



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년04월29일

(11) 등록번호 10-2246021

(24) 등록일자 2021년04월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) *C12Q 1/6883* (2018.01)
- (52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
C12Q 1/6883 (2018.05)
- (21) 출원번호 10-2019-0125265
- (22) 출원일자 2019년10월10일
 심사청구일자 2019년10월10일
- (65) 공개번호 10-2021-0042561
- (43) 공개일자 2021년04월20일
- (56) 선행기술조사문헌
 TRUONG, L. D. et al., 'Absence of nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit amplifies inflammation and accelerates onset of fibrosis: an inflammatory kidney model', The FASEB Journal, 2015, Vol. 29,*
 JP2003530542 A
 Journal of Diabetes Investigation, 2019, Vol. 10, pp 659-666.
 Molecular Medicine, 2017, Vol. 23, pp 34-49.
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
 연세대학교 산학협력단
 서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
- (72) 발명자
 노현
 서울특별시 관악구 인현1나길 25 롯데하이클래스 빌 201호
- 이원재
 서울특별시 성동구 왕십리로 241, 103-2903(행당동, 서울숲 더샵)
- (74) 대리인
 파도특허법인(유한), 이재영

전체 청구항 수 : 총 8 항

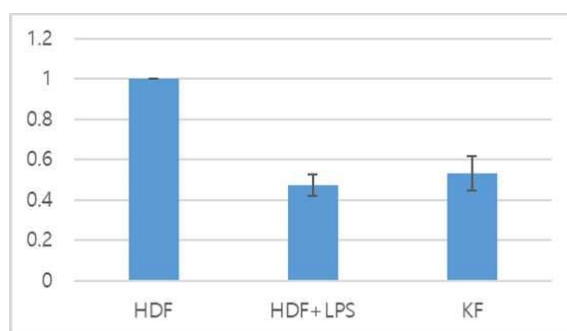
심사관 : 차명훈

(54) 발명의 명칭 섬유증의 진단용 조성물 및 이를 이용한 방법

(57) 요약

본 발명은 피부 섬유증의 진단용 조성물; 키트 및 진단 방법에 관한 것으로서, 본 발명은 목적하는 개체에서 발생된 섬유증을 매우 효과적으로 진단해 내어, 단순한 외과적 치료 방법을 적용하기 이전에 상기 목적하는 개체에 적절한 치료 방법을 적용함으로써 치료에 소요되는 사회적 비용 및 시간 등을 현저하게 감소시킬 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/158 (2013.01)

G01N 2800/20 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345300295
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	창의도전연구기반지원
연구과제명	$\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor가 keloid에 미치는 영향
기 여 율	1/1
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2019.06.01 ~ 2020.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

$\alpha 7$ nACHR ($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor) 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 섬유증의 진단용 조성물로서,

상기 섬유증은 피부 섬유증이고,

상기 피부 섬유증은 켈로이드인 것인, 섬유증의 진단용 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 앵타머인 것인, 섬유증의 진단용 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 프라이머 쌍 또는 프로브인 것인, 섬유증의 진단용 조성물.

청구항 6

제 1항, 제 4항 및 제 5항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 섬유증의 진단용 키트.

청구항 7

목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서,

$\alpha 7$ nACHR 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 섬유증을 진단하기 위한 정보 제공 방법으로,

상기 섬유증은 피부 섬유증이고,

상기 피부 섬유증은 켈로이드인 것인, 섬유증을 진단하기 위한 정보 제공 방법.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 측정된 상기 $\alpha 7$ nACHR 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군에 비하여 낮은 경우, 상기 목적하는 개체에서 섬유증이 존재하는 것으로 예측하는 것인, 섬유증을 진단하기 위한 정보 제공 방법.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

제 7항에 있어서,

상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계는 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 및 단백질 마이크로어레이로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 통해 측정하는 것인, 섬유증을 진단하기 위한 정보 제공 방법.

청구항 12

제 7항에 있어서,

상기 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계는 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), in situ 교잡법, 핵산 마이크로어레이 및 노던블랏으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 통해 측정하는 것인, 섬유증을 진단하기 위한 정보를 제공하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피부 섬유증의 진단용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부 섬유증은 피부의 과도한 흉터로, 병리학적 상처 치유 반응의 결과이다. 섬유성 피부 질환의 스펙트럼은 피부경화증, 신원성 섬유 피부 질환, 혼합성 결합조직 질환, 경화점액부종, 경화부종 및 호산성근막염. 화학적 요인 또는 물리적 요인(기계적 외상, 화상)에 노출 또한 섬유성 피부 질환 등으로 매우 다양하게 존재한다.

[0003] 부분적인 피부 섬유증은 얼굴 및 발 등의 피부에 국한되는 반면, 넓은 범위의 피부섬유증은 피부의 많은 부분을 침범하여 내장 기관까지 진행될 수 있다. 피부 섬유증은 화학적 요인, 물리적 요인(기계적 외상, 화상), 섬유성 피부 질환 등이 원인으로 알려져 있다. 피부 섬유증은 면역, 자가면역 및 염증 기전에 의해 촉발될 수 있는데, 콜라겐 생성 및 섬유아세포에 의한 분해의 균형이 피부 섬유화 과정에서 중요한 역할을 한다. 또한, TGF- β 및 IL-4와 같은 사이토카인은 상처 치유 및 섬유화를 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 정상적인 피부의 섬유아세포는 휴지 상태에 있어 제어된 양의 결합조직 단백질을 합성하고 증식 활성이 낮다. 피부에 상처가 생기면 섬유화와 관련된 사이토카인 분비가 증가되면서 피부의 섬유아세포가 증식하고, 피부의 섬유아세포에서는 α -평활근 액틴(α -SMA)을 발현하여 대량의 결합조직 단백질을 합성하는데, 이와 같은 과정이 과도하게 반복되는 경우 피부 섬유화가 발생되는 것으로 여겨지고 있다.

[0004] 피부 섬유증을 치료하기 위한 가장 대중적인 방법은 두꺼워진 피부 부위에 스테로이드 연고를 도포하거나 2차적으로 감염이 되면 항생제 연고를 도포하는 방식으로 치료를 하는 것이다. 또한, 피부 섬유증의 주요 원인이 자가면역에 의한 피부 조직 손상과 이로 인한 피부 조직 섬유화인 점을 감안하여 면역억제제를 사용하기도 한다. 면역억제 치료에 의해 피부 섬유화의 억제 내지 완화가 관찰된 바 있으나, 약물의 안전성에 대한 우려와 함께 결정적인 임상 데이터의 부족 및 입증 가능한 효능의 문제가 여전히 남아 있다.

[0005] 따라서, 피부 섬유증, 섬유성 피부 질환 및 피부의 병리적 흉터를 조기에 적절하게 치료하기 위하여 이와 같은 섬유증을 진단할 수 있는 방법에 대한 연구가 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 일 목적은 섬유증의 진단용 조성물; 이를 포함하는 키트를 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 섬유증을 진단하기 위한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.

