

보안 과제(), 일반 과제(○) / 공개(○), 비공개()발간등록번호()
바이오·의료기술개발사업 제5차 연도 최종 보고서

R&D / 2013M3A9A7046213

심혈관질환 분자시스템생물학 연구 최종보고서

2018 . 09 . 06 .

주관연구기관 / 광주과학기술원
협동연구기관 / 한국생명공학연구원
한국과학기술원

과학기술정보통신부

(전문기관) 한국연구재단

제출문

제 출 문

과학기술정보통신부장관 귀하

‘심혈관질환 분자시스템생물학 연구’(연구개발 기간 : 2013.08.01 ~ 2016.07.31.) 과제의 최종보고서 2부를 제출합니다.

2018. 09. 06.

주관연구기관명 :	광주과학기술원	(대표자)	문 승 현	(인)
협동연구기관명 :	한국생명공학연구원	(대표자)		(인)
	한국과학기술원	(대표자)		(인)
참여기관명 :		(대표자)		(인)

주관연구기관책임자: 김 도 한

협동연구기관책임자:

참여기관책임자:

과학기술정보통신부 소관 과학기술분야 연구개발사업 처리규정
제35조에 따라 최종보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

보고서 요약서

과제 고유 번호	2013M3A9A 7046213	해당 단계 연구 기간	2016.08.01 -2018.07.3	단계구분	2/2
연구사업명	중사업명	바이오·의료기술개발사업			
	세부사업명	시스템·인포메틱스사업			
연구과제명	대과제명	심혈관질환 분자시스템생물학연구			
	세부과제명				
연구책임자	김도한	해당단계 참여 연구원 수	총: 79명 내부: 57명 외부: 22명	해당단계 연구개발비	정부: 1,800,000 천원 민간: 천원 계: 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 200명 내부: 133명 외부: 67명	총 연구개발비	정부: 4,500,000천원 민간: 천원 계: 4,500,000천원
연구기관명 및 소속 부서명	광주과학기술원(생명과학부)			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내·외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
-------------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

<ul style="list-style-type: none"> ■ 허혈성 및 비허혈성 심부전의 질환의 이행 과정에 대한 시스템적 이해 제시 ■ 보다 종합적이고 거시적인 이해를 기반으로 한 효과적인 진단 기술 및 맞춤형 치료제 개발의 새로운 패러다임 제안 ■ 심부전 환자의 임상정보와 접목한 최적의 치료전략 제시 	보고서 면수
--	--------

요약문

연구의 목적 및 내용	<p>연구목적 허혈성 및 비허혈성 심부전의 이행 단계별 전사체 및 단백질 분석을 통한 심혈관 질환 분자진단 기술을 개발하는 한편 심장 리모델링에 중요한 신호전달네트워크를 수학적 모델링하여 동역학을 분석함</p> <p>연구내용</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 심부전의 이행 단계별 오믹스 분석을 통한 분자시스템생물학적 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 이행단계별 허혈성 및 비허혈성 심부전 동물모델 구축 - 차세대염기서열분석법 및 프로테오믹스 기술을 이용한 대용량 심부전 전사체 및 단백질 데이터 생산 - 심부전 질환 특이적 유전자/단백질 네트워크 규명 - 심부전 신규 바이오마커 후보물질 도출 - 심부전 대용량 오믹스 데이터를 관리, 유지, 분석하기 위한 데이터베이스 구축 (http://www.kcpavs.cidms.org) ● 수학적 모델링과 컴퓨터 시뮬레이션에 기반한 심부전이행 기전분석 <ul style="list-style-type: none"> - 대규모 심근세포 신호전달네트워크 구축 및 핵심 심근세포 신호전달네트워크 추출, 수학모델 개발 및 동역학 분석 - 심장질환에 사용되는 약물의 섭동효과 시뮬레이션 분석 - 네트워크 질병조절자에 기반한 심부전의 분류법 수립 및 그에 따른 맞춤치료전략 제시 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> - 허혈성 및 비허혈성 심부전 동물모델(유형별, 이행단계별)을 구축하고, 차세대염기서열분석법(NGS) 및 프로테오믹스 기술을 이용하여 대용량 전사체(mRNA, smallRNA), 단백질(인산화, 아세틸화 포함) 데이터를 생산함. - 허혈성 및 비허혈성 심부전 특이적 유전자/단백질 네트워크 및 microRNA-타겟 네트워크를 구축하고, 다수의 심부전 바이오마커 후보물질을 도출, 검증함 - 심부전 이행과정에서 AS에 의한 isoform 단백질을 모델링하여, 구조변화가 심부전관련 유전자 상호작용 네트워크에 미치는 영향을 분석함 - 자체 생산된 심부전 전사체 데이터를 유지, 관리, 분석할 수 있는 데이터베이스를 구축함 (http://www.kcpavs.cidms.org/) - 심근세포 관련 문헌정보와 전사체, 단백질 데이터의 융합 및 집대성을 통한 대규모 심근세포 신호전달네트워크를 구축하고, 핵심 심근세포 신호전달네트워크를 추출하여 정밀한 수학모델 개발 및 동역학 분석을 수행함 - 심장질환에 사용되는 약물의 섭동효과를 여러 상황(예: 개별 단백질의 발현 및 유전자 돌연변이 정도, 신호조절네트워크의 활성화정도 등)에서 시뮬레이션 분석하고, 심부전 이행과정의 다양한 형태를 표현할 수 있는 네트워크 수준의 질병조절자를 발굴함으로써 맞춤치료전략법을 제시함 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> - 허혈성 및 비허혈성 심부전의 질환 이행 과정에 대한 시스템적 이해 및 이에 기반한 다수의 핵심원천기술 확보. - 원인별/병기별 심부전 이행 메커니즘을 규명하고 보다 종합적이고 거시적인 이해를 기반으로 한 효과적인 진단 기술 및 맞춤형 치료제 개발의 새로운 패러다임 제안 - 허혈성 및 비허혈성 심부전 신규 바이오마커 발굴 - 심부전 환자의 임상정보와 접목한 최적의 치료전략 제시 				
국문핵심어 (5개 이내)	시스템생물학	심부전	바이오마커	오믹스	수학적모델링
영문핵심어 (5개 이내)	Systems biology	Heart failure	Biomarker	Omics	mathematical modeling

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요	4
2. 연구수행내용 및 성과	5
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	50
4. 연구개발성과의 활용 계획 등	55
붙임. 참고 문헌	56

<별첨> 주관연구기관의 자체평가 의견서

1. 연구개발과제의 개요

● 연구개발 목적

- 허혈성 및 비허혈성 심부전의 이행 단계별 전사체의 다층적 분석을 통해 심혈관질환 분자진단 및 맞춤형 치료 원천기술을 개발

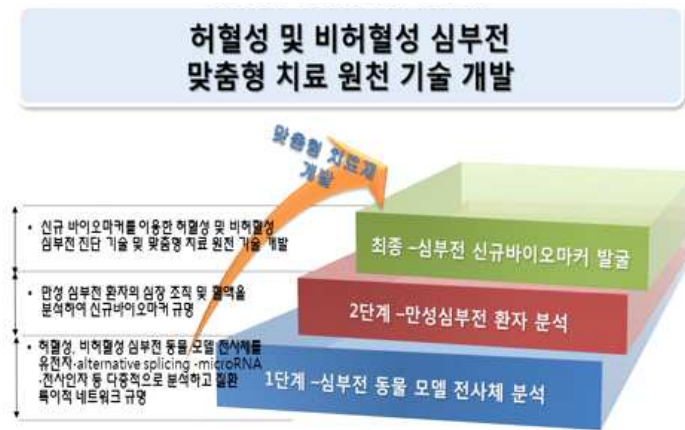


그림 1. 동물 및 임상환자 시료를 이용한 허혈성 및 비허혈성 심부전 신규 바이오마커 발굴 및 맞춤형 치료원천기술개발

● 연구개발의 필요성

- 심혈관 질환은 전 세계적으로 연 1,700만 명의 사망자를 낳는 주요 사망원인으로 bcc research에 따르면 2015년 고혈압 치료제는 약 537억 달러, 고지혈 치료제는 260억 등 글로벌 심혈관질환 치료제 시장의 시장 규모는 1,398억 달러로 추산됨. 이에 암젠, 존슨앤존스(J&J), 머크와 같은 대형제약사 역시 심혈관 질환 치료제 개발에 막대한 투자를 감행하고 있음
- 심부전 표준 치료법에 사용되는 약물은 매우 제한적이고 정상적인 표준 치료 중에도 예후가 좋지 않으며, 신약개발도 매우 더딤. 따라서, 이러한 심혈관 질환을 보다 효과적으로 진단하고 치료하기 위해서는 질환에 대한 보다 거시적이고 복합적인 이해가 필요함
- 시스템생물학 연구는 의료 산업의 메가트렌드인 미래형 의학의 글로벌 경쟁력 제고를 위한 과제인 동시에 고부가가치 산업인 맞춤의료 분야의 성장 동력을 확보할 수 있는 분야로, 2000년대 들어서 본격적인 연구가 시작되었음. 향후 미래형 의료 선진화를 이루기 위해 반드시 필요한 접근법이며, 기존의 R&D 활동과는 질적으로 차원이 다른 부가가치를 창출할 것임
- 심혈관 질환의 시스템 생물학적 이해를 기반으로 효과적인 신약 타겟 발굴의 한 성공적인 예로 칼슘T채널 차단제인 mibefradil이라는 고혈압 치료제를 들 수 있음. 1997년 FDA가 Hoffman-Roche를 대상으로 요청한 mibefradil의 안정성을 뉴질랜드 Hunter 교수 그룹이 주축이 되어 확립한 cardiome을 기반으로 검증하여 임상실험의 비용을 크게 절감한 사례에서 볼 수 있듯이 심혈관 질환 치료제의 효과적 개발을 위한 시스템 생물학적 연구는 반드시 수행되어야 함
- 최근 차세대염기서열법의 획기적 발전과 비용감소로 곧 개인유전체 시대가 도래할 것으로 예상되는데, 미국 개인맞춤약물 시장규모는 2,320억 달러로 추정되며 연간 11% 성장할 것으로 예상되어, 이 분야가 전 세계적 미래 성장동력이 될 것으로 예측됨.
- 심장질환에 관해서도 전사체 분석과 바이오마커 발굴을 통한 정확한 심혈관질환 진단과 맞춤형 치료전략 제시가 요구됨.

● 연구개발 범위

- 허혈성 및 비허혈성 심부전의 이행단계에 따른 전사체(mRNA, microRNA, lncRNA, alternative splicing)의 정성적·정량적 변화를 프로파일링 함으로써 두 가지 심부전의 질환기전을 규명함을 목표로 함
- 질환 특이적 전사체 변화로부터 유전자 네트워크 분석 및 심부전 질환 특이적 마커를 발굴함
- 심부전시 발현이 변화하는 핵심 전사인자와 그 하위유전자 조절 원리를 규명함으로써 심부전과 전사인자 연관성을 밝혀냄
- 대용량 데이터를 축적하고 공동 활용할 수 있는 데이터베이스 개발
- 만성심부전 환자 시료를 대상으로 혈액내 분비되는 circulating noncoding RNA를 총체적으로 프로파일링 함으로써, 허혈성 및 비허혈성 심부전 이행단계별 특이 circulating noncoding RNA를 동정하고, 이를 바탕으로 심부전 바이오마커 후보물질을 도출

2. 연구수행내용 및 성과

2-1. 제 1 세부과제

● 동물 모델 구축 :이행단계별(급성, 대상성, 만성) 허혈성 심부전 동물모델 구축 및 검증

- 8주령 C57BL/6 마우스에 ketamine (50 mg/kg)과 xylazine (5 mg/kg)을 근육주사하여 마취한 뒤, 인공호흡기를 연결함. 흉부 제모 후 소독하고 개흉하여 proximal left anterior descending coronary artery를 7-0 silk 봉합사로 묶음 (그림 2). 흉부 피부를 5-0 silk 봉합사로 봉합하고 호흡기를 제거하여 호흡이 회복되는지 확인함.
- 8주령 C57BL/6 마우스를 상기 방법과 동일하게 마취하고 개흉하고 봉합사로 epicardium만 통과시킨 뒤, 봉합한 모델을 MI_Sham 군으로 활용함

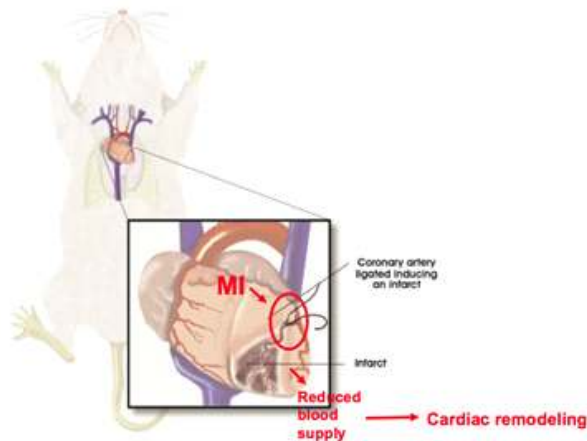


그림 2. 관상동맥 협착 수술을 통한 이행단계별 허혈성 심부전 동물모델 구축

- 심장초음파를 통해 심장 기능을 의미하는 ejection fraction은 MI_Sham 그룹에서 63.86 ± 3.10 (1주), 72.07 ± 3.73 (8주)로 관측되었고, MI 그룹에서는 43.93 ± 4.26 (1주), 45.59 ± 6.97 (8주)로 관측되어 MI_Sham 그룹에 대비해 통계적으로 유의한 심장기능 저하를 보임 (그림 3) ($p < 0.001$, t-test).
- 심장초음파의 fractional shortening은 MI_Sham 그룹에서 29.86 ± 2.02 (1주), 35.84 ± 2.79 (8주) 관측되었고, MI 그룹에서는 18.33 ± 2.15 (1주), 19.32 ± 3.74 (8주)로 관측되어 MI_Sham 그룹에 대비해 통계적으로 유의한 차이를 보임 ($p < 0.001$)
- 심장무게/체중 비율은 MI 1일에서 약 10.4%, 1주에서 23.9%, 8주에서 29.3% 증가함 (모두 $p < 0.001$, t-test)

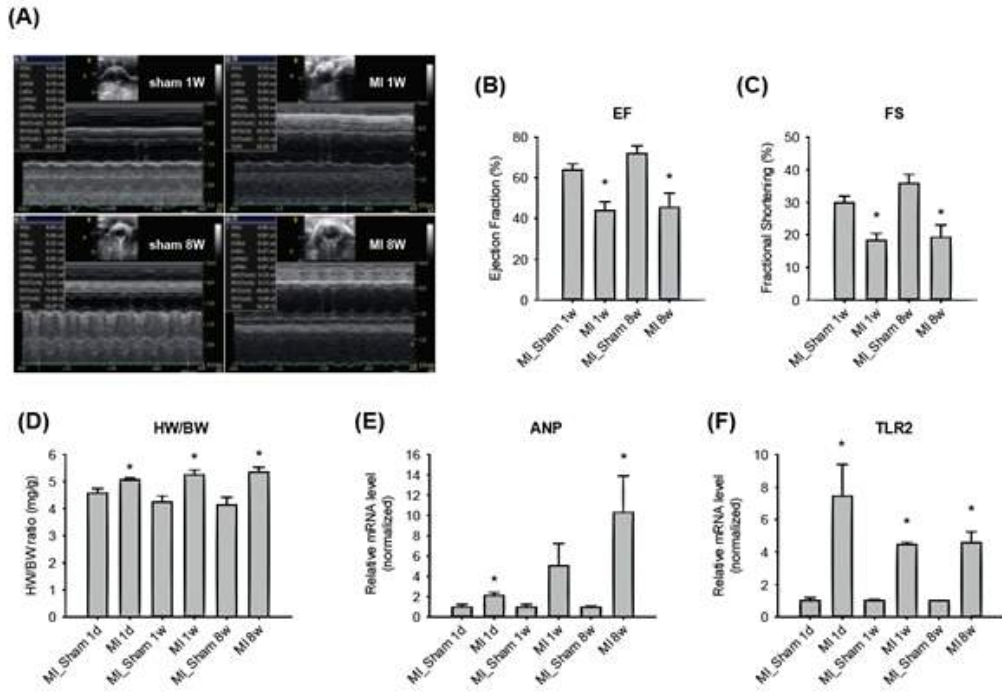


그림 3. 허혈성 심부전 동물모델의 심장 기능 및 심장 크기. 수술을 수행한 지 1일, 1주, 8주 (각각 급성, 대상성, 만성) 후에 심장초음파 (A)를 수행하여 심장 기능 (B-C)을 확인하고, 체중 및 심장무게 (D), 심부전 마커(E-F)를 측정함. (급성 MI 수술의 경우, 수술 부위 봉합사로 인해 심장초음파 불가하여 데이터 없음)

- 심장질환 마커인 ANP (Nppa)와 MI 마커인 Toll-like receptor2 (TLR2)의 유전자 발현을 qRT-PCR로 확인한 결과, Nppa와 TLR2의 발현이 현저하게 증가함을 확인함 (p<0.05)
- Masson trichrome 염색을 시행하여 심근섬유화를 확인하였으며 심실확장 및 심실벽 두께 감소를 관찰함. (그림 4)



그림 4. 허혈성 만성심부전 동물모델의 심장 조직 염색을 통한 심근섬유화 측정. 심근섬유화가 진행된 부분은 파란색으로 염색됨.

● 동물 모델 구축 :이행단계별(급성, 대상성, 만성) 비허혈성 심부전 동물모델 구축 및 검증

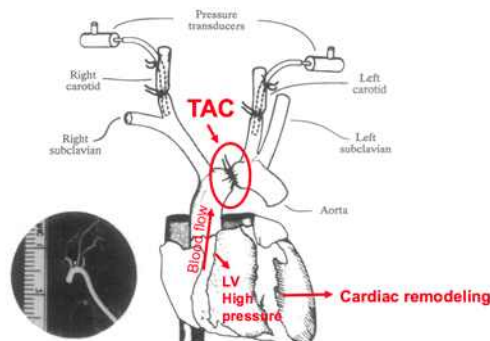


그림 5. 대동맥 협착 수술을 통한 이행단계별 비허혈성 심부전 동물모델 구축.

- 8주령 C57BL/6 마우스를 대상으로 tert-amyl alcohol에 녹인 avertin, 2-2-2 tribromoethanol를 복강 내 주사하여 마취한 뒤 transverse aortic constriction (TAC)를 시행함 (그림 5)
- 8주령 C57BL/6 마우스를 대상으로 동일한 방법으로 마취, 개흉하되 TAC은 가하지 않은 TAC_Sham 모델을 구축함

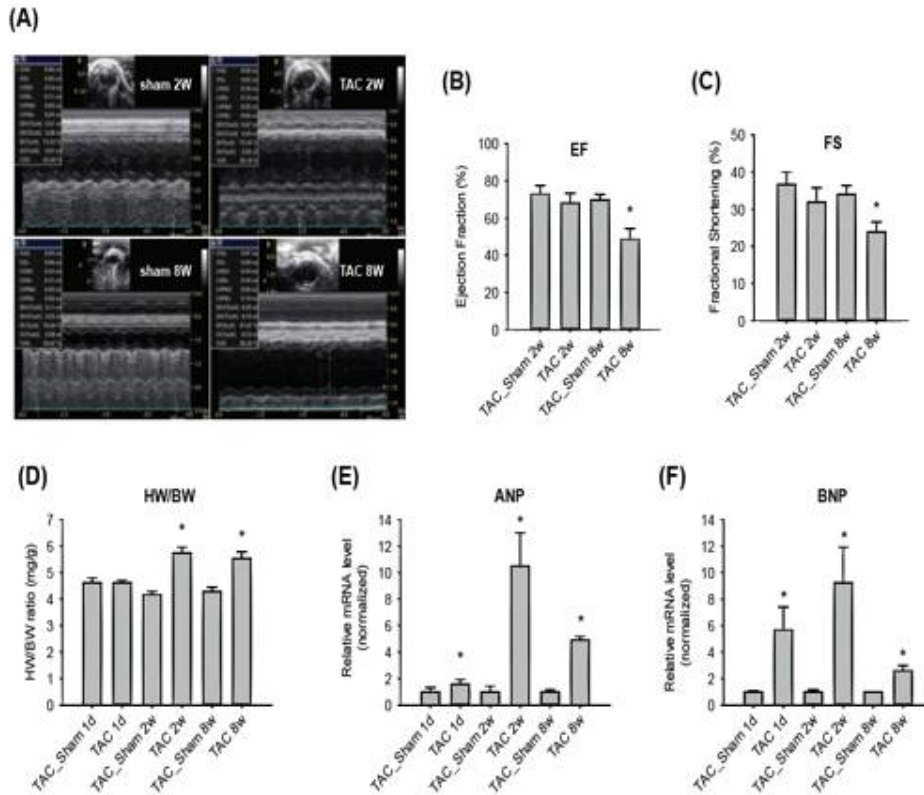


그림 6. 비허혈성 심부전 동물모델의 심장 기능 및 심장 크기. 모델 구축 후 1일, 2주, 8주 (각각 급성, 대상성, 만성) 후에 심장초음파 (A)를 수행하여 심장 기능 (B-C)을 확인하고, 체중 및 심장무게 (D), 심부전 마커(E-F)를 측정함. (급성 TAC 수술의 경우, 수술 부위 봉합사로 인해 심장초음파 불가하여 데이터 없음)

- 심장초음파 결과 TAC 2주의 경우 ejection fraction과 fractional shortening이 유의하게 변하지 않았고 (EF: 73.07 ± 4.44 vs 68.10 ± 5.14 ; FS: 36.59 ± 3.47 vs 31.87 ± 3.93), TAC 8주는 TAC_Sham 8주에 비해서 유의하게 심장기능이 저하됨 (EF: 69.59 ± 3.19 vs 48.71 ± 5.50 ; FS: 34.01 ± 2.35 vs 23.81 ± 2.69 ; t-test, $p < 0.001$) (그림 6).
- 심장무게/체중 비율은 TAC 1일에서는 변하지 않았고, 2주에서 37.2%, 8주에서 29.4% 증가함 ($p < 0.001$, t-test)
- TAC에 의해 유도된 비허혈성 만성 심부전을 분자생물학적으로 확인하기 위해 ANP (Nppa), BNP(Nppb), SKA(Acta)의 유전자 발현을 qRT-PCR로 확인하였고, 모든 마커의 발현이 심부전에서 현저하게 증가함을 확인하였음 ($p < 0.05$)
- 위 결과를 종합해볼 때, 본 사업단에서 생산하고 있는 이행단계별 두가지 타입(허혈성 및 비허혈성)의 심부전 동물 모델은 매우 성공적으로 구축되었음을 알 수 있음

● 허혈성 및 비허혈성 심부전 동물모델의 대용량 전사체 생산 및 분석

• 만성 심부전 모델의 전사체 생산

- Illumina HiSeq2000과 HiSeq2500으로 급성/대상성/만성 심부전 모델의 전사체를 생산하기

위해 허혈성 및 비허혈성 만성심부전 마우스 모델의 좌심실로부터 total RNA와 small RNA를 각각 추출한 후 Experion을 이용하여 RNA quality를 측정함

- 최종 선정된 허혈성 만성심부전 동물모델 (MI_sham_1d, MI_1d, MI_Sham_1w, MI_1w, MI_Sham_8w, MI_8w) 및 비허혈성 만성심부전 동물모델 (TAC_sham_1d, TAC_1d, TAC_Sham_1w, TAC_1w, TAC_Sham_8w, TAC_8w)의 total RNA와 small RNA를 대상으로 NGS를 이용하여 대용량 전사체를 생산함 (각 그룹 당 n=3으로 total RNA는 총 36개 샘플, small RNA는 36개 샘플)
- total RNA의 경우 6.0~8.8G (giga)에 해당하는 base의 read가 생산되었고, small RNA의 경우 1.3~1.8G (giga)에 해당하는 base의 read가 생산되었음

• 심부전 동물모델 개체 간의 전사체 유사성 분석

- 각 심부전 동물모델의 그룹 내의 개체 간의 전사체 유사성을 검토하기 위해 각 유전자 별 발현 정도를 Fragments Per Kilobase of transcript per Million fragments mapped (FPKM)으로 환산한 뒤 R2를 산출함. Sham 그룹은 0.98~0.99에 이르는 높은 개체 간 유사성이 보임. TAC, MI 그룹은 R2값이 평균 0.76~0.96에 분포하며 Sham 그룹에 비하면 상대적으로 낮은 편이긴 하나 대체로 개체 간 높은 유사성을 보이는 것으로 나타나, 대규모 전사체 비교분석을 위한 심부전 동물모델이 성공적으로 구축되었음을 다시 한번 확인함 (그림 7).

