



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년07월31일
(11) 등록번호 10-1884073
(24) 등록일자 2018년07월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G06F 19/24 (2011.01)

(52) CPC특허분류
G06F 19/24 (2013.01)
G06F 19/28 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0120532

(22) 출원일자 2016년09월21일

심사청구일자 2016년09월21일

(65) 공개번호 10-2018-0031980

(43) 공개일자 2018년03월29일

(56) 선행기술조사문헌

KR101583450 B1

JP2004509406 A

(73) 특허권자

전주대학교 산학협력단

전라북도 전주시 완산구 천잠로 303 (효자동2가)

(72) 발명자

이정상

전라북도 전주시 완산구 문학로 7, 202호 (효자동3가, 민들레빌라)

강진욱

경기도 안성시 공도읍 만수로 31, 103동 201호 (부영아파트)

(74) 대리인

황여현

전체 청구항 수 : 총 12 항

심사관 : 성경아

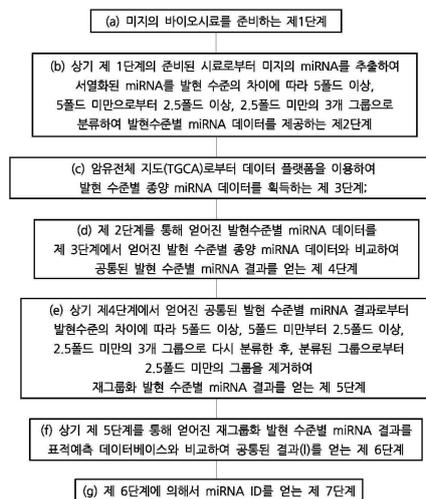
(54) 발명의 명칭 **마이크로 RNA의 데이터 마이닝을 통한 마이크로 RNA ID의 분석방법**

(57) 요약

본 발명은 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법으로서, miRNA의 분석 능력을 향상하기 위하여, 2종 이상의 데이터베이스의 비교분석을 통해 정확한 miRNA를 분석하고, 이를 통하여 암세포의 발현을 예측할 수 있는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법에 관한 것이다.

또한 본 발명에 따른 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법에 의해 유방암의 치료제 및 바이오 마커를 제공할 수 있다.

대표도 - 도1



공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

- (a) 미지의 바이오 시료를 준비하는 제 1단계;
- (b) 상기 제 1단계의 준비된 시료로부터 미지의 마이크로 RNA(miRNA)를 추출하여 서열화된 miRNA를 발현수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하여 발현수준별 miRNA 데이터를 제공하는 제 2단계;
- (c) 암유전체지도(TCGA)로부터 데이터 플랫폼을 이용하여 발현수준별 종양 miRNA 데이터를 획득하는 제 3단계;
- (d) 제 2단계를 통해 얻어진 발현수준별 miRNA 데이터를 제 3단계에서 얻어진 발현수준별 종양 miRNA 데이터와 비교하여 공통된 발현수준별 miRNA 결과를 얻는 제 4단계;
- (e) 상기 제 4단계에서 얻어진 공통된 발현수준별 miRNA 결과로부터 발현수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 다시 분류한 후, 분류된 그룹으로부터 2.5폴드 미만의 그룹을 제거하여 재그룹화 발현수준별 miRNA 결과를 얻는 제 5단계;
- (f) 상기 제 5단계를 통해 얻어진 재그룹화 발현수준별 miRNA 결과를 표적예측 데이터베이스와 비교하여 공통된 결과(I)를 얻는 제 6단계;
- (g) 제 6단계에 의해서 miRNA ID를 얻는 제 7단계;를 수행하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 제 1단계의 미지의 바이오시료는 신선한 또는 냉동된 유방암조직, 세포, 혈액, 혈청 또는 혈장으로부터 수득되는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 제 2단계의 miRNA를 추출하기 위하여 트리졸 또는 트리톤 X-100을 이용하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 제 6단계의 표적예측 데이터베이스는 mirWalk, DIANA-microT, miranda, miRBridge, MiRDB, Mirmap, miRNA Map, PITA, RNA22, Targetscan 중에서 1종 이상을 선택하여 이용하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 제 6단계와 제 7단계사이에는 (h) 상기 5단계를 통해 얻어진 재그룹화 발현수준별 miRNA 결과를 RNA 레퍼

런스 데이터베이스와 비교하여 공통된 결과(II)를 얻고, 상기 얻어진 결과 (I)와 (II)를 비교하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 제 7단계에서 얻어진 miRNA ID를 펍메드(PubMed) 데이터 베이스를 이용하여 miRNA ID를 재확인하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 레퍼런스 데이터베이스는 miRBase, ASRP, micro RNAMAP, miRGen, CoGemiR 중에서 1종 이상을 선택하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 8

(a) 미지의 바이오 시료를 준비하는 제 1단계;

(b) 상기 제 1단계의 준비된 시료로부터 미지의 마이크로 RNA(miRNA)를 추출하여 서열화된 miRNA를 발현수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하여 발현수준별 miRNA 데이터를 제공하는 제 2단계;

(c) 암유전체지도(TCGA)로부터 데이터 플랫폼을 이용하여 발현수준별 종양 miRNA 데이터를 획득하는 제3단계;

(d) 제2단계를 통해 얻어진 발현수준별 miRNA 데이터를 제3단계에서 얻어진 발현 수준별 종양 miRNA 데이터와 비교하여 공통된 발현수준별 miRNA 결과를 얻는 제4단계;

(e) 상기 제 4단계에서 얻어진 공통된 발현수준별 miRNA 결과로부터 발현수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 다시 분류한 후에, 분류된 그룹으로부터 2.5 폴드 미만의 그룹을 제거하여 재그룹화 발현 수준별 miRNA 결과를 얻는 제5단계;

(f) 상기 제 5단계를 통해 얻어진 재그룹화 발현수준별 miRNA 결과를 표적예측 데이터베이스와 비교하여 공통된 결과(I)를 얻는 제 6단계;

(g) 제 6단계에 의해서 miRNA ID를 얻는 제 7단계;를 수행하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통하여 최적화된 miRNA 분석방법을 이용함으로써 종양유전자 및 종양억제유전자를 파악하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 제 6단계와 제 7단계 사이에는 (h) 상기 5단계를 통해 얻어진 재그룹화 발현수준별 miRNA 결과를 RNA 레퍼런스 데이터베이스와 비교하여 공통된 결과(II)를 얻고, 상기 얻어진 결과 (I)와 (II)를 비교하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 제 7단계에서 얻어진 miRNA ID를 펍메드(PubMed) 데이터베이스를 이용하여 miRNA ID를 재확인하는 단계를

더 포함하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 종양유전자는 HER2, CyclinD1, N-RAS, FGF3, FGF4, C-Myc 중에서 1종 이상을 분석하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 12

제8항에 있어서,

상기 종양억제유전자는 BRCA1, BRCA2 중에서 1종 이상을 분석하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법.

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 마이크로 RNA(miRNA)의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 miRNA의 분석 능력을 향상하기 위하여, 2종 이상의 데이터베이스의 비교분석을 통해 정확한 miRNA를 분석하고, 이를 통하여 암세포의 발현을 예측할 수 있는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법에 관한 것이다.

[0002] 나아가 본 발명은 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법을 이용하여 도출한 miRNA ID의 바이오마커 및 치료제에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] 다수의 질환 상태는 유전적 DNA 카피수의 변화 또는 특정 유전자의 전사 수준의 변화를 통한 다양한 유전자의 발현 수준상의 차이를 특징으로 한다. 예를 들면, 유전물질의 특실이 악성 형질전환과 진행에 있어서 중요한 역할을 한다. 이들 유전물질 중에서 가장 중요한 역할을 하는 것으로는 miRNA가 알려져 있다.