[0008] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다

른 과제들은 아래의 기재로부터 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명의 일 구현 예에서는 섬유증의 진단용 조성물을 제공한다.
- [0010] 본 발명의 상기 조성물은 $\alpha 7$ nACHR ($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor) 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함한다.
- [0011] 본 발명의 상기 $\alpha 7$ nACHR ($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor) 단백질은 근육 및 뉴런의 nAChRs, 5HT3(5-hydroxytryptamine type 3), GABAA(γ -aminobutyric acidA), GABAC 및 글리신 수용체를 포함하는 Cys-루프 수용체(Cys-loop receptors)의 리간드-게이트 이온 채널 수퍼 패밀리에 속하는 것으로서, 아세틸 콜린 및 콜린이나, 니코틴을 내인성 오르토스테릭(orthosteric) 리간드로 인식하는 이온 채널에 해당한다. 상기 $\alpha 7$ nACHR 단백질 및 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 시료와 비교하여 감소된 경우에는 섬유증으로 진단할 수 있다.
- [0012] 본 발명의 상기 $\alpha 7$ nACHR은, $\alpha 7$ nACHR 아이소폼(isoform) 1(NCBI: 참조 서열 NP_000737.1) 또는 $\alpha 7$ nACHR 아이소폼 2(NCBI: 참조 서열 NP_001177384.1)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0013] 본 발명의 상기 "진단"이란, 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것으로서, 본 발명의 목적상 상기 진단은 섬유증의 발병 여부; 발병 가능성; 치료로 인한 예후 등을 예측하는 것을 모두 포함한다.
- [0014] 본 발명의 상기 $\alpha 7$ nACHR 단백질은 서열번호 1 또는 3으로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0015] 본 발명의 상기 단백질을 암호화하는 유전자는 서열번호 2 또는 4로 표시되는 염기 서열로 이루어진 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0016] 본 발명의 상기 $\alpha 7$ nACHR 단백질은 서열번호 1 또는 3으로 표시되는 아미노산 서열과 최소한 70%의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 구성되어, 아미노산 서열의 자연적 또는 인위적인 부가, 결실, 치환 또는 조합된 폴리펩타이드도 모두 포함되는 것으로서, 예를 들면, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0017] 본 발명의 상기 "상동성"이란, 아미노산 서열 간의 유사한 정도를 나타내기 위한 것으로서, 본 발명의 아미노산 서열과 상기와 같은 퍼센트 이상의 동일한 서열을 가지는 서열을 포함한다. 이러한 상동성은 두 서열을 육안으로 비교하여 결정할 수도 있으나, 비교대상이 되는 서열을 나란히 배열하여 상동성 정도를 분석해 주는 생물정보 알고리즘(Bioinformatic algorithm)을 사용하여 결정할 수 있다. 상기 두 개의 아미노산 서열 사이의 상동성은 백분율로 표시될 수 있다. 유용한 자동화된 알고리즘은 Wisconsin Genetics Software Package(Genetics Computer Group, Madison, W, USA)의 GAP, BESTFIT, FASTA와 TFASTA 컴퓨터 소프트웨어 모듈에서 이용 가능하다. 상기 모듈에서 자동화된 배열 알고리즘은 Needleman & Wunsch와 Pearson & Lipman과 Smith & Waterman 서열 배열 알고리즘을 포함한다. 다른 유용한 배열에 대한 알고리즘과 상동성 결정은 FASTP, BLAST, BLAST2, PSIBLAST 및 CLUSTAL W를 포함하는 소프트웨어에서 자동화될 수 있다.
- [0018] 본 발명의 상기 "섬유증"이란, 섬유아세포에 의한 세포 외 기질의 비정상적인 생성, 축적 및 침착이 일어나는 질환으로서, 다양한 조직의 구조 및 기능을 변화시킬 수 있는 손상 또는 염증에 의한 콜라겐 매트릭스가 비정상적으로 축적될 수 있는 기관이라면 어떠한 기관이든지 발생될 수 있다.
- [0019] 본 발명의 상기 섬유증은 피부 섬유증일 수 있고, 예를 들면, 화상 흉터 흉터, 비대 흉터, 켈로이드 및 피부 섬유성 장애로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0020] 본 발명의 상기 섬유증은 켈로이드일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 본 발명의 상기 "켈로이드"란, 피부의 결합 조직이 병적으로 증식하여 단단한 융기를 만들고, 표피가 얇아져서 광택을 띠며 불그스름하게 보이는 양성 종양을 의미한다. 상기 켈로이드는 흉골 부위에 잘 발생되며, 등의 위쪽, 어깨, 귀 등에도 흔하게 발생된다. 이와 같은 켈로이드는 수술 또는 외상 등으로 인하여 진피의 깊은 층까지 손상을 입었을 때에, 피부의 긴장도를 유지하는 진피층의 콜라겐이 과도하게 증식되어 상처가 치유된 후에도 얇아진 피부 외피 층을 밀고 나와 발생될 수 있다. 상기 켈로이드는 단순히 외과적인 절제만을 수행하는 경우에는 켈로이드가 사라지지 않고, 재발할 가능성이 매우 높다. 때문에, 정확한 진단을 통해 스테로이드 요법, 외과적 수술 요법, 방사선 요법, 실리콘 겔을 사용한 요법 및 레이저 요법에서 어느 하나 이상을 선별하여 치료

하는 과정이 반드시 필요하다.

- [0022] 본 발명의 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제는 시료에 포함된 측정 대상이 되는 유전자로부터 암호화되는 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 제제를 의미한다.
- [0023] 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 또는 앵타머일 수 있다. 구체적으로, 상기 제제는 웨스턴 블롯 분석(Western blot assay), ELISA(Enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석 (RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(Radioimmunodiffusion), 오우크테로니 (Ouchterlony) 면역 확산법, 로케트 면역전기영동(Rocket immunoelectrophoresis), 면역조직화학염색법 (Immunohistochemical staining), 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법 (Complement Fixation Assay), 면역형광법 (Immunofluorescence), 면역크로마토그래피법 (Immunochromatography), FACS(Fluorescenceactivated cell sorter analysis) 및 단백질 칩 분석법(protein chip technology assay) 등의 방법에 사용되는 항체 또는 앵타머를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명의 상기 “항체”는 단백질 또는 펩티드 분자의 항원성 부위에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 분자를 의미한다. 상기 항체의 형태는 특별히 제한되지 않으며 폴리 클로날 항체, 모노 클로날 항체 또는 항원 결합성을 갖는 것이라면, 항체의 일부인 경우라도 포함될 수 있고, 모든 종류의 면역 글로불린 항체가 포함될 수 있다. 또한, 인간화 항체 등의 특수 항체가 포함될 수 있고, 상기 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 완전한 형태뿐만 아니라 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 항체 분자의 기능적인 단편이란 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 의미하며 Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv 등이 될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0025] 본 발명의 상기 “앵타머”는 단일 가닥 올리고 뉴클레오티드를 의미하는 것으로, 소정의 표적 분자에 대한 결합 활성을 갖는 핵산 분자를 말한다. 상기 앵타머는 그 염기 서열에 따라 다양한 3차원 구조를 가질 수 있으며, 항원-항체 반응과 같이 특정 물질에 대하여 높은 친화력을 가질 수 있다. 앵타머는 소정의 표적 분자에 결합함으로써 소정의 표적 분자의 활성을 저해할 수 있다. 상기 앵타머는 RNA, DNA, 변형된(Modified) 핵산 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 그 형태가 직쇄상 또는 환상(環狀)일 수 있다.
- [0026] 본 발명의 상기 항체는, α7nACHR 유전자, 예를 들면 서열번호 2로 표시되는 염기 서열을 통상적인 방법에 따라 발현 벡터에 클로닝하여 상기 유전자에 의해 암호화되는 단백질을 얻은 뒤에 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있고, 상기 앵타머는 상기 염기 서열을 참조하여 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 공지된 방법에 따라 쉽게 제작할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준을 측정할 수 있는 제제는 시료에 포함된 측정 대상이 되는 유전자의 발현 수준을 확인하기 위하여, 상기 측정 대상이 되는 유전자로부터 전사된 유전자, 예를 들면 유전자로부터 전사된 mRNA의 수준을 측정하는 방법에 사용될 수 있는 제제를 의미한다. 구체적으로, 상기 제제는 RT-PCR, 정량 실시간 PCR(quantified real time PCR), 경쟁적 RT-PCR(Competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR(real time quantitative RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블롯 분석(Northern blot assay), DNA 칩 분석법 등의 방법에 사용되는 측정 대상이 되는 mRNA에 특이적으로 결합할 수 있는 프라이머 쌍 또는 프로브를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0028] 본 발명의 상기 “프라이머”는 짧은 자유 3'말단 수산화기(free 3'hydroxyl group)를 가지는 염기 서열로 상보적인 주형 가닥(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고, 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로서 기능을 하는 짧은 염기 서열을 의미한다. 상기 프라이머는 적절한 완충 용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오타이드 트리포스페이트의 존재 하에서 DNA 합성이 개시될 수 있다.
- [0029] 본 발명의 상기 “프로브”는 상기 유전자, 또는 상기 유전자로부터 전사되는 mRNA와 특이적으로 결합을 이룰 수 있는 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하고, 이와 같은 프로브는 특정 mRNA의 존재 유무, 발현되는 수준(발현량)을 확인할 수 있도록 라벨링되어 있을 수 있다. 상기 프로브는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(single strand DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double strand DNA)프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0030] 본 발명의 상기 프라이머 또는 프로브는 공지된 α7nACHR의 염기 서열, 예를 들면 서열번호 2로 표시되는 염기 서열을 참조하여 당해 기술 분야에서 통상이 지식을 가진 자가 공지된 방법에 의해 쉽게 제작될 수 있다.

