Col17a1	Cfdp1	Leprot11	Nek3	Tusc1
Pmch	Ankrd26	Zfp60	Ifi27	Sirt2	Pou3f3	Pram1	Olf307
Smcr8	Pvr12	Zfyve19	Lhx8	Atbf1	Dgkz	Nup153	Xlkd1
Mrg1	Ankrd6	Agpat1	Nefh	Adc	Atbf1	Copg2as2	Pitpnc1
Kcne11	H2afy3	Rab28	Yy1	I121	Ube2i	Cd247	Drd5
Ncoa2	Pnma3	Zcchc10	Ankrd12	Cenpk	Larp6	Foxk2	Eps15l1
Olf1023	Tmco3	Edn3	Surf5	Gcc1	Mrps17	Etnk2	Nap115
Bin1	Gm484	Tmem157	Raver2	Nexn	Hax1	Ranbp1	Olf1512
Rps6kl1	Clql3	Olf1087	Bcl6	Zdhc1	Gpr88	Ep400	Aof2
Prdx1	Catsper2	Taf6l	Grm5	Tox	Arhgef5	Asx11	Duoxa1
Lat2	Irx2	Rps12	Tm6sf1	Prei4	Pole3	Sox11	Laspl
Csnk2b	Ssbpl	Rsrc1	Dcst1	Paqr7	Mum1	Srebfl	Wdr40c
Lanc12	Car5a	Ankrd40	Lpxn	Kndc1	Yipf5	Cox6a1	Krt10
Eiflay	Arhgap10	Atic	Onecut2	Otud7a	Ebf3	Rnf113a2	Dfna5h
Mccc2	Hexim2	Zfp612	Mapt	Top1	Pdelc	Ets1	Rheb11
Pnrc1	Rngtt	Rbbp6	Itpr2	Tshz3	Tram1	Ncam1	Paqr9
Zbtb24	Olf309	Dusp3	Frmd4b	Sox8	Smrce1	Lrfln1	Dapk3
Amigo1	Ube2q	Nudc	Hdgf	Ccdc28b	Irs1	Zp2	Dst
Asph	Pcnt	Atpif1	Dpys15	Wdr23	Ngfr	Efcbl1	Alk
Klhl6	Cdk13	Nr2f6	Rnf157	Cyld	Cntn6	Tloc1	Sec15l2
Ergic3	Pdap1	Gstol	E2f7	Bcl6	Tuft1	Vtla	Cst6
Scamp5	Fycol	Titf1	Sucla2	Grm5	Nsun4	Itih3	Pgea1
Aqp9	Rbms1	Zhx2	Ubc	Tm6sf1	Uck2	Pde4dip	Trh
Rcl1	Mrpl30	Hdac9	Usp40	Etfldh	Sdf211	Vps35	Hspa8
Pde3b	Neb1	ORF28	Robo2	Tnc	Zfp383	Slc4a7	Adprh
Rnf121	Mrps33	Sulf2	Bex4	Lhx5	Eif4a1	Pdzrn4	Cldn23
Slc29a3	Resp18	Ndufc1	Cart	Strn4	Osbp19	Bmp15	Gtpbp4
Git2	Cdh4	Stkl1ip	Jmjd2a	Olf806	Ift122	Thbs1	Wdr22
Wac	Atp2b3	Hnrpab	Ar14c	Ebf3	Rabgef1	Garn13	Dock9
Ccnk	Gtf2ird2	Akap2	Slc31a1	Pdelc	Gpr156	Ankrd26	Dut
Cntn2	Maf	Atcay	Arid3b	Myef2	Copa	Psmel	Kcnh2
Dmpk	Marcks11	Scg3	Ddr2	Ikbkg	Rp117	Ncl	Ttc4
Rad54l2	Timm44	Tmc4	Map3k14	Tfdp2	Rp15	Acdb3	Pes1
Cant1	Clmn	Hplbp3	Pacsin1	Yipf5	Stx8	Slc45a4	Cdc5l
Gm691	Rpl36a1	Dpp8	Tob2	Dcst1	Mnat1	Col8a1	Itpr1
Ascc3l1	Wipi2	Dmn	Gdf7	Rnf130	Marcks11	Slc25a35	Adamts9
Trmt1	Abhd5	Plcb4	Tsc2	T2bp	Chrd11	Mitd1	Prkcb1
Atp10d	Rrs1	Igl-V1	Pelp1	Inhbb	Svil	Hipk3	Zbp2
Tbpl1	Pcbd1	Ccdc73	Pkd113	Tmed1	Slitrk6	Golph4	Nisch
Acrv1	Abcb4	Tiaf2	Onecut3	Chac1	Prmt6	Lbx1	Rps19bp1
Nif3l1	Ankrd12	Pou3f3	Mapt	Pole3	Rad54l	Col17a1	Pdia6
Cd59a	Surf5	Dgkz	Mum1	Fndc4	Exoc1	Lhx8	Crsp3
Habp4	Raver2	Atbf1	Mrps17	St8sia2	Ifrg15	Nefh	Zic2
Ssbp3	Lpxn	Larp6	Hax1	Alkbh7	St13	Yy1	Rbx1
Usp42	Onecut2	Arhgef5	Gpr88	Leprot11	Cxcl10	Snaip	