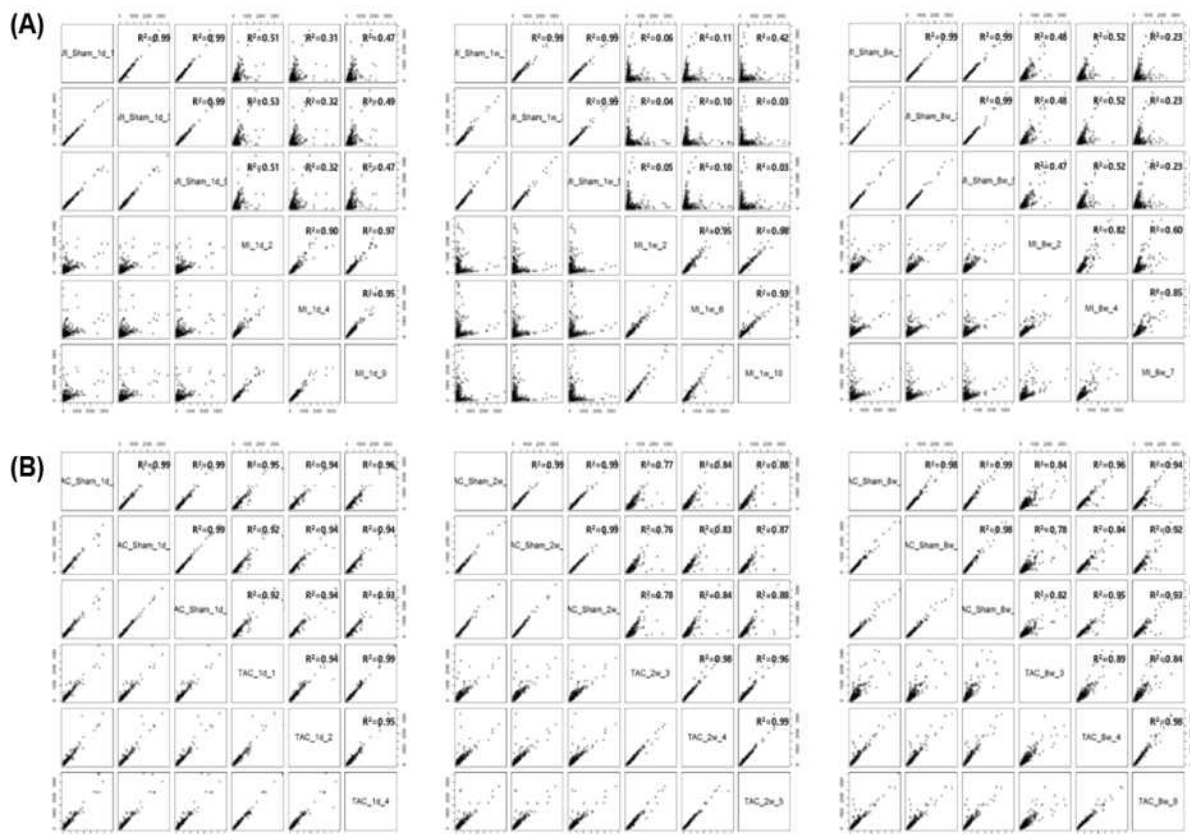


그림 7. 허혈성 (A) 및 비허혈성 (B) 심부전 동물모델의 개체간/그룹간 전사체 발현 패턴 비교

• 이행단계에 따른 허혈성 및 비허혈성 만성 심부전 모델의 주요 차등발현유전자 (Differentially Expressed Genes, DEGs) 비교 분석

- 이행단계별 허혈성/비허혈성 심부전 주요 유전자를 상호 비교한 결과 허혈성 심부전에서 상대적으로 많은 DEG가 동정되었고, 이행단계별로는 중기(대상성)에서 가장 많은 DEG가 동정됨 (그림 8)

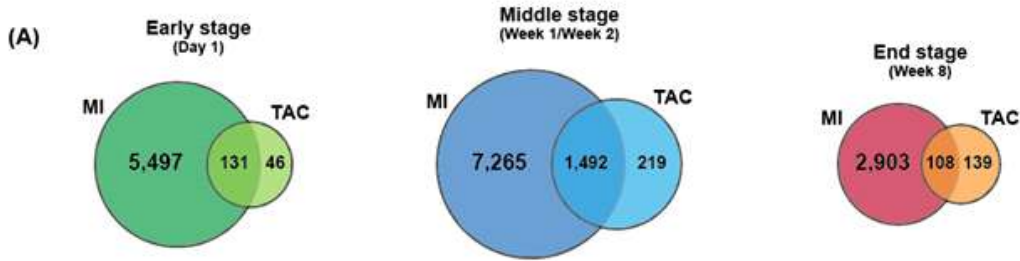


그림 8. 심부전 이행단계에 따른 허혈성 및 비허혈성 심부전 동물모델의 주요 DEG 비교 분석.

- 두가지 타입의 심부전 이행단계에서 나타나는 전반적인 양상을 비교분석하기 위해 Gene ontology (GO) 및 KEGG pathway 분석을 수행하여 비교분석함 (그림 9). 그 결과 허혈성 및 비허혈성 심부전 이행단계에서 미토콘드리아 관련 유전자의 감소, Fatty acid metabolic process 관련 유전자의 감소, TGF beta signaling 및 cell cycle 관련 신호전달의 활성화, 면역반응 관련 유전자의 증가가 공통적으로 나타남을 확인함. 해당 GO 및 KEGG 신호전달 관련 DEG의 수는 허혈성 심부전에서 훨씬 많고, 유전자 변화폭도 비허혈성 심부전에 비해 허혈성 심부전 이행과정에서 훨씬 크다는 것을 확인함.
- 특히, 허혈성 심부전 이행과정에서 특이적으로, 면역반응이 초기부터 지속적으로 강하게 일어남을 확인하였고, 이와 관련된 신호전달(Wnt signaling 및 Toll-like receptor signaling)이 활성화됨을 확인함.

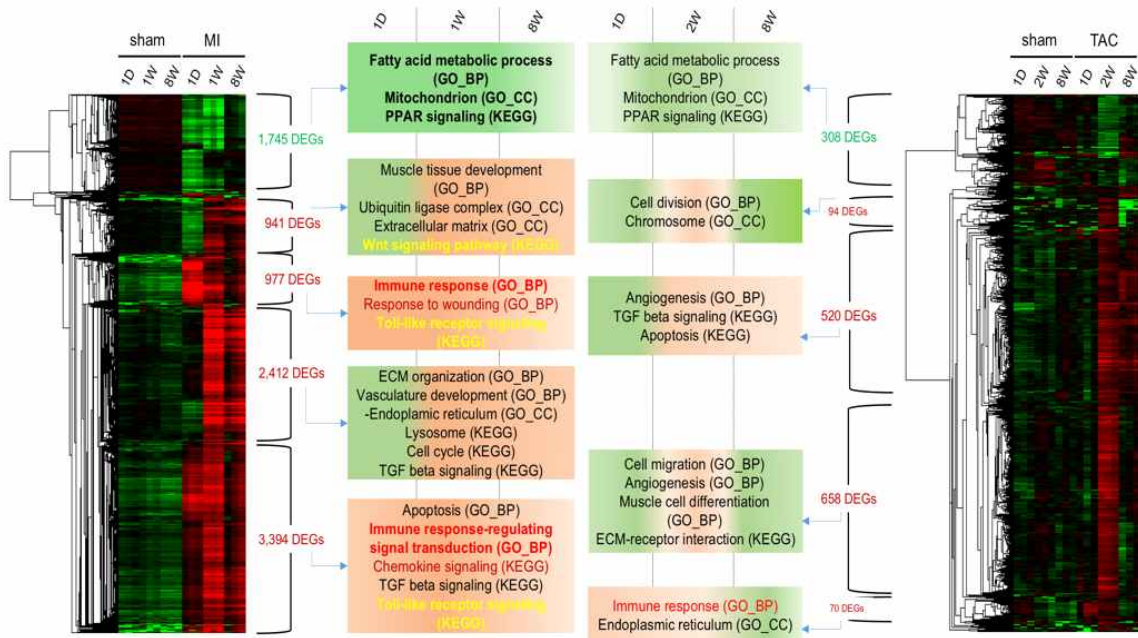


그림 9. 허혈성(좌) 및 비허혈성(우) 심부전 전사체의 hierarchical clustering 및 각 해당 cluster에 대한 GO 및 KEGG pathway 분석

- 두 가지 타입의 심부전 이행과정에서 뚜렷한 차이를 보이는 DEG를 동정하고, 심부전 이행과정(초기, 중기, 말기)에서 발현패턴이 정반대 양상을 보이는 DEG들을 선별하여 비교 분석함 (그림 10). 그 결과 허혈성 심부전 이행과정에서 감소하고, 비허혈성 심부전 이행과정에서 증가하는 DEG 60개, 허혈성 심부전 이행과정에서 증가하고 비허혈성 심부전 이행과정에서 감소하는 DEG 71를 동정함.
- Ingenuity Pathway Analysis(IPA) 분석결과, 심근 수축, 심근비대, 단백질 접힘과 관련된 유전자들이 비허혈성 심부전에서 특이적으로 증가하고 (허혈성 심부전 이행단계에서는 감소), 면역반응과 관련된 T lymphocytes 증식 및 leukocyte 과잉증식 그리고 세포사멸과 관련된 활성산소(ROS) 과잉생산 관련 유전자들이 허혈성 심부전에서 특이적으로 증가(비허혈성 심부전 이행단계에서는 감소)함을 확인함

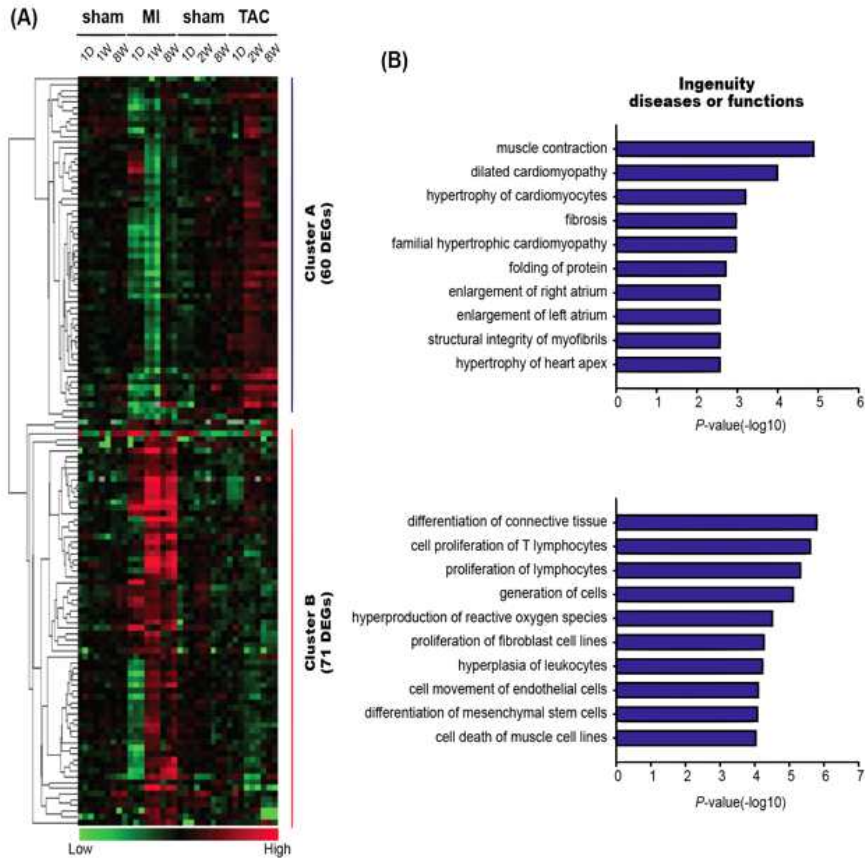


그림 10. 허혈성 및 비허혈성 심부전 이행과정 중 적어도 하나의 스테이지 이상에서 반대패턴을 보이는 DEG의 hierarchical clustering 결과 (A) 및 IPA 기능 분석 (B).

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 신규 바이오마커 발굴을 위해, 두가지 타입의 심부전 이행과정에서 가장 큰 발현 차이를 보이는 DEG를 선별하여 qRT-PCR 실험으로 검증함 (그림 11, 그림 12)

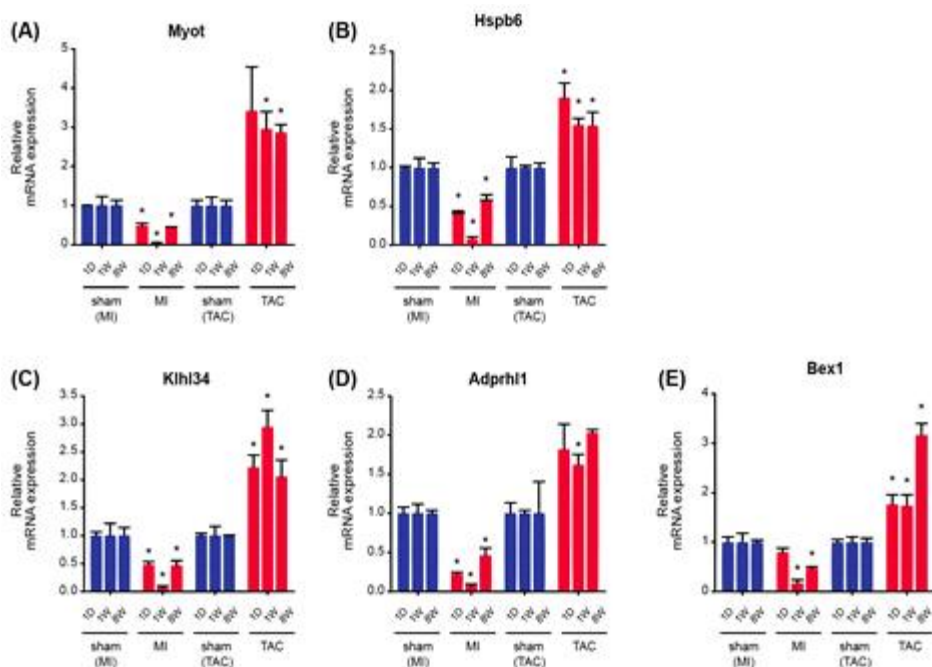


그림 11. 허혈성 심부전 이행과정에서는 발현이 감소하는 반면, 비허혈성 심부전 이행과정에서는 발현이 증가하는 유전자에 대한 qRT-PCR 검증 결과.

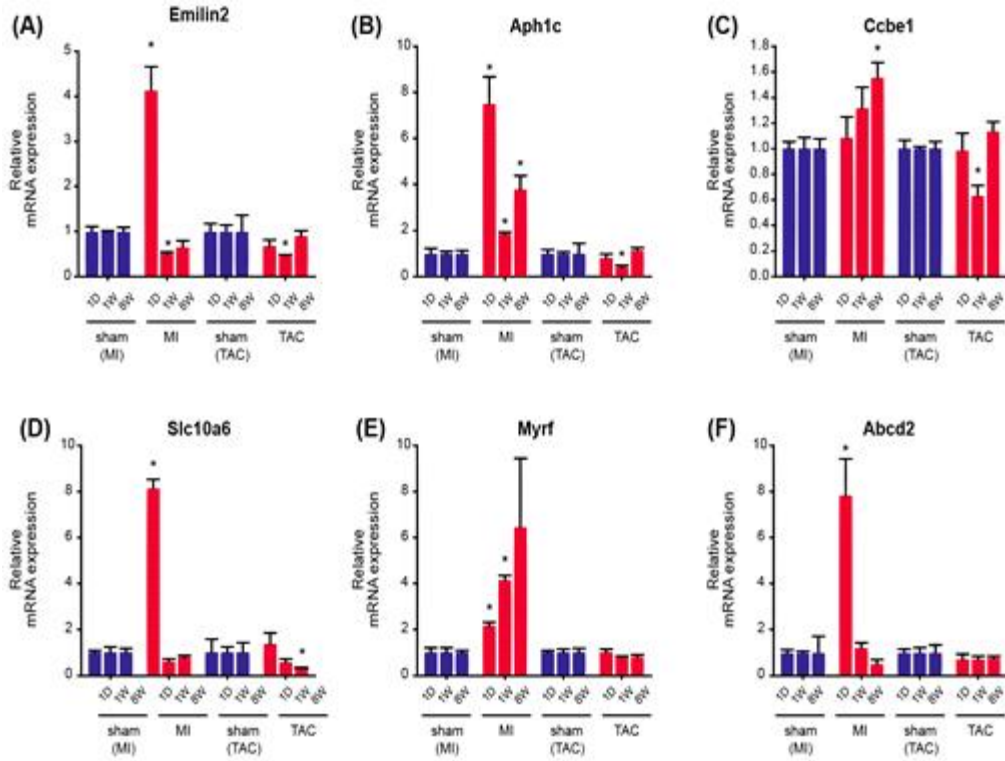


그림 12. 허혈성 심부전 이행과정에서는 발현이 유의하게 증가하지만, 비허혈성 심부전 이행과정에서는 발현이 감소하는 유전자에 대한 qRT-PCR 검증 결과

- 정상 심장에서는 발현이 억제되어 있으나 허혈성 심부전이 진행됨에 따라 급격한 발현 증가를 보이는 48개의 유전자 그룹을 발견하였으며 (그림 13), 이들 유전자에 대한 네트워크 분석 결과 leukocyte migration, adhesion of immune cells와 같은 면역반응과 아무 밀접한 관계에 있음을 확인함 (그림 14)

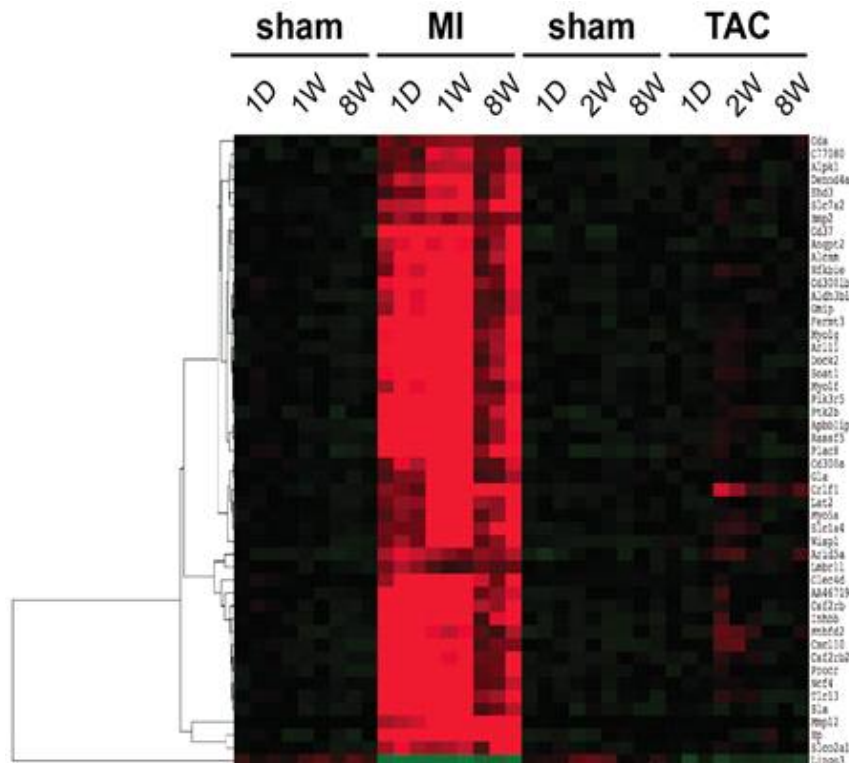


그림 13. 정상 심장에서는 발현이 억제(<1FPKM)되어 있다가 허혈성 심부전 진행과 동시에 급격한 발현증가(>2FPKM)를 보이는 유전자군. 비허혈성 심부전에서는 이러한 유전자들이 관찰되지 않음.