- [0032] 본 발명의 다른 구현 예에서는 본 발명의 상기 섬유증의 진단용 조성물을 포함하는 섬유증의 진단용 키트를 제공한다.
- [0033] 본 발명의 상기 진단용 키트는 상기 섬유증의 진단용 조성물을 사용하여 정상 대조군에 비하여 목적하는 개체의 생물학적 시료에서 α 7nACHR 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 감소되어 있는 경우, 섬유증이 발생되었거나 발생할 가능성이 높을 수 있음을 매우 효과적으로 예측할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 상기 진단용 키트에서, α 7nACHR 단백질 및 이를 암호화하는 유전자, 섬유증, 피부 섬유증, 켈로이드, 단백질의 발현 수준을 측정할 수 있는 제제, 유전자의 발현 수준을 측정할 수 있는 제제 등은 상기 진단용 조성물에서 기재한 바와 중복되어, 이하 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.
- [0035] 본 발명의 상기 키트는 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트, ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay) 키트, 단백질 칩 키트, 래피드(Rapid) 키트 또는 MRM(Multiple reaction monitoring) 키트 등 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 본 발명의 상기 키트가 유전자의 발현 수준을 측정하기 위한 경우에는 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액(pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오타이드(dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-수(DEPC-water), 멸균수 등이 더 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0037] 본 발명의 상기 키트가 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 경우에는 항체의 면역학적 검출을 위하여 기재, 적당한 완충 용액, 발색 효소 또는 형광물질로 표지된 2차 항체, 발색 기질 등이 포함될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 상기 기재는 니트로셀룰로오스 막, 폴리비닐 수지 또는 폴리스티렌 수지로 합성된 96웰 플레이트 및 유리로 된 슬라이드글라스 등이 사용될 수 있고, 상기 발색 효소는 퍼옥시다아제(peroxidase), 알칼라인 포스파타아제(Alkaline Phosphatase)가 사용될 수 있으며, 형광물질은 FITC, RITC 등이 사용될 수 있고, 발색 기질액은 ABTS(2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산)), OPD(α -페닐렌디아민), TMB(테트라메틸 벤지딘)가 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0040] 본 발명의 또 다른 구현 예에서는 섬유증을 예측하기 위한 정보 제공 방법을 제공한다.
- [0041] 본 발명의 상기 정보 제공 방법은 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서, α 7nACHR 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함한다.
- [0042] 본 발명의 상기 목적하는 개체로부터 분리된 생물학적 시료에서 측정된 상기 α 7nACHR 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준이 정상 대조군에 비하여 낮은 경우, 상기 목적하는 개체에서 섬유증이 존재하는 것으로 예측할 수 있다.
- [0043] 본 발명의 상기 "정상 대조군"은 섬유증이 존재하지 않거나, 또는 섬유증이 발생되었으나 치료가 완료된 개체일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0044] 본 발명의 상기 섬유증을 예측하기 위한 정보 제공 방법에서, α 7nACHR 단백질 및 이를 암호화하는 유전자, 섬유증, 피부 섬유증, 켈로이드 등은 상기 진단용 조성물에서 기재한 바와 중복되어, 이하 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 생략한다.
- [0045] 본 발명의 상기 α 7nACHR 단백질의 발현 수준을 측정하는 단계는 본 발명의 상기 단백질의 발현 수준을 측정하는 제제를 이용하여, 웨스턴블랏, ELISA, 방사선면역분석, 면역확산법, 면역 전기영동, 조직 면역염색, 면역침전 분석법, 보체 고정 분석법, FACS, 질량분석, MRM 분석 및 단백질 마이크로어레이로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 통해 측정할 수 있다.
- [0046] 본 발명의 상기 α 7nACHR 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계는 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 이용하여, 중합효소연쇄반응, 역전사 중합효소연쇄반응, 경쟁적 중합효소연쇄반응, Nuclease 보호 분석(RNase, S1 nuclease assay), 인 시츄(in situ) 교잡법, 핵산 마이크로어레이 및 노던블랏으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 통해 측정하는 것일 수 있다.
- [0047] 본 발명의 상기 생물학적 시료는 개체로부터 얻어지거나 개체로부터 유래된 임의의 물질, 생물학적 체액, 조직 또는 세포를 의미하는 것으로, 예를 들면, 전혈(whole blood), 백혈구(leukocytes), 말초혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells), 백혈구 연층(buffy coat), 혈장(plasma) 및 혈청(serum)을 포함하는 혈액, 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), 골반 내 유체액(pelvic fluids), 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) 또는 뇌척수액(cerebrospinal fluid) 등 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0048] 본 발명의 일 구체 예에서 상기 생물학적 시료는 개체로부터 얻어지거나 또는 유래된 섬유아세포(fibroblast)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0050] [서열목록]

[0051] 서열번호 1: α 7nACHR 아미노산 서열

[0052] 1 mrcspggvwl alaasllhvs lqgefqrkly kelvknynpl erpvandsqp ltvyfslsl1
 [0053] 61 qimdvdeknq vlttniwlqm swtdhylqwn vseypgvktv rfpdgiwkp dillynsade
 [0054] 121 rfdatfhtnv lvnssghcqy lppgikssc yidvrwfpfd vqhcklkfgs wsyggwslld
 [0055] 181 qmqeadisgy ipngewdlvg ipgkrserfy ecckepypdv tftvtmrrrt lyyglnlip
 [0056] 241 cvlisalall vfllpadsge kislgitvll sltvfmlva eimpatsdsv pliaqyfast
 [0057] 301 miivglsvvv tvivlqyhhh dpdggkmpkw trvillnwca wflmrkrpge dkvrpacqhk
 [0058] 361 qrrcslasve msavappas ngnllyigfr gldgvhcvpt pdsgvvcgrm acspthdehl
 [0059] 421 lhggqppegd pdlakileev ryianrfrcq deseavcsew kfaacvvdr1 clmafsvfti
 [0060] 481 ictigilmsa pnfveavskd fa

[0062] 서열번호 2: α 7nACHR 단백질을 암호화하는 유전자 서열

[0063] 1 gcctctgtgg ccgcaggcgc agggccgggc gacagccgag acgtggagcg cgccggctcg
 [0064] 61 ctgcagctcc gggactcaac atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg
 [0065] 121 cgctgctcct gcacgtgtcc ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg
 [0066] 181 tcaagaacta caatcccttg gagaggcccg tggccaatga ctgcaacca ctcaccgtct
 [0067] 241 acttctccct gagcctcctg cagatcatgg acgtggatga gaagaaccaa gttttaacca
 [0068] 301 ccaacatttg gctgcaaatg tcttggacag atcactat1t acagtggaat gtgtcagaat
 [0069] 361 atccaggggt gaagactgtt cgtttccag atggccagat ttggaacca gacattcttc
 [0070] 421 tctataacag tgctgatgag cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaatt
 [0071] 481 cttctgggca ttgccagtac ctgcctccag gcatattcaa gagttcctgc tacatcgatg
 [0072] 541 tacgctgggt tcctttgat gtgcagcact gcaaactgaa gtttgggtcc tgggtcttacg
 [0073] 601 gaggctggtc cttggatctg cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg
 [0074] 661 gagaatggga ctagtggga atccccgca agaggagtga aaggttctat gagtgtgca
 [0075] 721 aagagcccta cccgatgtc accttcacag tgacatgacg ccgcaggacg ctctactatg
 [0076] 781 gcctcaacct gctgatcccc tgtgtgtca tctccgcct cgccctgctg gtgttctgc
 [0077] 841 ttctcgaga ttccggggag aagatttccc tggggataac agtcttactc tctcttaccg
 [0078] 901 tcttcatgct gctcgtggct gagatcatgc ccgaacatc cgattcggta ccattgatag
 [0079] 961 cccagtactt cgccagcacc atgatcatcg tgggcctctc ggtggtggtg acagtgatcg

