



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0143113  
(43) 공개일자 2016년12월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C12Q 1/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류  
C12Q 1/6883 (2013.01)  
C12Q 2600/156 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0079253  
(22) 출원일자 2015년06월04일  
심사청구일자 2015년06월04일

(71) 출원인

(주) 메디젠휴먼케어

서울특별시 강남구 삼성로 352, 6층(대치동)

(72) 발명자

이상학

서울특별시 강남구 압구정로39길 58, 61동 508호  
(압구정동, 구현대아파트)

이지현

서울특별시 마포구 백범로 230, 101동 1402호(신  
공덕동, 브라운스톤 공덕 아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 정안

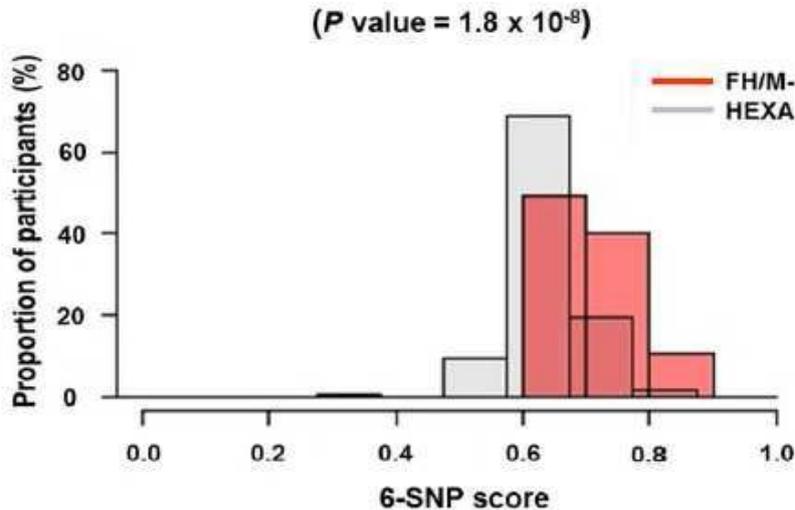
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **한국인 가족성 고콜레스테롤혈증에서 다유전자 기인성**

**(57) 요약**

본 발명은 신규한 단일염기다형성 조합을 이용한 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단 또는 예측에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 단일염기다형성 마커의 조합은 한국인에게 있어서 기존의 가족성 고콜레스테롤혈증 진단 방법으로 진단되지 않은 환자의 경우에도 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단할 수 있으므로 기존 방법과 비교하여 정확성 및 민감도를 증가시켰으며 이를 통하여, 가족성 고콜레스테롤혈증 환자의 조기 진단을 가능하게 하여 다양한 합병증의 발생을 예방하는데 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

**대표도** - 도1



(52) CPC특허분류  
C12Q 2600/158 (2013.01)

**권한재**

서울특별시 서초구 방배로40길 7-8, 101동 803호(방배동)

(72) 발명자

**한수민**

서울특별시 양천구 목동동로 50, 1206동 501호(신정동, 목동신시가지아파트12단지)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711000884

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 기초연구실지원

연구과제명 Multiscale 실시간 영상을 위한 optoelectrical 다기능 바이오 메디컬 영상 시스템 개발

및 응용

기여율 1/2

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2013.09.01 ~ 2014.08.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI14C0070

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 차세대맞춤의료유전체사업

연구과제명 수송체 기반 게놈(GENOME) 연구

기여율 1/2

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2014.04.01 ~ 2015.03.31

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

- a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료로부터 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 돌연변이를 확인하는 단계;
- b) 상기 단계에서 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 단계; 및
- c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs629301, rs1367117, rs6544713, rs6511720, rs429358, 및 rs7412를 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 측정하는 단계를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 진단은 한국인을 대상으로 하는 것을 특징으로 하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 혈액, 혈장 또는 혈청인 것을 특징으로 하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 4

- a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료로부터 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 돌연변이를 확인하는 단계;
- b) 상기 단계에서 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 단계; 및
- c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs651007, rs599839, rs12654264, 및 rs2738446을 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 측정하는 단계를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 진단은 한국인을 대상으로 하는 것을 특징으로 하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 6

제 4 항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 혈액, 혈장 또는 혈청인 것을 특징으로 하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정

보를 제공하는 방법.