[0005] miRNA는 1993년 미국 하버드대 앰브로스(V.Ambros) 교수팀에 의해 처음으로 밝혀졌다. 예쁜 꼬마선충(Caenorhabditis elegans)의 발생시기를 조절하는 유전자를 찾던 중에 lin-4라고 명명된 짧은 RNA 단편이 LIN-14 단백질의 합성에 영향을 준다는 것을 발견하였으나, 이후 같은 종에서 조절인자로서 역할을 하는 let-7이라고 명명된 RNA 단편이 추가로 발견되면서 miRNA의 존재와 기능에 대한 관심이 증가하게 되었다. 또한 miRNA는 21개에서 25개의 뉴클레오티드(nucleotide)로 이루어진 작은 단일가닥염기(single-strand nucleotide)로서, 진핵생물에서 다양한 유전자의 발현을 조절하는 것으로 알려져 있다. 선충(C. elegance)에서 발견되는 miRNA가 1993년 앰브로스 그룹에 의해서 발견된 후, 현재까지 700종 이상이 인간세포에 존재하고 있음이 밝혀졌다.

[0006] miRNA의 생합성은 크게 두 가지 효소의 절단에 의해서 진행된다. 먼저 miRNA를 포함하고 있는 유전자가 RNA 중합효소 II 또는 III(RNA polymerase II/III)에 의해서 전사되어 다양한 크기의 miRNA 전사체(transcript)가 합성이 된다. 이러한 과정으로 합성된 primary miRNA(pri-miRNA)는 5'말단에 cap (7-methylguanylate cap)과 3'말단에 poly[A] tail을 가지고 있다. Pri-miRNA는 핵 내에 존재하는 Drosha라는 RNA 절단효소와 DGCR8(DiGeorge critical region 8)으로 구성된 microprocessor complex에 의해서 70여개의 뉴클레

오티드(nucleotide) 길이로 된 전구체 miRNA(pre-miRNA)로 가공된다. Pre-miRNA는 exportin5와 Ran-GTP를 통해서 세포질로 나온 후, 두 번째 절단효소인 Dicer와 TRBP(transactivating response RNA binding protein)에 의해서 20-25개의 뉴클레오티드로 구성된 성숙한 이중가닥의 miRNA로 가공된다.

[0007] 이중가닥 중에서 한 가닥은 분해되고, 다른 한 가닥만이 Ago(Argonaute)와 함께 결합하여 RISC(RNA-induced silencing complex)를 구성한다. TRBP는 Ago와 miRNA의 결합을 유도하여 miRNA가 표적유전자의 발현을 조절할 수 있도록 한다. 일반적으로 miRNA는 단백질로 번역되지 않는 3' 말단(3' untranslated region, 3'UTR)에 결합하여 mRNA의 안정성(stability)을 낮추거나 번역율(translation efficiency)을 낮추어 표적유전자의 발현을 억제한다.

[0008] 최근에는 생물학적으로 miRNA가 유전자의 발현을 조절하는 중요한 조절인자임이 밝혀지고, 또한 지금까지 동식물을 포함한 32가지의 종에서 15,172개의 miRNA가 발견됨에 따라 대량의 데이터를 처리하고 분석하기 위하여 생물정보학적 연구방법이 도입되었다. 또한 암억제 유전자로 알려진 BRCA1 유전자는 17번 염색체에 존재하는 암억제 유전자로 유전성 유방암의 발병과 연관이 있다고 알려져 있다.

[0009] 유전성 유방암은 부모의 생식세포 변연변이가 그 자손에게 유전되어 발생하므로 유전자상에 존재하는 돌연변이는 부계와 모계 양쪽으로부터 자손에 유전될 수 있다. 최근에는 코돈 패턴 마이닝법을 통하여 유전성 유방암을 유발하는 원인 유전자의 일정한 패턴들을 발견함으로써 암 발생 여부를 사전에 예측할 수 있다. 특히, 세균에서 사람에 이르기까지 연구된 모든 형태의 생물에서 같은 코돈이 같은 아미노산을 지정한다는 특성을 고려하여 유전자 패턴 중에서도 코돈 패턴에 초점을 맞추었다. 하나의 코돈 패턴은 하나의 아미노산을 지정하게 되는데, 여러 아미노산은 단백질의 구성요소가 되며, 만약 코돈의 패턴변이가 일어나게 되면 단백질이 원래의 기능을 상실하게 되어 예상치 못한 신체 이상이 생기므로 DNA 서열을 일련의 유전자 마이닝 기법을 응용하여 일정한 코돈들의 패턴을 추출하여 변이된 코돈 패턴을 발견함으로써 유방암의 조기진단에 이용될 수 있다.

[0010] miRNA들의 서열 및 정보, 특징들을 저장, 관리하는 데이터베이스들이 구축되었는데, miRBase, ASRP, miRNA Map 등이 널리 이용되는 대표적인 데이터베이스들이다. 또한, miRNA 유전자 후보나 miRNA의 표적 유전자를 예측하는 다양한 알고리즘과 이를 적용할 수 있는 애플리케이션 개발도 활발히 진행되고 있다.

[0011] miRNA 유전자의 후보를 예측하는 방법에는 일반적으로 RNA 구조(RNA conformation) 기반 검색, 유사한 서열을 가진 miRNA에 대한 호몰로지(homology) 검색, miRNA 특성 값을 적용한 기계학습(machine-learning) 방법에 의한 접근 등이 사용된다. RNA 구조에 기반한 검색은 pre-miRNA가 가지는 머리핀(hairpin) 구조의 물리화학적 특징을 이용하는 방법으로서, 특정 염기서열이 열역학적으로 안정한 머리핀 구조를 가질 수 있는 지를 계산하여 miRNA의 후보인지를 예측하는 과정이다.

[0012] 호몰로지 검색에 의한 예측은 염기서열의 유사 정도를 확률적으로 계산하여 후보를 예측하는 방법으로서, 진화적으로 보존되어 있는 miRNA의 서열 예측에 매우 유용하게 적용된다. 기계학습 방법을 통한 예측은 생물정보학 연구에서 널리 사용하는 방법으로서, 이미 알려진 miRNA에 대한 염기서열이나 분포, 구조적 특이성, 진화 보존성과 같은 특징들을 이용하여 반복적으로 학습(training)시킨 후에, 새로운 염기서열 정보가 입력되었을 때 학습된 사항에 따라 결과를 예측해 주는 방법이다.

[0013] 이와 관련한 종래기술로서, 하기 특허 문헌 001은 “miRNA의 분석능력을 향상시켜 miRNA를 정확히 분석하고, 이를 통하여 암세포의 발현을 예측할 수 있는 miRNA ID의 분석방법”이 알려져 있으나, 이는 종양, 염증 및 항산화 관련유전자를 조절하는 것으로서, 대장암과 관련한 유전자를 조절하는 miRNA 바이오마커를 제공하는 것이다.

[0014] 또한 하기 특허문헌 002는 모세관 전기영동 시스템을 이용하여 다중 miRNA를 검출하는 것을 기술하고 있으나, 이와 같은 방법으로는 정확한 miRNA의 특성을 파악할 수 없다. 또 하기 특허문헌 003은 miRNA의 정량분석방법에 관한 것이나, 이는 미지의 miRNA를 파악할 수 있는 정확성이 떨어지는 실정이다. 또한 하기 특허문헌 004는 miRNA의 탐색자동화시스템에 관한 것이나, 단순한 레퍼런스 miRNA 데이터베이스(D/B)의 맵핑 툴을 이용하는 것으로 단순하게 동정하는 방법에 대해 개시되어 있을 뿐이다.