[0080] 1021 tgctgcagta ccaccaccac gaccccgacg ggggcaagat gcccaagtgg accagagtca

[0081] 1081 tcctttctgaa ctggtgcgcg tggttcctgc gaatgaagag gcccggggag gacaaggtgc

[0082] 1141 gcccggcctg ccagcacaag cagcggcgct gcagcctggc cagtgtggag atgagcgccg

[0083] 1201 tggcgccgcc gcccgcagc aacgggaacc tgctgtacat cggtttccgc ggcctggacg

[0084] 1261 gcgtgcactg tgtcccgacc cccgactctg gggtagtgtg tggccgcatg gcctgctccc

[0085] 1321 ccacgcacga tgagcacctc ctgcacggcg ggcaaccccc cgagggggac ccggacttgg

[0086] 1381 ccaagatcct ggaggaggtc cgctacattg ccaaccgctt ccgctgccag gacgaaagcg

[0087] 1441 aggcggctctg cagcgagtgg aagttcgccg cctgtgtggt ggaccgcctg tgcctcatgg

[0088] 1501 ccttctcggt cttcaccatc atctgcacca tcggcatcct gatgtcggct cccaacttcg

[0089] 1561 tggaggccgt gtccaaagac ttgctgaac cagcctgggt tctgtacatg tggaaaactc

[0090] 1621 acagatgggc aaggcctttg gcttggcgag atttgggggt gctaataccag gacagcatta

[0091] 1681 cagccacaaa ctccagtgtt ccttctggc tgtcagtcgt gttgcttacg gtttctttgt

[0092] 1741 tactttaggt agtagaatct cagcactttg ttcatattc tcagatgggc tgatagatat

[0093] 1801 ccttggcaca tccgtaccat cggtcagcag ggccactgag tagtcatttt gccattagc

[0094] 1861 ccactgcctg gaaagccctt cggagagctc cccatggctc ctcaccaccg agacagttag

[0095] 1921 ttttgcattg ctgcatgaag gtctacctga aaattcaaca ttgcttttt gcttgtgtac

[0096] 1981 aaaccagat tgaagctaaa ataaaccaga ctactaaat cctttccaat aattgactgg

[0097] 2041 tggaaggaaa acaaaaaaca aaaactaaaa acctcttagc ttttctgcaa ttcaactttt

[0098] 2101 tatttttatt tttatttcta tcaaagacgg tagagagaaa cagcttgatg ctgtttctac

[0099] 2161 attaaaaaaa aaaaaaaaaag acagactgtt ggtcttacta aggatgtttt taccagcctg

[0100] 2221 cctgacttct gcaaacctac cctgtcaagg agatcaaagg gacgcagggt tctgtttatt

[0101] 2281 ctgaacaagg gccaggcccc gcggagtgtc tttggtggat cccagataac tcctaggtgc

[0102] 2341 tgctctcaga cactgaggag ttgagcaaat ctgttctatt ctgcagaacc cacaggacaa

[0103] 2401 ataagagttc tactagaatt aacagcccaa aagaatagct acagctaagt gaagccactt

[0104] 2461 acgtgggctt taaaaaata atgtgttagc tgattcacat gcactggagt taattagtct

[0105] 2521 tagaaatgtg tgcatccata caaatgcaca acataaagtg aacatattcc taggcccttt

[0106] 2581 ctgcctgtgt caggggcagg aagtagaggc tgggaactct tctggtcccc agtatggcag

[0107] 2641 gcgccaggga ggggatgggt tggcccatcc cttctctgga tacctggcca gtggcaggca

[0108] 2701 gcaggaggga gctggccgac cctcagtgc tgacaagcca gcaattctga gttctggcct

[0109] 2761 ttgggagtct gcctgtctca agccagtcca cccagctgc agcccaaaa gctggctcaa

[0110] 2821 agtccttggg tggattcact ggagatgggc aacttaaac aagagaaact ttaattttta

[0111] 2881 aacctaaagt atgatacagc ttttccctta gattatgcc caggctggag tgcagtggca

[0112] 2941 tgatctcagc tactgcaag ctccacctcc tgggttcatt ccattctcct gcctcagcct

[0113] 3001 cccccgagt aactgggaat acaggcgccc gccaccatgc ctggctaatt ttttgtattt

[0114] 3061 ttagtagaga tagggtttca tcatgttagc caggatggtc tcattcttat tctttaatga

[0115] 3121 gatcagaggg taattcacca agaaagacct ctctgttcc attgtgtcat ccaacaactg

[0116] 3181 ctacagagctc aaaattatag aaggcttctg agcccctaga gatttttaat ttgcttctaa
 [0117] 3241 tccctgaggt gggaacatca tgagggaaga ttigattttc agagttaaataa aaattgtatg
 [0118] 3301 tgctttttcca gccatctggc tcaactcattt ctgggtaatg cacatgactt tgtttgcaact
 [0119] 3361 ggaggaagat ggaagcttgc gtgtgtgctg tgtgtgtgtg tgtgtaagtg tgaggtaacct
 [0120] 3421 tgtgtgtgac aagagacctc acttacgaga aagttgggtg atcaggacat tccagcctca
 [0121] 3481 ggcggtttgg agcaggatca ttctcagca ggcatttctt ccacatgcta tggatgaacc
 [0122] 3541 atgcacaaga ttttcggttt tttttttttt ttctgttaca gtgtcttttag aaacaagtag
 [0123] 3601 aagtgttttg atatatataaa ggaatgcttc atttcttate attatcccaa aattgatccc
 [0124] 3661 tcccacattt ttgcttttaa aagaaacctt ttgggttttg tttttatatac aggaacacaa
 [0125] 3721 aatgcaaaca agttgtgcat attttggact ctcaaataac ttctctgtcc tttataaag
 [0126] 3781 taataataag gaatagatgt gcacatagtt agaaaagtat gagggttaa aaacaacagt
 [0127] 3841 ctcccatact gcctgttttc tctctcagag gggaccacta atgagcttct aagggcattt
 [0128] 3901 ctagaaagga agaaaagaag ataagaggcc aaagaaggag ggacgggggt tatggagaga
 [0129] 3961 gaccttccct ttccagcact aacgctctgt gaaggcgct gcaccttgca ttcttcatgt
 [0130] 4021 ggtgttttgt cttagaggtc gtcccataat aacatataaa gatctacctc attctccta
 [0131] 4081 gtagctgctt agcattccat tatctcagcg gactatcatt tatttgaata gccttttatt
 [0132] 4141 ggtgaacata tggatacttc cagtttttat ttttatatac aaatctataa ttggcatact
 [0133] 4201 tgtacataca tcttgacata gttttgtgac taaaacggta taaattccaa cttagaaatg
 [0134] 4261 gaattgctgg gttaaggct acatgtattt aaaattttga tagctattgc cagattatct
 [0135] 4321 tctagaaact gatcgaagga tgtaactcca tcaagagtac aataaaaggc ccaatttctc
 [0136] 4381 agctttctat aatagcactg ggtattttca aacttaatgt ttttcccaat ataattggtg
 [0137] 4441 aaacatgata ttacgaata ttattctgat ttgggtttat ttgtgtata aaatgggaca
 [0138] 4501 tcttttaaaa tttttttgta gttttaattt tgatacattt atatttttaa cccagttcct
 [0139] 4561 aattgggtta tttggctttt tcttaatttg ctcatgcact ttgggacatt ttgtcttat
 [0140] 4621 gtcttttaaaa tttttttatc atttgtcttt cgatgttatt tattgatttc cttatttatt
 [0141] 4681 ggcatagagt ttaaattttt atgttgtcaa ttgtgtagta ttttctttg tcatcgtgg
 [0142] 4741 gatttgtttc cagtttttaa aagccttctt cattctgaga ttataaatag acttactcgc
 [0143] 4801 attttcttct gaaactttat ggttttattg gtttaccttc acatcttcag actccctgga
 [0144] 4861 attcatttgt tgcaggacat gagggaaaaa tccatacttt ttctcgaat tgggtggtcag
 [0145] 4921 cagtatcaat aaatatgtaa taatgcattt ctaaaataca gtcatagtgt tttccccagt
 [0146] 4981 tgttcaaaat gcagccttat ttgtaaacta aatttcttta agtgtttggt tctgtttctg
 [0147] 5041 ttctatttat ctctatgaat gcctttcatt tctaaagcat tttcatact aatatcagta
 [0148] 5101 ttttcaagtc aacactccca tcaactctga atctctctct catatgaatc tttttcaat
 [0149] 5161 tagagtcaca atgaatttac agattgagtc ttctatttca aaagcatgaa atcttgtgtt
 [0150] 5221 taagtctaat tttatgtaac ttagtagtgt tttatgattt tgttactaa ggtgctttga
 [0151] 5281 atttatagtt tttttctaga tgttttatca ttgggtatc attttcaata gaatgattta