- [0028] 본 발명은 파킨슨질환 진단용 마이크로어레이칩을 제공한다.
- [0029] DNA 칩은 유리판 위에 엄청나게 많은 종류의 DNA 가닥이나 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)를 아주 적은 양이면서도 높은 밀도로 붙여놓은 것을 말한다. 1995년 미국의 스탠포드 대학교 생화학과 연구팀이 cDNA 칩을 만든 것이 본격적 출발이었고, 미국의 어피메트릭스(Affymetrix)사에서는 약 15-25개의 염기들로 이루어진 올리고뉴클레오타드 붙여서 올리고뉴클레오타드 칩(chip)을 만든다.
- [0030] cDNA는 게놈 DNA(genomic DNA)와는 달리 인트론이 존재하지 않는 디엔에이로서, 게놈 디엔에이에서 전사과정을 거쳐 생성된 mRNA를 이용하여 이에 상보적인 디엔에이를 제조 할 수 있는데 이것을 cDNA라고 한다. 이렇게 제조된 cDNA는 여러곳에 사용될 수 있으며, 그 중 가장 대표적인 것이 cDNA 마이크로어레이(microarray)이다.
- [0031] cDNA 마이크로어레이란, cDNA가 직접 유리판위에 집적되어 붙어있는 형태로서, 유리판에 부착된 단일 가닥의 cDNA 샘플에서 추출한 mRNA를 혼성화(hybridization) 시키는 과정을 통해 해당 cDNA와 동일한 서열의 mRNA 발현이 이루어지고 있는지를 확인 할 수 있는 칩이다. 이러한 cDNA마이크로 어레이를 제작하기 위하여는 역전사효소를 이용하여 cDNA를 제작하는 단계 및 이중가닥의 cDNA에서 한 가닥을 떼어내는 과정 등이 필요하다.
- [0032] 본 발명의 상기 파킨슨질환 진단용 유전자는 뇌세포 사멸 앵피디피 사용시 특이적인 발현 양상을 보이는 유전자 조각으로서, 이를 고체 기판 위에 고착시켜 제작하는데, 상기 특이적인 발현 양상을 보이는 유전자로는 발현양상이 2배 이상 증가되거나 2배 이상 감소되는 유전자를 포함한다. 본 발명의 바람직한 실시예에서는 생쥐에 앵피디피를 피하 주사하여 파킨슨 질환을 유도하고, 상기 질환을 표적인 부위를 선별한 후, 해당 조직으로부터 RNA를 수득하고, 역전사 효소를 이용하여 cDNA를 제작하는 한편, 상기 cDNA를 이용하여 마이크로어레이를 수행하였다.
- [0033] 또한, 본 발명은 파킨슨 질환 예측 및 진단용 마이크로어레이 칩을 이용하여 파킨슨 증후군 질환을 스크리닝하는 방법을 제공한다. 이러한 스크리닝 방법으로는 유전자를 추출하는 단계와 추출된 유전자를 이용하여 앵피디피에 대한 유전자 발현을 측정하는 단계와 측정된 데이터에서 발현 정도를 확인하여 유전자 발현이 2배 이상 증가되거나 또는 2배 이상 감소되는 유전자 군을 선별하는 단계로 이루어진다.
- [0034] 본 발명의 바람직한 실시예에서는 생쥐의 피하에 흑질선조체의 도파민 신경세포를 파괴하는 물질인 앵피디피(1-methyl-4phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)를 3일간 주사함으로 파킨슨질환을 유도하고, 상기 반응에 의하여 유전자의 발현이 2배 이상증가 또는 2배이상 감소한 유전자군을 파킨슨질환 여부를 판단할 수 파킨슨질환 스크리닝의 표적인자로 판단하여 선별할 수 있다.
- [0035] 이러한 스크리닝 방법에 있어서, 유전자 발현 측정 방법은 마이크로어레이 칩을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니며, 당해업계의 당업자에게 알려진 대량 유전자 발현 측정 방법이라면 본 발명에 모두 이용 가능하다.
- [0036] 또한, 본 발명은 파킨슨 질환 치료제의 스크리닝하는 방법을 제공한다. 파킨슨 질환 치료제의 스크리닝하는 방법은 유전자 수준에서 파킨슨 질환을 완화시키는 양상을 확인 할 수 있는 모든 치료제에 대한 스크리닝을 의미한다.
- [0037] 특히, 이러한 스크리닝 방법은 cDNA 마이크로어레이 칩을 이용한 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (antisense oligonucleotide), 펩티드 (peptide), 작은 분자의 화합물 (small molecule compound), 항체 (antibody) 및 상기 표적 유전자의 프로모터에 결합하여 유전자 발현량을 조절하는 물질을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니며, 당 업계에서 통상적으로 인식되는 유전자 수준의 발현 조절수단에 관련된 모든 치료 물질을 포함할 수 있다. 예를 들어 파킨슨 질환에서 과발현되는 유전자의 전사 또는 번역을 억제하기 위하여, 과발현되는 유전자의 염기서열에 기초하여 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 설계할 수 있으며, 이를 파킨슨질환 치료제로 이용할 수 있다. 설계된 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 세포 내로 침투시키기 위하여는 당 업계에서 통상적으로 공지된 기술을 제한 없이 이용할 수 있다.
- [0038] 이러한 마이크로어레이 분석법은 정상과 파킨슨 질환을 그 유전자의 발현양상에 기초하여 구분하는데 유효한 수단으로서 이용될 수 있다. 즉, 마이크로어레이 분석법을 이용하여 염증세포에 특이적이거나 과발현되는 유전자를 동정하는 한편, 동정된 유전자를 표적유전자로 하여 염증 질환의 치료제 개발의 기초적인 자료를 제공할 수 있다. 또한, 마이크로어레이 분석법에 의해서 과발현되는 것으로 확인된 유전자들이 파킨슨 질환에 직접적으로