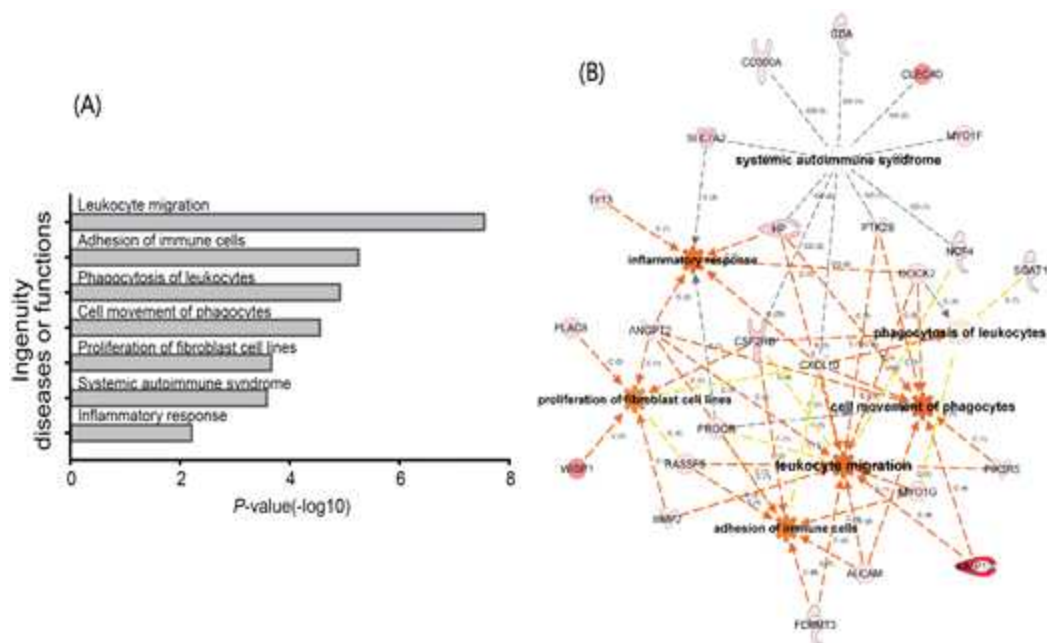


그림 14. 정상 심장에서 발현이 억제되어 있다가 허혈성 심부전 이행단계에서 특이적으로 활성화되는 유전자 네트워크 분석. (A-B) 질병/기능관련 유전자 세트 분석결과.

- 정상 심장에서 발현이 없다가 심부전 이행과정에서만 급격히 발현이 증가하는 유전자는 향후 심부전 바이오마커로 사용될 수 있는 가능성이 크므로, qRT-PCR 실험을 통해 검증을 수행함. (그림 15)

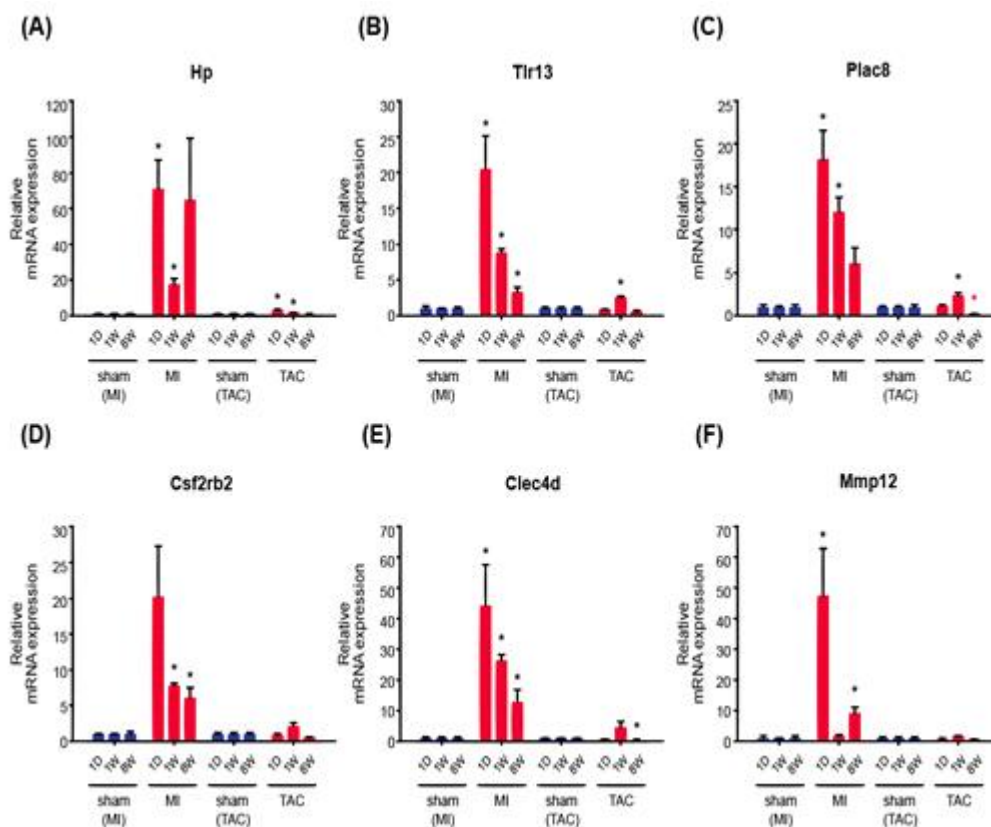


그림 15. 허혈성 심부전 이행단계에서 발현이 급증하는 유전자군에 대한 qRT-PCR 검증 결과. 정상 심장에서는 발현이 억제되어 있다가, 허혈성 심부전 이행과 동시에 적게는 20배, 많게는 100배 이상 급증함을 실험적으로 검증함.

- Gene ontology (GO) 및 KEGG pathway분석 결과 주로 Z disc, actin cytoskeleton에 속한 유전자 및 MAPK 신호전달에 관련된 유전자들이 허혈성 및 비허혈성 심부전 증기에서 반대패턴을 보이는 것으로 나타남

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 주요 microRNA 네트워크 규명

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 모델의 microRNA 동정

- 허혈성 및 비허혈성 심부전의 주요 microRNA를 분석하기 위해 small RNA 서열 분석 결과를 전체 genome에 맵핑하고 맵핑된 read 수를 세서 그룹 간에 비교하는 'Bowtie2-HTSeq-DESeq2' 파이프라인을 활용함. microRNA의 발현양은 PMMR(sequences per million mapped reads)로 normalization함.
- 심장에서 발현하는 (PMMR 2 이상) microRNA 중 심부전 이행단계(급성, 대상성, 만성)에서 적어도 하나 이상의 단계에서 유의미한 발현 변화 (>1.5 fold change, $p < 0.05$)를 보이는 차등발현 microRNA(differentially expressed microRNAs, DEmiRs)를 동정함.
- 허혈성 심부전에서는 총 449 종의 microRNA가 발현 변화를 보였고, 비허혈성 심부전에서는 160 종의 microRNA가 발현 변화를 보였음 (그림 16)

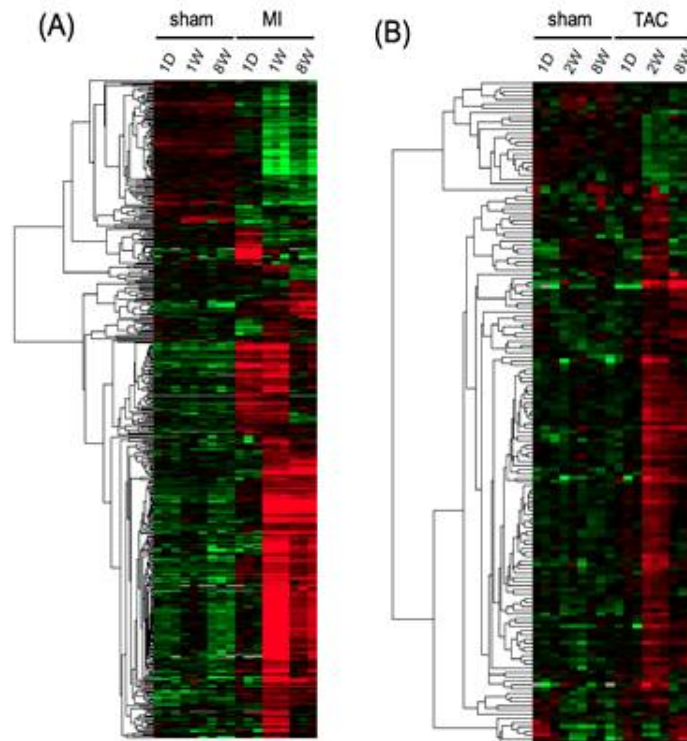


그림 16. 허혈성 (A) 및 비허혈성 (B) 심부전 이행단계에서 유의미한 발현변화를 보이는 DEmiRs에 대한 heatmap.

- 두가지 타입의 심부전 이행단계에서 발현변화 양상이 서로 반대패턴을 보이는 microRNA 7종을 동정하였고, 이들 DEmiRs는 DEG와 함께 향후 심부전 진단 바이오 마커로 활용될 가능성이 큼. (그림 17)

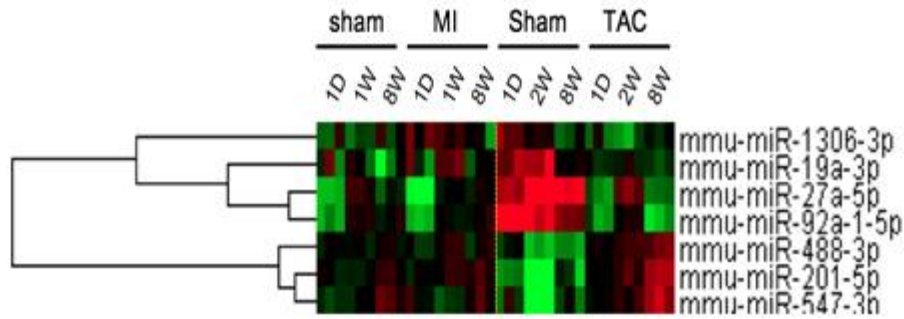


그림 17. 허혈성 및 비허혈성 심부전 이행과정에서 한 단계 이상에서 발현변화가 반대패턴을 보이는 7종의 DEmiRs에 대한 heatmap.

• 허혈성 및 비허혈성 특이적 microRNA-target네트워크 구축

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 이행단계에서 특이적으로 발현양이 완벽하게 음의 상관관계 (anti-correlation)를 보이는 microRNA와 target gene관계를 TargetScan을 이용하여 분석하였고, 이를 통해 심부전 타입 특이적 microRNA-target네트워크를 구축함. (그림 18)

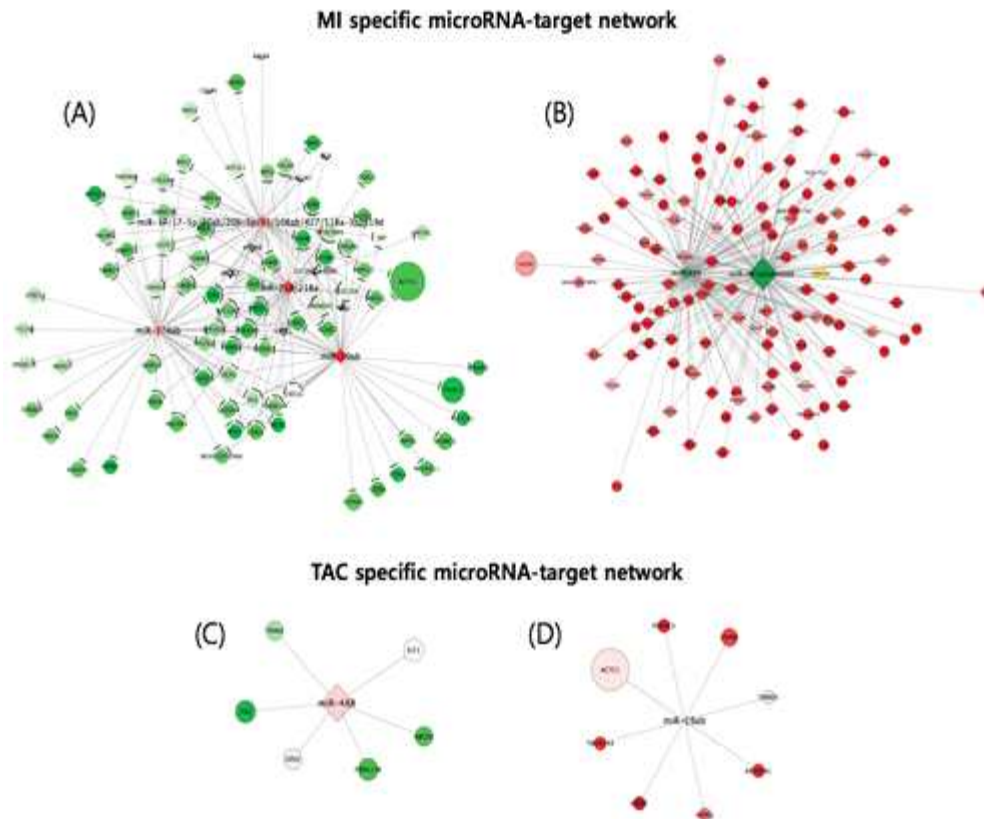


그림 18. 허혈성 (A-B) 및 비허혈성 (C-D) 심부전 특이적 miR-target 네트워크. 붉은색은 발현 증가를 초록색은 발현 감소를 나타내며, 노드 크기는 발현양 (PMMR 또는 FPKM)에 비례하고, 노드 색깔의 진하기는 발현변화 (fold change)에 비례함.

● 허혈성 및 비허혈성 심부전 주요 lncRNA 비교 분석

• 허혈성 및 비허혈성 심부전 모델의 lncRNA 동정

- 허혈성 및 비허혈성 만성 심부전의 주요 lncRNA를 동정하기 위해 NONCODE 4.0 데이터베이스로부터 gene transfer format (GTF)으로 된 lncRNA 정보를 확보하고 이를 참고하여 cufflinks 파이프라인 (tophat-cufflinks-cuffcompare-cuffdiff)을 수행

- 총 36개의 심부전 마우스 동물모델에서 심장에서 발현되는 (FPKM 2 이상) 2,888개의 lncRNA를 동정하고, 허혈성 및 비허혈성 심부전 이행과정에서 유의미한 발현 변화(>1.5 fold change, $p < 0.05$)를 보이는 lncRNA를 동정함
- 그 결과, 허혈성 심부전에서 2,327개, 비허혈성 심부전에서 374개의 lncRNA 발현 증감을 확인하였음

• 허혈성 및 비허혈성 만성 심부전 모델의 lncRNA 분석

- 허혈성 및 비허혈성 만성 심부전의 주요 lncRNA를 상호 비교한 결과 25종의 lncRNA가 심부전 이행과정에서 발현변화가 정반대 양상을 보임을 확인함. (그림 19)

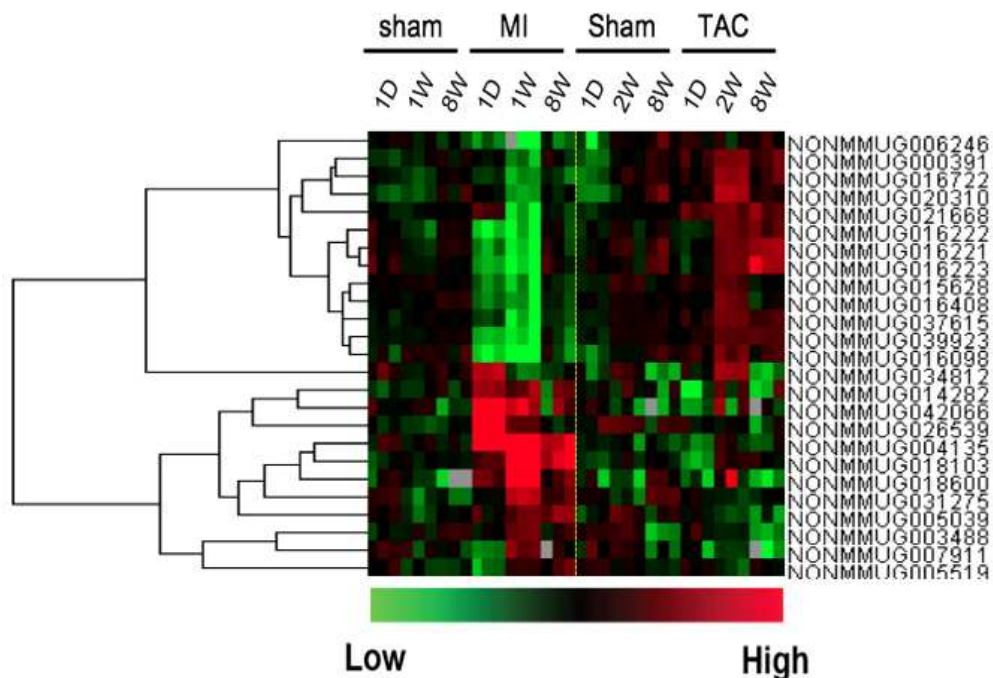


그림 19. 두가지 타입의 심부전 이행과정에서 정반대 발현변화를 보이는 25종의 lncRNAs.

- 정상심장에서는 발현이 억제(<1 FPKM)되어 있다가 허혈성 심부전 이행과정에서만 특이적으로 발현이 급등(>2 FPKM)하는 8종의 lncRNA를 발견하였고, 이 중 2종의 lncRNAs에 대해 qRT-PCR을 통해 검증함. (그림 20)
- 이들 lncRNA는 허혈성 심부전 진행과정에서 급등한 48종의 면역관련 유전자와 밀접한 기능적 상관관계가 있을 것으로 추정되며, 허혈성 심부전 이행과정에서 중요한 기능을 할 것으로 추측됨. 향후 허혈성 심부전 분자진단마커로 활용될 가능성이 큼

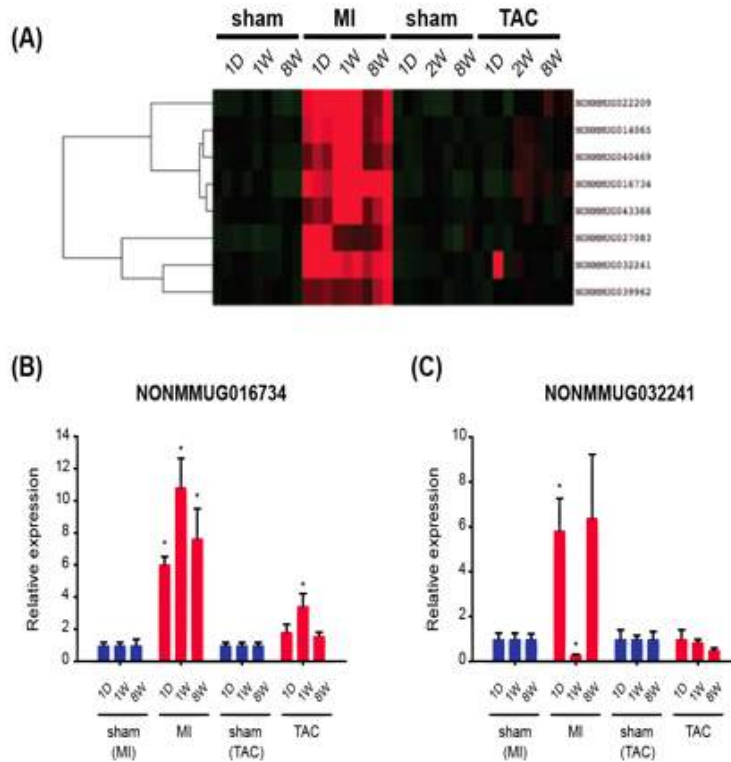


그림 20. 정상 심장에서 발현이 억제되어 있다가 허혈성 심부전 이행과정에서 특이적으로 활성화되는 8종의 lncRNA를 발견함. (A) 8종의 lncRNA 발현에 대한 heatmap. (B-C) 허혈성 심부전 특이적 lncRNA에 대한 qRT-PCR 검증 결과.

• 심부전 이행단계별 핵심 miR-target 네트워크 발굴

- 심부전 동물모델에 대한 miRome 분석결과, 심장에서 동정된 전체 624개 microRNA (miRNA) 중 발현양 기준 상위 20개의 miRNA가 전체 발현양의 약 85%를, 상위 50개 miRNA가 전체 miRNA 발현양의 약 96%를 차지할 정도로 mRNA와 달리 소수의 miRNA가 매우 큰 비중을 차지함.
- iRNA는 noncoding RNA로 그 자체로는 기능이 없으므로 반드시 심부전 이행과정에서 타겟 유전자들의 발현변화 및 기능을 동시에 분석하여야 심부전에서 miRNA의 기능을 정확하게 예측/이해할 수 있음. 본 연구에서는 심부전 이행과정에서 차등발현하는 발현양 기준 상위 50개의 miRNA를 대상으로 심부전 이행 각 단계에서 anti-coexpression을 타겟을 prediction하여 miR-target network를 도출함. 이때 false positive rate을 줄이기 위하여 타겟의 심장 조직 발현여부 ($\geq 2\text{FPKM}$) 및 miRNA가 타겟 유전자의 3' UTR에 binding시 영향을 미치는 context score percentile (CSP)을 적용하여 보다 정확도 높은 네트워크를 도출함 (그림 21A)
- 허혈성 심부전 이행단계별 miR-target 네트워크 분석 결과, 심혈관 질환과 관련하여 기보고된 miR-1, miR-21, miR-15, miR-199, miR-26 family 등 주요 miRNA를 포함하여, 심부전 주요 유전자들을 멀티타게팅 하는 총 17종의 miRNA family를 발굴함. (그림 21B) 특히, miR-30-5p/384-5p family와 miR-142a-5p family는 심장에서 발현양이 매우 높고 허혈성 심부전 진행 전 과정에서 차등발현하며 심부전과정에서 anti-coexpression을 보이는 수백개의 타겟을 조절하는 것으로 예측되는데, 이러한 타겟들이 심부전에서 변화하는 immune response, fibrosis, apoptosis, lipid metabolism과 통계적으로 유의하게 연관되어 있기 때문에 향후 심부전 치료제로 개발될 잠재적 가치가 클 것으로 예상됨.