[0152] 5341 ttccacttta ttttctatatt tatccattg tataagaaag tagttggttt ttatgtatga

[0153] 5401 atgttataat caaccacaaa ttgtgattcc tacttgtttc taagtatac ttttgacttc

[0154] 5461 tcctttccaa tgtgtctctt atttctttct tgtatctagt tgatttgaga tcagtgttga

[0155] 5521 gtcacagtga ttcagggtggc atgcttatct tgttcgtgac atcagtgga cgttttaatg

[0156] 5581 tctcagcgtt taacttgat gaagacatgt attttccttg ccataataaa aaagtatctg

[0157] 5641 tgtgttctca aactattaag actctctggg gaaaatgtag atgttagatt tttgtcaaag

[0158] 5701 ccttctcagt gtccagaggg attatcagaa ggtcttttcc tttgctctag tagtatgttt

[0159] 5761 aattatatta atagaatact taagacaaa tcattagtgt attcctgaga tgttctttac

[0160] 5821 ttattagat catgactttg gttatcaata ttataatta agattcatca ttctacatct

[0161] 5881 tgcttttatg tgtttttgt ccagatttaa ctttatgctg acttaaagga agaaatatta

[0162] 5941 taaaacaaaa acctctatat tctacaatca tctattgggt ttggattatt ttctgcttaa

[0163] 6001 gtgtagaaga actagctggg gctgtctggg cctgccgtgg tatatttctg gattttgctc

[0164] 6061 atcaggcaag ttaggtctc gagcccttct agagtcatt ttaatgacac ttttaaaat

[0165] 6121 aaaattaatt ccatccactt ttcaacata

[0167] 서열번호 3: α7nACHR 아미노산 서열

[0168] 1 mrcspggvwl alaasllhgk atasppstpp wdpghipgas vrpapgpvsl qgefqrklyk

[0169] 61 elvkynpnr rpvandsqpl tvyfsllsq imdvdeknqv ltniwlqms wtdhylqwnv

[0170] 121 seypgvktvr fpdqiwpd illynsader fdatfhtnvl vnssghcqyl ppgifksscy

[0171] 181 idvrwfpdv qhcklkfgsw syggwslldq mqedisgyi pngewdlvgi pgkrserfye

[0172] 241 ckepydvt fvtmrrrtl yyglnllipc vlisalallv fllpadsgek islgitvlls

[0173] 301 ltvfmlvae impatsdsvp liaqyfastm iivglsvvt vivlqyhhd pdggkmpkwt

[0174] 361 rvillnwaw flmrkrpge kvrpacqhkq rrcslasvem savappasn gnlliyigfrg

[0175] 421 ldgvhcvptp dsgvvcgrma cspthdehl hgqpppegdp dlakileevr yianrfrcqd

[0176] 481 eseavcsewk faacvvdrlc lmafsvftii ctigilmsap nfveavskdf a

[0178] 서열번호 4: α7nACHR 단백질을 암호화하는 유전자 서열

[0179] 1 tccttaaagg cgcgcgagcc gagcgcgag gtgcctctgt ggccgcagge gcaggcccgg

[0180] 61 gcgacagccg agacgtggag cgcgccggct cgtgcagct cgggactca acatgcgctg

[0181] 121 ctgcgggga ggcgtctggc tggcgtggc cgctcgctc ctgcacgga aagccactgc

[0182] 181 cccccgcc tccactctc cgtgggatcc cgggcacatc cgggagcct ctgtgcgcc

[0183] 241 cgcgctggg ccagtgtccc tgcaaggcga gttccagagg aagctttaca aggagctggt

[0184] 301 caagaactac aatcccttgg agaggcccg ggccaatgac tcgcaaccac tcaccgtcta

[0185] 361 cttctccctg agcctctgc agatcatgga cgtggatgag aagaaccaag ttttaaccac

[0186] 421 caacatttgg ctgcaaatgt cttggacaga tctatttta cagtggaatg tgtcagaata

[0187] 481 tccaggggtg aagactgtc gtttccaga tggccagatt tggaaccag acattcttct

[0188] 541 ctataacagt gctgatgagc gctttgacg cacattccac actaacgtgt tggtaattc

[0189] 601 ttctgggcat tgccagtacc tgcctccagg catattcaag agttcctgct acatcgatgt

[0190] 661 acgctgggtt ccttttgatg tgcagcactg caaactgaag tttgggtcct ggtcttacgg
 [0191] 721 aggctggtec ttggatctgc agatgcagga ggcagatata agtggctata tccccaatgg
 [0192] 781 agaatgggac ctagtgggaa tccccggcaa gaggagtgaag aggttctatg agtgcctgaa
 [0193] 841 agagccctac cccgatgtca ccttcacagt gaccatgcgc cgcaggacgc tctactatgg
 [0194] 901 cctcaacctg ctgateccct gtgtgctcat ctccgccctc gccctgctgg tgttctgct
 [0195] 961 tctgcagat tccggggaga agatttcctt ggggataaca gtcttactct ctcttaccgt
 [0196] 1021 cttcatgctg ctctggctg agatcatgcc cgcaacatcc gattcggctac cattgatagc
 [0197] 1081 ccagtacttc gccagcacca tgatcatcgt gggcctctcg gtggtgggta cagtgatcgt
 [0198] 1141 gctgcagtac caccaccacg accccgacgg gggcaagatg cccaagtgga ccagagtcat
 [0199] 1201 ctttctgaac tgggtgcgct ggttctgctg aatgaagagg cccggggagg acaaggtgctg
 [0200] 1261 cccggcctgc cagcacaaagc agcggcgtg cagcctggcc agtgtggaga tgagcgcctg
 [0201] 1321 ggccgcccgc cccgccagca accgggaacct gctgtacatc ggcttccgct gcctggacgg
 [0202] 1381 cgtgcactgt gtcccgaccc ccgactctgg ggtagtgtgt ggccgcatgg cctgctcccc
 [0203] 1441 cagcacgat gacacacctc tgcacggcgg gcaaccccc gagggggacc cggacttggc
 [0204] 1501 caagatcctg gaggaggtcc gctacattgc caaccgttc cgtgccagg acgaaagcga
 [0205] 1561 ggccgtctgc agcagtgga agttcgccgc ctgtgtgtg gaccgcctgt gcctcatggc
 [0206] 1621 cttctcggtc ttcaccatca tctgcacat cggcatcctg atgtcgctc ccaacttctg
 [0207] 1681 ggaggccgtg tccaaagact ttgcgtaac accgctggtt ctgtacatgt ggaaaactca
 [0208] 1741 cagatgggca aggcctttgg cttggcgaga tttgggggtg ctaatccagg acagcattac
 [0209] 1801 accccacaac tccagtgttc cttctggct gtcagtcgtt ttgcttacgg tttctttgtt
 [0210] 1861 actttaggta gtagaatctc agcactttgt ttcataattc cagatgggt gatagatata
 [0211] 1921 cttggcacat ccgtaccatc ggtcagcagg gccactgagt agtcattttg cccattagcc
 [0212] 1981 cactgcctgg aaagcccttc ggagagctcc ccatggctcc tcaccaccga gacagtgggt
 [0213] 2041 tttgcatgtc tgcataagg tctacctgaa aattcaacat ttgctttttg cttgtgtaca
 [0214] 2101 aaccagatt gaagctaaaa taaaccagac tcaataaatc cttccaata attgactggt
 [0215] 2161 ggaaggaaaa caaaaaaaca aaactaaaaa cctcttagct tttctgcaat tcaactttt
 [0216] 2221 atttttattt ttatttctat caaagacggg agagagaaac agcttgatgc tgtttctaca
 [0217] 2281 ttaaaaaaaaa aaaaaaaga cagactgttg gtcttactaa ggatgtttt accagcctgc
 [0218] 2341 ctgacttctg caaacctacc ctgtcaagga gatcaaggg acgcagggtt ctgtttatc
 [0219] 2401 tgaacaaggg ccaggccccg cggagtgtct ttgggtggatc ccagataact cctagggtgt
 [0220] 2461 gctctcagac actgaggagt tgagcaaatc tgttctatc tgcagaacct acaggacaaa
 [0221] 2521 taagagtctt actagaatta acagcccaaa agaataagta cagctaagtg aagccactta
 [0222] 2581 cgtgggcttt aaaaaataa tgtgttagct gattcatatg cactggagt aattagtctt
 [0223] 2641 agaaatgtgt gcatccatac aaatgcacaa cataaagtga acatattcct aggcctttc
 [0224] 2701 tgcctgtgtc agggccagga agtagaggct gggaactctt ctggtcccca gtaggcagg
 [0225] 2761 cgccagggag gggatggtgt ggcccatccc ttctctggat acctggccag tggcaggcag

[0226] 2821 cagggaggag ctggccgacc ctcagtgcact gacaagccag caattctgag ttctggcctt
 [0227] 2881 tgggagctctg cctgctccaa gccagtcac cccagctgca gcccacaaag ctggctcaaa
 [0228] 2941 gtccttgggt ggattcactg gagatgggca acttaaaaca agagaaactt taatttttaa
 [0229] 3001 acctaagtga tgatacagct cttcccttag attatcgccc aggcctggagt gcagtggcat
 [0230] 3061 gatctcagct cactgcaagc tccacctcct gggttcatgc cattctcctg cctcagcctc
 [0231] 3121 cccccgagta actgggaata caggcgcccg ccacatgcc tggctaattt tttgtatttt
 [0232] 3181 tagtagagat agggtttcat catgttagcc aggatggctt cattcttatt ctttaatgag
 [0233] 3241 atcagagggt aattcaccaa gaaagacctc tctgttcca ttgtgtcatc caacaactgc
 [0234] 3301 tcagagctca aaattataga aggccttctga gcccttagag atttttaatt tgcttctaatt
 [0235] 3361 ccctgagggtg ggaacatcat gaggaagat ttgattttca gagttaaata aattgtatgt
 [0236] 3421 gcttttccag ccaaaaaaaaa aaa

발명의 효과

[0239] 본 발명의 섬유증의 진단용 조성물; 및 이를 포함하는 키트는 목적하는 개체에서 발생된 섬유증을 매우 효과적으로 진단해 내어, 단순한 외과적 치료 방법을 적용하기 이전에 상기 목적하는 개체에 적절한 치료 방법을 적용함으로써 치료에 소요되는 사회적 비용 및 시간 등을 현저하게 감소시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0240] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 $\alpha 7$ nACHR($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor) 유전자의 발현 수준을 중합효소연쇄반응을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 $\alpha 7$ nACHR 단백질의 발현 수준을 웨스턴 블롯 분석을 통해 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 $\alpha 7$ nACHR 단백질의 발현 수준을 웨스턴 블롯 분석을 통해 확인한 결과 값을 그래프로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0241] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0243] 실시예

[0245] [준비에 1] 정상 섬유아세포 및 켈로이드 섬유아세포 배양

[0246] 섬유증을 진단하는데 특이적으로 활용할 수 있는 마커를 선별하기 위해, 인간 유래 정상 섬유아세포(fibroblast) 및 켈로이드 섬유아세포(Keloid fibroblast)를 사용하였다. 상기 각 세포는 ATCC(American Type Culture Collection)로부터 제공받아 사용하였다. 상기 세포는 공급처에서 제공하는 배양 배지를 사용하여, 37℃, 5% CO₂의 조건에서 배양하였다.

[0248] [실시예 1] $\alpha 7$ nACHR 유전자의 발현 수준 비교

[0249] 100 mm 배양 접시에 1×10^6 세포수로 정상 섬유아세포 또는 켈로이드 섬유아세포를 분주한 뒤에, 상기 정상 섬유아세포에는 리포다당류(LPS)를 처리하거나, 또는 아무것도 처리하지 않고 24시간 동안 배양하였다. 그런 다음, 상기 세포들에서 TRIzol 시약(Takara Bio, Otsu, Shiga, Japan)을 사용하여 총 RNA를 추출하고, 제조사의 프로토콜을 따라 PrimeScript Reverse Transcriptase (Takara Bio, Otsu, Shiga, Japan)와 oligo(dT)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. SYBR Green Master (Roche, Basel, Switzerland)와 ABI Prism 7700 서열 검출 시스템 (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA)을 통해 정량적 PCR(quantitative PCR)을 수행하여, 그 결과를 도 1

에 나타내었다. 여기서, 상기 정량적 PCR은 써모 피셔(Thermo fisher)사에서 제공하는 프라이머(Cat No. Hs01063372_m1)를 사용하였다.

[0250] 도 1에서 보는 바와 같이, 정상 섬유아세포(HDF)와 비교하여 염증반응을 유발한 정상 섬유아세포(HDF+LPS) 및 켈로이드 섬유아세포(KF)에서 α 7nAChR 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 수준이 감소되었다.

[0251] 상기 결과를 통해 α 7nAChR 단백질을 암호화하는 유전자는 섬유아세포에 염증성 반응이 유발된 경우 및 켈로이드 섬유아세포에서 특이적으로 발현이 감소되었으므로, 이와 같이 α 7nAChR 단백질을 암호화하는 유전자가 감소된 경우 피부 섬유증 특히 켈로이드성 피부 또는 흉터를 진단해낼 수 있다.

[0253] [실시예 2] α 7nAChR 단백질의 발현 수준 비교

[0254] 상기 실시예 1과 동일한 조건으로 세포를 배양한 뒤, 상기 세포들에서 단백질 분해 억제제가 포함된 세포 용해 버퍼를 통해 세포 용해물을 수득하였다. 상기 세포 용해물을 원심분리하여 단백질을 수득한 뒤, 상기 세포들로부터 얻어진 동등한 양의 단백질을 SDS-PAGE에 각각 로딩하고 전기영동 하였다. 전기영동이 완료된 상기 겔에 존재하는 단백질을 PVDF 막에 옮겼다. 상기 PVDF 막을 세척 뒤에, TBS-T 완충액에 5%의 탈지 분유가 포함된 블로킹 완충액에 넣고 상온에서 배양하였다. 그런 다음, 3%의 BSA가 포함된 TBS-T 완충액에 1:1,000 희석된 α 7nAChR 단백질에 특이적인 항체와 상기 PVDF 막을 실온에서 배양하였다. 이후, PVDF 막을 TBS-T 완충액으로 세척하고, HRP가 결합된 IgG가 포함된 희석액과 함께 상온에서 1시간 동안 배양하였다. TBS-T 완충액을 이용하여 상기 PVDF 막을 3회 세척하고, ECL 웨스턴 블롯팅 검출 시약을 이용하여 시각화 및 정량화 하여, 그 결과를 도 2 및 도 3에 나타내었다.