관련되어 있는지의 여부에 관한 연구를 추가적으로 수행할 수 있게 되며, 이들 유전자 발현 양상을 분석함으로써 파킨슨질환에 대한 관련성, 조기 예측 등을 가능하게 할 수 있다.

[0039] 따라서 cDNA 마이크로어레이 분석법을 이용함으로써 짧은 시간 동안 파킨슨질환 환자에서 모든 유전자 발현 양상을 동시에 모니터링할 수 있고, 표적 유전자의 선정을 쉽게 할 수 있게 되어 결과적으로 상대적으로 짧은 시간 동안에 많은 약물의 개발을 가능하게 할 수 있게 된다.

[0040] 이하, 이하, 본 발명을 실시 예에 의하여 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시 예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시 예에 한정되는 것은 아니다.

[0041] <실시예>

[0042] 실시예1: 파킨슨질환 관련 칩 제작을 위한 동물모델 제작

[0043] 8주령의 20-25g의 C57/BL6계의 생쥐에 엠피티피 20mg/kg의 약물을 생쥐의 피하에 2시간 간격으로 3번 주사하여 파킨슨 질환 관련 질환을 유도하였다. 질환 유도에 대한 판단은 막대를 이용한 행동 실험으로 측정하여 판단하였다. 막대실험은 50센티높이와 10밀리직경의 나무막대를 세우고 생쥐의 머리를 아래로 향하게 한다. 막대의 맨 위에서 아래 바닥으로 내려오는 시간을 기록하여 통계를 구하여 도 1에 그래프로 나타내었다. 비교예로서 생리식염수(Saline)를 주사한 그룹과 양릉천(GB34) 주사한 그룹을 함께 나타내었다.

[0044] 도 1에 나타난 바와 같이, 생리식염수와 양릉천을 주사한 그룹은 정상적인 행동이고 엠피티피를 주사한 그룹은 막대행동실험에서 막대에 매달려 있는 시간이 훨씬 길어 행동에 이상이 있음을 나타내었다. 위의 실험은 생쥐 10마리를 이용한 통계를 사용하였다.