#### 청구항 7

- a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료로부터 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 돌연변이를 확인하는 단계;
- b) 상기 단계에서 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 단계;
- c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs629301, rs1367117, rs6544713, rs6511720, rs429358, 및 rs7412를 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 측정하는 단계; 및
- d) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs651007, rs599839, rs12654264, 및 rs2738446을 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 측정하는 단계를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 진단은 한국인을 대상으로 하는 것을 특징으로 하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 9

제 7 항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 혈액, 혈장 또는 혈청인 것을 특징으로 하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법.

#### 청구항 10

단일염기다형성 rs629301, rs1367117, rs6544713, rs6511720, rs429358, 및 rs7412로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단일염기다형성에 대한 상보적인 프로브(probe) 또는 프라이머(primer) 세트를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증 진단용 키트.

#### 청구항 11

단일염기다형성 rs651007, rs599839, rs12654264, 및 rs2738446으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단일염기다형성에 대한 상보적인 프로브(probe) 또는 프라이머(primer) 세트를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증 진단용 키트.

#### 청구항 12

- a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료의 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 서열을 입력받는 입력부;
- b) 상기 유전자 서열을 분석하여 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 검출부;
- c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs629301, rs1367117, rs6544713, rs6511720, rs429358, 및 rs7412를 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP

score)를 계산하는 연산부; 및

d) 상기 가중평균 단일염기다형성 수치로 가족성 고콜레스테롤혈증 여부를 보여주는 출력부를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증 진단 기기.

**청구항 13**

a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료의 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 서열을 입력받는 입력부;

b) 상기 유전자 서열을 분석하여 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 검출부;

c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs651007, rs599839, rs12654264, 및 rs2738446을 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 계산하는 연산부; 및

d) 상기 가중평균 단일염기다형성 수치로 가족성 고콜레스테롤혈증 여부를 보여주는 출력부를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증 진단 기기.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 한국인 가족성 고콜레스테롤혈증에서의 다유전자 기인성에 관한 것으로, 보다 자세하게는 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단 또는 예측에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 가족성 고콜레스테롤혈증(familial hypercholesterolemia, FH)이란, 저밀도 지질단백질(low-density lipoprotein, LDL-C)을 세포 내로 이동시켜 혈중 콜레스테롤 수준을 조절하는 LDL 수용체(LDLR)의 결함으로 발생하는 것으로 알려져 있는 우성 유전병의 한 종류이다(Cell (1984) 39: 27-38). 이러한 가족성 고콜레스테롤혈증 환자의 경우에는 정상인보다 2배 이상의 높은 혈중 콜레스테롤 수치를 나타내며, 이로 인하여 콜레스테롤이 말단 조직과 혈관 내벽에 축적되어 발생하는 황색종(Achilles tendon xanthoma), 동맥경화, 심혈관 질환 등의 발병 위험성이 매우 높아진다. 특별히, 가족성 고콜레스테롤혈증에 대해 동형접합의 유전형질을 가진 환자의 경우에는 대부분 유아기에 과도한 콜레스테롤로 인한 심혈관 질환으로 사망하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 가족성 고콜레스테롤혈증 환자의 경우 조기 진단 및 치료를 통하여 합병증을 예방하는 것이 매우 중요하다.

[0003] 그러나 이러한 위험성에도 불구하고 현재 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단하는 일반적인 방법은 혈액의 콜레스테롤 농도를 측정하는 것으로, 간혹 가족성 고콜레스테롤과 높은 연관관계를 가지고 있는 것으로 알려져 있는 저밀도지질단백질수용체(low density lipoprotein receptor, LDLR), 아포지질단백질 B(apolipoprotein B, APOB), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) 세 유전자의 변이를 측정하여 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단하는 경우도 있지만 상기 세 유전자에 변이가 존재하지 않는 경우에도 유전적인 고콜레스테롤혈증 환자일 확률이 있다. 따라서, 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단하기 위한 방법으로 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 이용한 새로운 진단 방법에 대한 개발이 세계적으로 진행되고 있으나, 한국인의 가족성 고콜레스테롤혈증 연관 단일염기다형성에 관한 연구는 부족한 실정이다.