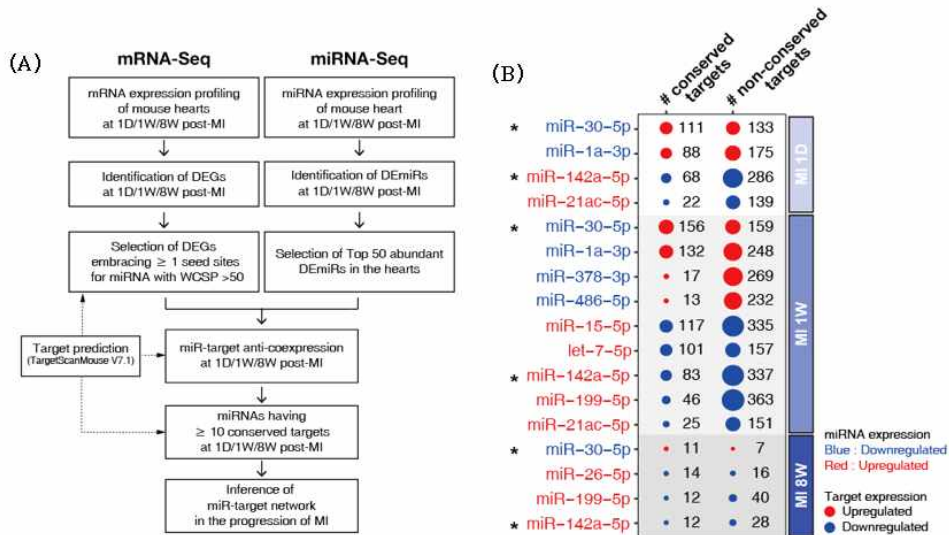


그림 21. 허혈성 심부전 이행단계별 (초기, 중기, 말기) 핵심 miR-target 네트워크 발굴. (A) 심부전 이행과정에서 anti-coexpression을 보이는 상위 50개 miRNA와 그들의 타겟유전자를 대상으로 miR-target network를 분석. (B) 허혈성 심부전 초기, 중기, 말기에서 차등발현하는 DEmiR 및 각 단계에서 anti-coexpression을 보이는 miRNA 타겟 유전자 개수

- miRNA에 의한 조절가능성을 분석한 결과 miR-30-5p/384-5p와 miR-1a-3p/206-3p가 이러한 면역관련 유전자들을 가장 많이 멀티 타게팅하고 있음을 밝혀냄. (그림 22)

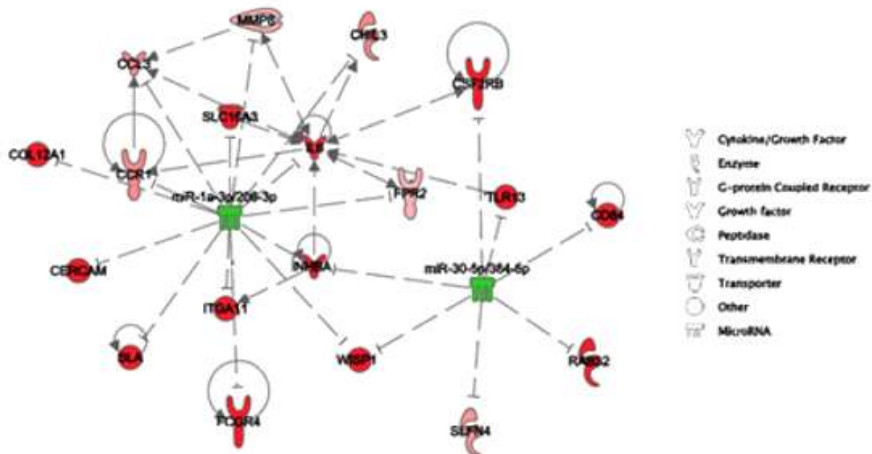


그림 22. 정상심장에서는 발현이 없지만 허혈성 심부전에서 급등하는 유전자들을 특이적으로 멀티 타게팅하는 2종의 miRNA family

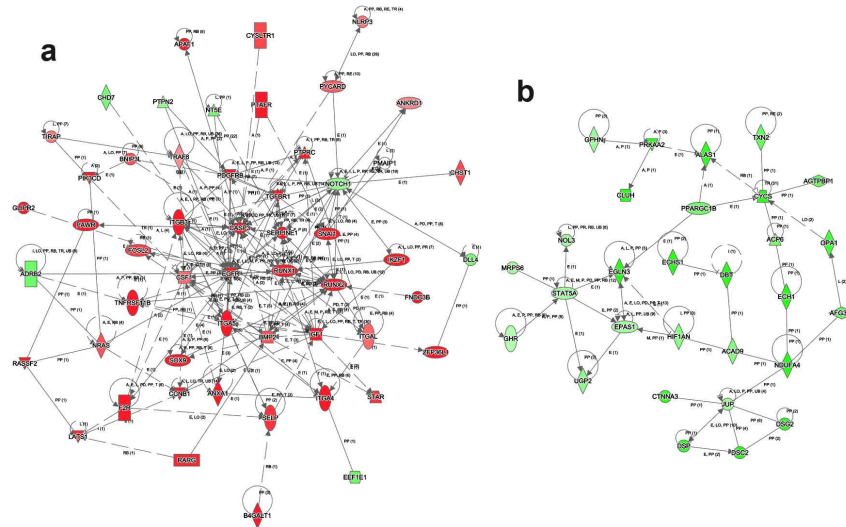


그림 23. miR-30-5p/384-5p family (a)와 miR-142a-5p family (b)의 타겟 네트워크. 붉은색은 MI 증기에서 발현양이 증가, 초록색은 감소를 나타냄.

- 허혈성 심부전 전 과정에서 수백여 개의 타겟을 조절하는 것으로 예측된 miR-30-5p /384-5p family (a)와 miR-142a-5p family (b)의 타겟 네트워크를 발굴 (그림 23)
- NRVMs을 이용한 *in vitro* ischemic heart failure 모델을 통해, 심장에서 발현량이 높고 심부전 진행 전 과정에서 차등발현하는 miR-30-5p family와 miR-142a-5p의 기능과 새로운 target network를 발굴. (그림 24)

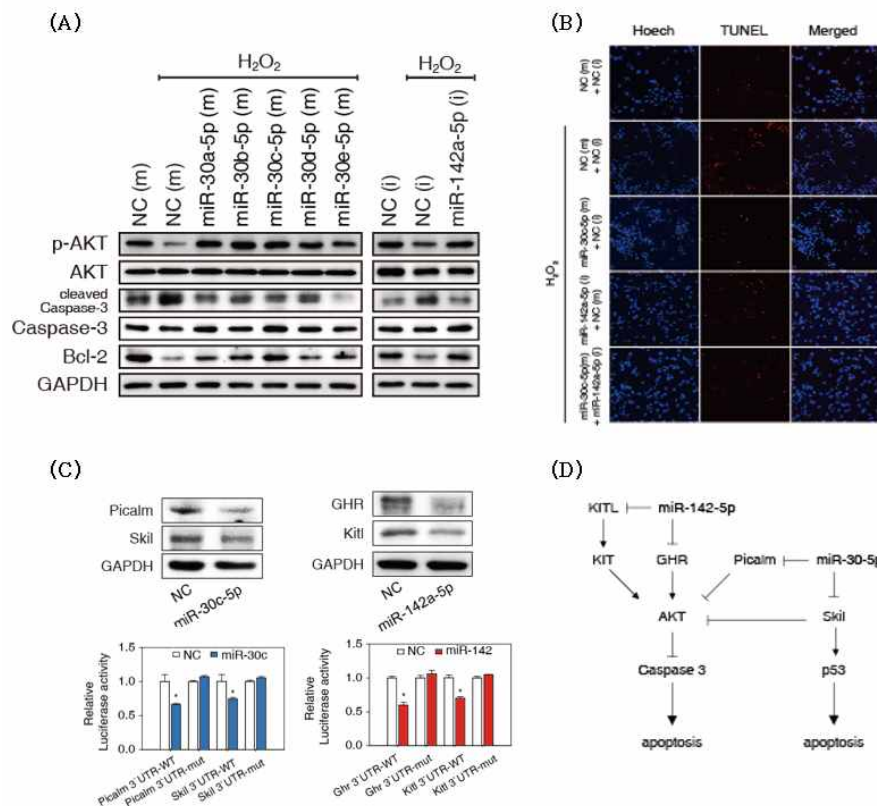


그림 24. NRVM을 이용한 *in vitro* ischemic heart failure 모델에서 miR-30-5p family와 miR-142a-5p inhibitor가 세포사멸을 억제하는 새로운 target network를 발굴함

- 비허혈성 심부전의 경우 중기에서 심장 발현양 기준 상위 50개의 miRNA 중 4개의 miRNA family가 수십여 개의 타겟 유전자를 조절하는 것으로 예측되었는데, cardiac hypertrophy 및 cardiac fibrosis와 연관된 것으로 보고된 바 있는 miR-29, miR-27, miR-30가 정확하게 예측되었고, 특히 신규 miRNA인 miR-149-5p는 기보고된 miR-29나 miR-30보다도 많은 타겟 유전자를 가지고 있어 비허혈성 심부전을 조절할 가능성이 클 것으로 예측됨. (그림 24)

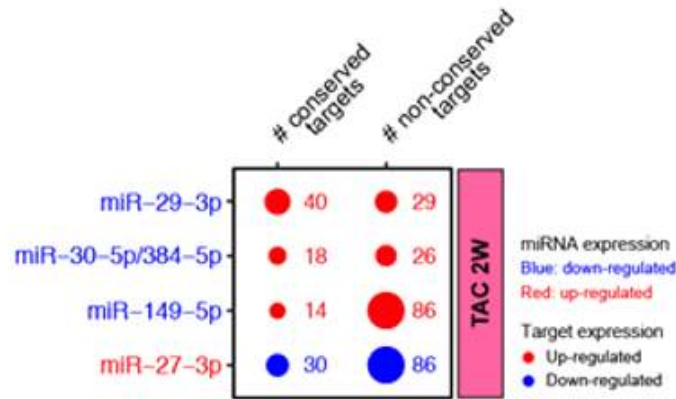


그림 25. 비허혈성 심부전 중기에서 발현양이 감소하는 miRNA와 anti-coexpression을 보이는 타겟유전자 수. 감소하는 miRNA family중에서는 기존에 보고된 바 없는 miR-149-5p가 가장 많은 유전자를 타게팅하고 있음을 알 수 있음.

- 정상 심장에서는 발현이 없다가 ($\leq 1\text{FPKM}$) 비허혈성 심부전에서 발현이 급등하는 ($\geq 10\text{FPKM}$) 유전자 81종을 동정하고, 이중 9종의 유전자의 발현을 qRT-PCR로 검증함. 그 결과 이들 유전자들이 허혈성 심부전 과정에서 적게는 10-30배, 많게는 100배에 이르는 발현변화를 보이는 것을 확인함. (그림 25)
- 본 연구결과 심부전 치료제로써 miR-30 family가 큰 잠재력을 가진 후보물질로 판단

● 심부전 환자 대상 circulating noncodingRNA 프로파일링

• 만성 심부전 환자의 혈액 채취

- 심부전환자 정보의 데이터베이스 구축 및 circulating ncRNA 프로파일링을 위하여 심부전환자 (STEMI, NSTEMI)와 성별 및 나이를 매치시킨 대조군의 혈액 및 환자정보를 확보함 (표 1)
- 심부전환자그룹과 매치되는 정상인그룹의 혈액의 확보에 어려움이 있어, 불안정협심증 (Unstable Angina Pectoris, UAP)환자를 심부전 대조군으로 삼음.

	STEMI_1	STEMI_2	STEMI_3	NSTEMI_2	NSTEMI_3	NSTEMI_4	UAP2	UAP3	UAP4	UAP5
age	77	79	76	76	55	74	68	73	70	82
Sex	M	F	M	F	M	F	F	M	F	M
EF (%)	28.4	45.6	34	22.1	30	40.4	62.1	73.38	68.23	75.2
Height (cm)	178	149	173	155	167.3	148	152	167.9	152	178.2
Weight (kg)	62.9	37.2	63.4	50	54.5	49	57.6	74.2	48.6	68.3
WBC (103/mm2)	9.7	19.3	5.9	12.8	10.3	2.6	6.8	10.6	7.3	5.5
RBC (103/mm2)	3890	4170	4060	4210	5010	3480	3860	4360	4250	4700
Hgb (g/dl)	11.5	7.2	12.6	13.3	14.6	7.1	12.3	13.3	12.7	14.2
Hct (%)	34.4	26.6	39.5	38.1	42.3	23.7	37.3	39.8	36.4	41
MCV (fL)	88.4	63.8	94.8	90.5	84.4	68.1	96.6	91.3	85.6	87.2
MCH (pg)	29.6	17.3	31	31.6	29.1	20.4	31.9	30.5	29.9	30.2
MCHC (g/dl)	33.4	27.1	32.7	34.9	34.5	30	33	33.4	34.9	34.6
PLT (103/mm2)	466	719	164	152	301	257	334	332	222	179
PDW (%)	13.6	9.6	14.6	14.3	13.2	14.4	107	10.8	9.9	12
PCT (%)	0.23	0.63	0.16	0.17	0.33	0.28	0.37	0.3	0.2	0.18
MPV (fL)	9.7	8.8	9.7	11.5	11	11	10.8	9.5	9	9.9
RDW (%)	13.6	22.9	14.6	14.3	13.3	22.1	13.9	12.6	12.6	13.9
Lymphocyte (%)	19.4	6.7	29.6	7.1	8.7	7.4	44.8	23.5	39.3	28.1
Monocytes (%)	9.8	6.2	11.9	5.8	3.3	14	6.1	9.4	7.4	11.6
Neutrophil (%)	69.4	86.3	57	87	87.6	78.6	46.5	62.2	52	54.5
Eosinophil (%)	1	0.5	1.2	0	0.1	0	2.5	4.6	1	5.4
Basophil (%)	0.4	0.3	0.3	0.1	0.3	0	0.1	0.3	0.3	0.4
CRP mg/dl	<0.6	<0.6	<0.6	7.2	1.3	1.9	<0.5	0.7	<0.5	<0.5
AP (U/L)	54	94	66	116	95	357	85	65	74	95
AST (U/L)	35	34	51	202	31	520	19	17	20	27
ALT (U/L)	20	21	23	105	48	82	20	14	13	11
BUN (mg/dl)	12.1	12.8	22.8	33.8	12.3	21	29.1	22	13.4	224
Creatinine (mg/dl)	1.24	0.8	1.08	1.65	0.83	0.87	0.7	1.2	0.9	1
MDRD (eGFR)	56.529	69.192	66.476	32.245	96.19	63.648	82.215	59.348	61.206	70.683
CKD-EPI (eGFR)	55.724	70.121	66.318	29.847	99.056	65.623	89.026	59.63	62.988	67.373
Glucose (mg/dl)	217	453	119	219	121	127	149	127	87	124
Total protein (g/dl)	6	7.5	6	5.9	6.3	6.6	7.4	7	7.5	7.3
Albumin (g/dl)	3	3.6	3.3	2.8	3.4	3	4.3	3.8	3.9	3.7
Total Bilirubin (mg/dl)	0.91	0.46	0.59	0.66	0.92	0.97	0.94	0.81	0.79	0.63
CK (U/L)	138	182	911	69	442	2913	109	100	69	164
Troponin-I (cTn)	0.574		0.143	0.191	1.56	62.5	0.01	0.01	0.01	0.01
HS Troponin T (mg/dL)	0.1	0.226	0.057			3.96	<0.010			
proBNP (pg/mL)		3462		>35000	4016				154.5	1147

표 1. 심부전 환자와 대조군에 대한 clinical characteristics

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 동물모델의 대용량 전사체 생산 및 분석

- 만성 심부전 모델의 전사체 생산

- 만성 심부전 환자의 circulating RNAs를 분석하기 위해 환자 혈액으로부터 exosomal RNA를 추출한 후 2100 Bioanalyze를 이용하여 RNA quality를 측정함
- 최종 선정된 만성심부전 환자의 exosomal RNA를 대상으로 Affymetrix miRNA 4.0 Human array를 이용하여 총 10개의 샘플을 대상으로 대용량 전사체를 생산
- 총 41423개의 probe set 중 36249개 probe의 발현을 확인함.

- 심부전 환자 그룹 내의 전사체 유사성 분석

- 각 심부전 환자 그룹 내의 환자 사이의 전사체 유사성을 검토하기 위해 각 유전자 별 발현 정도를 Normalization 후 Correlation coefficient(R)를 산출함. 심부전환자 그룹은 0.75~0.79에 이르는 높은 유사성이 보임. 대조군은 R값이 0.78~0.82에 분포하며 환자간 높은 유사성을 보이는 것으로 나타남. (그림 26)

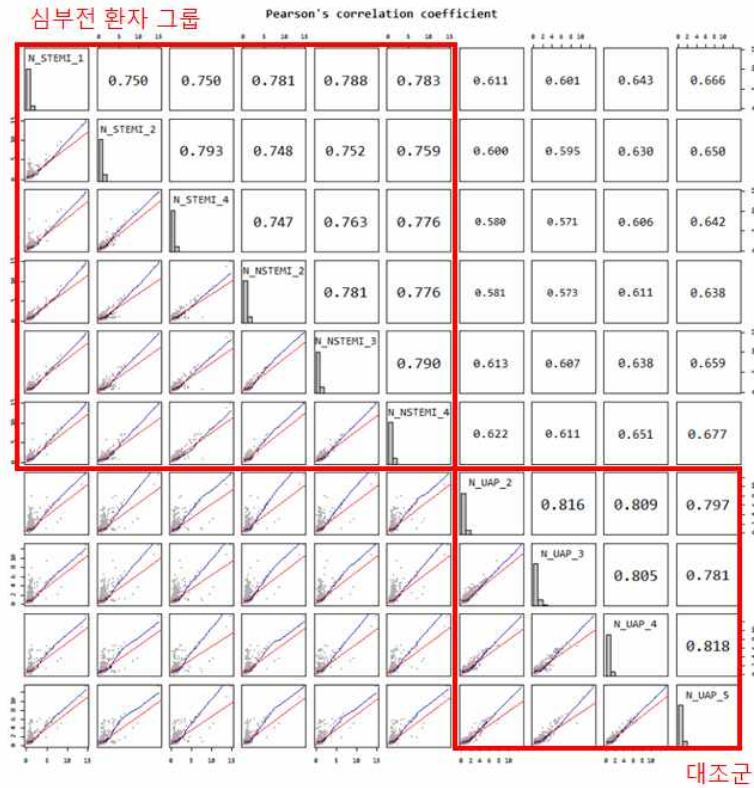


그림 26. 심부전 환자 그룹과 대조군 그룹의 그룹 내 샘플관 높은 유사성을 보임.

- Principal Component Analysis (PCA) 분석 결과 심부전 환자의 circulating miRNA의 발현은 대조군인 UAP와 뚜렷한 차이를 보임. (그림 27)

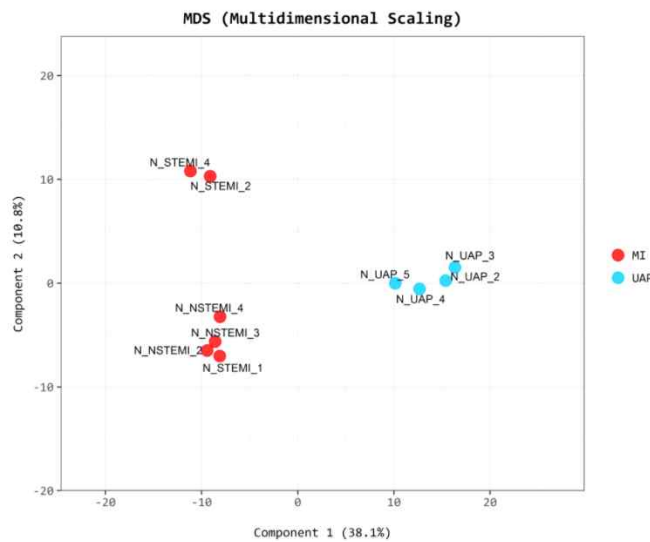


그림 27. 심부전 환자 circulating miRNA에 대한 PCA 분석 결과.

- 심부전 환자 그룹에서 차등발현하는 circulating miRNA 분석
 - Volume plot으로 circulating miRNA를 분석했을 때, 심부전 환자그룹에서 miRNA 발현의 감소가 많았으며, hsa-miR-4487, hsa-miR-4787-5p, hsa-miR-6089, hsa-miR-3960, hsa-miR-3665의 signal 강도 (volume)이 강함. (그림 28A)

- 심부전 환자에서 차등발현되는 circulating miRNA 53개 (증가 1개, 감소 52개)를 발굴함. (그림 28 B,C)
- 심부전 환자 혈액에서 차등발현된 Human-Mouse conserved miRNA miR-486a-5p, miR-92a-3p, miR-320-5p, miR-210-5p, miR-30c-1-3p, miR-16-5p, miR-204-5p, let-7g-5p, miR-198-3p, miR-382-5p, miR-374c-3p, miR-762, miR-149-3p, miR-3960을 발굴. (그림 28 D)

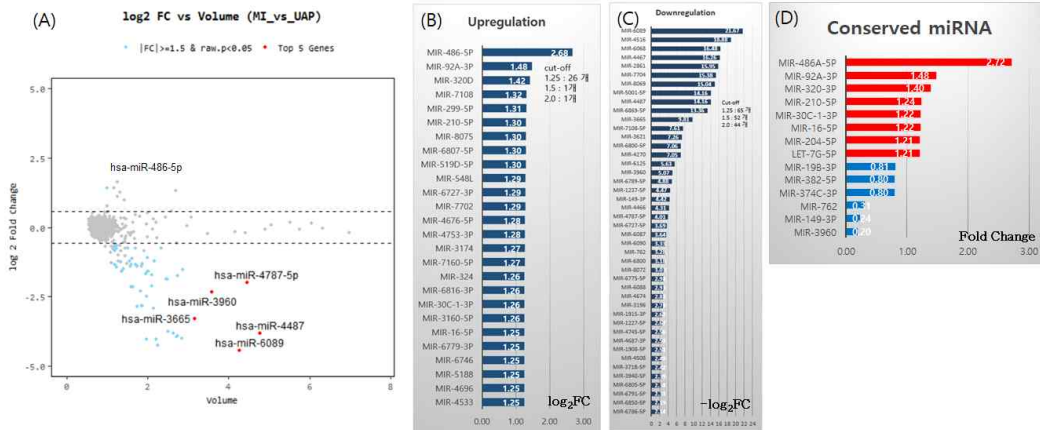


그림 28. 심부전 환자에서 차등발현하는 circulating miRNA. (A) Volume plot. (B) Upregulated DEmiR (C) Downregulated DEmiR (D) Human-Mouse conserved DEmiR

- 발굴한 miRNA가 심부전 환자의 혈액에서 바이오마커로 사용될 가능성 확인.