[0045] 실시예2: RNA의 추출

[0046] 생쥐의 뇌에서 흑색전사체를 취하여 TRIZOL (Invitrogen, CA, USA) 1을 첨가하여 균질화 시킨 후 4℃에서 12,000Xg로 15분간 원심분리하여 상층액을 수집하였다. 수집된 상층액에 500 μ l의 이소프로판올 (isopropanol)을 첨가하여 혼합한 후 -20℃에서 30분간 방치하고, 원심분리하여 침전물을 남겨두고 상층액을 제거하였다. 수집된 침전물에 75% 에탄올을 1ml 첨가하여 혼합한 후 다시 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하는 작업을 3회 반복한 후, 침전물을 자연건조시켜 20 μ l의 0.1% DEPC 용액을 첨가하여 55-56℃에서 용해, 추출된 총 RNA를 Nano-drop spectrophotometer를 이용하여 정량하였다. 정량된 RNA는 표3에 나타내었다. 대조군으로는 엠피티피를 주사하지 않은 생쥐의 흑색전사체에서 얻은 총RNA 값을 이용하였다.

[0047] [표 3]

번호	sample	rRNA ratio
1	control	1.42
2	MPTP	1.53

[0049] 이와 같이 추출된 RNA는 분광흡광계 (spectrophotometer) 및 아가로스 겔 (agarose gel) 전기영동을 통해서 정량 및 정성 분석을 실시하여 총 RNA의 전기 영동사진 및 그래프를 도 2에 나타내었다. 이때, Lane L; 리보솜 RNA마커 (ribosomal RNA marker), Lane 1; 대조군으로부터 추출된 RNA, Lane 2; 실험군은MPTP를 처리하여 추출된 RNA이다.

[0050] 도 2에 나타난 바와 같이, 추출된 RNA는 마이크로 어레이 분석에 적합함을 mRNA의 28S/18S의 비율로 확인할 수 있다. 위의 그래프는 대조군에 대한 결과이고 아래그래프는 MPTP 처리한 그룹이다. 우측의 그림은 대조군과 MPTP처리군 그리고 MPTP처리후 침을 치료한 그룹에 대하여 RNA를 아가로스겔에 전기영동으로 분석한 것이다.

[0051] 실시예3: 파킨슨질환 관련 유전자 선별을 위한 마이크로어레이 수행

[0052] 파킨슨 질환 관련 유전자 선별을 위하여 에질절트사 (Agilent)의 마우스게놈 (mouse genome) DNA 마이크로어레이 칩 (microarray chip)을 이용하였다. 마이크로어레이 위에 사전 혼성화 버퍼 (prehybridization buffer) 10 μ l를 넣고 유리덮개를 덮은 후, 실온에서 2시간 방치한 후 2X SSC에서 2분간 3회 세척하였다. 이 후 0.2X SSC에서 2분간 3회 세척한 다음 1,000 rpm에서 3분간 슬라이드 원심분리기를 이용하여 건조시켰다. 앞에서 준비한

Cy5 와 Cy3로 형광 표지된 RNA샘플을 95℃에서 2분간 방치한 다음 즉시 얼음에 넣고 14,000 rpm에서 8분간 원심 분리하여 10 μ l를 어레이 유리판에 넣고 유리 덮개를 덮었다. 62℃에서 12-16시간 혼성화 반응을 한 다음 2X SSC 와 0.2% SDS로 58℃에서 30분 동안 2회 세척하고, 0.05 X SSC로 5분간 추가 세척하여 1000 rpm에서 3분간 원심 분리하였다.

[0053] 혼성화 반응이 끝난 유리판을 GNSL스캐너를 사용하여 초기 형광 이미지를 습득하여 도 3에 나타내었다(이때, Cy5 는 빨강색으로 증가한 유전자이고, Cy3 는 초록색으로 감소한 유전자를 의미한다). 이후 Imagen 3.0 등의 분석 소프트웨어를 통해서 보정작업을 실시하여 증가한 유전자와 감소한 유전자의 평균(Average of Cy3+Cy5 (Log10 scale))에 대한 그래프를 도 4에 나타내었고, 분석에 관한 내용은 모형도로 도 5에 나타내었다. 대조군 과 비교하여 엠피티피에 의해 발현이 2배이상 증가한 유전자 및 감소한 유전자를 표 1 및 표 2와 같이 선별할 수 있었다.