[0004] 따라서, 기존의 가족성 고콜레스테롤혈증 진단 방법 이외에 진단이 가능하며 정확성 및 민감도가 높은, 한국인을 위한 가족성 고콜레스테롤혈증 진단 방법의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0005] 본 발명은 상기와 같은 종래 기술상의 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 신규한 단일염기다형성 조합을 이용한 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단 또는 예측에 관한 정보를 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

[0006] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다

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

**과제의 해결 수단**

- [0007] 이하, 본원에 기재된 다양한 구체예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물, 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구체예에는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구체예" 또는 "구체예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구체예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구체예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구체예에서" 또는 "구체예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구체예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구체예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.
- [0009] 본 명세서에 있어서, "생물학적 시료"란 환자의 유전자 정보를 확인할 수 있는 모든 시료를 의미하며, 바람직하게는 혈액, 혈장, 혈청 등일 수 있으나, 단일염기다형성을 확인할 수 있는 종류라면 이에 제한되지 않는다.
- [0010] 본 명세서에 있어서, "가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법"이란 가족성 고콜레스테롤혈증에 대한 고위험군 또는 저위험군에 관한 정보를 제공하는 방법으로서, 한국인의 가족성 고콜레스테롤혈증과 연관관계를 가지고 있는 단일염기다형성을 확인하여 가족성 고콜레스테롤혈증이 발병될 수 있는 가능성(위험성)에 대한 정보를 획득하는 방법을 의미한다.
- [0011] 본 명세서에 있어서, "키트"란 한국인의 가족성 고콜레스테롤혈증과 연관관계를 가지고 있는 단일염기다형성을 확인하여 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 검진용 기기를 의미하며, 생물학적 시료로부터 상기 단일염기다형성을 확인할 수 있는 형태라면 제한이 없다. 바람직하게는 상기 단일염기다형성 유전자에 대하여 상보적인 서열을 가지는 프로브(probe) 또는 프라이머(primer) 세트를 포함할 수 있으며, 상기 "프로브 또는 프라이머"는 단일염기다형성에 상보적인 서열을 가지는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)를 의미하며, 본 발명의 단일염기다형성을 확인할 수 있는 서열이라면 제한이 없다.
- [0012] 본 명세서에 있어서, "진단기기"란 혈액, 침, 소변 등 인체에서 생성된 물질을 기반으로 체외에서 질환 진단이 가능한 장비를 의미하며, 상기 물질로부터 단일염기다형성을 분석할 수 있는 형태라면 제한이 없다. 바람직하게는 유전자 서열을 입력받는 입력부, 유전자를 분석하는 검출부, 가중평균 단일염기다형성 수치를 계산하는 연산부, 분석 결과를 보여주는 출력부 등을 포함할 수 있으나, 생물학적 시료로부터 단일염기다형성을 분석하여 가족성 고콜레스테롤혈증 여부를 예측할 수 있는 형태의 장비라면 이에 제한되지 않는다.
- [0014] 본 발명은 a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료로부터 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 돌연변이를 확인하는 단계; b) 상기 단계에서 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 단계; 및 c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs629301, rs1367117, rs6544713, rs6511720, rs429358, 및 rs7412를 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 측정하는 단계를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0015] 또한 본 발명은 a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료로부터 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 돌연변이를 확인하는 단계; b) 상기 단계에서 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 단계; 및 c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs651007, rs599839, rs12654264, 및 rs2738446을 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 측정하는 단계를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0016] 또한 본 발명은 a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료로부터 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 돌연변이를 확인하는 단계; b) 상기 단계에서 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 단계; c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs629301, rs1367117, rs6544713, rs6511720, rs429358,