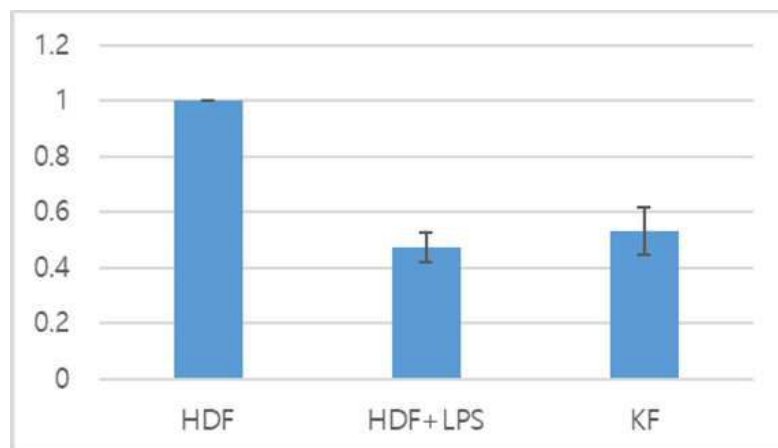
[0255] 도 2 및 도 3에서 보는 바와 같이, 정상 섬유아세포(HDF)와 비교하여 염증반응을 유발한 정상 섬유아세포(HDF+LPS)에서 α 7nAChR 단백질의 발현 수준이 감소되었으며, 켈로이드 섬유아세포(KF)에서 α 7nAChR 단백질의 발현 수준이 더욱 감소되었다.

[0256] 상기 결과를 통해 α 7nAChR 단백질은 섬유아세포에 염증성 반응이 유발된 경우에 더불어, 켈로이드 섬유아세포에서 특이적으로 발현이 감소되었으므로, 이와 같은 경우 피부 섬유증 특히 켈로이드성 피부 또는 흉터를 진단해낼 수 있다.

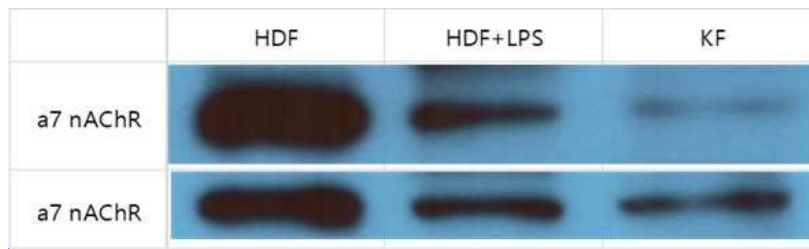
[0258] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3



서열 목록

<110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University

<120> A composition for diagnosing of fibrosis and using thereof

<130> PDPB194218

<160> 4

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 502

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Arg Cys Ser Pro Gly Gly Val Trp Leu Ala Leu Ala Ala Ser Leu

1 5 10 15

Leu His Val Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu

20 25 30

Leu Val Lys Asn Tyr Asn Pro Leu Glu Arg Pro Val Ala Asn Asp Ser

35 40 45

Gln Pro Leu Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp

50 55 60
 Val Asp Glu Lys Asn Gln Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Ser Trp Thr Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly
 85 90 95
 Val Lys Thr Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile

 100 105 110
 Leu Leu Tyr Asn Ser Ala Asp Glu Arg Phe Asp Ala Thr Phe His Thr
 115 120 125
 Asn Val Leu Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly
 130 135 140
 Ile Phe Lys Ser Ser Cys Tyr Ile Asp Val Arg Trp Phe Pro Phe Asp
 145 150 155 160
 Val Gln His Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp
 165 170 175

 Ser Leu Asp Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro
 180 185 190
 Asn Gly Glu Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg
 195 200 205
 Phe Tyr Glu Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val
 210 215 220
 Thr Met Arg Arg Arg Thr Leu Tyr Tyr Gly Leu Asn Leu Leu Ile Pro
 225 230 235 240
 Cys Val Leu Ile Ser Ala Leu Ala Leu Leu Val Phe Leu Leu Pro Ala

 245 250 255
 Asp Ser Gly Glu Lys Ile Ser Leu Gly Ile Thr Val Leu Leu Ser Leu
 260 265 270
 Thr Val Phe Met Leu Leu Val Ala Glu Ile Met Pro Ala Thr Ser Asp
 275 280 285
 Ser Val Pro Leu Ile Ala Gln Tyr Phe Ala Ser Thr Met Ile Ile Val
 290 295 300
 Gly Leu Ser Val Val Val Thr Val Ile Val Leu Gln Tyr His His His

305 310 315 320

Asp Pro Asp Gly Gly Lys Met Pro Lys Trp Thr Arg Val Ile Leu Leu

325 330 335

Asn Trp Cys Ala Trp Phe Leu Arg Met Lys Arg Pro Gly Glu Asp Lys

340 345 350

Val Arg Pro Ala Cys Gln His Lys Gln Arg Arg Cys Ser Leu Ala Ser

355 360 365

Val Glu Met Ser Ala Val Ala Pro Pro Pro Ala Ser Asn Gly Asn Leu

370 375 380

Leu Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Leu Asp Gly Val His Cys Val Pro Thr

385 390 395 400

Pro Asp Ser Gly Val Val Cys Gly Arg Met Ala Cys Ser Pro Thr His

405 410 415

Asp Glu His Leu Leu His Gly Gly Gln Pro Pro Glu Gly Asp Pro Asp

420 425 430

Leu Ala Lys Ile Leu Glu Glu Val Arg Tyr Ile Ala Asn Arg Phe Arg

435 440 445

Cys Gln Asp Glu Ser Glu Ala Val Cys Ser Glu Trp Lys Phe Ala Ala

450 455 460

Cys Val Val Asp Arg Leu Cys Leu Met Ala Phe Ser Val Phe Thr Ile

465 470 475 480

Ile Cys Thr Ile Gly Ile Leu Met Ser Ala Pro Asn Phe Val Glu Ala

485 490 495

Val Ser Lys Asp Phe Ala

500

 $\langle 210 \rangle$ 2

<211> 6149

<212> DNA

<213> Homo sapiens

 $\langle 400 \rangle$ 2

gcctctgtgg ccgcaggcgc aggcccgggc gacagccgag acgtggagcg cgccggctcg

60

ctgcagctcc gggactcaac atgcgctgct cgccgggagg cgtctggctg gcgctggccg	120
cgctgctcct gcacgtgtcc ctgcaaggcg agttccagag gaagctttac aaggagctgg	180
tcaagaacta caatcccttg gagaggcccg tggccaatga ctgcaacca ctcacgtct	240
acttctccct gagcctcctg cagatcatgg acgtggatga gaagaaccaa gttttaacca	300
ccaacatttg gctgcaaatg tcttggacag atcactatit acagtggaat gtgtcagaat	360
atccaggggt gaagactgtt cgtttcccag atggccagat ttggaaacca gacattcttc	420
tctataacag tgctgatgag cgctttgacg ccacattcca cactaacgtg ttggtgaatt	480
cttctgggca ttgccagtac ctgcctccag gcatattcaa gatttctgc tacatcgatg	540
tacgtctggtt tccctttgat gtgcagcact gcaaactgaa gtttgggtcc tggctttacg	600
gaggctggtc cttagatctg cagatgcagg aggcagatat cagtggctat atccccaatg	660
gagaatggga ctagtggga atccccgca agaggagtga aaggttctat gagtgtctga	720
aagagcccta cccgatgtc accttcacag tgaccatgcg ccgcaggacg ctctactatg	780
gcctcaacct gctgatcccc tgtgtgtca tctccgccct cgccctgctg gtgttctgc	840
ttcttcaga ttccggggag aagatttccc tggggataac agtcttactc tctcttaccg	900
tcttcatgct gctcgtggct gagatcatgc ccgcaacatc cgattcggtt ccattgatag	960
cccagtaatt cgccagcacc atgatcatcg tgggcctctc ggtgggtggtg acagtgatcg	1020
tgctgcagta ccaccaccac gaccccgacg ggggcaagat gcccaagtgg accagagtca	1080
tccttctgaa ctggtgcgag tgggttctgc gaatgaagag gcccggggag gacaaggctc	1140
gccccgcctg ccagcacaag cagcggcgct gcagcctggc cagtgtggag atgagcgccg	1200
tggcgccgac gcccgccagc aacgggaacc tgctgtacat cggcttccgc ggcctggacg	1260
gcgtgcactg tgtcccgacc cccgactctg gggtagtgtg tggccgcatg gcctgtctcc	1320
ccacgcacga tagcacctc ctgcacggcg ggcaaccccc cgagggggac ccggacttgg	1380
ccaagatcct ggaggaggtc cgctacattg ccaaccgctt ccgtgccag gacgaaagcg	1440
aggcggtctg cagcgagtgg aagttcgccg cctgtgtggt ggaccgcctg tgctcatgg	1500
cttctcgggt cttcaccatc atctgcacca tcggcatcct gatgtcggct cccaacttcg	1560
tggaggccgt gtccaaagac tttgcgtaac cagcctggt tctgtacatg tggaaaactc	1620
acagatgggc aaggcctttg gcttggcgag atttgggggt gctaattccag gacagcatta	1680
cacgccacaa ctccagtgtt ccttctggc tgcagtcgt gttgcttacg gtttctttgt	1740
tactttaggt agtagaatct cagcactttg ttctatattc tcagatgggc tgatagatat	1800