[0015] 이에 본 발명자들은 이러한 종래 기술상의 문제점을 해결하고자 연구를 거듭한 결과, miRNA의 데이터 마이닝을 통한 신규의 miRNA ID의 분석방법으로서, miRNA의 분석 능력을 향상하기 위하여, 2종 이상의 데이터베이스의 비교분석을 통해 정확한 miRNA를 분석하고, 이를 통하여 암세포의 발현을 예측할 수 있는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법을 연구하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0017] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1583450호(2016. 01. 03.)
- (특허문헌 0002) 한국공개특허공보 제10-2013-0122541호(2013. 11. 07)
- (특허문헌 0003) 한국공개특허공보 제10-2014-0108913호(2014. 9. 15)
- (특허문헌 0004) 한국공개특허공보 제10-2014-0114684호(2014. 9. 29)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0018] 본 발명은 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 최적화된 miRNA 분석방법으로서, miRNA의 분석 능력을 향상하기 위하여, 2종 이상의 데이터베이스의 비교분석을 통해 정확한 miRNA를 분석하고, 이를 통하여 암세포의 발현을 예측할 수 있는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 최적화된 miRNA 분석방법을 제공하는 것이다.
- [0019] 또한 본 발명은 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석결과를 이용하여 암 관련유전자를 조절하는 치료제 또는 바이오마커에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

- [0021] 본 발명은 (a) 미지의 바이오 시료를 준비하는 제 1단계; (b) 상기 제 1단계의 준비된 시료로부터 미지의 마이크로 RNA(miRNA)를 추출하여 서열화된 miRNA를 발현 수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하여 발현수준별 miRNA 데이터를 제공하는 제 2단계; (c) 암유전체 지도(TCGA)로부터 데이터 플랫폼을 이용하여 발현수준별 종양 miRNA 데이터를 획득하는 제3단계; (d) 제2단계를 통해 얻어진 발현수준별 miRNA 데이터를 제3단계에서 얻어진 발현수준별 종양 miRNA 데이터와 비교하여 공통된 발현수준별 miRNA 결과를 얻는 제4단계; (e) 상기 제 4단계에서 얻어진 공통된 발현수준별 miRNA 결과로부터 발현 수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만그룹으로부터 2.5 폴드 미만의 그룹을 제거하여 재그룹화 발현수준별 miRNA 결과를 얻는 제5단계; (f) 상기 제 5단계를 통해 얻어진 재그룹화 발현 수준별 miRNA 결과를 표적 예측 데이터베이스와 비교하여 공통된 결과(I)를 얻는 제 6단계; (g) 제 6단계에 의해서 miRNA ID를 얻는 제 7단계; 를 수행하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법을 제공한다.
- [0022] 또한 본 발명은 상기 제6단계와 제7단계 사이에 (h) 상기 5단계를 통해 얻어진 재그룹화 발현수준별 miRNA 결과를 RNA 터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 다시 분류한 후, 분류된 레퍼런스 데이터베이스와 비교하여 공통된 결과(II)를 얻고, 상기 얻어진 결과 (I)와 (II)를 비교하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법을 제공한다.
- [0023] 또한 본 발명은 상기 제 7단계에서 얻어진 miRNA ID를 펍메드(PubMed) 데이터베이스를 이용하여 재확인하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법을 제공한다.
- [0024] 또한 본 발명은 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법에 의하여 얻어진 miRNA ID의 분석결과를 이용하는 암 치료제를 제공한다.
- [0025] 또한 본 발명은 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법에 의하여 얻어진 miRNA ID의 분석결과를 이용하는 암 바이오마커를 제공한다.

발명의 효과

- [0027] 본 발명에 의한 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법은 miRNA의 분석 능력을 향상하기 위하여, 2종 이상의 데이터베이스의 비교분석을 통해 정확한 miRNA의 분석 효율성을 높이고, 이를 통하여 암세포의 발현을 정확하게 예측할 수 있다.
- [0028] 또한 본 발명에 따른 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석결과를 이용하여 유방암에 관련된 유전자를

조절하는 miRNA 바이오마커 또는 치료제로 제공할 수 있는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [0030] 도 1은 본 발명에 따른 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 최적화된 miRNA 분석방법을 나타내는 흐름도이다.
- 도 2는 TCGA에 의해 다운로드된 유방암에 대한 로우(Raw) 데이터이다.
- 도 3은 BRCA 1 및 BRCA 2에 관련된 miRNA 결과이다.
- 도 4는 Cyclin D1에 관련된 miRNA 결과이다.
- 도 5은 N-RAS에 관련된 miRNA 결과이다.
- 도 6은 FGF3, FGF4, HER2, c-Myc에 관련된 miRNA 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0031] 이하, 본 발명의 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법에 대하여 바람직한 실시형태를 들어 자세하게 설명한다.
- [0032] 본 발명에 의한 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법은 (a) 미지의 바이오 시료를 준비하는 제 1단계; (b) 상기 제 1단계의 준비된 시료로부터 미지의 마이크로 RNA(miRNA)를 추출하여 서열화된 miRNA를 발현수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하여 발현수준별 miRNA 데이터를 제공하는 제 2단계; (c) 암유전체 지도(TCGA)로부터 데이터 플랫폼을 이용하여 발현수준별 종양 miRNA 데이터를 획득하는 제3단계; (d) 제2단계를 통해 얻어진 발현수준별 miRNA 데이터를 제3단계에서 얻어진 발현수준별 종양 miRNA 데이터와 비교하여 공통된 발현수준별 miRNA 결과를 얻는 제4단계; (e) 상기 제 4단계에서 얻어진 공통된 발현수준별 miRNA 결과로부터 발현수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 다시 분류한 후, 분류된 그룹으로부터 2.5 폴드 미만의 그룹을 제거하여 재그룹화 발현 수준별 miRNA 결과를 얻는 제5단계; (f) 상기 제 5단계를 통해 얻어진 재그룹화 발현 수준별 miRNA 결과를 표적예측 데이터베이스와 비교하여 공통된 결과(I)를 얻는 제 6단계; (g) 제 6단계에 의해서 miRNA ID를 얻는 제 7단계; 를 수행하는 것을 특징으로 한다.
- [0033] 또한 상기 제6단계와 제7단계 사이에는 (h) 상기 5단계를 통해 얻어진 재그룹화 발현수준별 miRNA 결과를 RNA 레퍼런스 데이터베이스와 비교하여 공통된 결과(II)를 얻고, 상기 얻어진 결과 (I)와 (II)를 비교하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0034] 또한 (i) 상기 제 7단계에서 얻어진 miRNA ID를 펌메드(PubMed) 데이터베이스를 이용하여 재확인하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0035] 먼저, 상기 제 1단계에 있어서, 미지의 바이오시료는 신선한 또는 냉동된 유방암 조직, 세포, 혈액, 혈청 또는 혈장으로부터 수득된 것일 수 있지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 또한 제 2단계의 시료로부터 미지의 miRNA를 포함하는 전체 RNA를 추출하는 방법은 당업계에 공지된 다양한 방법을 이용할 수 있으며, 바람직하게는 트리졸 또는 트리톤 X-100을 이용하여 추출할 수 있다.
- [0037] 제3단계의 발현 수준별 종양 miRNA 데이터는 환자의 암세포 샘플에서 종양별 miRNA의 데이터를 IlluminaGA-miRNAseq 플랫폼을 이용하여 개방형으로 쉽게 접근 가능한 암유전체지도(The Cancer Genome Atlas, TCGA)부터 추출하였고, 상기 발현 수준별 종양 miRNA 데이터는 여러 가지 정보를 포함하고 있으며, 이들 정보에는 miRNA ID, read-count, read per milion miRNA 맵(map) 등이 있다.
- [0038] 또한 제 5단계의 표적예측 데이터베이스는 당업계에서 다양하게 공개된 miRWalk, MicroT4, miRanda, miRBridge, miRDB, miRMap, miRNAMap, PICTAR2, PITA, RNA22, RNAhybrid, Targetscan 중에서 1종 이상을 선택하여 이용할 수 있으며, 이에 제한된 것은 아니다.
- [0039] 또한 상기 (h)에서 레퍼런스 데이터베이스는 당업계에서 다양하게 공개된 miRBase, ASRP, micro RNAMAP, miRGen, CoGemiR 중에서 1종 이상을 선택하여 이용할 수 있으며, 이에 제한된 것은 아니다.
- [0040] 또한 상기 제 7단계에서 얻어진 miRNA ID를 펌메드(PubMed) 데이터베이스를 이용하여 재확인하는 단계를 더 포함하며, 펌메드에서 게시된 논문을 검색하고 교차 확인하여 miRNA ID를 재확인할 수 있으며, 펌메드의 대

표키워드는 miR- 이며, miRNA ID와 표적 예측데이터베이스의 miRNA와의 상관관계를 입증할 수 있으나, 이에 제한된 것은 아니다.