및 rs7412를 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 측정하는 단계; 및 d) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs651007, rs599839, rs12654264, 및 rs2738446을 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 측정하는 단계를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

- [0018] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 측정하는 방법은 바람직하게는 실험군 및 대조군 개개의 위험 대립인자(risk allele)의 가중합(weighted sum)을 계산하고, 저밀도 지질단백질(low-density lipoprotein, LDL-C)이 증가되는 위험 대립유전자(allele)와 베타 계수(beta coefficients)를 토대로 하여 산출하는 방법이나, 단일염기다형성 위험 수치(SNP risk score)를 산출하는 방법이라면 제한이 없다.
- [0019] 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 상기 유전자 돌연변이는 바람직하게는 가족성 고콜레스테롤혈증의 병원성과 연관된 유전자 서열의 돌연변이지만, LDLR, APOB, 또는 PCSK9의 서열 중 어떠한 서열이라도 돌연변이가 발생하였다면 이에 제한되지 않는다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 상기 가족성 고콜레스테롤혈증의 진단에 관한 정보를 제공하는 것은 상기 c) 단계의 가중평균 단일염기다형성 수치가 0.60 내지 0.99, 및/또는 d) 단계의 가중평균 단일염기다형성 수치가 0.40 내지 0.99일 때 가족성 고콜레스테롤혈증 고위험군인 것을 예측하는 것을 특징으로 한다. 그러나 이는 진단자의 경험에 의하여 임의적으로 지정될 수 있으므로 이에 제한되지 않는다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 상기 진단은 바람직하게는 한국인을 대상으로 하는 것을 특징으로 한다. 그러나 상기 단일염기다형성 조합을 이용하여 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단할 수 있다면 이에 제한되지 않는다.
- [0022] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 상기 생물학적 시료는 바람직하게는 혈액, 혈장 또는 혈청이나, 유전자 정보를 확인할 수 있는 종류라면 이에 제한되지 않는다.
- [0023] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 상기 방법은 기존의 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단하는 방법을 추가로 포함할 수 있다. 상기 기존 진단 방법은 바람직하게는 혈중 저밀도 지질단백질(low-density lipoprotein, LDL-C)의 농도 측정이지만, 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단하는데 사용되는 방법이라면 이에 제한되지 않는다.
- [0025] 또한, 본 발명은 단일염기다형성 rs629301, rs1367117, rs6544713, rs6511720, rs429358, 및 rs7412로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단일염기다형성에 대한 상보적인 프로브(probe) 또는 프라이머(primer) 세트를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증 진단용 키트를 제공한다.
- [0026] 또한, 본 발명은 단일염기다형성 rs651007, rs599839, rs12654264, 및 rs2738446으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단일염기다형성에 대한 상보적인 프로브(probe) 또는 프라이머(primer) 세트를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증 진단용 키트를 제공한다.
- [0028] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 진단용 키트는 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및/또는 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 돌연변이를 확인할 수 있는 프로브 또는 프라이머 세트를 추가로 포함할 수 있다.
- [0030] 또한, 본 발명은 a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료의 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 서열을 입력받는 입력부; b) 상기 유전자 서열을 분석하여 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 검출부; c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs629301, rs1367117, rs6544713, rs6511720, rs429358, 및 rs7412를 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 계산하는 연산부; 및 d) 상기 가중평균 단일염기다형성 수치로 가족성 고콜레스테롤혈증 여부를 보여주는 출력부를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증 진단 기기를 제공한다.

[0031] 또한, 본 발명은 a) 인간으로부터 분리된 생물학적 시료의 LDLR(lowdensity lipoprotein receptor), APOB(apolipoprotein B), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)의 유전자 서열을 입력받는 입력부; b) 상기 유전자 서열을 분석하여 돌연변이가 관찰되지 않은 시료를 선별하는 검출부; c) 상기 선별된 시료의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 rs651007, rs599839, rs12654264, 및 rs2738446을 확인하고 가중평균 단일염기다형성 수치(weighted mean SNP score)를 계산하는 연산부; 및 d) 상기 가중평균 단일염기다형성 수치로 가족성 고콜레스테롤혈증 여부를 보여주는 출력부를 포함하는, 가족성 고콜레스테롤혈증 진단 기기를 제공한다.