● 다층적 대용량 데이터 유지 관리를 위한 데이터베이스 구축

• 데이터베이스 구축

- 허혈성 및 비허혈성 심부전의 high-throughput 시계열(time-series) 전사체 데이터를 분석,유지,관리하기 위한 데이터베이스 구축 (그림 29)
- 연구자 간 상이한 대용량데이터를 상호 분석하기 위한 KcPAVS를 개발하여 데이터를 공유, 분석할 수 있는 시스템 구축
- <http://www.kcpavs.cidms.org>

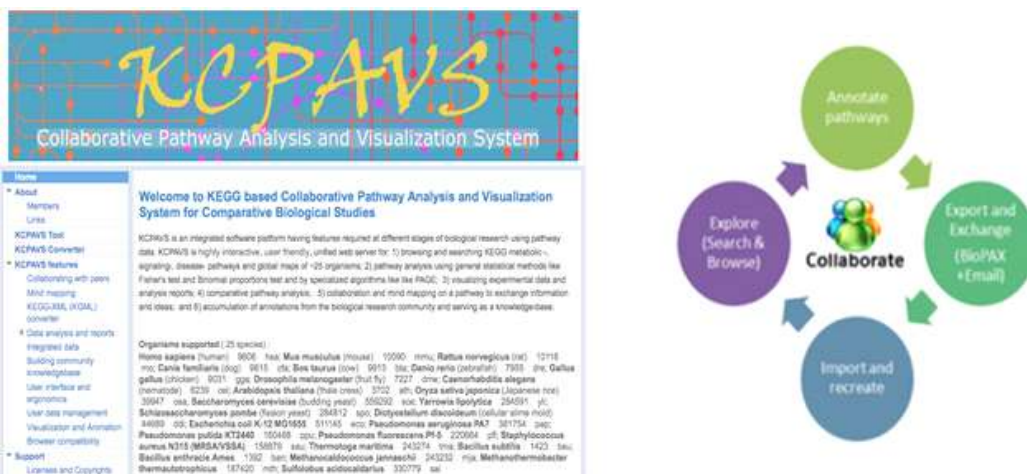


그림 29. KcPAVS 홈페이지. 연구자 간 공동연구를 뒷받침하는 플랫폼

- 대용량데이터 상호분석 툴, KcPAVS

- 업로드된 대용량 데이터를 상호간 비교 분석하는 한편 KEGG 기반 pathway를 분석하는 툴
- 직관적이고 사용자 친화적인 인터페이스 구현
- 그림 30 같이 사용자의 데이터를 이용하여 pathway를 분석하고 annotation함

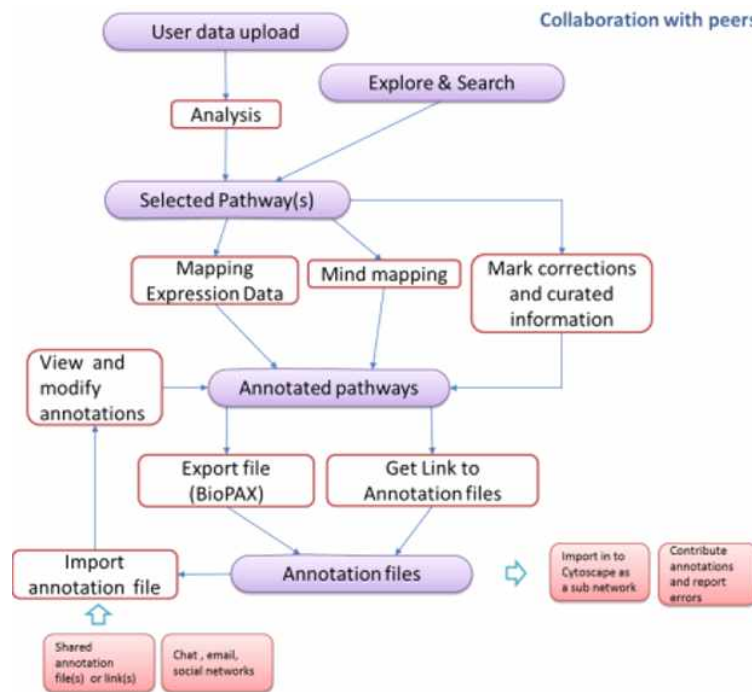


그림 30. 데이터베이스 상호 분석 모식도

- 상호분석에 의해 제시된 pathway의 표준화

- 연구자 간 상호분석에 의해 새롭게 제시된 KcPAVS pathway를 SBML, CellDesigner, BioPAX, XGMML, SIF 등의 파일 포맷으로 표준화가능. (그림 31 그림 32)

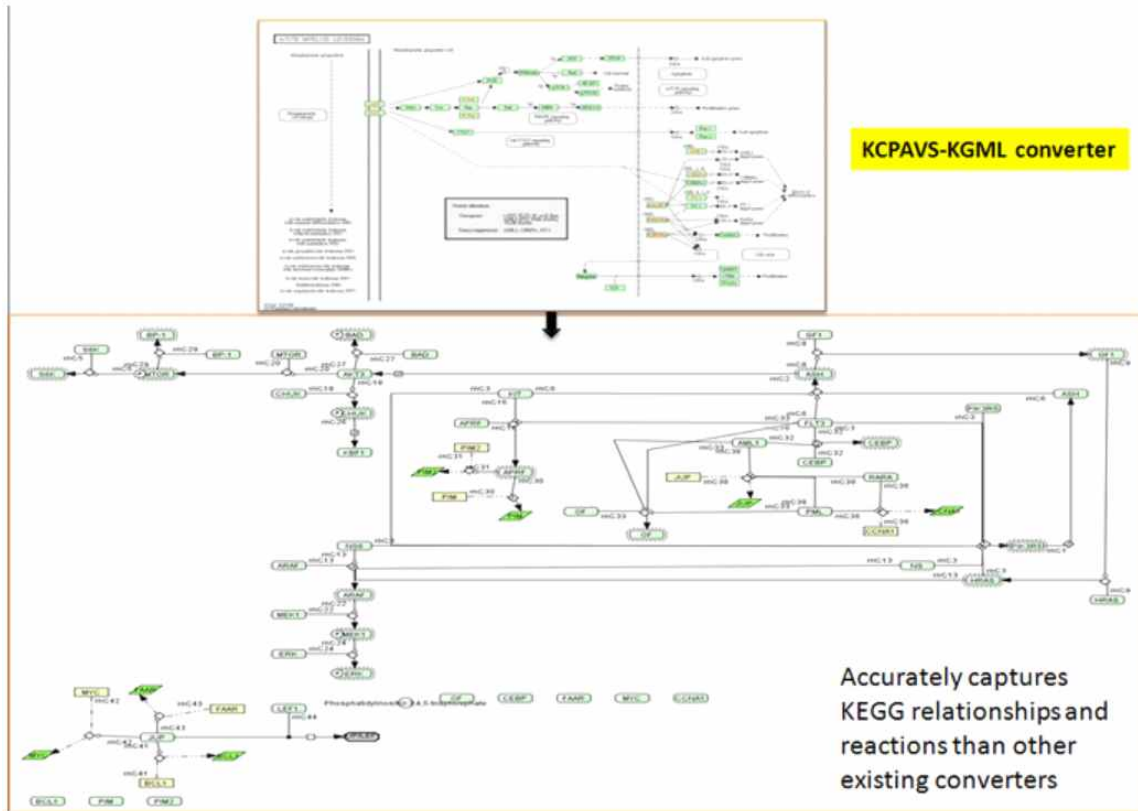


그림 31. KcPAVS KGML/KEGG-XML converter를 이용해 KGML 포맷(hsa0522)을 변환함. 변환된 도표는 KEGG pathway 원본과 의미상 동일함. KcPAVS-KEGG converter는 성공적으로 pathway 상의 여러 정보들을 추출하고 변환할 수 있음.

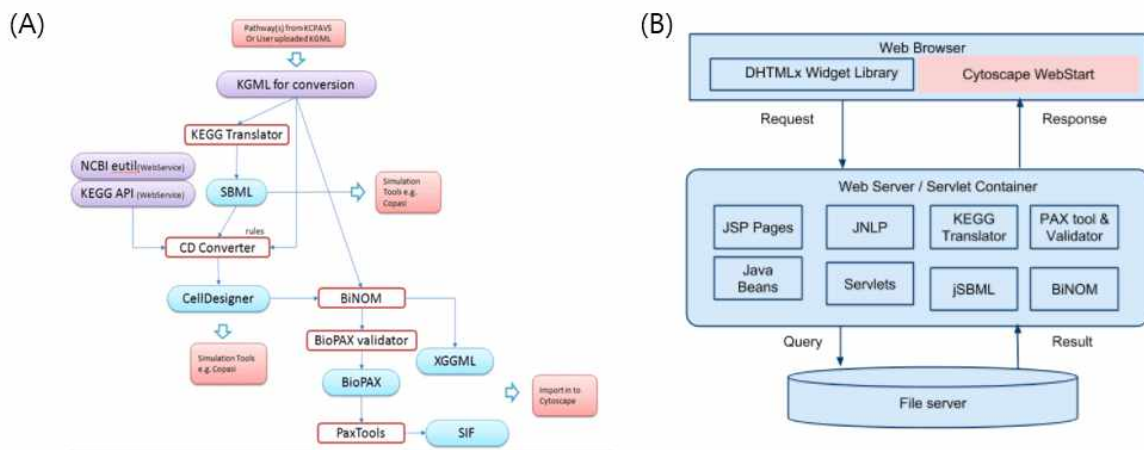


그림 32 KcPAVS KEGG-XML Converter의 모식도

• 대용량데이터를 이용한 주요 pathway 동정

- 사용자가 업로드한 대용량데이터를 분석, 가공하여 주요 pathway를 동정하는 한편 사용자 친화적인 시각화 제공
- 다양한 대용량데이터 분석 결과를 상호간 비교 분석하여 데이터 간 공통 또는 상이한 pathway 분석 (그림 33)
- 연구자들의 의견을 효율적으로 교환하고 데이터를 공유할 수 있는 모듈 개발 (그림 34)

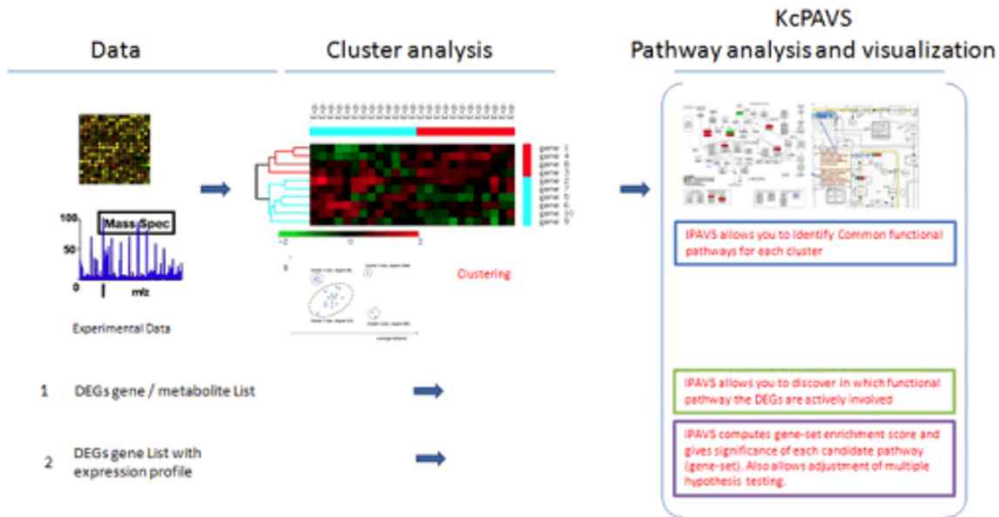


그림 33. 대용량데이터를 업로드하여 주요 pathway를 산출하고 유전자들간의 clustering을 분석함

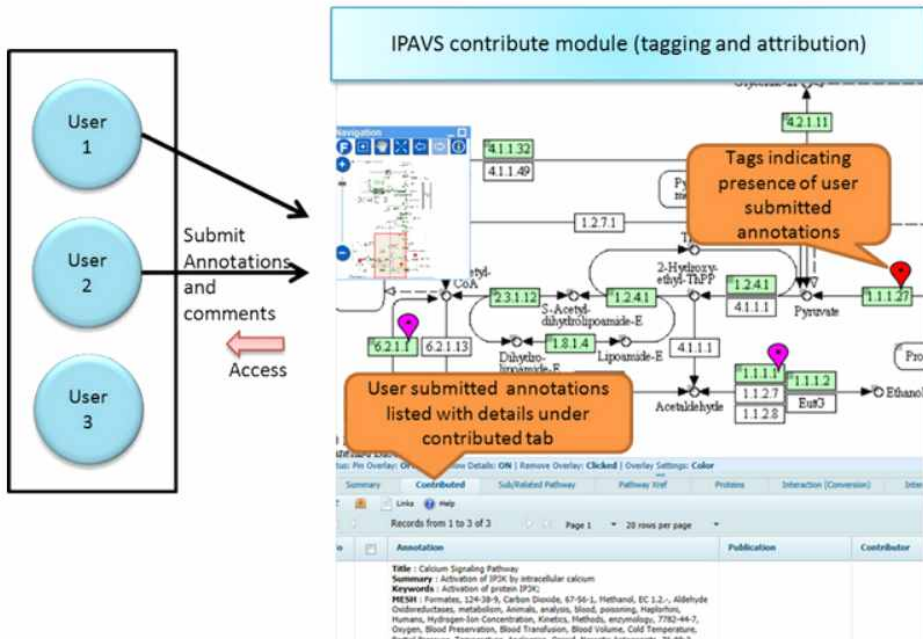


그림 34. 연구자들 간의 공동연구에서 데이터를 공유하여 분석하는 모듈 개발

• 구축된 데이터베이스에 대용량 데이터 업로드

- 허혈성 및 비허혈성 심부전의 이행 단계에 따른 대용량 시계열 RNA-seq 데이터를 상호 분석용 데이터베이스 KcPAVS에 업로드하고 시각화함 (그림 35)

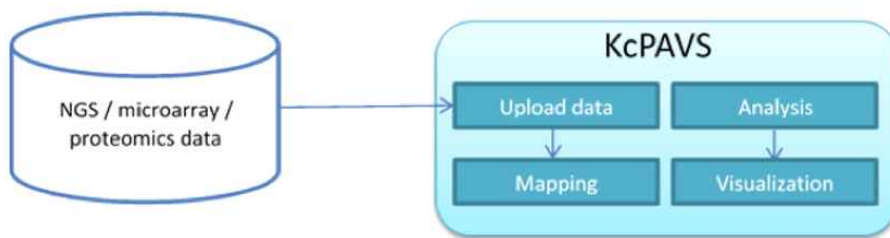


그림 35. high-throughput 시계열 데이터 분석을 위한 KcPACS 데이터베이스

- 여러 시점 또는 여러 질병의 오믹스 시계열 데이터를 한눈에 펼쳐볼 수 있는 오버레이 (Overlay) 또는 다양한 그래프와 히트맵(heat map)으로 시각화하고, 여러 오믹스 시계열 데이터를 교차하여 보여줄 수 있는 애니메이션 설정 기능을 개발함 (그림 36)

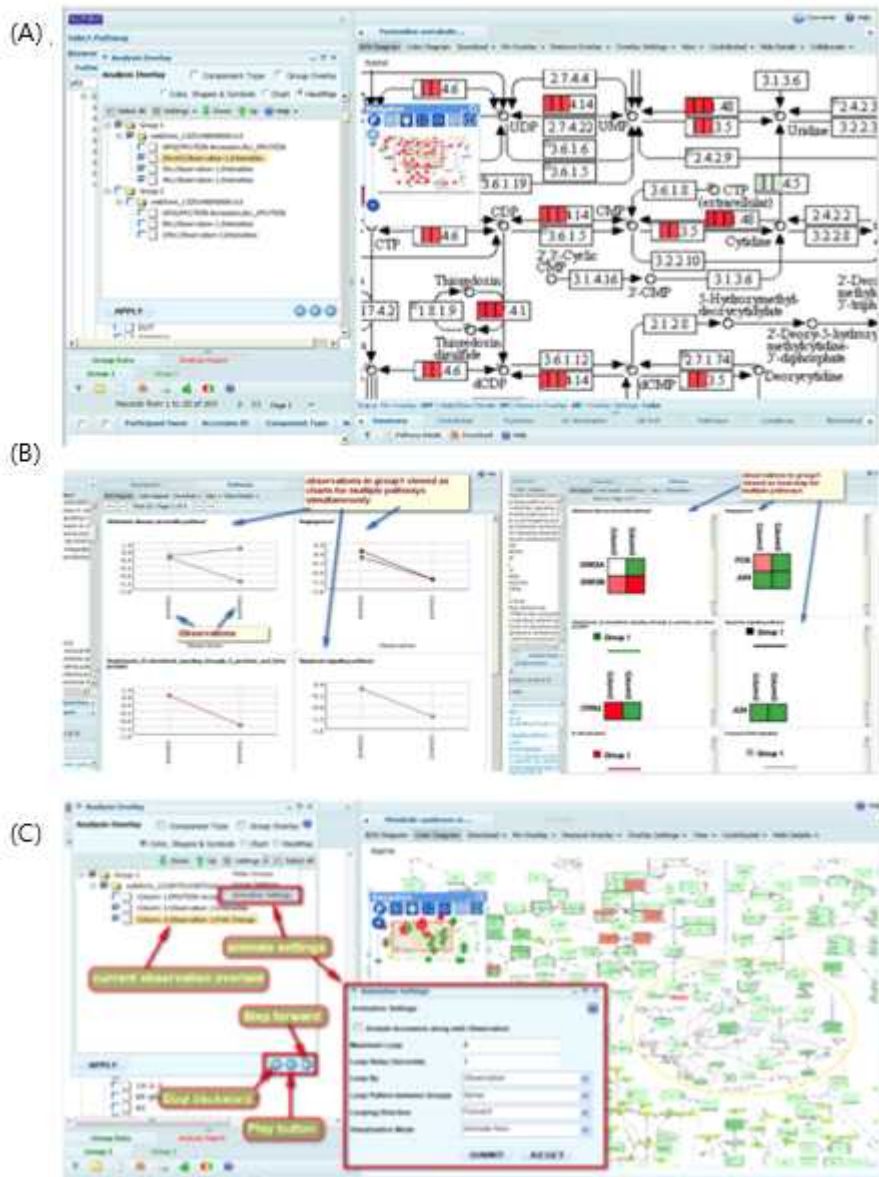


그림 36. (A) 총 세 개의 시점(초기,중기,말기)으로 구성된 심부전 전사체 데이터를 동시에 대사 네트워크 맵에 입힌 오버레이의 예 (B) 심부전의 여러 이행단계 데이터를 그래프와 히트맵으로 시각화하는 툴 (C) 시계열 데이터를 입힌 네트워크를 차례대로 보여주는 애니메이션 기능

- 다른 databases들과 비교한 KCPAVS의 장점

- 다른 데이터베이스들에 비해 많은 Data, 분석방법, 시각화, 연구 그룹간 공유방법을 제공함. (그림 37, 그림 38, 그림 39, 그림 40)

Data		KEGG Atlas	GLAMM	iPATH2.0	Pathway Projector	PathCase3.0	MetExplore	Gazer	MBRole	KOBAS	R spider	KEGG Converter	KEGG Translator	Payao	SBMMA	NemaPath	KcPAVS
Web server category		V*A				A*V				DFC	CCC			A+			
1	Metabolic global maps											?		-	-		
2	Metabolic pathways													-	-		
3	Signaling, process, organismal, disease pathways													-	-		
4	Access to integrated annotation data (e.g. uniprot, enzyme, compound and drug)													-	-		
5	Integrated pathway data													-	-		
6	Orthology pathways and maps (KO, EC)													-	-		
7	Multiple organism								-					-	-		
8	Integrated with Gene Ontology													-	-		
9	Links to external database												-	-			
10	Integration of identifiers from several sources (PIR, Uniprot, IPI, KEGG)												-	-	-	-	

V*A = Mainly for visualization and pathway exploration with support to analysis

A*V = Mainly for Gene list analysis supported with visualization

DFC = Data Format Converters

CCC = Collaboration and Community Contribution

A+ = All of the above + additional features

Darker shades indicate advanced /satisfactory implementation than the one in lighter shade

? = unknown

E = via external application

- = Does not apply

그림 37. Database에서 사용되는 Data 종류. KcPAVS에서 가장 많은 Data를 분석할 수 있음

Pathway Analysis		KEGG Atlas	GLAMM	iPATH2.0	Pathway Projector	PathCase3.0	MetExplore	Gazer	MBRole	KOBAS	R spider	KcPAVS
Web server category		V*A				A*V					A+	
1	Over representation analysis (ORA) algorithms - Fisher's exact test and Binomial proportions		Dark		Dark		Dark		Dark		Dark	Dark
2	Gene set enrichment analysis algorithms (e.g. GSEA, PAGE, GAGE)						Dark					Dark
3	Topology or network based algorithms										Dark	
4	Supported with visualization	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Dark
5	Includes integrated data from several data sources						Dark		Dark		Dark	
6	Gene ontology based analysis					Dark				Dark		
7	Compare two different analysis results using tables and charts											Dark
8	Includes collection of experimental data	Dark										Dark
9	Microarray data	Dark			Dark		Dark			Dark		Dark
10	Proteome data	Dark			Dark		Dark			Dark		Dark
11	Metabolome data					Dark		Dark	Dark			Dark
12	Multiple condition / time series data				Dark							Dark
13	Categorical selection of pathways while analysis											Dark
14	Comparative (organism, conditions) pathway analysis	Dark	Light	Light							Dark	Light

V*A = Mainly for visualization and pathway exploration with support to analysis

A*V = Mainly for Gene list analysis supported with visualization

DFC = Data Format Converters

CCC = Collaboration and Community Contribution

A+ = All of the above + additional features

Darker shades indicate advanced /satisfactory implementation than the one in lighter shade

그림 38. Database에서 사용되는 Pathway analysis. KcPAVS에서 가장 다양한 분석 진행 가능

Pathway Visualization, animation and mind mapping		KEGG Atlas	GLAMM	iPATH2.0	Pathway Projector	PathCase3.0	MetExplore	Gazer	MBRole	KOBAS	R spider	KEGG Converter	KEGG Translator	Payao	SBMMA	KcPAVS	KEGG Anim
Web server category		V*A				A*V				DFC	CCC	A+					
1	Visually mark the components by clicking on the browser or clicking on the map (simultaneously mark all alias)																
2	Overlay symbols + (symbol library of biological concepts)																
3	Overlay isomers as multi boxes																
4	Overlay data on single pathway / simultaneously on multiple pathways																
5	Customize visualization properties at individual observation and/or group level																
6	Animate overlay data																
7	Adjust animation setting and manually control animation																
8	Export animation as multiple frames																
9	Dynamic generation of network or maps																

Analysis result visualization		KEGG Atlas	GLAMM	iPATH2.0	Pathway Projector	PathCase3.0	MetExplore	Gazer	MBRole	KOBAS	R spider	KcPAVS
Web server category		V*A				A*V				A+		
1	Overlay analysis results on pathway											
2	Overlay charts on pathway (ideal for multiple conditions, time series data)											
3	Overlay heat map on pathway(ideal for multiple conditions, time series data)											
4	Use symbol, shape, color in overlay. Customize them to the context											
5	Visualize analysis results as charts and heat map											
6	Customize the content of the charts dynamically											
7	Compare two different analysis results using tables and charts											
8	Store analysis results in user session and retrieve for later reference and comparison											

V*A = Mainly for visualization and pathway exploration with support to analysis

A*V = Mainly for Gene list analysis supported with visualization

DFC = Data Format Converters

CCC = Collaboration and Community Contribution

A+ = All of the above + additional features

Darker shades indicate advanced /satisfactory implementation than the one in lighter shade

E = via external application

그림 39. Database에서 사용되는 데이터시각화 방식. KcPAVS는 다양한 시각화 방식 제공

Collaboration		KEGG Atlas	GLAMM	iPATH2.0	Pathway Projector	PathCase3.0	Payao	SBMMA	KcPAVS
	Web server category	V*A					CCC	A+	
1	Annotate with text, drawings, predefined symbols, charts, images								
2	Implements hierarchical commenting								
3	Store citation details (retrieved from PubMed web service automatically)								
4	Export and import annotation								
5	Store annotation file in user session on server get links or download the annotation file and exchange with peers								
6	Integrated with emailing system								
7	Annotations are stored as standard BioPAX format								
8	Exports sub network along with annotation.								
9	Can view annotation file in external software as text								
10	Can view annotation file in external software as network								
11	Create user groups								
12	Voting								
13	Publish								E

V*A = Mainly for visualization and pathway exploration with support to analysis

A*V = Mainly for Gene list analysis supported with visualization

DFC = Data Format Converters

CCC = Collaboration and Community Contribution

A+ = All of the above + additional features

Darker shades indicate advanced /satisfactory implementation than the one in **lighter shade**

E = via external application

그림 40. Database에서 제공하는 데이터 공유 방식. KcPAVS에서 다양한 방식의 공유방법 제공.