- [0041] 나아가 본 발명으로 얻어진 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법을 이용하여 종양유전자 및 종양억제유전자를 파악할 수 있는데, 상기 종양유전자로서는 HER2, CyclinD1, N-RAS, FGF3, FGF4, C-Myc 등이 있고, 종양억제유전자로서는 BRCA1, BRCA2 등이 있다. 이들 중에서 1종 이상의 조합을 통하여 비교 분석할 수 있다.
- [0042] BRCA 유전자에는 BRCA1과 BRCA2가 있다. BRCA1 유전자는 17번 염색체에 있으며, BRCA2는 13번 염색체에 위치한다. BRCA 유전자는 DNA가 손상될 경우 다른 단백질과 반응해 이를 수리하는 역할을 한다. 따라서 BRCA 유전자가 정상 기능을 하지 못하면 DNA 수리에 문제가 발생해 암 발생 위험이 증가한다. 특히, 문제가 되는 것은 유전자 돌연변이(Gene Mutation)다. BRCA 유전자 돌연변이가 나타나면 유방암이나 난소암 발생위험이 급격히 커진다. 유전자 돌연변이란 DNA 염기 서열 변화로 인해 부모에게 없던 형질이 자손에게 나타나는 것이다.
- [0043] 유방암과 난소암의 발생 위험 정도는 BRCA 유전자 돌연변이에 따라 달라진다. BRCA1과 BRCA2 유전자 돌연변이를 모두 가진 여성의 유방암 발생 위험은 60~85% 정도다. 둘 중에서 BRCA1 유전자에 이상이 생기면 난소암 발생 위험이 커진다. BRCA2 유전자 변이는 난소암과의 연관성은 상대적으로 적지만, 체장암이나 위암 등의 발생에 영향을 준다고 알려졌다.
- [0044] HER2 나 cyclin D1에 관한 유전자연구는 하버드 의대 연구진에 의해서 초기 유방암 발달에 요구되는 두 가지의 유전적 신호를 발견하였다. 이들은 배양한 유방 조직에 HER2 나 cyclin D1 유전자를 도입하였으며, 이에 따라 3차원적 모델에서 일어나는 효과를 추적하였다. HER2 나 cyclin D1 모두 유방 세포의 움푹 파인 곳으로의 증식을 촉진하였고, cyclin D 생산 조직은 증식하는 세포가 자가 세포 죽음에 의해 사멸하기 쉽기 때문에 움푹 파인 곳을 유지하였다. 대조적으로, HER2는 생존 신호항 죽음 신호, a survival (or anti-death) signal를 제공하여 세포로 하여금 움푹 파인 곳을 채우도록 하였다. 이렇게 채워진 구조는 초기 유방 종양의 병리 상태와 닮았다. 따라서 초기 유방암 발달 단계에서 종양 세포가 증식할 뿐만 아니라 정상 세포의 죽음도 극복해야 하는 기작으로 선 구조(glandular architecture)를 유지한다는 것을 보여 주었다.
- [0045] N-RAS 유전자는 설치류 레트로바이러스의 바이러스암유전자(v-ras)로 동정된 유전자 중의 하나로서, 포유류의 세포유전자인 c-H-ras1, c-K-ras2, N-ras의 3종류가 패밀리를 형성한다. 사람염색체 상에서는 각각 11p11.5, 12p12.1, 1p13에 존재하고, 4개의 코딩엑손으로 구성되며, 구아닌뉴클레오티드를 결합하여 세포막 내측에 편재하는 189개의 아미노산을 함유하는 21kDa의 단백질(p21)을 코드한다. K-ras유전자는 2종류의 엑손 4가 있으므로 Ras 유전자산물로서 K-Ras 4A, K-Ras 4B, H-Ras, N-Ras의 4종류가 존재한다.
- [0046] FGF3, FGF4 유전자는 섬유 아세포 성장인자 패밀리의 일종으로서, 분열 및 세포 생존 활동 및 배아 발달, 세포 성장을 포함한 생물학적 과정의 다양한 참여형태를 가지고, 조직 복구, 종양 성장 및 침윤이 되며, 유전자는 종양 형질전환 활성화에 의해 확인되었다. FGF4 유전자는 염색체 11 공동 증폭에 밀접하게 있는 인간 종양의 다양한 종류에서 발견되었다.
- [0047] 대부분의 암세포들에게서 c-Myc 암유전자(oncogene)의 과잉 발현이 관찰되며, 이에 따라 세포 주기의 조절이 불가능하게 된다. 정상적인 세포의 경우, c-Myc 유전자는 종양억제 유전자인 p53 의존성 ARF 단백질에 의해서 주기적인 검사를 받게 된다. 최근 ARF가 c-Myc에 미치는 직접적인 영향이 새롭게 발견되었으며, 이를 통해서 c-Myc의 비정상적인 조절에 의해서 유발되는 암을 치료하기 위한 새로운 치료법 개발이 가능해질 것으로 여겨진다. P53 종양억제 인자와의 상호작용과 함께, ARF는 c-Myc와 결합하여 c-Myc의 타깃 유전자 억제 기능이나 세포 자살을 유발하지 않고, c-Myc의 종양 억제 기능을 직접적으로 차단하는 역할이 발견되었다.
- [0048] 또한 본 발명에서 사용된 용어인 ‘발현’은 소정 핵산 또는 mRNA의 측정가능한 발현 수준을 지칭한다. 핵산의 발현 수준은 당업계에서 잘 알려진 통계학적인 방법에 의해 측정될 수 있다. 또한 폴드(fold)는 발현 변화값을 의미하며, 이는 당업계에서 잘 알려져 있다.
- [0049] miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법을 위해서는 하기의 방법을 통해 실시할 수 있다.
- [0050] (1) miRNA 서열 데이터는 미지의 시료에서 리드 카운트(read count)에 기초하여 컴퓨터화한 miRNA의 정량적인 발현 수준을 포함한다. 둘 이상의 샘플에서의 miRNA 발현 비교를 위해, 각각의 서열 분석 샘플에서의 발현 수준은 샘플에서 총 리드 수에 의해 정규화된다. RPM은 각 샘플에 대해 생산된 정규화 발현 수준의 값이다. 따라서 데이터에서의 miRNAs의 발현수준을 필요로 하기 때문에 miRNA ID 및 RPM을 사용한다.

[0051] (2) 플랫폼은 오류를 포함하는 모든 시퀀스를 검출하기 때문에 이러한 일루미나(Illumina)의 게놈 분석기 플랫폼과 같은 단일-분자-기반 플랫폼은 일반적으로 고유의 높은 오류를 표시한다. 높은 오류율이 낮은 리드 카운트를 야기한다. miRNAs 발현수준의 차이에 따라, 5 폴드 이상(RPM>5), 5폴드 미만에서 2.5 폴드 이상(5>RPM ≥2.5), 2.5 폴드 미만(RPM<2.5)에서 miRNA IDs는 3군으로 분류(sorting)하였다. 수집된 대량의 데이터 중에서 저 수준 발현(<2.5) 및/또는 변경 없는 miRNA IDs는 오류를 방지하기 위해 제거하였다.

[0052] (3) miRNA IDs 및 분자 표적의 상호작용을 조사하기 위해, miRNA-표적 예측 데이터베이스인 mirWalk, DIANA-microT, miranda, miRBridge, miRDB, miRmap, miRNA Map, PITA, RNA22 및 Targetscan에서 가능한 miRNA IDs는 다섯 개의 신뢰할 수 있는 D/B(miRWalk, miranda, miRDB, RNA22 및 TargetScan)를 통해 재확인되었다. 다섯 데이터베이스에서 3 이상, SUM 값을 기준으로 한 miRNA IDs를 선별한다. 다섯 데이터베이스를 비교하여 두 번 확인함으로써, 우리는 3가지 사실을 얻을 수 있다. 우선 표적 유전자와 miRNA IDs 사이의 상관관계였다. 두 번째 것은 특정 유전자에 속하는 예측된 miRNAs 신뢰성이었다. 마지막 것은 의미가 없는 miRNA IDs의 완전한 제거를 통해 추출된 miRNA IDs의 정확도를 높였다.