**발명의 효과**

[0032] 본 발명에 따른 단일염기다형성 마커의 조합은 기존의 가족성 고콜레스테롤혈증 진단 방법으로 진단되지 않은 환자의 경우에도 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단할 수 있을 뿐만 아니라, 마커의 조합을 이용함으로써 기존 방법과 비교하여 정확성 및 민감도를 증가시켰으며 이를 통하여, 한국인의 가족성 고콜레스테롤혈증 환자의 조기 진단을 가능하게 하여 다양한 합병증의 발생을 예방하는데 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

**도면의 간단한 설명**

[0033] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 SNP 세트 1을 이용하여 가족성 고콜레스테롤혈증과의 연관관계를 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 SNP 세트 2를 이용하여 가족성 고콜레스테롤혈증과의 연관관계를 분석한 결과를 나타낸 도면이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0034] 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.

**실시예**

**실시예 1: 가족성 고콜레스테롤혈증 연관 유전자의 확인**

[0038] 가족성 고콜레스테롤혈증(familial hypercholesterolemia, FH)과 연관되어 있는 한국인의 유전자를 확인하기 위하여, 사이먼 브룸 진단기준(Simon Broome diagnostic criteria)에 따라 가족성 고콜레스테롤혈증에 해당하는 96명의 실험군과 2,274명의 대조군을 이용하여 실험을 진행하였다. 실험군의 경우에는 가족성 결합성 고지혈증(Familial Combined Hyperlipidemia) 또는 가족성 이상베타지단백혈증(familial dysbetalipoproteinemia)을 가지고 있지 않은 환자를 대상으로 하였다. 1차적으로 가족성 고콜레스테롤혈증과 높은 연관관계를 가지고 있다고 알려져 있는 저밀도지질단백질수용체(low density lipoprotein receptor, LDLR(NC\_000019.9 및 NM\_000527.4)), 아포지질단백질 B(apolipoprotein B, APOB(NC\_000002.11 및 NM\_000384.2)), 및 PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9(NC\_000001.10 및 NM\_174936.3)) 세 유전자의 돌연변이 서열을 전체 엑솜 염기서열 분석법(Whole Exome Sequencing, WES)을 이용하여 분석하였다. 전체 엑솜 염기서열 분석법은 DNeasy Blood & Tissue Kit(Qiagen)을 이용하여 프로토콜(protocol)에 따라 환자들의 혈액으로부터 지노믹(genomic) DNA를 추출하고, 추출한 DNA를 가지고 Agilent SureSelect Human All Exome 50Mb kit(Agilent Technologies)와 Illumina HiSeq2000 platform을 이용하여 프로토콜에 따라 실시하였다. 전체 엑솜 염기서열 분석법에 따라 분석한 결과, 가족성 고콜레스테롤혈증과 높은 연관관계를 가지고 있다고 알려진 유전자들이지만 96명의 실험군 중 과반수 이상인 65명의 환자에게서는 세 유전자의 변이가 관찰되지 않았으며, 31명의 환자에서는 세 유전자 중 하나 이상의 유전자에서 돌연변이가 관찰되었다. 상기 돌연변이는 세 유전자 중 어떠한 서열이라도 하나 이상의 변이가 발생하였다면 돌연변이가 발생한 것으로 포함하였다. 상기 결과를 통하여, 기존의 LDLR, APOB, 또는 PCSK9을 이용하여 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단하는 방법으로는 가족성 고콜레스테롤혈증 환자를 진단하기에 정확성이 떨어지는 것을 확인하였으며, 이를 통하여 추가적으로 가족성 고콜레스테롤혈증 환자를 진단하는 방법이 필요하다는 것을 확인할 수 있었다.

