

# 멜라닌 농축 호르몬 유전자로 형질전환된 제브라피쉬를 이용한 정신질환 치료제 후보물질의 스크리닝 방법

안전성평가연구소

박준우, 김로사

## ■ 권리사항

출원번호 10-2015-0164102

출원일 2015.11.23

## ■ 적용가능분야 및 목표시장 정신질환 치료제 후보물질 스크리닝

## ■ 기술 개요

- 본 기술은 제브라피쉬를 이용한 정신질환(항우울증) 치료제 후보물질 스크리닝 기술임.
- 멜라닌 농축 호르몬 과발현 제브라피쉬의 멜라노솜의 크기를 측정하여 치료제의 효능을 평가하는 시스템으로 구성

## ■ 기술의 특징점

- 제브라피쉬의 멜라노솜을 통하여 정신질환 치료제의 효능여부를 측정할 수 있어 스크리닝에 용이함.
- 제브라피쉬 치어(3mm)를 이용한 방법으로 시험에 필요한 물질의 양을 최소화 할 수 있음.
- 96well plate 기반으로 대량의 물질을 스크리닝하는 HTS 개념을 도입할 수 있음.

## ■ 기술 세부내용

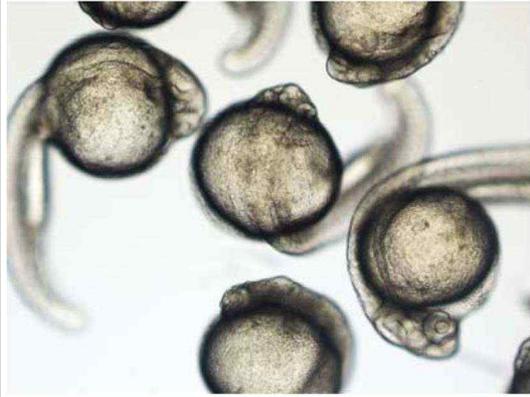
본 기술은 MCH-리포터 융합 유전자로 형질전환된 제브라피쉬에 정신질환 치료제 후보물질을 처리하고 반응시켜, 형질전환 제브라피쉬의 멜라노솜의 면적을 대조군과 비교 분석하여 정신질환 치료제 후보물질을 스크리닝하는 방법에 관한 것으로, 본 발명의 스크리닝 방법은 신약 개발 과정에서 최적의 후보물질을 탐색하는데 유용하게 사용될 수 있음.

본 기술은 (a) MCH-리포터 융합 유전자로 형질전환된 제브라피쉬 배(embryo)를 배양기에서 발생시키는 단계; (b) 상기 (a) 단계의 제브라피쉬 발생배의 형광을 확인한 후, 발생배의 난막을 제거하는 단계; (c) 상기 (b) 단계의 난막이 제거된 발생배에 정신질환 치료제 후보물질을 처리하고 반응시키는 단계; 및 (d) 상기 (c) 단계의 제브라피쉬 발생배에서 멜라노솜의 면적을 측정하여 대조군과 비교 분석하는 단계로 구현됨.

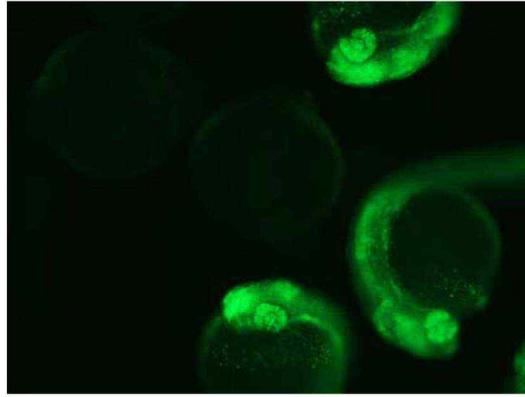
(a) MCH-리포터 융합 유전자로 형질전환된 제브라피쉬 배(embryo)를 배양기에서 발생시키는 단계에서는 MCH 유전자를 PCR에 의하여 증폭하고 specific primer를 이용하여 특정 염시서열만을 증폭하여 확보하였음. 제브라피쉬의 배아에 삽입하기 위하여 DNA 단편을 플라스미드에 삽입한 후 microinjection system을 이용하여 수정란에 삽입하였음.

(b) 제브라피쉬 발생배의 형광을 확인한 후, 발생배의 난막을 제거하는 단계로서 형광현미경을 사용하여 형질전환 제브라피쉬를 선별하고 난막을 제거하여 노출에 사용할 수 있도록 조치함.

(A)

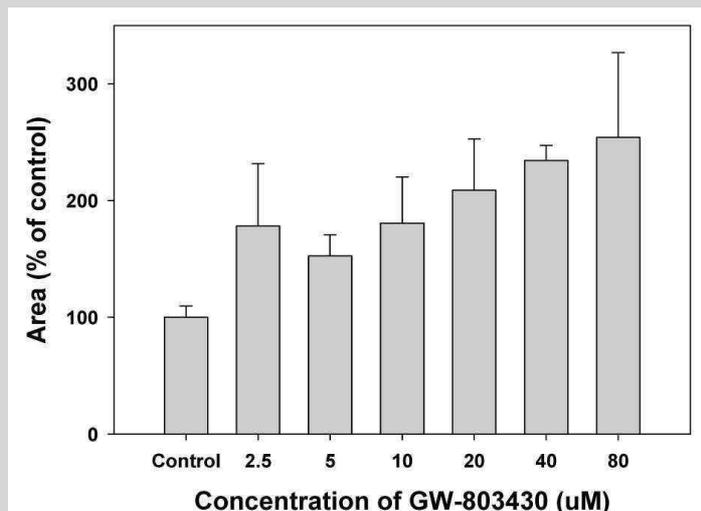


(B)



(c) 난막이 제거된 발생배에 정신질환 치료제 후보물질을 처리하고 반응시키는 단계로서 발생배에 정신질환 치료제 후보물질을 각각의 농도별로 10시간 동안 처리하여 영향의 여부를 확인하는 단계임.

(d) 제브라피쉬 발생배에서 멜라노솜의 면적을 측정하여 대조군과 비교 분석하는 단계로서 이미지 분석 프로그램을 사용하여 멜라노솜의 크기를 분석하여 대조군과 비교함으로써 약물의 영향을 파악할 수 있음. 본 발명에서는 항우울제인 GW-803430에 대한 영향을 평가한 결과 농도의존적으로 멜라노솜의 면적이 변화하는 것을 관찰하였음.



● 상세설명

■ 기술완성도(TRL) 9단계(사업화)- 다음 페이지 참고하여 작성