[0053] (4) 각 표적 유전자는 5 폴드 이상(RPM>5), 5폴드 미만에서 2.5폴드 이상(5 >RPM ≥2.5) 및 2.5 폴드 미만으로 표시된 복수의 miRNA IDs를 갖는다. 분류과정에서 2.5 폴드 미만으로 표시된 miRNA ID들은 모두 제거되었으므로 더 이상 존재하지 않으며, 추출된 miRNAs는 타겟 유전자를 통해 유방암 발생을 촉진할 수 있는 종양 miRNAs가 있는 것으로 추측되었다. 각 miRNA ID 데이터는 유방암 예방에 효과적이고, 새로운 타겟이 될 수 있는 공통적인 것을 선별하기 위하여 클러스터링(clustering)한다.

[0054] 나아가 miRNA의 데이터 마이닝을 통한 miRNA ID의 분석방법에 의해 유방암 관련 유전자를 조절하는 치료제 또는 바이오마커에 이용될 수 있다.

[0055] 아래의 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 아래의 실시예에 한정된 것은 아니다.

[0057] <실험예 1> 냉동된 유방암조직의 RNA 추출방법

[0058] 냉동된 유방암조직의 바이오 시료를 준비하고, 준비된 바이오 시료로부터 트리아졸을 이용하여 RNA를 추출한다. 추출방법은 바이오시료 50~100mg을 잘게 부수고 나서, 트리아졸 1ml에 넣은 후, 클로로포름 0.2ml를 첨가하여 실온에서 3분간 방치하고, 12000rpm에서 15분 동안 원심분리한다. 상층액을 새 튜브에 옮긴 후에 이소프로필알콜 0.5ml를 가하여 10분간 방치한다. 다시 12000rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 버리고, RNA 펠렛을 DEPC 처리한 75% 에탄올 1ml를 가하고 테이핑한 후 12000rpm에서 5분간 원심분리하여 다시 상등액을 버리고, 나머지 RNA 펠렛을 10분간 실온 건조한다.

[0060] <실험예 2> 체세포의 RNA 추출방법

[0061] 체세포 바이오 시료를 준비하고, 준비된 바이오 시료로부터 트리아졸을 이용하여 RNA를 추출한다. 추출방법은 실험예 1과 같다.

[0063] <실험예 3> 생체세포의 RNA 추출방법

[0064] 생체세포 시료를 준비하고, 준비된 생체세포 시료로부터 트리아졸을 이용하여 RNA를 추출한다. 추출방법은 생체세포시료 50~100mg을 잘게 부수는 점만 다를 뿐이고, 나머지 공정은 실험예 1과 같다.

실시예 1

[0067] 실험예 1에서 제조된 RNA 펠렛을 이용하고, 공지의 전기영동시스템을 통하여 RNA의 염기서열을 파악한다. 도 1에서 나타낸 바와 같이, miRNA의 데이터 마이닝을 통한 최적화된 miRNA 분석방법을 나타내는 흐름도에 따라서 최적화된 miRNA 분석방법을 실시하였다. 파악된 염기서열을 통해 발현 수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하였다. 그리고 암유전체지도(TCGA)로부터 데이터 플랫폼을 이용하여 발현수준별 종양 miRNA 데이터를 획득하였고, 이후 미지의 시료로부터 얻어진 발현수준별 miRNA 데이터와 암유전체지도로부터 얻어진 발현수준별 종양 miRNA 데이터를 비교하여 공통된 발현 수준별 miRNA 결과를 얻는다. 얻어진 공통된 발현수준별 miRNA 결과를 발현수준별 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하고, 분류된 그룹으로부터 2.5 폴드 미만의 그룹을 제거하여 재그룹화된 발현수준별 miRNA 결과(결과 A)를 얻는다. 그 후 결과 A 즉 재그룹화된 발현수준별 miRNA의 발현수준이 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상으로 된 그룹을 표적예측 데이터베이스인 mirWalk, DIANA-

microT, miranda, miRBridge, MirDB, Mirmap, miRNA Map, PITA, RNA22, Targetscan와 비교하여 공통된 결과(결과 B)로부터 miRNA ID를 얻는다.

[0068] 이어서 결과 A 즉 재그룹화된 발현수준별 miRNA의 발현수준이 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상으로 된 그룹을 다시 레퍼런스 데이터베이스인 miRBase, ASRP, micro RNAMAP, miRGen, CoGemiR와 비교하여 공통된 결과(결과 c)를 얻는다. 얻어진 결과 B와 C를 서로 비교하여 공통된 결과로부터 miRNA ID를 얻는다. 얻어진 miRNA ID를 공지의 펌메드(PubMed) 데이터베이스를 이용하여 miRNA ID를 재확인하여 이로부터 정확성이 높은 miRNA ID를 얻는다.

실시예 2

[0071] 실험예 2로부터 제조된 RNA켄겟을 이용하고, 공지의 전기영동시스템을 통하여 RNA의 염기서열을 파악한다.

[0072] 파악된 염기서열을 통해 발현수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하였다. 그리고 암유전체 지도(TCGA)로부터 데이터 플랫폼을 이용하여 발현 수준별 종양 miRNA 데이터를 획득하였고, 이후 미지의 시료로부터 얻어진 발현수준별 miRNA 데이터와 암유전체지도로부터 얻어진 발현수준별 종양 miRNA 데이터를 비교하여 공통된 발현 수준별 miRNA 결과를 얻는다. 얻어진 공통된 발현 수준별 miRNA 결과를 발현수준별 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하고, 분류된 그룹으로부터 2.5 폴드 미만의 그룹을 제거하여 재그룹화된 발현수준별 miRNA 결과(결과 D)를 얻는다. 그 후 결과 D 즉 재그룹화된 발현수준별 miRNA의 발현수준이 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상으로 된 그룹을 표적예측 데이터베이스인 mirWalk, DIANA-microT, miranda, miRBridge, MirDB, Mirmap, miRNA Map, PITA, RNA22, Targetscan와 비교하여 공통된 결과(결과 E)로부터 miRNA ID를 얻는다.

[0073] 이어서 결과 D 즉 재그룹화된 발현수준별 miRNA의 발현수준이 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상으로 된 그룹을 다시 레퍼런스 데이터베이스인 miRBase, ASRP, micro RNAMAP, miRGen, CoGemiR와 비교하여 공통된 결과(결과 F)를 얻는다. 얻어진 결과 E와 F를 서로 비교하여 공통된 결과로부터 miRNA ID를 얻는다. 얻어진 miRNA ID를 공지의 펌메드(PubMed) 데이터베이스를 이용하여 miRNA ID를 재확인하여 이로부터 정확성이 높은 miRNA ID를 얻는다.

실시예 3

[0076] 실험예 3으로부터 제조된 RNA켄겟을 이용하고, 공지의 전기영동시스템을 통하여 RNA의 염기서열을 파악한다. 파악된 염기서열을 통해 발현수준의 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하였다. 그리고 암유전체 지도(TCGA)로부터 데이터 플랫폼을 이용하여 발현수준별 종양 miRNA 데이터를 획득하였고, 이후 미지의 시료로부터 얻어진 발현수준별 miRNA 데이터와 암유전체지도로부터 얻어진 발현수준별 종양 miRNA 데이터를 비교하여 공통된 발현 수준별 miRNA 결과를 얻는다. 얻어진 공통된 발현 수준별 miRNA 결과를 발현수준별 차이에 따라 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상, 2.5폴드 미만의 3개 그룹으로 분류하고, 분류된 그룹으로부터 2.5 폴드 미만의 그룹을 제거하여 재그룹화된 발현수준별 miRNA 결과(결과 G)를 얻는다. 그 후 결과 G 즉 재그룹화된 발현수준별 miRNA의 발현수준이 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상으로 된 그룹을 표적예측 데이터베이스인 mirWalk, DIANA-microT, miranda, miRBridge, MirDB, Mirmap, miRNA Map, PITA, RNA22, Targetscan와 비교하여 공통된 결과(결과 H)로부터 miRNA ID를 얻는다.