[0054] [표 1]

[0055]

발현양상이 2배이상 증가한 유전자					
Cd74	Gucylb3	Adamts20	Atf7	Otud3	Olf959
Olf1148	Gbp5	Cyp2c70	Creg2	Btd6	Negr1
Ncstn	Nfib	Zmat4	Ins2	Csh2	Camta2
Cdcp1	Olf1226	Unc13b	Tcfcp2	Clec2g	Srcrb4d
Slc35a4	Prss32	Gpr98	Coq6	Ttc15	Blcap
Ppil4	Eif4b	Dnajc17	Mthfs	Adcy1	Epdr2
Egfbp2	Mobk11a	Gm92	Fmo2	Asc12	Ipmk
Snora69	R3hdm1	Ucn	Olf616	Trak1	Chrna9
Htr5a	Spr2g	Nanos1	Hpv2	Pcsk1n	Wsb1
P140	Ube4a	Usp48	Tclb2	Ids	Cep78
Agtr11	Acaala	Slc6a11	Birc7	Stard5	Olf711
Cabp7	Crat	Eif2b1	Actr1b	Eif2c3	Fhl3
Psm4	Myold	Bmp2k	Trp53rk	Tbc1d4	Vlrj2
Rxfp2	Phxr2	Dnajc5g	Camsap1	Ctn	Olf1463
Sgip1	Mlt6	Galnt2	Capn1	Mnat1	Lrdd
Eya3	Nkx1-2	Slc8a3	Gm166	Olf530	Col9a3
Cstf1	Virc4	Scyl1	Dmx12	Zswim5	Scotin
Nat11	Rnase1	Vpreb3	Nos3as	Myod1	Spr1a
Lphn3	Abcb1b	Crim2	Dcald	Mup3	Ppie
Zbtb10	Ctrl	Olf549	Solh	Stambp11	Jarid1a
Evx1	Sass6	Glt1d1	Dmbx1	Folr1	Scgb3a2
Fbxo27	Ssh1	Col25a1	Trak1	Slc2a8	Mib1
Fate1	Ces1	Dppa5	Foxb2	Elmo1	Olf577
Rab33a	Klk1	Fbx16	Abhd7	Ddx58	Mreg
Shank3	Synpo	Scrt1	Katnal1	Lbx2	Mett11d1
Wdr77	Oat11	Mier1	Umps	Trp73	Colec12
Sema5b	Scand1	Il17rd			

[0056] [표 2]

[0057]

발현양상이 2배이상 감소한 유전자							
Cxcl5	Rpl39	Dync11i2	Nsun4	Tspan6	Pde4dip	Btd14b	Rpl14
Scd1	Akt3	Arl6ip4	Uck2	Sema6c	Dock9	Pde4dip	Ptpn9
Eaf1	Atf7ip	Plscr2	Vps35	Atp5e	Dut	Gimap4	Phf23
Hrasls3	Hmgal	Plscr1	Slc4a7	Zfp87	Kcnh2	Eea1	Spnb2
Dlgh1	Lef1	Chd3	Pdzrn4	Arhgap26	Ttc4	Palm	Tnrc9
Tmem132b	Zmat5	Hspd1	Bmp15	Nt5c2	Pes1	Slk	Tesc
Pacsin1	Ptdss2	Psm12	Thbs1	Paqr6	Cdc5l	Smap1	Polh
Cpt2	Hrb	Atbf1	Garn13	Krt8	Itpr1	Apln	Cited2
Mak	Npy1r	Snw1	Ankrd26	Wsb2	Adamts9	Foxp4	Zfp369
Ptptrt	Lrrc3b	Tmsb10	Psm1	Txndc14	Prkcb1	Cbln1	Tmc4
Mcph1	Lct	Sparcl1	Ncl	F8a	Zbp2	Lrriq2	Mif