[0039] 따라서, 세 유전자에서 돌연변이가 관찰되지 않았던 65명의 환자들과 돌연변이가 관찰된 31명의 환자들을 두 개의 실험군으로 나누어 2차 분석을 실시하였다. 2차 분석에는 하기 표 1에 기재된 총 16개의 단일염기다형성

(single nucleotide polymorphism, SNP)를 사용하였다. SNaPshot 또는 Taqman SNP genotyping을 이용하여 실험군의 각각의 SNP를 분석하였으며, 대조군(HEXA)의 경우에는 Affymetrix SNP assay(ver. 6.0)을 이용하여 분석하였다. 가중평균 저밀도-지질단백질 증가 유전적 위험 수치(가중평균 SNP 수치, weighted mean SNP score) 측정을 위하여, 실험군 및 대조군의 개개인의 위험 대립인자(risk allele)의 가중합(weighted sum)을 계산하였으며, 저밀도 지질단백질(low-density lipoprotein, LDL-C)가 증가되는 대립유전자(allele)와 베타 계수(beta coefficients)를 토대로 하여 계산하였고(Nature (2010) 466(7307):707-713), 선형회귀(linear regression)를 이용하여 대조군의 LDL-C 수치와 각각의 다른 SNP 세트의 SNP score와의 연관관계를 분석하였다. 또한, Welch's two-sample t-test를 이용하여 그룹 간의 SNP score를 비교하였으며, 모든 통계분석(statistical analysis)은 R 3.1.2(<http://www.r-project.org>)를 사용하여 분석하였다.

[0041] [표 1]

No.	rs ID	Chromosome	Nearest gene	Risk Allele	Weight for score calculation (mmol/L)
1	rs2479409	1	PCSK9	G	0.052
2	rs629301	1	CELSR2	T	0.15
3	rs1367117	2	APOB	A	0.10
4	rs6544713	2	ABCG8	T	0.071
5	rs1564348	6	SLC22A1	T	0.014
6	rs1800562	6	HFE	G	0.057
7	rs3757354	6	MYLIP	T	0.037
8	rs11220462	11	ST3GAL4	A	0.050
9	rs8017377	14	NYNRIN	G	0.029
10	rs6511720	19	LDLR	G	0.18
11	rs429358	19	APOE	C	
12	rs7412	19	APOE	T	
13	rs651007	9	ABO	A	0.059
14	rs599839	1	CELSR2-PSRC1-	A	0.135
15	rs12654264	5	HMGCR	T	0.070
16	rs2738446	19	LDLR	G	0.076

[0042]

[0044] 각각의 다른 SNP 세트를 이용하여 통계 분석한 결과, 총 16개의 SNP 중 rs629301, rs1367117, rs6544713, rs6511720, rs429358, 및 rs7412의 6개의 SNP 세트(세트 1)와 rs651007, rs599839, rs12654264, 및 rs2738446의 4개의 SNP 세트(세트 2)를 이용한 경우에 LDL-C 수치와 높은 연관관계를 나타내는 것을 확인하였다. 또한, rs429358 및 rs7412의 경우에는 일배체형(haplotype)의 조합일 때 가족성 고콜레스테롤혈증 환자와 연관관계가 높은 것을 확인하였다.

[0045] 6개의 SNP 세트(세트 1)를 이용한 경우에 가중평균 SNP 수치는 0.67[SD=0.07]이고, 대조군의 LDL-C 수치와의 연관관계는  $p=2.1 \times 10^{-4}$ ,  $R^2=0.01$ 인 것을 확인하였다. 그리고 돌연변이가 관찰되지 않은 실험군의 경우에는 대조군과 비교하여 가중평균 SNP score가 0.72[SD=0.07],  $p=1.8 \times 10^{-8}$ 으로 유의성있게 높은 것을 확인하였다(도 1). 반면, 돌연변이가 관찰되었던 실험군의 경우에는 대조군과 실험군의 가중평균 SNP 수치가 큰 차이를 나타내지 않는 것을 확인하였다. 또한, 돌연변이가 관찰되지 않은 실험군의 경우 돌연변이가 관찰되었던 실험군과 비교하여

가중평균 SNP score가 유의성있게 높은 것을 확인하였다( $p=5.0 \times 10^{-3}$ ). 상기 결과들을 통하여, 6개의 SNP 세트를 이용하여 측정된 가중평균 SNP 수치를 이용하여 가족성 고콜레스테롤혈증 고위험군 또는 저위험군을 진단할 수 있는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 6개의 SNP 조합을 이용하여 분석하고자 하는 시료의 가중평균 SNP 수치를 측정하여 수치가 0.60 내지 0.99일 때, 고위험군으로 진단할 수 있는 것을 확인할 수 있었다.