[0077] 이어서 결과 G 즉 재그룹화된 발현수준별 miRNA의 발현수준이 5폴드 이상, 5폴드 미만부터 2.5폴드 이상으로 된 그룹을 다시 레퍼런스 데이터베이스인 miRBase, ASRP, micro RNAMAP, miRGen, CoGemiR와 비교하여 공통된 결과(결과 I)를 얻는다. 얻어진 결과 H와 I를 서로 비교하여 공통된 결과로부터 miRNA ID를 얻는다. 얻어진 miRNA ID를 공지의 펌메드(PubMed) 데이터베이스를 이용하여 miRNA ID를 재확인하여 이로부터 정확성이 높은 miRNA ID를 얻는다.

[0078] 별첨 도 2는 TCGA에 의해 다운로드된 유방암에 대한 로우(raw) 데이터로서, 종양유전자 및 종양억제유전자와 관련하여 예측된 miRNA 목록은 발현 수준(도 3 내지 6)에 따라 분류된다.

[0079] 도 3은 BRCA1/2를 조절할 수 있는 추정 miRNA 목록에 관한 것이며, BRCA1은 5폴드 이상(≥ 5)의 miRNA는 전체의 11%를 점유하고[52 miRNAs], 다음에 2.5폴드 이상(> 2.5)이 1.5%[7 miRNAs]를 가진다.

[0080] 도 4는 miRNAs을 조절하는 Cyclin D1는 5폴드 이상(≥ 5)의 miRNAs는 전체의 18%를 점유하고[83 miRNAs], 다음에 2.5 폴드 이상(> 2.5)이 2%를 점유하였다[9 miRNAs]고 있다.

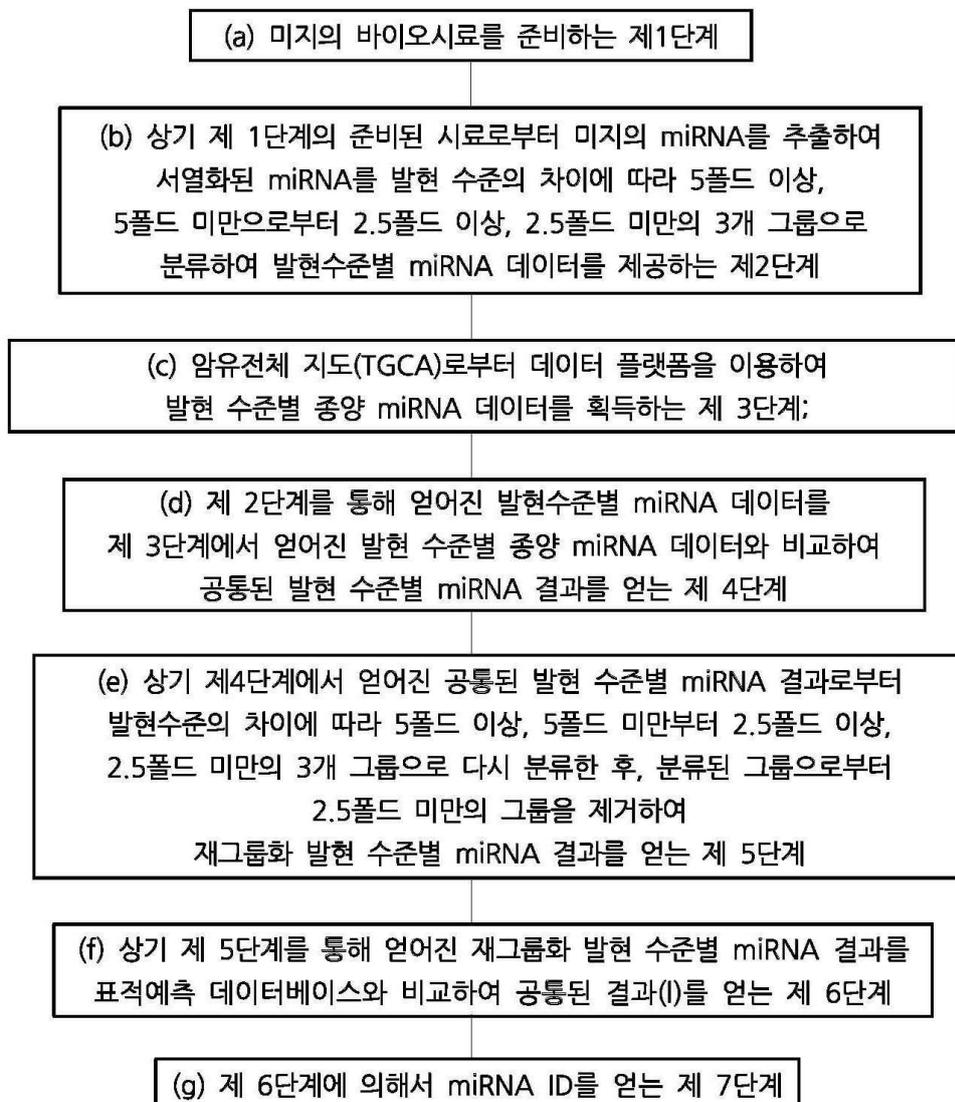
[0081] 도 5는 miRNAs를 조절하는 종양유전자 N-RAS와 관련한 것으로 5폴드 이상(≥ 5)의 miRNAs는 전체의 23%[102 miRNAs]을 점유하였고, 2.5폴드 이상(> 2.5)이 2.9%[13 miRNAs]을 점유하였다.

[0082] 도 6은 miRNA를 조절하는 종양유전자로 FGF3, FGF4, HER2, c-Myc에 관한 것인데, FGF3는 5폴드 이상(≥ 5)의 miRNA는 전체의 0.4%를 점유하고[2 miRNAs], 다음에 2.5폴드 이상(> 2.5)이 0.2%를 점유하였다[1 miRNA]. FGF4의 경우, 5폴드 이상(≥ 5)의 miRNAs는 0.4%[2 miRNAs]을 점유하였고, 다음 2.5폴드 이상(> 2.5)이 0.2%[1 miRNA]을 점유하였다. HER2의 경우, 5폴드 이상(≥ 5)의 miRNAs는 2.9%[13 miRNAs]를 점유하고, 다음 2.5폴드 이상(> 2.5)이 0.4%[2 miRNA]를 점유했다. C-Myc의 경우, 0.2% miRNAs는 5폴드 이상(≥ 5)이었다.

[0083] 이상 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 보다 상세하게 설명하였다. 상기 실시예는 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 하는 예시적인 것일 뿐이고, 이에 의해 본 발명의 기술적 사상의 본질이 변하거나 범위가 축소되는 것은 아니다. 상기 실시예에서 제시되지 않은 여러 가지 실시예 및 적용예들이 가능함은 당업자에게 있어 당연할 것이다.