Txndc9	Mrpl49	Sin3b	Acdbd3	Cart	Nisch	Cbx2	Hmx2
Slc9a1	Rbm10	Ckb	Slc45a4	Igsf1	Rps19bp1	Rbbp6	Ncoa6ip
Hcrt	Dbpht1	Siva	Col8a1	Gmps	Pdia6	Fem1c	Crsp2
Rad23b	Ktn1	Nkx6-2	Slc25a35	Sp8	Crsp3	Rorc	Ifi27
Grsf1	Zfp533	Phlda1	Mitd1	Cit	Zic2	Chchd8	Myb
Taok3	Dl13	Nap113	Hipk3	Golga5	Rbx1	Ngef	Uqcrq
Larp1	Hdgfrp3	Rwdd3	Golph4	Mtap1b	St8sia2	Caskin1	Ccnk
Ard1	Trim68	Mrgpra2	Lbx1	Morc4	Alkbh7	St8sia4	Gab2
Sec14l3	Golga5	Tgoln2	Col17a1	Cfdp1	Leprot11	Nek3	Tusc1
Pmch	Ankrd26	Zfp60	Ifi27	Sirt2	Pou3f3	Pram1	Olf307
Smcr8	Pvr12	Zfyve19	Lhx8	Atbf1	Dgkz	Nup153	Xlkdl
Mrg1	Ankrd6	Agpat1	Nefh	Adc	Atbf1	Copg2as2	Pitpnc1
Kcne11	H2afy3	Rab28	Yy1	Il21	Ube2i	Cd247	Drd5
Ncoa2	Pnma3	Zcchc10	Ankrd12	Cenpk	Larp6	Foxk2	Eps15l1
Olf1023	Tmco3	Edn3	Surf5	Gcc1	Mrps17	Etnk2	Nap115
Bin1	Gm484	Tmem157	Raver2	Nexn	Hax1	Ranbp1	Olf1512
Rps6kl1	Clql3	Olf1087	Bcl6	Zdhhc1	Gpr88	Ep400	Aof2
Prdx1	Catsper2	Taf6l	Grm5	Tox	Arhgef5	Asxl1	Duoxa1
Lat2	Irx2	Rps12	Tm6sf1	Prei4	Pole3	Sox11	Laspl
Csnk2b	Ssbpl	Rsrc1	Dcst1	Paqr7	Mum1	Srebf1	Wdr40c
Lanc12	Car5a	Ankrd40	Lpxn	Kndc1	Yipf5	Cox6a1	Krt10
Eiflay	Arhgap10	Atic	Onecut2	Otud7a	Ebf3	Rnf113a2	Dfna5h
Mccc2	Hexim2	Zfp612	Mapt	Top1	Pdelc	Ets1	Rheb11
Pnrc1	Rngtt	Rbbp6	Itpr2	Tshz3	Tram1	Ncam1	Paqr9
Zbtb24	Olf309	Dusp3	Frmd4b	Sox8	Smarcel	Lrfnl	Dapk3
Amigo1	Ube2q	Nudc	Hdgf	Ccdc28b	Irs1	Zp2	Dst
Asph	Pcnt	Atpif1	Dpys15	Wdr23	Ngfr	Efcblp1	Alk
Klh16	Cdk13	Nr2f6	Rnf157	Cyld	Cntn6	Tloc1	Sec15l2
Ergic3	Pdap1	Gstol	E2f7	Bcl6	Tuft1	Vt1la	Cst6
Scamp5	Fycol	Titf1	Suc1a2	Grm5	Nsun4	Itih3	Pgea1
Aqp9	Rbms1	Zhx2	Ubc	Tm6sf1	Uck2	Pde4dip	Trh
Rcl1	Mrpl30	Hdac9	Usp40	Etfldh	Sdf211	Vps35	Hspa8
Pde3b	Neb1	ORF28	Robo2	Tnc	Zfp383	Slc4a7	Adprh
Rnf121	Mrps33	Sulf2	Bex4	Lhx5	Eif4a1	Pdzrn4	Cldn23
Slc29a3	Resp18	Ndufc1	Cart	Strn4	Osblp19	Bmp15	Gtpbp4
Git2	Cdh4	Stkl1ip	Jmjd2a	Olf806	Ift122	Thbs1	Wdr22
Wac	Atp2b3	Hnrpab	Ar14c	Ebf3	Rabgef1	Garn13	Dock9
Ccnk	Gtf2ird2	Akap2	Slc31a1	Pdelc	Gpr156	Ankrd26	Dut
Cntn2	Maf	Atcay	Arid3b	Myef2	Copa	Psmel	Kcnh2
Dmpk	Marcks11	Scg3	Ddr2	Ikbkg	Rpl17	Ncl	Ttc4
Rad54l2	Timm44	Tmc4	Map3k14	Tfdp2	Rpl5	Acdbd3	Pes1
Cant1	Clmn	Hplbp3	Pacsln1	Yipf5	Stx8	Slc45a4	Cdc5l
Gm691	Rpl36a1	Dpp8	Tob2	Dcst1	Mnat1	Col8a1	Itpr1
Ascc3l1	Wipi2	Dmn	Gdf7	Rnf130	Marcks11	Slc25a35	Adamts9
Trmt1	Abhd5	Plcb4	Tsc2	T2bp	Chrd11	Mitd1	Prkcb1
Atp10d	Rrs1	Igl-V1	Pelp1	Inhbb	Svil	Hipk3	Zbbp2
Tbpl1	Pcbd1	Ccdc73	Pkd113	Tmed1	Slitrk6	Golph4	Nisch
Acrv1	Abcb4	Tiaf2	Onecut3	Chac1	Prmt6	Lbx1	Rps19bp1
Nif311	Ankrd12	Pou3f3	Mapt	Pole3	Rad54l	Col17a1	Pdia6
Cd59a	Surf5	Dgkz	Mum1	Fndc4	Exoc1	Lhx8	Crsp3
Habp4	Raver2	Atbf1	Mrps17	St8sia2	Ifrg15	Nefh	Zic2
Ssbp3	Lpxn	Larp6	Hax1	Alkbh7	St13	Yy1	Rbx1
Usp42	Onecut2	Arhgef5	Gpr88	Leprot11	Cxcl10	Sncaip	