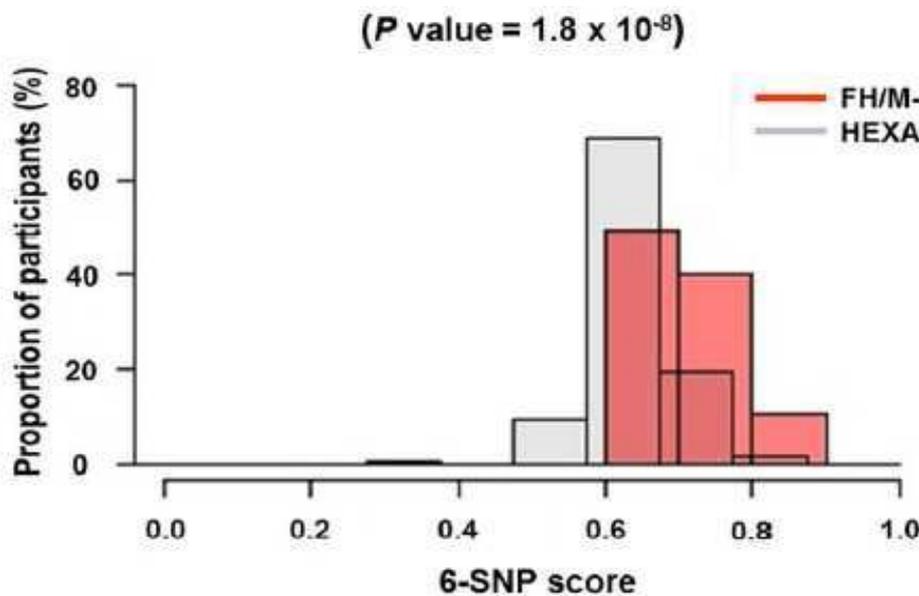
[0046] 4개의 SNP 세트(세트 2)를 이용한 경우에 가중평균 SNP 수치와 대조군의 LDL-C 수치와의 연관관계는  $p=5.0 \times 10^{-12}$ ,  $R^2=0.02$ 인 것을 확인하였다. 그리고 돌연변이가 관찰되지 않은 실험군의 경우에는 대조군과 비교하여 가중평균 SNP score가 0.49[SD=0.08],  $p=3.6 \times 10^{-3}$ 으로 유의성있게 높은 것을 확인하였다(도 2). 상기 결과를 통하여, 4개의 SNP 세트를 이용하여 분석하고자 하는 시료의 가중평균 SNP 수치를 측정하여 수치가 0.40 내지 0.99일 때, 고위험군으로 진단할 수 있는 것을 확인할 수 있었다.

[0047] 상기 결과들을 통하여, 본 발명의 SNP 세트 1 및/또는 SNP 세트 2를 이용하여 한국인의 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단 또는 예측할 수 있을 뿐만 아니라, 기존의 LDLR, APOB, 또는 PCSK9을 이용하여 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단하는 방법에 추가적으로 상기 세 개의 유전자에 돌연변이가 관찰되지 않은 환자들을 대상으로 하여 본 발명의 SNP 세트 1 및/또는 SNP 세트 2를 이용하여 가족성 고콜레스테롤혈증을 진단한다면, 기존의 방법으로는 진단되지 않은 환자들에 대해서도 진단이 가능한 것을 확인할 수 있었으며, 이를 통하여 가족성 고콜레스테롤혈증 진단 정확성을 증가시킬 수 있다는 것을 확인할 수 있었다.

[0049] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 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