도면

도면1



도면2

miRNA ID	Read count	Reads per million miRNA mapped	miRNA ID	Read count	Reads per million miRNA mapped	miRNA ID	Read count	Reads per million miRNA mapped	miRNA ID	Read count	Reads per million miRNA mapped
let-7a-1	16795	6280.683452	miR-136	123	45.997266	miR-205	6884	2462.162575	miR-3174	1	0.373962
let-7a-2	33593	12562.488879	miR-138-1	1	0.373962	miR-206	37	13.836576	miR-3177	1	0.373962
let-7a-3	16999	6356.97169	miR-138-2	1	0.373962	miR-20a	241	90.124724	miR-3190	1	0.373962
let-7b	11991	44466.13698	miR-139	151	56.468188	miR-20b	91	34.030497	miR-322	47	17.576191
let-7c	11587	4258.299702	miR-140	952	356.011356	miR-21	11367	208198.5825	miR-3200	11	4.113577
let-7d	1107	413.97539	miR-141	3958	1480.136652	miR-210	1090	407.618045	miR-320a	1227	458.850771
let-7e	2123	793.920283	miR-142	3180	1189.197598	miR-2110	9	3.365654	miR-320b-2	20	7.47923
let-7f-1	106	40.387843	miR-143	107718	40323.38821	miR-2114	2	0.747923	miR-320c-1	1	0.373962
let-7f-2	10381	3882.094424	miR-144	93	34.77842	miR-2115	1	0.373962	miR-320c-2	4	1.495846
let-7g	1000	373.961509	miR-145	3391	1268.103477	miR-2116	1	0.373962	miR-320d-1	6	2.243769
let-7i	1013	378.823009	miR-146b	9	3.365654	miR-2117	1	0.373962	miR-320d-2	4	1.495846
miR-1-2	24	8.957976	miR-146a	146	54.59838	miR-212	2	0.747923	miR-323	3	1.121885
miR-100	11132	4162.939517	miR-146b	898	335.817435	miR-214	61	22.811652	miR-323b	18	6.731307
miR-101-1	55076	20586.30406	miR-147b	2	0.747923	miR-215	6	2.243769	miR-324	49	18.324114
miR-101-2	237	88.628878	miR-148a	119226	43909.08821	miR-216a	1	0.373962	miR-326	9	3.365654
miR-103-1	33856	12660.84085	miR-148b	729	272.61794	miR-217	18	6.731307	miR-328	55	20.567883
miR-103-2	20	7.47923	miR-149	290	108.448838	miR-218-1	5	1.869808	miR-329-2	1	0.373962
miR-106a	36	13.462614	miR-150	988	369.473971	miR-218-2	59	22.063729	miR-330	38	14.210537
miR-106b	1056	394.903353	miR-151	5644	2110.638756	miR-219-1	3	1.121885	miR-331	28	21.689768
miR-107	161	60.207893	miR-152	642	240.083289	miR-219-2	1	0.373962	miR-335	252	86.75997
miR-10a	42900	16042.24873	miR-153-1	2	0.747923	miR-22	129277	48344.02199	miR-337	108	40.387843
miR-10b	440954	164899.8232	miR-153-2	35	13.088653	miR-221	126	47.11915	miR-338	523	195.881869
miR-1180	17	6.357346	miR-154	27	10.09691	miR-222	64	23.933537	miR-339	59	22.063729
miR-1185-2	1	0.373962	miR-155	388	145.097065	miR-223	128	47.860773	miR-33a	23	8.601115
miR-1226	2	0.747923	miR-158	247	91.994531	miR-224	14	5.235461	miR-337	14	5.235461
miR-1228	1	0.373962	miR-15b	347	129.764644	miR-227	1	0.373962	miR-340	44	16.454306
miR-1229	1	0.373962	miR-16-1	2314	865.346932	miR-2355	127	47.493112	miR-342	374	139.861604
miR-1245	21	7.883192	miR-16-2	19	7.105269	miR-23a	9321	3485.095224	miR-345	29	10.844884
miR-1249	389	143.710227	miR-18	252	93.746276	miR-23b	2616	973.462136	miR-347	4	1.495846
miR-1248	4	1.495846	miR-181a-1	3560	1331.302972	miR-23c	3	1.121885	miR-34b	7	2.617731
miR-1249	2	0.747923	miR-181a-2	1358	507.839729	miR-24-1	27	10.09691	miR-34c	22	8.217153
miR-1250	2	0.747923	miR-181b-1	653	244.196865	miR-24-2	1859	693.194445	miR-3605	7	2.617731
miR-1251	5	1.869808	miR-181b-2	247	2.991623	miR-249	23649	8669.8215	miR-3647	226	81.235461
miR-1252	2	0.747923	miR-181c	345	129.016721	miR-26a-1	14	5.235461	miR-361	504	188.4766
miR-125a	1910	714.266482	miR-181d	56	20.941844	miR-26a-2	5656	2115.126294	miR-3610	7	2.617731
miR-125b-1	1551	580.0143	miR-182	235196	8795.425105	miR-26b	1653	618.138374	miR-3613	24	8.975076
miR-125b-2	65	24.307498	miR-183	7125	2685.74538	miR-26c	1732	647.701333	miR-3614	4	1.495846
miR-126	7203	2693.644749	miR-184	63	23.559575	miR-27b	1288	481.662423	miR-3615	8	2.991623
miR-1262	5	1.869808	miR-185	179	66.93911	miR-28	15433	5771.347967	miR-362	2	0.747923
miR-1266	44	16.454306	miR-186	538	201.191292	miR-296	9	3.365654	miR-363	46	17.202229
miR-1269	8	3.121885	miR-187	287	107.4923	miR-299	13	4.8015	miR-364	22	8.217153
miR-127	2222	830.942473	miR-188	3	1.121885	miR-299a	9670	3616.207791	miR-3648	1	0.373962
miR-1270-1	3	1.121885	miR-18a	6	2.243769	miR-29b-1	427	159.681564	miR-365-1	89	33.282574
miR-1271	14	5.235461	miR-18b	1	0.373962	miR-29b-2	500	186.980754	miR-365-2	104	38.891997
miR-1274b	3	1.121885	miR-190	15	5.609423	miR-29c	4618	1726.954248	miR-3651	1	0.373962
miR-1277	1	0.373962	miR-190b	252	93.746276	miR-301a	9	3.365654	miR-3652	14	5.235461
miR-128-1	163	60.855726	miR-191	2105	787.188976	miR-301b	1	0.373962	miR-3653	14	5.235461
miR-128-2	120	44.875381	miR-192	1012	378.440407	miR-3065	286	106.952992	miR-3656	1	0.373962
miR-1287	54	20.193922	miR-193a	698	261.025133	miR-3074	49	18.324114	miR-3661	1	0.373962
miR-129	1	0.373962	miR-193b	247	69.930823	miR-308	23390	87428.46116	miR-3662	1	0.373962
miR-129-2	2	0.747923	miR-194-1	309	115.54106	miR-30b	779	291.316015	miR-3676	6	2.243769
miR-1291	1	0.373962	miR-194-2	293	109.570722	miR-30c-1	2	0.747923	miR-3677	34	12.714691
miR-1292	2	0.747923	miR-195	228	83.263224	miR-30c-2	2519	942.009041	miR-3678	1	0.373962
miR-1293	1	0.373962	miR-196-1	1554	581.336185	miR-301a	28088	10503.83066	miR-3679	1	0.373962
miR-1294	1	0.373962	miR-196-2	32	34.404459	miR-30c	37286	13947.26844	miR-3680	1	0.373962
miR-1295	8	2.991623	miR-196b	547	204.556945	miR-31	20	7.47923	miR-3682	2	0.747923
miR-1296	4	1.495846	miR-197	251	93.864339	miR-3125	1	0.373962	miR-3684	1	0.373962
miR-1301	15	5.609423	miR-197b	203	74.7923	miR-3126	4	20.193922	miR-3127	54	20.193922
miR-1306	12	4.487538	miR-199a-1	5997	2242.647169	miR-3128	1	0.373962	miR-3690	1	0.373962
miR-1307	1501	561.316225	miR-199a-2	10528	3937.066766	miR-3129	1	0.373962	miR-370	30	11.218845
miR-130a	123	45.997266	miR-199b	13648	5103.826673	miR-3130-1	11	4.113577	miR-374a	1894	708.283098
miR-130b	106	12.714691	miR-199c	2021	755.776609	miR-3130-2	3	1.121885	miR-374b	109	63.159495
miR-132	121	45.249343	miR-199-1	17	6.357346	miR-3138-1	1	0.373962	miR-374c	14	5.235461
miR-133a-1	5	1.869808	miR-19b-2	206	77.03601	miR-3156-1	4	1.495846	miR-375	11025	4122.92563
miR-133a-2	1	0.373962	miR-200a	3091	1155.915024	miR-3156-2	1	0.373962	miR-376a-1	2	0.747923
miR-133b	2	0.747923	miR-200b	2021	755.776609	miR-3156-3	4	1.495846	miR-376a-2	2	0.747923
miR-134	1475	551.593226	miR-200c	26793	10019.55071	miR-3158-1	1	0.373962	miR-376b	3	1.121885
miR-135a-1	40	14.95846	miR-202	6	2.243769	miR-3161	1	0.373962	miR-376c	9	3.365654
miR-135a-2	3	1.121885	miR-203	6557	2452.065614	miR-3170	2	0.747923	miR-377	9	3.365654
miR-135b	15	5.609423	miR-204	9	2.991623	miR-3173	1	0.373962	miR-378	256	88.234916
miR-137e	11	4.113577	miR-450b	140	52.35461	miR-518f	9	3.365654	miR-616	12	4.487538
miR-379	2966	1109.169833	miR-451	192	71.80061	miR-519a-1	1	0.373962	miR-618	2	0.747923
miR-380	2	0.747923	miR-452	23	8.601115	miR-520g	1	0.373962	miR-624	1	0.373962
miR-381	96	35.900305	miR-454	12	4.487538	miR-520h	1	0.373962	miR-625	738	275.983594
miR-382	93	34.77842	miR-455	385	145.097065	miR-526b	2	0.747923	miR-627	4	1.495846
miR-383	3	1.121885	miR-483	5	1.869808	miR-532	779	291.316015	miR-628	108	40.387843
miR-3909	2	0.747923	miR-484	91	34.030497	miR-539	35	13.088653	miR-629	386	144.349142
miR-3912	1	0.373962	miR-485	7	2.617731	miR-542	1331	497.742768	miR-632	3	1.121885
miR-3913-1	9	3.365654	miR-486	59	22.063729	miR-543	2	0.747923	miR-636	1	0.373962
miR-3917	4	1.495846	miR-487a	2	0.747923	miR-545	1	0.373962	miR-642a	6	2.243769
miR-3923	1	0.373962	miR-487b	13	4.8615	miR-548a-3	1	0.373962	miR-643	1	0.373962
miR-3926-1	3	1.121885	miR-491	9	3.365654	miR-548b	2	0.747923	miR-651	10	3.739615
miR-3928	3	1.121885	miR-493	32	11.966768	miR-548c	3	1.121885	miR-652	45	16.823268
miR-3934	4	1.495846	miR-494	6	2.243769	miR-548j	1	0.373962	miR-653	18	6.731307
miR-3936	1	0.373962	miR-495	17	6.357346	miR-548t	1	0.373962	miR-654	42	15.706383
miR-3940	1	0.373962	miR-496	3	1.121885	miR-548y	5	1.869808	miR-655	5	1.869808
miR-409	86	32.16069	miR-497	65	24.307498	miR-550a-1	2	0.747923	miR-656	5	1.869808
miR-410	28	10.479922	miR-499	1	0.373962	miR-550a-2	3	1.121885	miR-658	1	0.373962
miR-411	21	7.853192	miR-500a	343	128.268798	miR-551a	1	0.373962	miR-659	3	1.121885