- 심부전 주요 전사인자 동정 및 전사인자 네트워크 규명

- 심장발현 신규 KRAB 전사인자 발굴

- 포유류에 존재하는 전사인자는 약 2,000여개로 이중 C2H2 zinc finger가 전체 전사인자의 약 30%를 이루고 있음. C2H2 zinc finger 전사인자들 중에서 약 3분의 1에 해당할 것을 예측되는 Kruppel-associated box (KRAB) 전사(억제)인자를 대상으로 심장발현 발굴 분석을 수행함. NCBI database에서 KRAB을 key word로 하여 genome-wide search를 수행하였음. 이를 통해 마우스 genome에서 총 223개의 potential KRAB 유전자를 발굴하였음
- UniGene database에서 TPM (transcript per million) value를 이용하여 223개의 마우스 KRAB 전사인자 유전자들의 tissue distribution을 조사함. KRAB 유전자들은 다양한 조직에 발현되는 것으로 발견되었고 (brain에서 가장 많은 수의 유전자가 발현됨), 심장(heart)에서는 총 60개의 KRAB 유전자가 발현하는 것으로 밝혀짐 (그림 41)
- 심장에서 발현되는 KRAB 유전자들 중 10% 이상의 심장 specificity (특이성)를 보이는 유전자는 12개임. Mm.89976 (Zim1) 유전자는 가장 높은 약 85%의 specificity를 보임허혈성 및 비허혈성 심부전의 주요 microRNA를 분석하기 위해 small RNA 서열 분석 결과를 전체 genome에 맵핑하고 맵핑된 read 수를 세서 그룹 간에 비교하는 'Bowtie2-HTSeq-DESeq2' 파이프라인을 활용함. microRNA의 발현량은 PMMR(sequences per million mapped reads)로 normalization함.

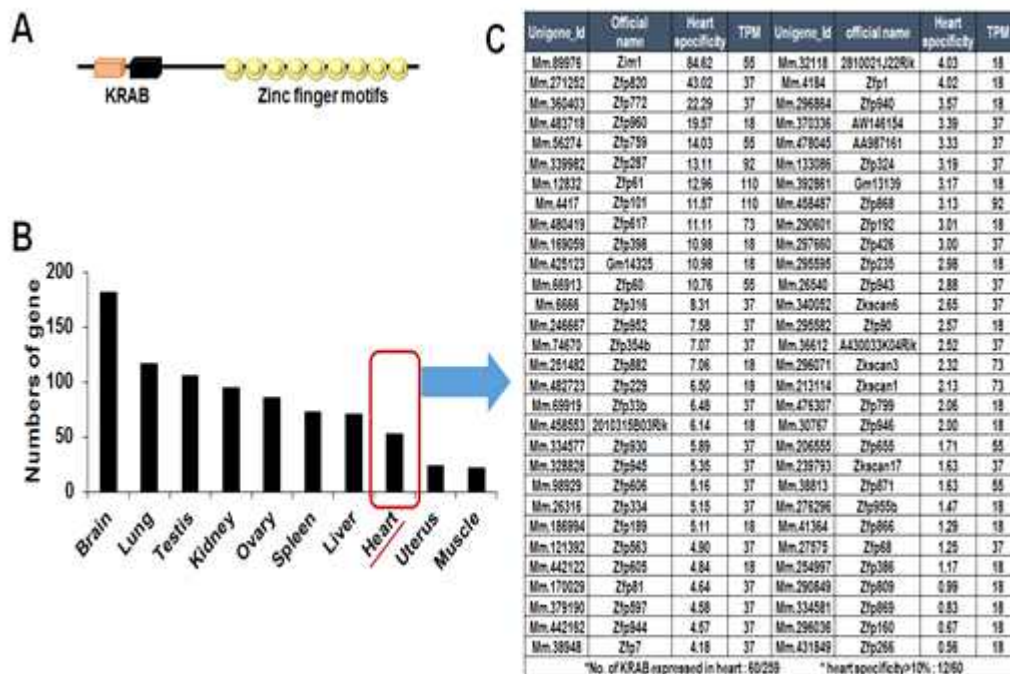


그림 41. KRAB 전사인자 유전자 발굴. (A) KRAB 유전자에 의해 coding되는 단백질의 일반적 구조 (B) 마우스 KRAB 유전자(223개)들의 조직분포 (C) 심장에서 발현되는 60개의 KRAB 유전자

- 심비대(TAC) microarray data를 이용한 심부전 관련 KRAB 유전자 발굴

- 신규 KRAB 전사인자들 중 심부전과 관련된 유전자들을 선별하기 위해서 NCBI에서 확보한 mouse hypertrophy (심비대) microarray data를 이용하였음. 이러한 심비대는 TAC에 의해 유발된 만성 심부전 모델임.
- TAC 심비대 마우스 모델 microarray data 총 4종(TAC 수술 후 3일, 1주, 4주, 9주)을 이용하여 심장에서 발현되는 KRAB 유전자의 변이를 조사한 결과, 60개의 KRAB 유전자 중 39개의 유전자가 microarray data에 수록됨에 따라 39개 KRAB 유전자를 대상으로 함

- TAC 모델에서 유의성($p < 0.05$) 있게 발현변이를 보인 유전자는 총 9개임 (3일에 6개 유전자, 1주에 1개 유전자, 4주에 없음, 9주에 2개 유전자). 1.5-fold 변이를 보인 유전자는 3개, 1.2-fold 변이를 보인 유전자는 7개임. 전체적으로 발현변이를 보인 유전자의 수는 적었고 발현변이의 정도도 비교적 낮았음. TAC 3일에서는 스트레스 signal에 따른 심비대 특이적변이가 아닌 유전자들이 포함될 수 있을 것으로 예상됨.
- 위와 같은 TAC 모델 microarray 결과와 더불어 heart specificity 등을 고려하여 총 10개의 유전자를 선별하였고 (그림 42) 이들 유전자가 TAC모델에서 변이가 있는지를 real time PCR을 통하여 분석하였음. 이들 유전자 중 real time PCR에서 primer를 test하였을 때, 실험적으로 측정이 가능한 유전자는 3개의 유전자(Mm.56274, Mm.239793, Mm.290849)이었음. Sham 수술을 한 mouse(2주)의 심장과 TAC 수술을 한 mouse(2주)의 심장 sample을 이용하여 real time PCR을 수행한 결과, 3개의 유전자 모두 TAC hypertrophy 모델에서 upregulation되었음 (그림 42). 이러한 결과는 microarray의 결과와 real time PCR의 결과가 다소 다를 수 있다는 것을 보이며, 발현변이의 정도가 낮은 유전자들일 경우 이러한 현상이 나타난다는 것을 알 수 있었음. 향후 이들 3개 유전자의 경우 hypertrophy와의 연관성을 좀 더 심층적으로 분석할 필요가 있음.

Data set	Array Name	TAC Duration	H/B (mg/g)
GSE24489	Affymetrix Mouse Genome 430 2.0 Array	3 days	No data
GSE5500	Affymetrix Mouse Genome 430 2.0 Array	1 week	-Sham : 4.3 ± 0.1 -TAC : 5.4 ± 0.1
GSE12337	Affymetrix Mouse Genome 430 2.0 Array	4 weeks	-Sham : 4.2 ± 0.1 -TAC : 5.0 ± 0.2
GSE18224	Affymetrix Mouse Genome 430 2.0 Array	9 weeks	-Sham : 4.5 -TAC : 8.5



그림 42. 심장 발현 KRAB 유전자들의 TAC 심비대 모델(microarray data)에서의 변화 양상

• NGS data를 이용한 허혈성/비허혈성 심부전 관련 핵심전사인자-하위유전자 발굴

- 신규 KRAB 전사인자들에서 허혈성/비허혈성 심부전과의 연관성을 보이는 유전자들을 좀 더 정확하게 발굴하고자 TAC과 MI 생쥐모델에서 실시한 NGS data를 이용하여 분석하였음. 이러한 data는 TAC과 MI이 유발된 mouse heart의 NGS data (MI 1일, 1주, 8주, TAC 1일, 2주, 8주) 임.
- 마우스 심장에서 발현되는 60개의 KRAB 유전자의 TAC와 MI 모델에서의 발현변이를 조사하였음. 60개의 KRAB 유전자 중 56개의 유전자가 NGS data에 수록되어 있는 반면 39개의 유전자가 microarray data에 수록되어 있음(그림 43). 56개의 유전자 중 총 44개의 유전자가 TAC와 MI 모델에서 발현변이를 보였음. 이 중 대다수의 유전자(40개)가 MI 모델에서 발현변이를 보인 유전자들임. 특히 3 fold 이상 변이를 보인 KRAB 유전자는 7개이고 (Zfp324, Zfp61, Zfp90, Zfp334, Zfp189, Zkscan17, Zfp226), 2-3 fold 변이를 보인 유전자는 17개임(그림 43).
- 이들 유전자 중 가장 높은 발현 변이를 보인 Zkscan17 유전자를 대상으로 하여 mouse 심근세포주인 HL-1 세포주에서 knockdown을 실시하고 microarray를 수행하여 downstream

유전자들을 동정하여 유전자 네트워크 정보를 얻고자 일련의 분석을 수행하고 있음.

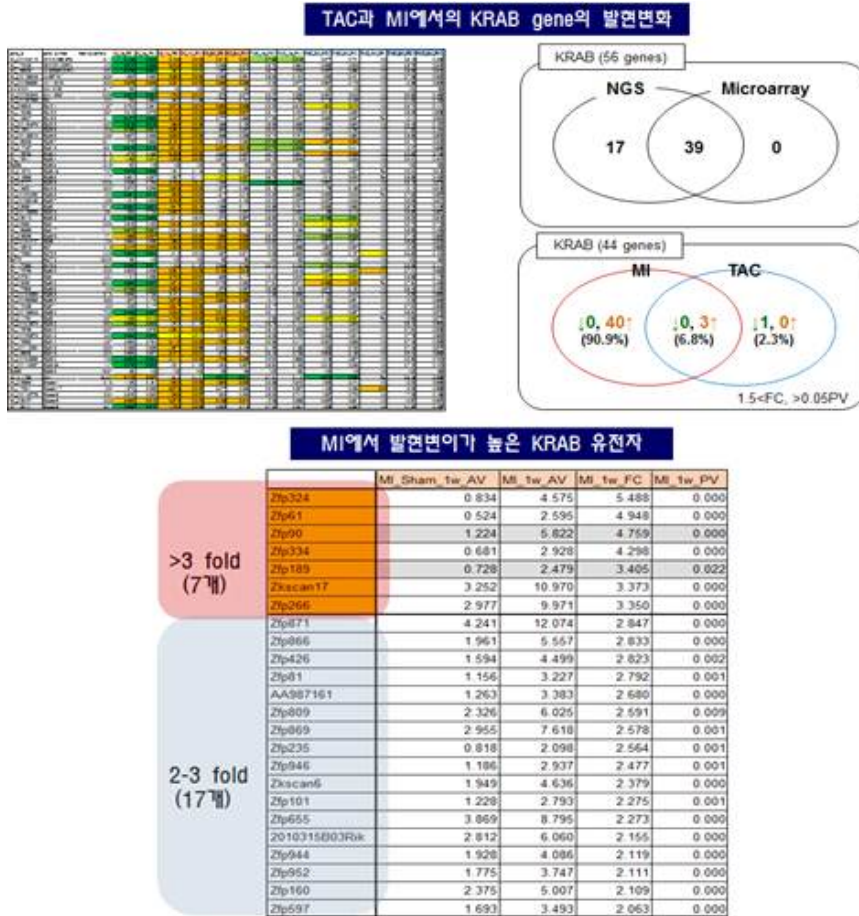


그림 43. TAC과 MI 모델 NGS data를 이용한 KRAB 유전자들의 발현 변이 분석

• 심장 핵심 전사인자 선정 및 하위유전자 정보 확보

- 마우스 genome-wide ChIP-seq 분석법을 통해 발굴되어 보고된, 심장 핵심전사인자가 부착하는 다양한 genomic 부위들에 대한 data를 확보함 (GATA4: 17,000 부위, MEF2A: 1,300 부위, NKX2-5: 20,700 부위, SRF; 24,100 부위; TBX5; 56,400 부위). 이 정보를 이용하여 이들 부위에 의해 발현이 조절될 것으로 추정되는 하위유전자들을 동정할 수 있을 것으로 기대함. 모든 핵심전사인자에 의해 영향받는 것으로 나타나는 유전자는 293개임 (그림 44)

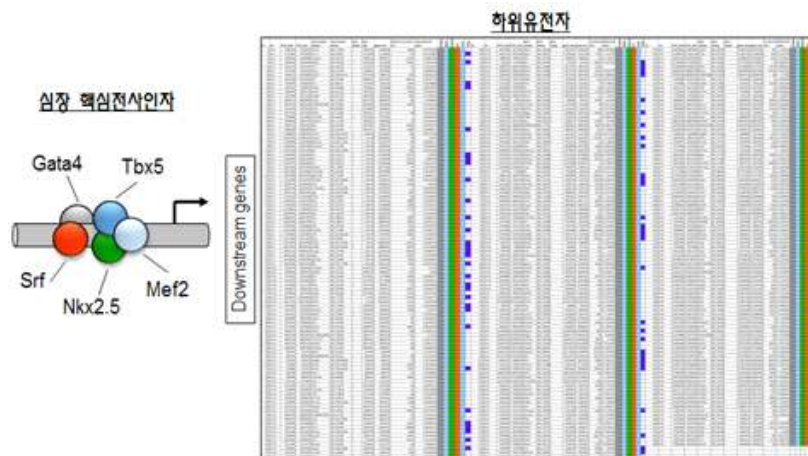


그림 44. 심장 핵심전사인자들에 조절받는 하위유전자

• 심부전 관련 심장 핵심전사인자-하위유전자 발굴

- 마우스 genome-wide ChIP-seq 분석법을 통해 발굴되어 보고된, 심장 핵심전사인자가 부착하는 다양한 genomic 부위들에 대한 data를 확보함에 따라 이들 5종 전사인자에 의해 영향받는 하위유전자들을 대상으로 하여 TAC 심비대 마우스 모델 microarray data 총 4종(TAC 수술 후 3일, 1주, 4주, 9주)을 이용하여 이들 하위유전자들의 변이를 조사하였음. TAC 모델에서 1.5-fold 이상 유의성(p<0.05) 있게 발현변이를 보인 유전자는 총 105개임 (그림 45). 위에서 언급한 바와 같이, TAC 3일에서는 스트레스 signal에 따른 심비대 특이적변이가 아닌 유전자들이 포함될 수 있을 것으로 예상됨. 따라서 1-9주에서 변이를 보이는 유전자들은 총 31개임. 각 심비대에서 비교적 공통적으로 발현변이를 보이는 유전자들은 총 13개임.
- TAC 1-9주에서 변이를 보이는 31개 핵심전사인자-하위유전자 유전자들을 대상으로 이들 유전자가 TAC모델에서 변이가 있는지를 real time qPCR을 통하여 분석하였음. 이들 유전자 중 qPCR에서 primer를 test하였을 때, 실험적으로 측정이 가능한 유전자는 11개의 유전자이었음. Sham 수술을 한 mouse(2주)의 심장과 TAC 수술을 한 mouse(2주)의 심장 sample을 이용하여 qPCR을 수행한 결과, 10개의 유전자는 TAC hypertrophy 모델에서 up-regulation되었고 1개의 유전자는 down-regulation됨을 밝힘 (그림 45). 향후 이들 유전자의 심부전 관련연구의 기반을 마련함.

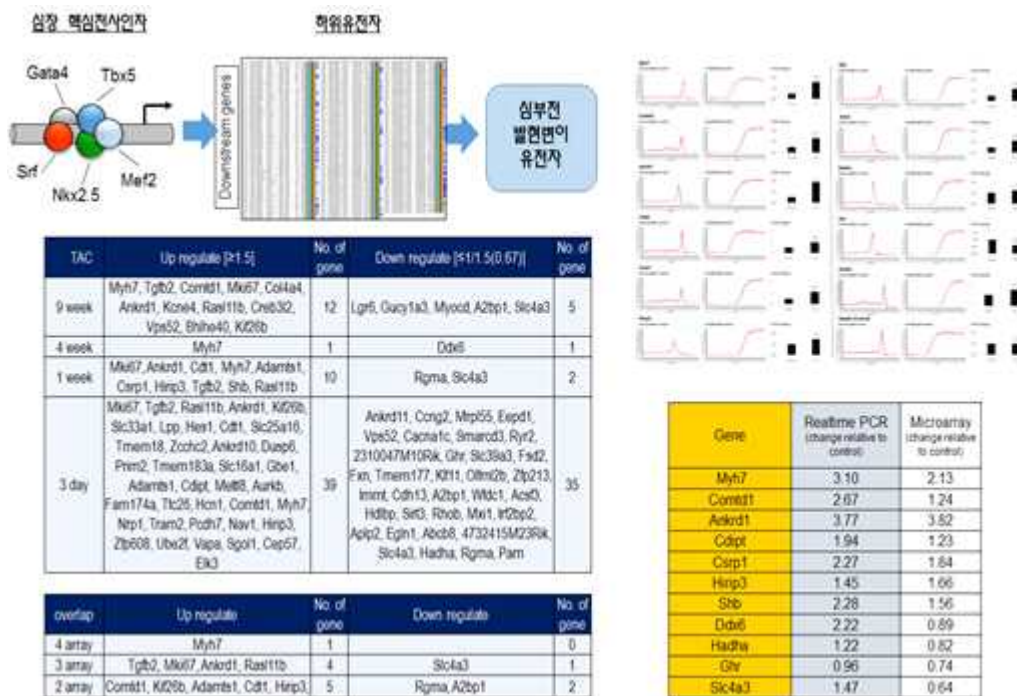


그림 45. 심장 핵심 전사인자에 의해 발현이 조절되는 하위유전자 발굴 및 TAC 심비대 모델에서 발현변이를 보이는 하위유전자 발굴

• NGS data를 이용한 허혈성/비허혈성 심부전 관련 핵심전사인자-하위유전자 발굴

- 심장 핵심전사인자 5종(GATA4, MEF2A, NKX2-5, SRF, TBX5)의 하위유전자들에 대한 심부전 관련성 연구에서 전사인자들의 서로 다른 조합(combination)에 의해 영향받는 유전자들의 심부전 연관성 연구를 위해 각 조합에서의 하위유전자들의 ID를 확보하였음. SRF와 TBX5 전사인자가 전사인자 조합에 가장 큰 영향을 주는 것으로 나타남.
- 핵심전사인자-하위유전자들에서 허혈성/비허혈성 심부전과의 연관성을 보이는 유전자들을 좀 더 정확하게 발굴하고자 TAC과 MI 생쥐모델에서 실시한 NGS data를 이용하여 분석하였음. 이러한 data는 TAC과 MI이 유발된 mouse heart의 NGS data (MI 1일, 1주, 8주, TAC 1일, 2주, 8주) 임.
- 5개 핵심 전사인자에 동시에 영향받는 하위유전자 237개 대상으로 한 분석에서는 NGS

data에서 MI 1주와 TAC 2주에서 발현변이를 보이는 하위유전자 유전자는 164개임을 새롭게 밝혔음. MI와 TAC에서 ~20% 유전자는 공통적으로 발현이 조절되며, ~80% 유전자는 MI와 TAC 중 한 모델에서만 발현변이가 나타남. 대부분의 유전자는 MI모델에서만 발현변이를 보임(그림 46).

- 심장 핵심전사인자 5종의 서로 다른 조합에 의해서 영향 받는 유전자들을 대상으로 한 분석(NGS data에서 MI 1주와 TAC 2주에서 발현변이를 보이는 하위유전자 유전자의 발현을 비교)에서는 총 4개의 조합에 의해 영향을 받는 총 1131개의 유전자를 분석하였음. 그 결과 814개 유전자가 발현 변이를 보임. MI와 TAC에서 모두 변화하는 유전자 174개임. 이 분석결과에서도 동시에 영향받는 유전자들처럼 대부분의 유전자는 MI모델에서만 발현변이를 보임(그림 46).