[0058] 실시예4: 선별된 유전자를 이용한 마이크로 어레이 칩의 제작

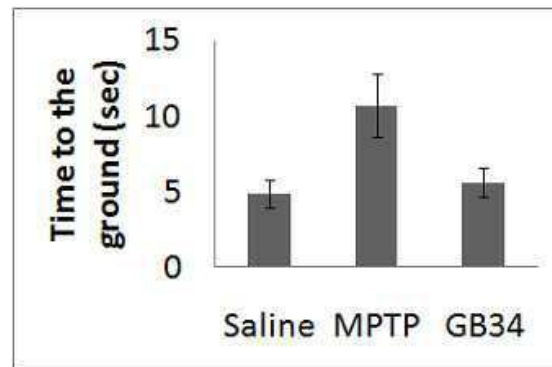
[0059] DNA가 집적 부착될 수 있는 기판으로는 아민기가 코팅되어 있는 가로 25mm X 세로 75mm의 실험용 유리 판을 사용하였다. 이 기판 위에 점적시킨 유전자는 파킨슨 질환을 유도하는 것으로 추정되는 유전자로부터 선택된 하나 이상의 유전자이며, PCR을 사용하여 증폭된 cDNA를 1배의 이소 프로판올 (isopropanol) alc 0.1 배의 염 (3M NaOAc)을 이용하여 침전시킨 후, 원심분리 (3,000 rpm, 4℃, 60분)으로 정제하였다. 상기 정제된 cDNA들은 마이크로 어레이 부착 완충용액 (Micro spotting solution)을 이용하여 20ng/ μ l의 농도가 되도록 녹이고, 상기 제조된 cDNA들은 유전수에 따라 적절한 블록을 가지는 DNA칩으로 제작되었다.

도면의 간단한 설명

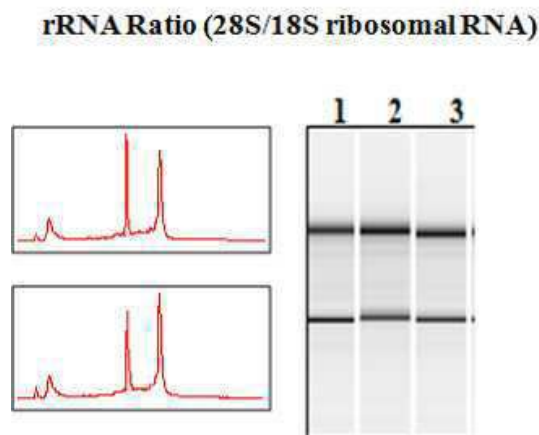
- [0060] 도 1은 파킨슨 질환을 유도한 생쥐의 행동을 관찰하여 결과를 통계로 나타낸 그래프.
- [0061] 도 2는 파킨슨 유도한 생쥐의 뇌에서 흑색전사체를 습득하여 분리 정제한 총 RNA의 전기 영동사진 및 그래프.
- [0062] 도 3은 대조군과 실험군에 대한 마이크로어레이를 통하여 얻은 이미지.
- [0063] 도 4는 마이크로어레이 실험 후 이미지 보정작업을 통하여 증가한 유전자와 감소한 유전자를 나타낸 그래프.
- [0064] 도 5는 마이크로어레이 분석을 실시한 모형도.