도면3

oncogene	5>RPM ≥ 2.5	≥ 5					
<i>BRCA1</i>	miR-1306	let-7a-2	miR-106b	miR-629	miR-221	miR-758	
	miR-95	miR-30d	let-7g	miR-589	miR-132	miR-654	
	miR-651	miR-28	miR-150	miR-197	miR-584	miR-26a-1	
	miR-1468	miR-199b	miR-140	miR-20a	miR-20b	miR-106a	
	miR-3615	let-7c	miR-146b	miR-335	miR-484	miR-493	
	miR-760	miR-93	miR-424	miR-193b	miR-222	miR-345	
	miR-187	miR-205	miR-17	miR-146a	miR-328	miR-576	
		miR-26a-2	miR-186	miR-708	miR-769	miR-1976	
		miR-127	miR-29b-2	miR-450b	miR-324	miR-671	
		miR-125a	miR-29b-1	miR-34a	miR-1266	miR-944	
		miR-615	miR-224				
		7	52				
	<i>BRCA2</i>	miR-616	miR-21	miR-429	miR-425		
		miR-651	miR-182	miR-146a	miR-625		
		let-7b	miR-744				
		miR-200c	miR-98				
		let-7c	miR-628				
		miR-29a	miR-19a				
		miR-205	miR-769				
		let-7e	miR-369				
		let-7i	miR-323b				
		miR-192	miR-653				
		let-7g	miR-224				
		miR-146b	miR-532				
		2	26				

도면4

oncogene	5>RPM ≥ 2.5	≥ 5					
<i>Cyclin D1</i>	miR-1306	miR-21	miR-106b	miR-500a	miR-503	miR-1266	
	miR-95	let-7b	let-7i	miR-3065	miR-128-2	miR-340	
	miR-432	let-7c	let-7g	miR-589	miR-98	miR-758	
	miR-651	miR-92a-2	miR-150	miR-197	miR-584	miR-654	
	miR-296	miR-23a	miR-140	miR-15a	miR-20b	miR-26a-1	
	miR-326	miR-93	miR-625	miR-3607	miR-96	miR-330	
	miR-502	miR-26a-2	miR-193a	miR-20a	miR-7-1	miR-206	
	miR-204	miR-145	miR-424	miR-195	miR-497	miR-106a	
	miR-187	miR-142	miR-17	miR-193b	miR-19a	miR-3677	
		miR-23b	miR-186	miR-374b	miR-214	miR-370	
		miR-127	miR-338	miR-128-1	miR-486	miR-874	
		let-7e	miR-361	miR-450b	miR-1287	miR-154	
		miR-374a	miR-155	miR-34a	miR-3127	miR-576	
		miR-26b	miR-342	miR-221	miR-769	miR-3613	
		miR-134	miR-15b	miR-130a	miR-324	miR-33a	
		miR-452	miR-495	miR-224	miR-1271		
		miR-449a	miR-615	miR-374c	miR-653		
		9	83				

도면5

oncogene	5>RPM ≥ 2.5	≥ 5					
<i>N-RAS</i>	miR-1306	miR-182	miR-145	miR-17	miR-337	miR-889	
	miR-450a-2	miR-30a	miR-200a	miR-196b	miR-381	miR-206	
	miR-616	miR-22	miR-379	miR-186	miR-144	miR-106a	
	miR-95	let-7b	miR-16-1	miR-338	miR-382	miR-539	
	miR-378c	miR-148a	let-7e	miR-361	miR-20b	miR-3677	
	miR-1468	miR-143	miR-200b	miR-629	miR-96	miR-590	
	miR-2110	miR-183	miR-374a	miR-92b	miR-7-1	miR-874	
	miR-377	miR-30e	miR-26b	miR-181c	miR-501	miR-369	
	miR-502	miR-30d	miR-134	miR-3065	miR-125b-2	miR-3613	
	miR-204	miR-200c	miR-181a-2	miR-589	miR-497	miR-33a	
	miR-760	miR-25	let-7d	miR-20a	miR-222	miR-452	
	miR-34b	miR-28	miR-106b	miR-335	miR-19a	miR-411	
	miR-485	let-7c	let-7i	miR-195	miR-331	miR-1976	
		miR-92a-2	let-7g	miR-19b-2	miR-181d	miR-16-2	
		let-7f-2	miR-146b	miR-374b	miR-32	miR-19b-1	
		miR-29a	miR-425	miR-139	miR-363	miR-495	
		miR-93	miR-625	miR-146a	miR-340	miR-944	
		miR-126	miR-148b	miR-708	miR-660	miR-1301	
		miR-205	miR-424	miR-503	miR-26a-1	miR-1271	
		miR-29c	miR-152	miR-98	miR-330	miR-224	
			miR-3653	miR-374c			
		13	102				

도면6

oncogene	5>RPM ≥ 2.5	≥ 5	
<i>FGF3</i>	miR-485	miR-589	
		miR-324	
	1	2	
<i>FGF4</i>	miR-651	miR-200b	
		miR-361	
	1	2	
<i>HER2</i>	miR-4326	miR-30a	miR-193a
	miR-485	miR-30e	miR-486
		miR-30d	miR-331
		let-7c	miR-3127
		miR-375	miR-660
		miR-125a	miR-3613
		miR-532	
	2	13	
<i>c-Myc</i>	miR-1468	miR-186	
	miR-377		
	miR-34b		
	3	1	