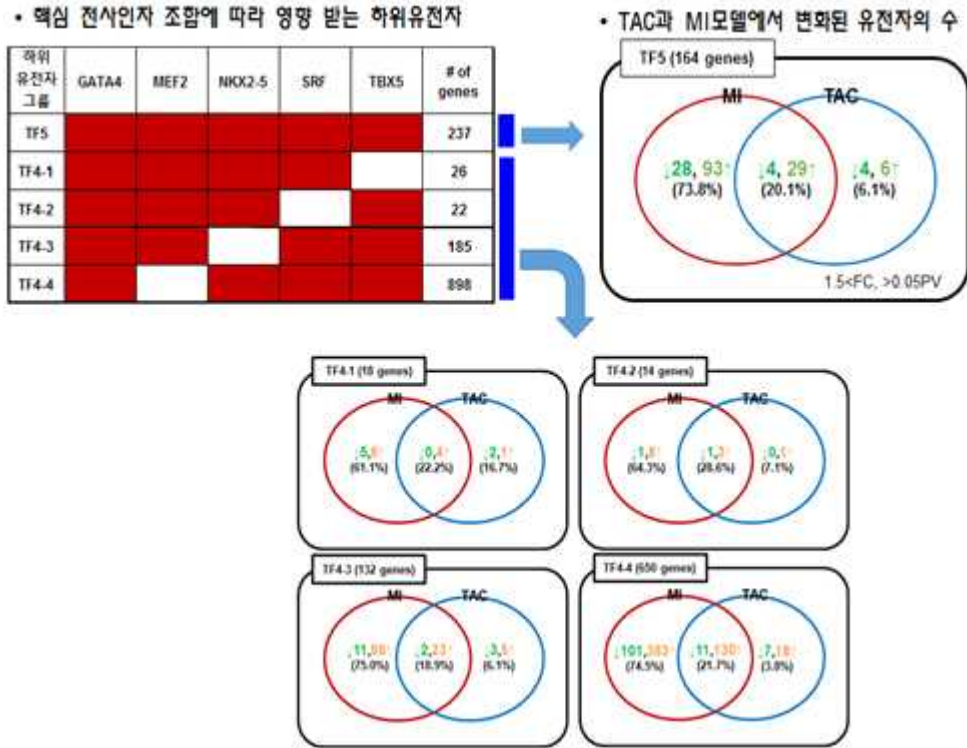


그림 46. TAC과 MI 모델 NGS data를 이용한 심장 핵심인자-하위유전자 발현변이 분석

- 위의 결과를 종합하면 5개 핵심 전사인자에 동시에 영향받는 하위유전자와 서로 다른 조합에 의해서 영향 받는 유전자 총 1368개 중 978개의 유전자가 발현변이를 보였음(71%). 이들 978개 발현변이 유전자 중 MI와 TAC에서 공통으로 발현변이 보인 유전자는 207개 (21%)임. 각 전사인자 조합에 따른 하위유전자에서 발현변이 유전자의 비율은 서로 유사하였음(69-72%). 이는 심부전에서 변이를 보이는 유전자들은 특정 전사인자의 영향을 받는다는 것을 의미함(그림 47).



그림 47. TAC과 MI 모델에서 심장 핵심인자-하위유전자들의 발현변이 분석결과 종합

• 심부전 질환 KRAB 전사인자 1차 후보인자 분석

- 1단계 연구를 통해서 마우스 허혈성 심부전 모델(MI)에서 발현변이를 조사한 데이터(1차 MI-NGS)를 통하여 3 fold 이상 변이를 보인 KRAB 유전자는 7개이고(Zfp324, Zfp61, Zfp90, Zfp334, Zfp189, Zkscan17, Zfp226), 2-3 fold 변이를 보인 유전자는 17개임. MI모델에서 3 fold 이상 변이를 보인 KRAB 유전자 중 5개 유전자(Zfp324, Zfp61, Zfp334, Zkscan17, Zfp226)를 대상으로 하여 마우스 심장에서의 발현과 마우스 심근세포주인 HL-1 세포에서의 발현 양상을 RT-PCR로 분석하였음. 5개 KRAB 유전자는 심장에서 모두 발현됨. 이 중 2개(Zfp334, Zkscan17)는 HL-1 세포주에서 약하게 발현됨을 발견함 (그림 48).

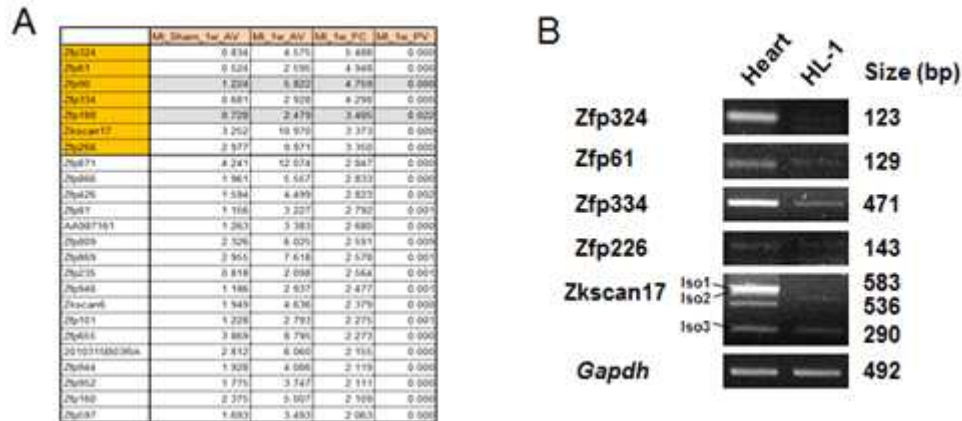


그림 48. 마우스 MI모델에서 발현변이를 보이는 KRAB 전사인자(A) 및 이들 전사인자 유전자들의 마우스 심장 및 심근세포주(HL-1)에서의 발현 양상(B).

• 심부전 질환 KRAB 전사인자 1차 후보인자 Zkscan17 분석

- MI모델에서 발현변이를 보이고 HL-1세포에서 전사되는 것으로 조사된 KRAB 전사인자 중 항체 확보가 가능한 KRAB 유전자인 Zkscan17을 선정하여 심장과 HL-1 cell에서의 단백질 발현을 분석함. 이 항체를 이용하여 Zkscan17이 단백질 수준에서 심장에서 높은 수준으로 발현됨을 발견함. 반면 HL-1 세포주에서는 발현되지 않음을 발견함. HL-1 세포에서 Zkscan17 발현되지 않음이 심장에서 myocyte이외의 세포에서 발현(fibroblast)일 가능성이 있음. 따라서 rat의 neonatal rat ventricular myocytes (NRVM)과 fibroblast에서의 발현을 조사하였음. Zkscan17의 rat ortholog인 Zfp496의 경우 mRNA는 myocyte와 fibroblast에서 모두 발현됨을 발견함. 항체를 이용한 단백질 수준에서의 분석은 항체 자체가 rat Zfp496을 detection하지 않음. 종합적으로 HL-1 세포에서 발현하지 않음은 myocyte에서의 미발현에 의한 것이 아닐 가능성이 있음.

• 심부전 질환 KRAB 전사인자 1차 후보인자 Zkscan17 분석

- 마우스 허혈성 심부전 모델(MI)에서 발현변이를 조사한 추가 데이터(2차 MI-NGS)를 통하여 심부전에서 발현변이를 보이는 KRAB 전사인자를 추가적으로 선별하였음. 총 13개의 KRAB 유전자가 MI model에서 유의성있게 변화하였음. 이들 유전자의 NCBI ID는 Gm13139, Zfp189, Zfp386, Zfp398, Zfp606, Zfp617, Zfp759, Zfp799, Zfp930, Zfp943, Zfp955b, Zfp960, Zim1등임. 이들은 MI 모델 1일, 1주, 8주 등에서 선별적인 유의성을 보이며, 대부분 발현수준이 MI모델에서 증가하였음 (그림 49).

Gene_Symbol	MI 1d FC	MI 1d PV	MI 1w FC	MI 1w PV	MI 8w FC	MI 8w PV
Gm13139	-1.109	0.157	-1.695	0.010	-1.027	0.867
Zfp189	1.278	0.009	1.097	0.026	1.550	0.002
Zfp386	1.515	0.001	1.672	0.000	1.356	0.105
Zfp398	1.188	0.014	-1.005	0.935	1.580	0.010
Zfp606	2.176	0.000	1.664	0.006	1.493	0.012
Zfp617	1.642	0.002	2.210	0.001	1.451	0.021
Zfp759	1.578	0.001	1.565	0.001	1.545	0.000
Zfp799	2.001	0.000	1.633	0.003	1.565	0.011
Zfp930	1.341	0.003	1.832	0.001	1.249	0.114
Zfp943	1.669	0.000	1.810	0.000	1.346	0.097
Zfp955b	1.953	0.000	1.887	0.000	1.601	0.003
Zfp960	1.424	0.001	1.819	0.002	1.432	0.022
Zim1	1.301	0.016	1.163	0.155	1.540	0.013

그림 49. 2차 MI-NGS 데이터를 통한 심부전 관련 KRAB 전사인자 발굴. MI 1일, 1주, 8주에서 발현변이를 보이는 유전자들을 보이고 있음. 색깔로 표시된 부분은 유의성($P < 0.05$)있는 발현변이임. FC, fold change; PV, P value.

• 심부전 질환 KRAB 전사인자 2차 후보인자 PCR 분석

- 심부전 관련 13개의 KRAB 유전자중 10개의 유전자의 realtime PCR 실험을 진행하였고, 6개의 유전자의 PCR이 성공하였음. 6개의 유전자중 2개의 유전자(Zfp398, Zfp955b)는 적어도 한시기의 MI sample에서 NGS 결과와 경향성이 일치하였음. 따라서 이 두 유전자는 MI모델에서의 발현변이가 검증된 유전자라고 할 수 있음.

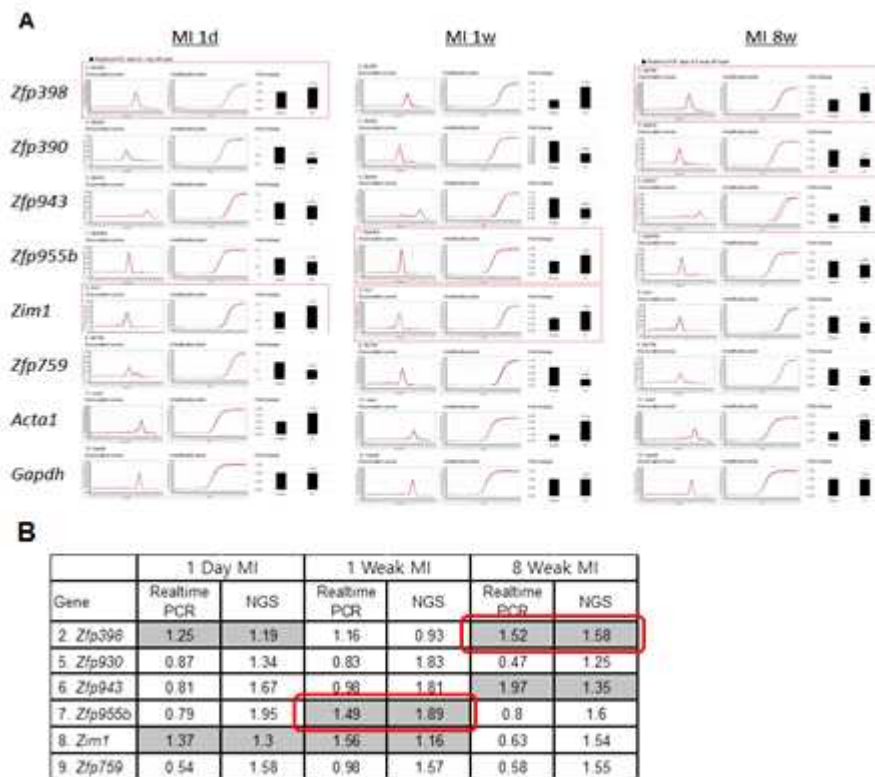


그림 50. 2차 MI-NGS 데이터를 통해 선정된 심부전 관련 KRAB 전사인자(6종)의 realtime PCR 분석. MI 1일, 1주, 8주에서 KRAB 유전자들의 발현수준을 realtime PCR로 측정함(A). (A)의 결과를 정리한 표(B). 적색선 box로 표시된 유전자는 연구대상 candidate.

• 심부전 질환 KRAB 전사인자 2차 후보인자 PCR 분석 및 후보 전사인자 선정

- 심부전 관련 13개의 KRAB 유전자중 이전 분석에서 제외된 6개의 전사인자들의 발현변이를 분석하였음 (그림 51). 이들 중 Zfp189가 1일 부터 8주까지 MI model 에서 유의성있게 증가하는 것으로 나타남 (Fold change > 1.5, p-value < 0.05) (그림 51). 따라서 이 유전자를 대상으로 HL-1 세포주에서 overexpression 혹은 knockdown 세포모델 연구의 기반을 마련함. Zfp189는 608 aa의 단백질로서 N terminal 지역에 1개의 KRAB domain과 C-terminal 쪽에 16개의 zinc finger motif가 존재하는 단백질임. 심장에서는 비교적 낮은 수준으로 전사됨(~0.5 RPKM).

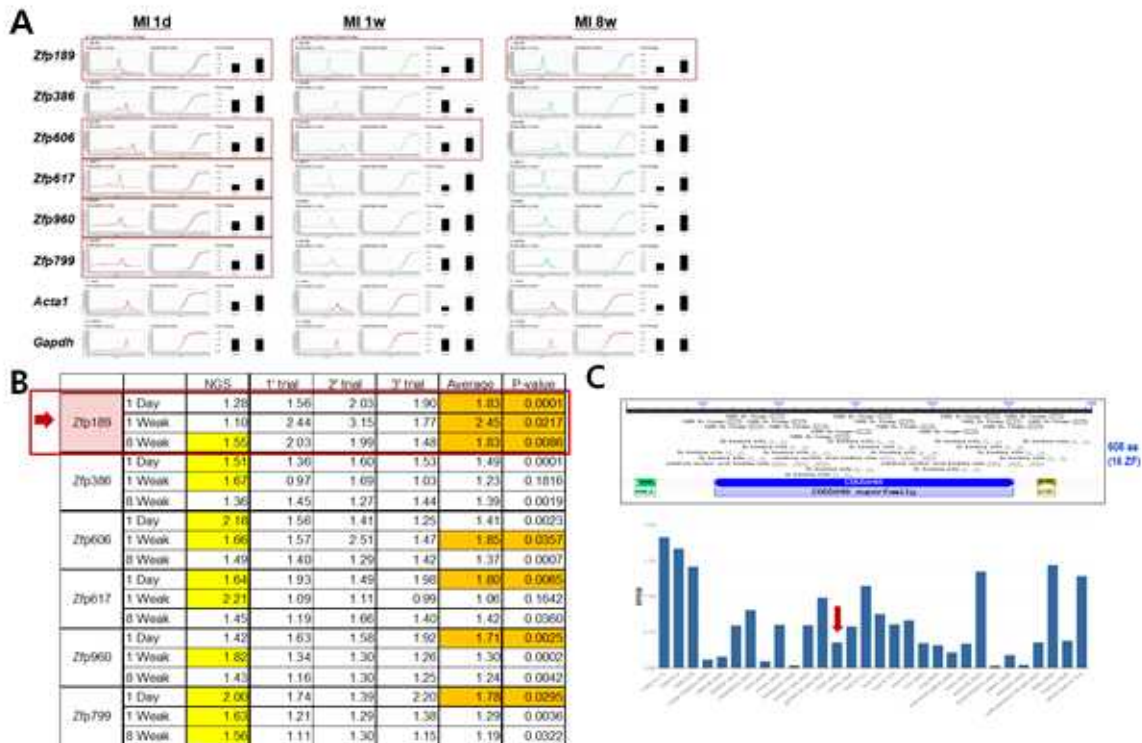


그림 51. 2차 MI-NGS 데이터를 통해 선정된 심부전 관련 KRAB 전사인자(6종)의 realtime PCR 분석. (A) MI 1일, 1주, 8주에서 KRAB 유전자들의 발현수준을 realtime PCR로 측정함. (B) (A)의 결과를 정리한 표. 적색선 box로 표시된 Zfp189 유전자는 연구대상 candidate. (C) Zfp189의 도메인 구조 및 조직발현

• 심부전 KRAB 전사인자(Zfp189) 과발현 세포모델 제작 및 분석

- 허혈성 심부전 모델에서 발현변이를 보인 KRAB 전사인자 Zfp189를 선정하고, Zfp189를 심근세포주인 HL-1 세포에서 과발현한 후 microarray 분석을 수행함 (그림 52). Microarray 결과에서 scatter plot result와 hierarchical clustering을 이용하여 mock과 Zfp189 과발현 세포 샘플에서의 같은 그룹의 세포끼리 유사성을 나타내어 clustering이 되는 것을 확인하여 microarray 실험이 양호하게 수행되었음을 알 수 있었음. 유전자의 발현 양을 함께 고려하여 DEG를 분석한 결과, 발현양에 따른 DEG (differentially expressed gene)의 분포변화는 없음. Fold change (1.30 이상의 변화)와 p-value를 모두 만족하는 유전자로 22개의 하위유전자를 선정함 (그림 52).

Gene_Symbol	Test/Control.FC	P-value	Gene_Symbol	Test/Control.FC	P-value
Gm25354	-2.038	0.035	Zfp189	1.705	0.023
Gm22523	-1.760	0.023	Gm7075	1.754	0.022
Igkv8-30	-1.748	0.004	Traj24	1.789	0.010
Tmed2	-1.584	0.044	Gm23244	1.847	0.005
Traj50	-1.490	0.030	Gm10242	1.901	0.002
Ighv1-80	1.324	0.034	n-R5s213	1.924	0.011
Trbj1-1	1.365	0.031	Mir3087	1.929	0.024
Gm26163	1.576	0.041	Gm24103	2.005	0.013
Gm25870	1.581	0.038	Gm22965	2.022	0.006
Gm25203	1.600	0.020	Vmn1r14	2.025	0.047
Gm25682	1.640	0.019	Olfr373	2.110	0.043

그림 52. Zfp189-overexpression에 따른 발현변이를 보인 하위유전자 (적어도 1.3배 이상의 발현변이)

• 심부전 KRAB 전사인자(Zfp189) 과발현을 통해 발굴된 하위유전자 분석

- ZFP189의 과발현 세포에서 변화하는 유전자중 크기가 200 bp 이상인 8개의 유전자들의 발현변화를 real-time PCR을 통하여 분석하였음. Real-time PCR을 시도한 8개의 유전자중 3개 유전자의 발현분석이 가능하였음. 그 결과, 3개의 유전자 모두 microarray와 같은 양상을 나타냄. 이들 유전자는 Tmed2, Gm7075, Gm10242 임 (그림 53).

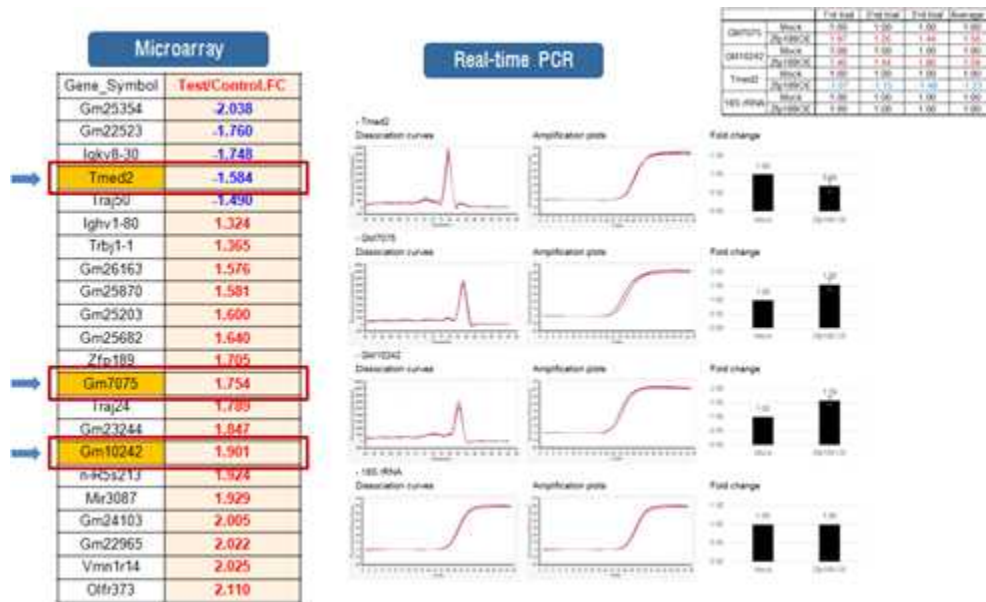


그림 53. Zfp189 하위유전자들의 real-time PCR을 통한 검증. 분석이 가능한 3종의 유전자들에 대한 결과.

• 심부전 KRAB 전사인자(Zfp189) 하위유전자 Tmed2 분석

- 발현 변이가 확인된 3개의 유전자중 Tmed2만 NGS database에 MI model에서의 발현 변화가 확인되었음. 이러한 결과들을 정리하면, ZFP189 overexpression HL-1 cell에서 Zfp189 발현이 증가함에 따라 Tmed2 발현이 감소함을 발견하였음. 심부전 MI-NGS 결과에 의하면 Zfp189 발현은 증가하고 Tmed2 발현은 감소함 (그림 54). Tmed는 The transmembrane emp24 domain/p24 의 약자로서 약 220 아미노산을 encode하는 유전자임. 현재까지 포유류에서 11 family member 발견되었고, Tmed10의 경우 COPII vesicle-mediated anterograde transport에서 cargo receptor 역할을 하는 것으로 보고됨. Tmed2의 경우 ER stress와 cell proliferation에 관련되어 있는 것으로 보고되었으나 심부전과의 연관성이 보고된 바는 없음. 결론적으로 본 연구를 통하여 심부전과 Zfp189/Tmed2의 연관성을 새롭게 발견하고 이들 유전자를 심부전의 새로운 마커로 제시함 (그림 54).