ccttggcaca tccgtacat cggtcagcag ggccactgag tagtcatttt gccatttagc	1860
ccactgcctg gaaagccctt cggagagctc cccatggctc ctcaccaccg agacagttgg	1920
ttttgcatgt ctgcatgaag gtctacctga aaattcaaca tttgcttttt gcttgtgtac	1980
aaaccagat tgaagctaaa ataaaccaga ctactaaat cctttccaat aattgactgg	2040
tggaaggaaa acaaaaaaca aaaactaaaa acctcttagc tttctgcaa ttcaactttt	2100
tatttttatt ttttttcta tcaaagacgg tagagagaaa cagcttgatg ctgtttctac	2160
attaaaaaaa aaaaaaaaaag acagactgtt ggtcttacta aggatgtttt taccagcctg	2220
cctgacttct gcaaacctac cctgtcaagg agatcaaagg gacgcaggtt tctgtttatt	2280
ctgaacaagg gccaggcccc gcggagtgtc tttggtggat cccagataac tcctagggtgc	2340
tgctctcaga cactgaggag ttgagcaaat ctgttctatt ctgcagaacc cacaggacaa	2400
ataagagttc tactagaatt aacagcccaa aagaatagct acagctaagt gaagccactt	2460
acgtgggctt taaaaaata atgtgttagc tgattcacat gcactggagt taattagtct	2520
tagaaatgtg tgcatccata caaatgcaca acataaagt aacatattcc taggcccttt	2580
ctgcctgtgt cagggccagg aagtagaggc tgggaactct tctggtcctc agtatggcag	2640
gcgccaggga ggggatggtg tggcccatcc ctctcttgga tacctggcca gtggcaggca	2700
gcagggagga gctggccgac cctcagtac tgacaagcca gcaattctga gttctggcct	2760
ttgggagtct gctgtctca agccagtcca cccagctgc agcccaaaa gctggctcaa	2820
agtccttggg tggattcact ggagatgggc aacttaaac aagagaaact ttaattttta	2880
aacctaagt atgatacagc tcttccctta gattatcgcc caggctggag tgcagtggca	2940
tgatctcagc tcactgcaag ctccacctcc tgggttcatt ccattctct gcctcagcct	3000
ccccccgagt aactgggaat acaggcgccc gccacatgc ctggctaatt tttgtattt	3060
ttagtagaga tagggtttca tcatgttagc caggatggtc tcattcttat tctttaatga	3120
gatcagaggg taattcacca agaaagacct ctctgttcc attgtgtcat ccaacaactg	3180
ctcagagctc aaaattatag aaggtttctg agcccctaga gatttttaat ttgcttctaa	3240
tccctgaggt gggaacatca tgagggaaga tttgattttc agagttaaat aaattgtatg	3300
tgcttttcca gccatctggc tcactcattt ctgggtaatg cacatgactt tgtttgcact	3360
ggaggaagat ggaagcttgc gtgtgtgcgg tgtgtgtgtg tgtgtaagt tgaggtacct	3420
tgtgtgtgac aagagacctc acttacgaga aagtgtgtgg atcaggacat tccagcctca	3480
ggcggcttgg agcaggatca ttctcagca ggcatctcct ccacatgcta tggatgaacc	3540
atgcacaaga ttttcggttt tttttttttt ttctgttaca gtgtcttttag aaacaagtag	3600
aagtgttttg atatataaaa ggaatgcttc atttcttata attatccaa aattgatccc	3660

tccacattt ttgctttaa aagaacctt ttgtgtttg tattttatac aggaacacaa	3720
aatgcaaaca agttgtgcat attttggact ctcaaataac ttctctgtcc tttataaag	3780
taataataag gaatagatgt gcacatagtt agaaaagtat gagggttaa aaacaacagt	3840
ctccatact gcctgttttc tctctcagag gggaccacta atgagcttct aagggcattt	3900
ctagaaagga agaaaagaag ataagaggcc aaagaaggag ggacgggggt tatggagaga	3960
gaccttccct ttccagcact aacgtctgt gaaggcgct gcaccttgca ttcttcatgt	4020
ggtgttttgt cttagaggtc gtcccataat aacatataaa gatctacctc attcctccta	4080
gtagctgctt agcattccat tatctcagcg gactatcatt tatttgaata gccttttatt	4140
ggtgaacata tggatacttc cagtttttat ttttatatac aaatctataa ttggcatact	4200
tgtacataca tcttgacata gttttgtgac taaaacggta taaattccaa cttagaaatg	4260
gaattgctgg gtttaaggct acatgtattt aaaatttga tagctattgc cagattatct	4320
tctagaaact gatcgaagga tgtaactcca tcaaggtac aataaaaggc ccaatttctc	4380
agctttctat aatagcactg ggtattttca aacttaatgt ttttccaat ataattggtg	4440
aaacatgata tttacgaata ttattctgat ttgtgtttat ttgtgtata aaatgggaca	4500
tcttttaaaa tttttttgta gttttaattt tgatacatat atatattta ccagttcct	4560
aattgggtta ttggctttt tcttaatttg ctcatgcact ttgggacatt ttgtcttat	4620
gtctttaaaa tatttttate atttgcctt cgatgttatt tattgatttc cttatttatt	4680
ggcatagagt ttaaattttt atgttgtcaa ttgtgagta ttttctttg tcgatcgtgg	4740
gatttgtttc cagtttttaa aagccttctt cattctgaga ttataaatag acttactgc	4800
attttcttct gaaactttat ggttttattg gtttaccttc acatcttcag actccctgga	4860
attcatttgt tgcaggacat gagggaaaaa tccatacttt ttcctcgaaa tgggtgtcag	4920
cagtatcaat aaatatgtaa taatgcattt ctaaaataca gtcatagtgt tttccccagt	4980
tgttcaaaat gcagccttat ttgtaaacta aatttcttta agtgtttggt tctgtttctg	5040
ttctatttat ctctatgaat gcctttcatt tctaaagcat tattcatact aatatcagta	5100
ttttcaagtc aacactccca tcaactctga atctctctct catatgaatc tttttcaat	5160
tagagtcaca atgaatttac agattgagtc ttctatttca aaagcatgaa atcttgtgtt	5220
taagtctaata tttatgtaac ttagtagtgt tttatgattt tgttactaa ggtgctttga	5280
atttatagtt tatttctaga tgttttatca ttggctatc attttcaata gaatgattta	5340
ttccacttta ttttctattt tatccattg tataagaaag tagttggttt ttatgtatga	5400
atgttataat caaccacaaa ttgtgattcc tacttgtttc taaggatatac ttttgacttc	5460
tcctttccaa tgtgtctctt atttctttct tgtatctagt tgatttgaga tcagtgttga	5520

gtcacagtga ttcaggtggc atgcttatct tgttcgtgac atcagtggga cgttttaatg 5580

tctcagcgtt taacttgtat gaagacatgt attttccttg ccataataaa aaagtatctg 5640

tgtgttctca aactattaag actctctggg gaaaatgtag atgttagatt tttgtcaaag 5700

ccttctcagt gtccagaggg attatcagaa ggtcttttcc tttgctctag tagtatgttt 5760

aattatatta atagaatact taagacaaaa tcattagtgt attcctgaga tgttctttac 5820

ttattagtat catgactttg gttatcaata ttataatta agattcatca ttctacatct 5880

tgcttttatg tgttttttgt ccagatttaa ctttatgctg acttaaagga agaaatatta 5940

taaaacaaaa acctctatat tctacaatca tctattgggt ttggattatt ttctgcttaa 6000

gtgtagaaga actagctggg gctgtctggg cctgccgtgg tatatttctg gattttgctc 6060

atcaggcaag ttaggtcctc gagcccttct agagtccatt ttaatgacac ttttaaaaat 6120

aaaattaatt ccatccactt ttcaacata 6149

<210> 3

<211> 531

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Arg Cys Ser Pro Gly Gly Val Trp Leu Ala Leu Ala Ala Ser Leu

1 5 10 15

Leu His Gly Lys Ala Thr Ala Ser Pro Pro Ser Thr Pro Pro Trp Asp

20 25 30

Pro Gly His Ile Pro Gly Ala Ser Val Arg Pro Ala Pro Gly Pro Val

35 40 45

Ser Leu Gln Gly Glu Phe Gln Arg Lys Leu Tyr Lys Glu Leu Val Lys

50 55 60

Asn Tyr Asn Pro Leu Glu Arg Pro Val Ala Asn Asp Ser Gln Pro Leu

65 70 75 80

Thr Val Tyr Phe Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ile Met Asp Val Asp Glu