도면

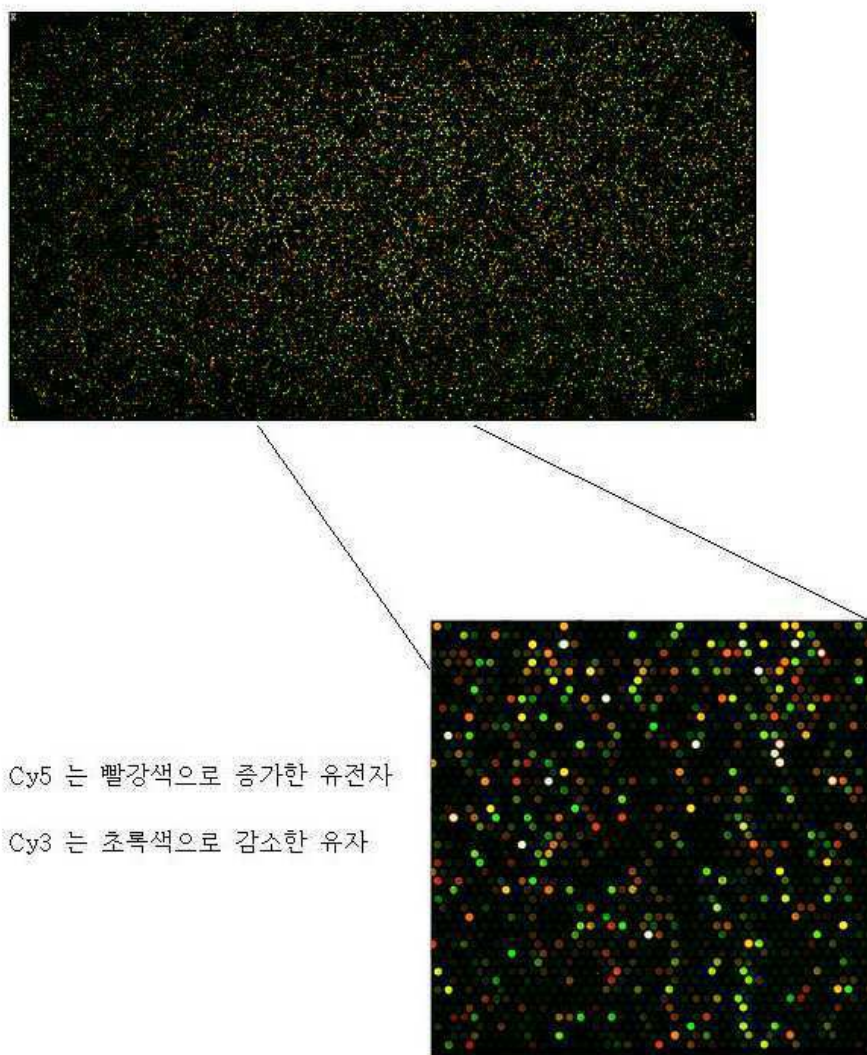
도면1



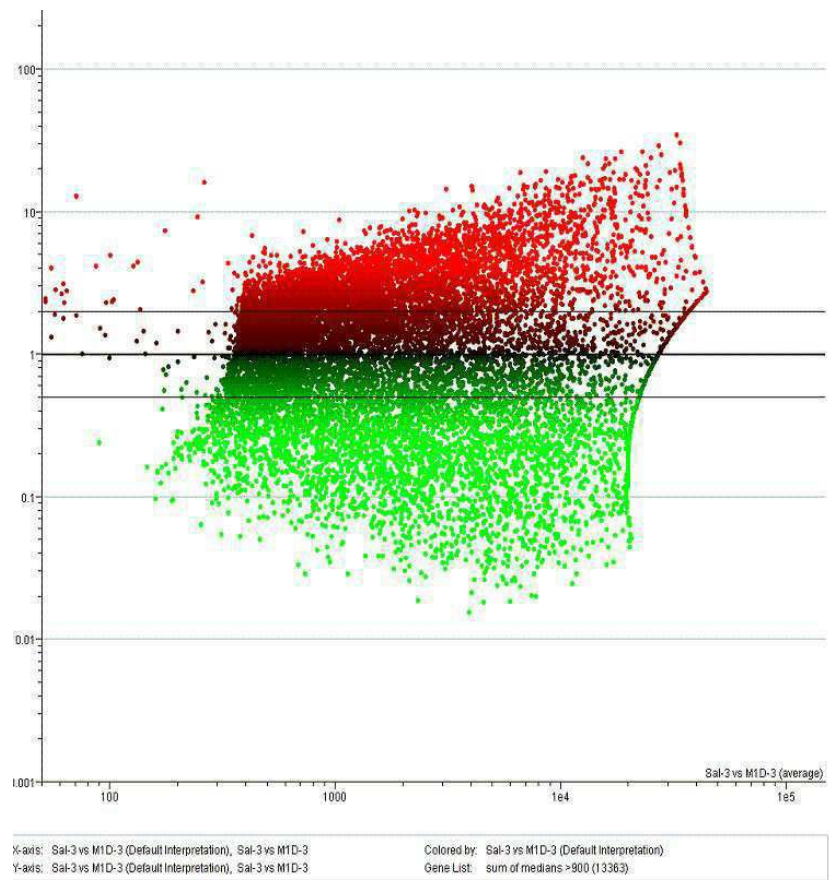
도면2



도면3



도면4



도면5