85 90 95

Lys Asn Gln Val Leu Thr Thr Asn Ile Trp Leu Gln Met Ser Trp Thr

100 105 110

Asp His Tyr Leu Gln Trp Asn Val Ser Glu Tyr Pro Gly Val Lys Thr

115	120	125	
Val Arg Phe Pro Asp Gly Gln Ile Trp Lys Pro Asp Ile Leu Leu Tyr			
130	135	140	
Asn Ser Ala Asp Glu Arg Phe Asp Ala Thr Phe His Thr Asn Val Leu			
145	150	155	160
Val Asn Ser Ser Gly His Cys Gln Tyr Leu Pro Pro Gly Ile Phe Lys			
165	170	175	
Ser Ser Cys Tyr Ile Asp Val Arg Trp Phe Pro Phe Asp Val Gln His			
180	185	190	
Cys Lys Leu Lys Phe Gly Ser Trp Ser Tyr Gly Gly Trp Ser Leu Asp			
195	200	205	
Leu Gln Met Gln Glu Ala Asp Ile Ser Gly Tyr Ile Pro Asn Gly Glu			
210	215	220	
Trp Asp Leu Val Gly Ile Pro Gly Lys Arg Ser Glu Arg Phe Tyr Glu			
225	230	235	240
Cys Cys Lys Glu Pro Tyr Pro Asp Val Thr Phe Thr Val Thr Met Arg			
245	250	255	
Arg Arg Thr Leu Tyr Tyr Gly Leu Asn Leu Leu Ile Pro Cys Val Leu			
260	265	270	
Ile Ser Ala Leu Ala Leu Leu Val Phe Leu Leu Pro Ala Asp Ser Gly			
275	280	285	
Glu Lys Ile Ser Leu Gly Ile Thr Val Leu Leu Ser Leu Thr Val Phe			
290	295	300	
Met Leu Leu Val Ala Glu Ile Met Pro Ala Thr Ser Asp Ser Val Pro			
305	310	315	320
Leu Ile Ala Gln Tyr Phe Ala Ser Thr Met Ile Ile Val Gly Leu Ser			
325	330	335	
Val Val Val Thr Val Ile Val Leu Gln Tyr His His His Asp Pro Asp			
340	345	350	
Gly Gly Lys Met Pro Lys Trp Thr Arg Val Ile Leu Leu Asn Trp Cys			
355	360	365	
Ala Trp Phe Leu Arg Met Lys Arg Pro Gly Glu Asp Lys Val Arg Pro			

370 375 380
Ala Cys Gln His Lys Gln Arg Arg Cys Ser Leu Ala Ser Val Glu Met

385 390 395 400
Ser Ala Val Ala Pro Pro Pro Ala Ser Asn Gly Asn Leu Leu Tyr Ile

405 410 415
Gly Phe Arg Gly Leu Asp Gly Val His Cys Val Pro Thr Pro Asp Ser

420 425 430
Gly Val Val Cys Gly Arg Met Ala Cys Ser Pro Thr His Asp Glu His

435 440 445
Leu Leu His Gly Gly Gln Pro Pro Glu Gly Asp Pro Asp Leu Ala Lys

450 455 460

Ile Leu Glu Glu Val Arg Tyr Ile Ala Asn Arg Phe Arg Cys Gln Asp
465 470 475 480

Glu Ser Glu Ala Val Cys Ser Glu Trp Lys Phe Ala Ala Cys Val Val
485 490 495

Asp Arg Leu Cys Leu Met Ala Phe Ser Val Phe Thr Ile Ile Cys Thr
500 505 510

Ile Gly Ile Leu Met Ser Ala Pro Asn Phe Val Glu Ala Val Ser Lys
515 520 525

Asp Phe Ala

530

<210> 4

<211> 3443

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

tccttaaagg cgcgcgagcc gagcggcgag gtgcctctgt ggccgcaggc gcaggcccgg	60
gcgacagccg agacgtggag cgcgccggct cgtgcagct ccgggactca acatgcgctg	120
ctcgccggga ggctctggc tggcgtggc cgcgtcgtc ctgcacgta aagccactgc	180
ctcccggcc tccactctc cgtgggatcc cgggcacatc ccgggcgcct ctgtgcgcc	240
cgcgctggg ccagtgtccc tgcaaggcga gttccagagg aagctttaca aggagctggt	300

caagaactac aatcccttgg agaggcccgt ggccaatgac tcgcaaccac tcaccgtcta	360
cttctccctg agcctcctgc agatcatgga cgtggatgag aagaaccaag ttttaaccac	420
caacatttgg ctgcaaatgt cttggacaga tcactattta cagtggaatg tgtcagaata	480
tccaggggtg aagactgttc gtttcccaga tggccagatt tggaaccag acattcttct	540
ctataacagt gctgatgagc gctttgacgc cacattccac actaacgtgt tggatgaattc	600
ttctgggcat tgccagtacc tgccctcagg catattcaag agttcctgct acatcgatgt	660
acgctggttt ccctttgatg tgcagcactg caaactgaag tttgggtcct ggtcttacgg	720
aggctggtec ttggatctgc agatgcagga ggcagatata agtggctata tccccaatgg	780
agaatgggac ctagtgggaa tccccggcaa gaggagtga aggttctatg agtgctgcaa	840
agagccctac cccgatgca ccttcacagt gaccatgcgc cgcaggacgc tctactatgg	900
cctcaacctg ctgateccct gtgtgctcat ctccgccctc gccctgctgg tgttctctgt	960
tctgcagat tccggggaga agatttccct ggggataaca gtcttactct ctcttaccgt	1020
cttcatgctg ctctggctg agatcatgcc cgcaacatcc gattcggtag cattgatagc	1080
ccagtacttc gccagcacca tgatcatcgt gggcctctcg gtggtggtga cagtgatcgt	1140
gctgcagtac caccaccacg accccgacgg gggcaagatg cccaagtga ccagagtcac	1200
ccttctgaac tggatgcgct ggttctctgc aatgaagagg cccggggagg acaaggtgcg	1260
cccggcctgc cagcacaagc agcggcgtg cagcctggcc agtgtggaga tgagcgccgt	1320
ggcgccgccg cccgccagca acgggaacct gctgtacatc ggcttccgcg gcctggacgg	1380
cgtgcaactgt gtcccgaccc ccgactctgg ggtagtgtgt ggccgcatgg cctgctcccc	1440
cacgcacgat gagcacctcc tgcacggcgg gcaaccccc gagggggacc cggacttggc	1500
caagatcctg gaggaggctc gctacattgc caaccgttc cgctgccagg acgaaagcga	1560
ggcggctctgc agcgagtga agttcgccgc ctgtgtggtg gaccgcctgt gcctcatggc	1620
cttctcggtc ttacacatca tctgcacat cggcatcctg atgtcggctc ccaacttcgt	1680
ggaggccgtg tccaaagact ttgcgtaacc acgctggtt ctgtacatgt ggaaaactca	1740
cagatgggca aggccttttg cttggcgaga tttgggggtg ctaatccagg acagcattac	1800
acgccacaac tccagtgttc cttcttggtt gtcagtctgt ttgcttacgg tttctttgtt	1860
acttttaggta gtagaatctc agcactttgt ttcataattc cagatgggct gatagatata	1920
cttggcacat ccgtaccatc ggtcagcagg gccactgagt agtcattttg cccattagcc	1980
cactgcctgg aaagcccttc ggagagctcc ccattggtcc tcaccaccga gacagttggt	2040

tttgcatgtc tgcatgaagg tctacctgaa aattcaacat ttgctttttg cttgtgtaca	2100
aaccagatt gaagctaaaa taaaccagac tctaataatc cttccaata attgactggt	2160
ggaaggaaaa caaaaaacaa aaactaaaaa cctcttagct tttctgcaat tcaacttttt	2220
atTTTTtatt ttatttctat caaagacggt agagagaaac agcttgatgc tgtttctaca	2280
ttaaaaaaaa aaaaaaaga cagactgttg gtcttactaa ggatgttttt accagcctgc	2340
ctgacttctg caaacctacc ctgtcaagga gatcaaaggg acgcaggttt ctgtttattc	2400
tgaacaaggg ccaggccccc cggagtgtct ttggtggatc ccagataact cctaggtgct	2460
gctctcagac actgaggagt tgagcaaatc tgttctattc tgcagaacct acaggacaaa	2520
taagagtctt actagaatta acagcccaaa agaatagcta cagctaagtg aagccactta	2580
cgtgggcttt aaaaaataa tgtgttagct gattcacatg cactggagtt aattagtctt	2640
agaaatgtgt gcatccatac aaatgcacaa cataaagtga acatattcct aggccttttc	2700
tgctgtgtc agggccagga agtagaggct gggaactctt ctggtcccca gtatggcagg	2760
cgccaggag gggatggtgt ggcccatccc ttctctggat acctggccag tggcaggcag	2820
caggaggag ctggccgacc ctcatgact gacaagccag caattctgag ttctggcctt	2880
tgggagtctg ccigtccaa gccagtccac ccagctgca gccccaaaag ctggctcaaa	2940
gtccttgggt ggattcactg gagatgggca acttaaaaca agagaaactt taatttttaa	3000
acctaagtga tgatacagt cttecccttag attatcgccc aggctggagt gcagtggcat	3060
gatctcagct cactgcaagc tccactcct gggttcatgc cattctctg cctcagcctc	3120
ccccgagta actgggaata caggcgcccc ccaccatgcc tggctaattt ttgtatttt	3180
tagtagagat agggtttcat catgttagcc aggatggtct cattcttatt ctttaatgag	3240
atcagaggtt aattcacaa gaaagacctc tctgttcca ttgtgtcatc caacaactgc	3300
tcagagctca aaattataga aggcttctga gcccctagag atttttaatt tgcttctaat	3360
ccctgagggt ggaacatcat gaggaagat ttgattttca gagttaata aattgtatgt	3420
gcttttccag caaaaaaaa aaa	3443