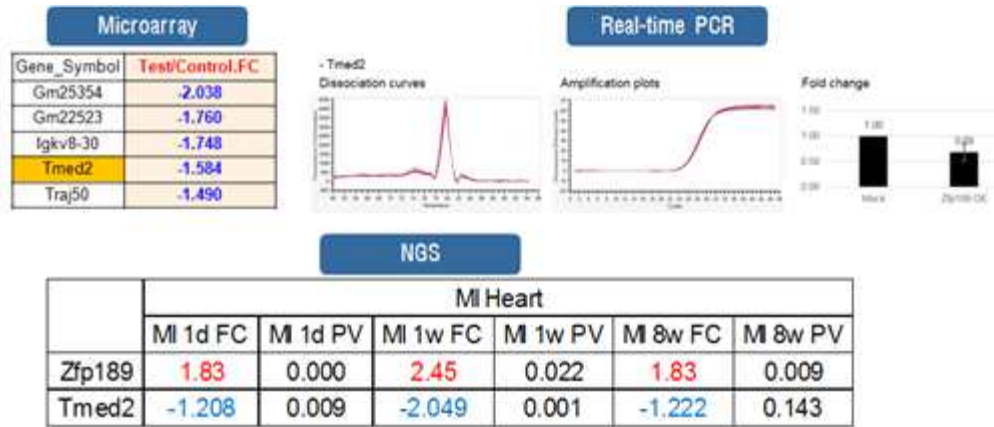


그림 54. 심부전 - 전사인자 Zfp189 - 하위유전자 Tmed2 연관성

- 심부전 주요 전사인자 동정 및 전사인자 네트워크 규명
- 비허혈성 만성 심부전에서 단백질 구조 변화를 야기하는 AS 분석
 - Deep sequencing을 통해 도출된 AS 유전자중 단백질 구조 변화가 예상되는 유전자 33종의 isoform을 MAISTAS를 이용하여 예측하고 AS 유전자 중에서 구조 변화가 예상되는 8종의 유전자를 선정하여 삼차원 모델을 만들고 구조변화를 비교분석 함

S. No	Gene Name	Uniprot ID and Isoforms reported in Uniprot	Isoforms reported by MAISTAS
1.	CDK9 (cyclin dependent Kinase)	P59750 2 isoforms reported: CDK942 (372 AA's) CDK955 (489 AA's)	3 isoforms
2.	Kcnp2 (Kv channel-interacting protein 2)	Q9NS61 9 isoforms	12 isoforms
3.	Mapk14 (Mitogen activated protein kinase)	Q16339 4 isoforms CSBP1 (360 AA's), Mki2 (297 AA's), Exp (307 AA's) and CSBP2 (360 AA's)	7 isoforms
4.	Ndrp2 (N-myc downstream regulated gene 2)	Q9LNC6 5 isoforms 1 - 371 AA's, 2 - 357 AA's, 3 - 360 AA's, 4 - 328 AA's and 5 - 341 AA's	15 isoforms
5.	Snox (Spermine oxidase)	Q9NWM0 6 isoforms PAOb1 - 555 AA's, PAOb2 - 502 AA's, PAOb3 - 190 AA's, PAOb4 - 532 AA's, isoform 5 - 389 AA's and SMOX5 - 585 AA's	8 isoforms
6.	Ehmt2 (Histone lysine-N-methyl transferase)	Q96KQ7 3 isoforms 1 - 1210 AA's, NG36G9a-SPI - 1176 AA's and NG36 - 202 AA's	21 isoforms
7.	Bag (Bagin)	P35613 4 isoforms Bag1 - 269 AA's, Bag2 - 385 AA's, Bag3 - 176 AA's and Bag 4 - 205 AA's	4 isoforms
8.	Nfix (Nuclear Factor 1X-type)	Q14938 5 isoforms 1 - 502 AA's, 2 - 460 AA's, 3 - 441 AA's, 4 - 494 AA's and 5 - 440 AA's	6 isoforms

그림 55. MAISTAS를 이용하여 구조변화가 예측되는 isoform list

- MAISTAS를 통해 예측된 AS 유전자 중에서 구조변화가 예상되는 유전자를 선정하여 삼차원 모델을 만들고 구조변화를 비교 분석함

Maistas - results [job id: M138137012922]

[View/hide summary table](#) [Download summary table](#) [Download all PDBs](#) [Download all PDBs & intermediate data](#) [View/hide job statistics](#)

Input type: UniProt/Swissprot ID(s)

Job statistics

Number of given isoforms	12
Number of complete or plausible models	10
Number of complete isoforms present in PDB	0
Number of PDB structures including the isoform	0
Number of incomplete or unplausible models	2
Number of missing templates	0
Number of isoforms not analysed*	12

* = Some tools might have failed. Please send us an email and we will try to solve the problem next.

Summary table

gene ID	isoform ID	isoform length	first aa	last aa	template ID	isoform/template % seq. id	fraction of isoform modelled	summary**
[ENSG00000120043]	[ENSP00000352940]	216	1	176	[2ul_A	69.0	100.0	Plausible
[ENSG00000120043]	[ENSP00000341624]	227	1	187	[2ul_A	68.0	96.9	Plausible
[ENSG00000120043]	[ENSP00000369063]	184	1	144	[2ul_A	65.0	98.4	Unlikely
[ENSG00000120043]	[ENSP00000411679]	177	1	168	[2ul_A	51.0	100.0	Plausible
[ENSG00000120043]	[ENSP00000420040]	285	29	208	[2ul_A	61.0	90.1	Plausible
[ENSG00000120043]	[ENSP00000349055]	270	1	259	[3ul_A	19.0	90.0	Unlikely
[ENSG00000120043]	[ENSP00000344169]	220	1	180	[2ul_A	70.0	100.0	Plausible
[ENSG00000120043]	[ENSP00000369076]	252	6	185	[2ul_A	64.0	98.0	Plausible
[ENSG00000120043]	[ENSP00000239117]	184	1	183	[4ul_B	13.0	90.2	Plausible
[ENSG00000120043]	[ENSP00000286993]	214	1	190	[2ul_A	59.0	99.5	Plausible
[ENSG00000120043]	[ENSP00000350733]	252	6	185	[2ul_A	64.0	98.0	Plausible
[ENSG00000120043]	[ENSP00000239110]	225	1	180	[2ul_A	69.0	100.0	Plausible

그림 56. MAISTAS를 통한 isoform 모델 구조 예측

- KChip2 isoform간의 분석결과 isoform 8,9의 EF-hand motif의 AS에 의한 아미노산 서열 변화로 인해 구조 변화를 보일 것으로 예상 됨

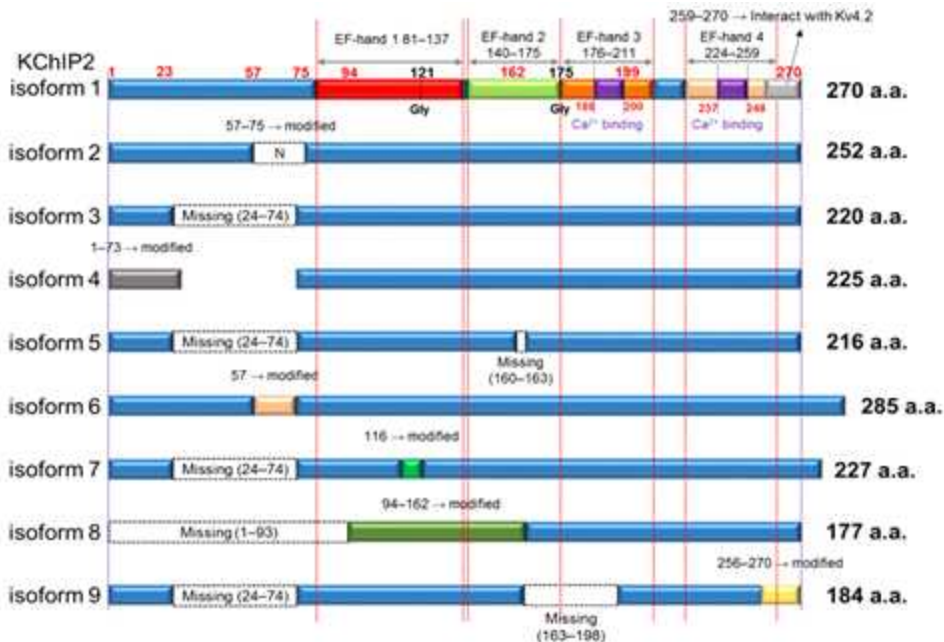


그림 57. KChiP2 isoform 아미노산 서열 분석

- KChiP2 isoforms - Kv4.2 복합체 모델 구조 모델을 기존에 알려진 KChiP1-Kv4.3 복합체를 기반으로 복합체 모델링하였고 기존 복합체와 유사한 상호작용 부위가 관여 할 것으로 예측

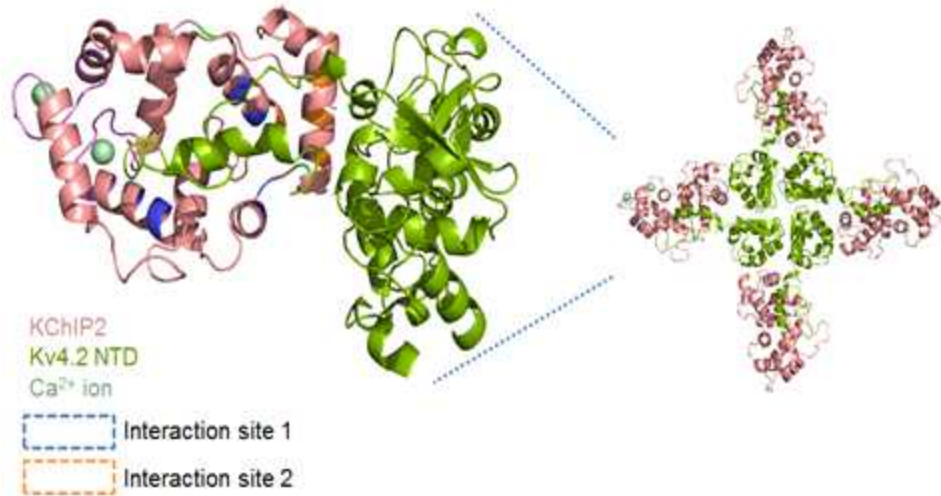
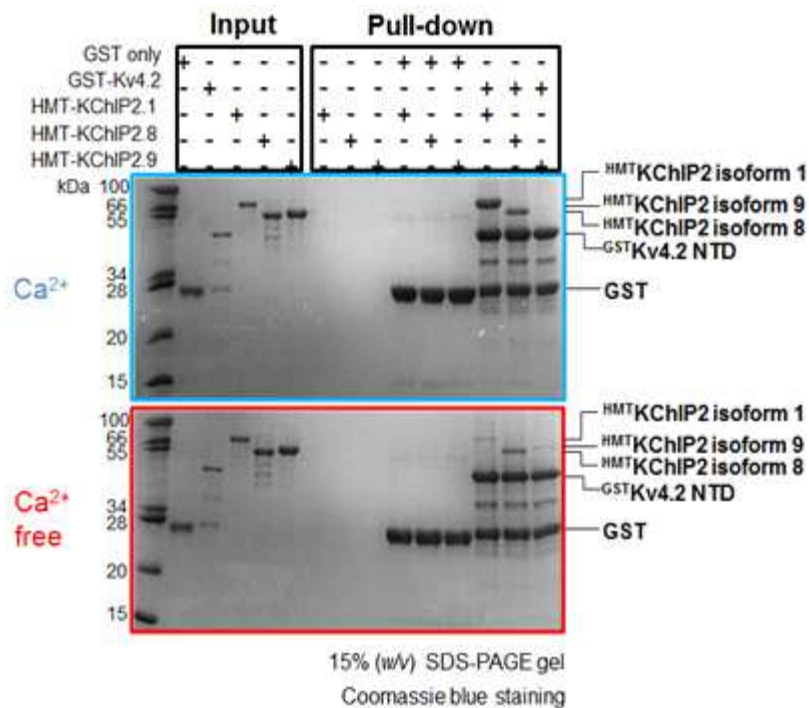


그림 58. KCHIP2 isoforms - Kv4.2 복합체 모델 구조

- 칼슘 유무에 따른 Kv4.2와 KCHIP2 isoform간의 상호작용 확인을 in vitro GST pull-down assay를 통해서 확인함. KCHIP2 isoform 1의 경우 칼슘 의존적으로 Kv4.2와 상호작용하는 것으로 확인. isoform 8의 경우에는 isoform 1과 비교해서 상대적으로 상호작용 정도가 낮았지만 칼슘 유무와 무관하게 상호작용하는 것을 확인. 그에 비해 isoform 9의 경우에는 상호작용 정도가 매우 낮은 것으로 확인



❖ Bait : GSTKv4.2 NTD (0.5 mg)
Prey : HMTKCHIP2 isoform 1, 8, & 9 (1.5 mg)

그림 59. Kv4.2 NTD와 KCHIP2 isoform 간의 상호작용 확인

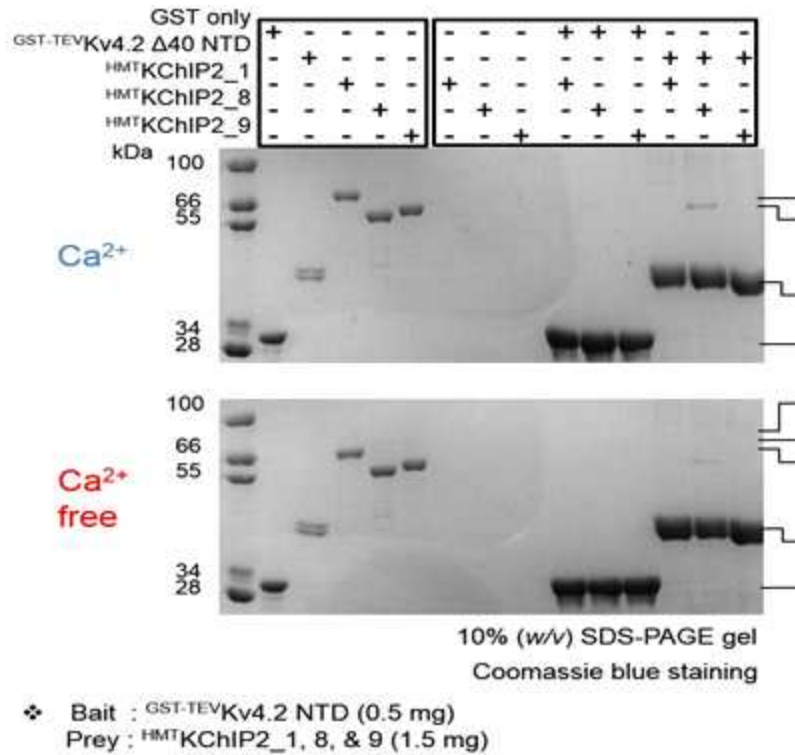


그림 60. Kv4.2 Δ40 NTD와 KChip2 isoform 간의 상호작용 확인

- isoform 8의 상호작용의 요인을 확인하기 위해 Ca^{2+} , pH, salt, detergent등을 이용하여 확인함. 그 결과 low pH(6.0)에서 칼슘 유무와 무관하게 상호작용이 증가하고 high salt(300 mM NaCl)에서는 상호작용이 감소하는 것으로 확인됨. 이를 통해 상호작용이 단백질 표면의 electrostatic interaction에 의한 것으로 예측하여 표면의 electrostatic potential을 확인. 이런 특성들을 통합하여 모델을 제시함

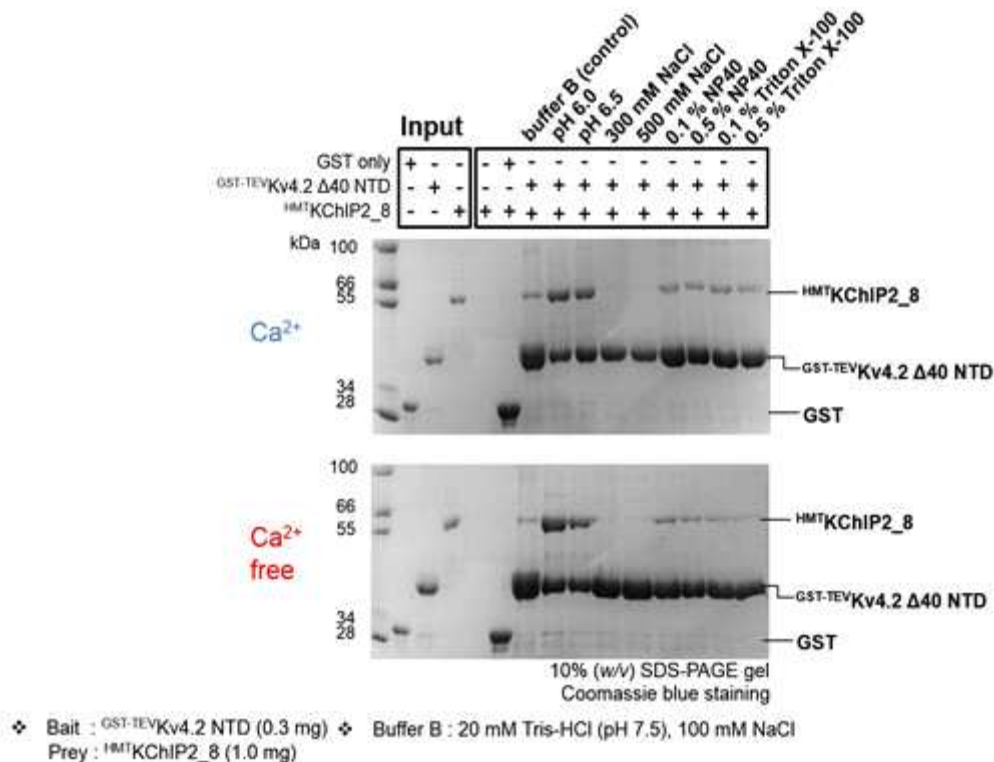


그림 61. pH, salt, detergent, Ca^{2+} 의 영향을 확인

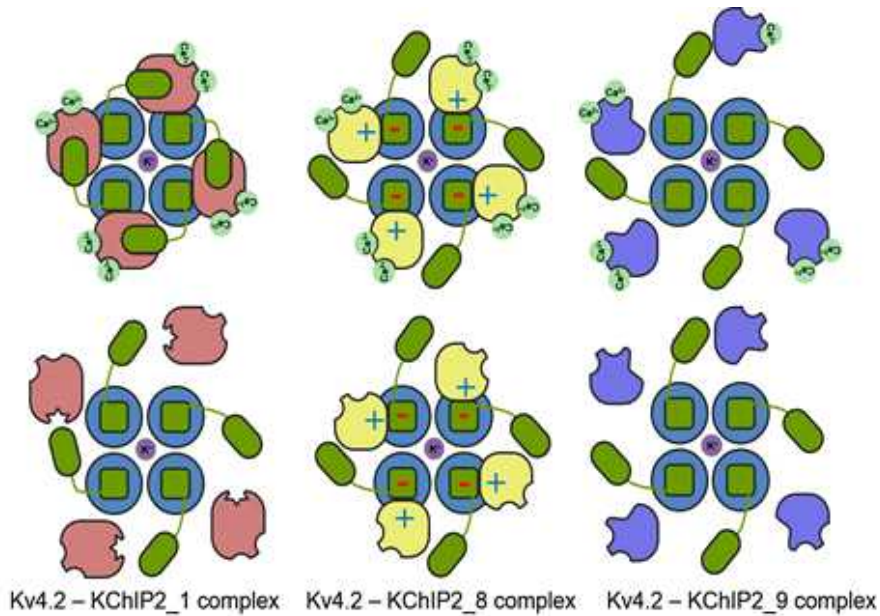


그림 62. Kv4.2 NTD와 KChIP2 isoform간의 상호작용 모델

• 허혈성/비허혈성 심부전 모델의 AS isoform 분석

- 허혈성/비허혈성 심부전 모델을 대상으로 수행된 AS 데이터를 이용하여 각 질환 모델간 isoform 변화를 나타내는 유전자를 분석함. 허혈성 심부전 모델에서 exon 발현의 변화가 나타난 유전자를 UniprotKB DB를 이용하여 분석한 결과 단백질을 발현시키는 유전자가 1,951종으로 분석됨. 비허혈성 심부전 모델에서 exon 발현의 변화가 나타난 유전자를 동일한 방법으로 분석한 결과 단백질을 발현시키는 유전자가 44종으로 나타남.

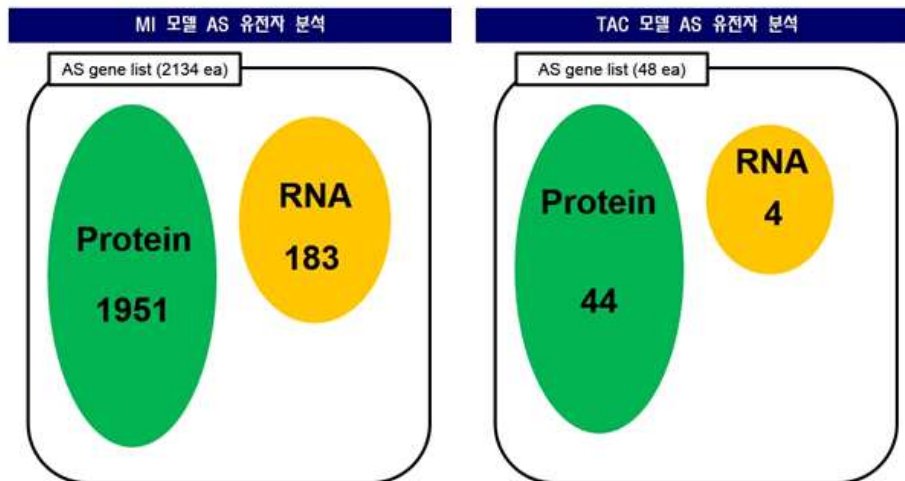


그림 63 허혈성 및 비허혈성 심부전 모델의 유전자 분석

- 허혈성/비허혈성 심혈관 모델에서 exon 발현의 변화가 나타난 단백질의 정보를 UniprotKB DB, Ensembl DB, NCBI PDB blast를 이용하여 분석. 그 결과 허혈성 심부전 모델에서 나타난 1,951종의 단백질 유전자 중에서 유사구조가 규명된 유전자가 1,594종이 있는 것으로 분석되었고, 비허혈성 심부전 모델에서 나타난 44종의 단백질 유전자 중에서 유사구조가 규명된 유전자가 36종인 것으로 나타남.

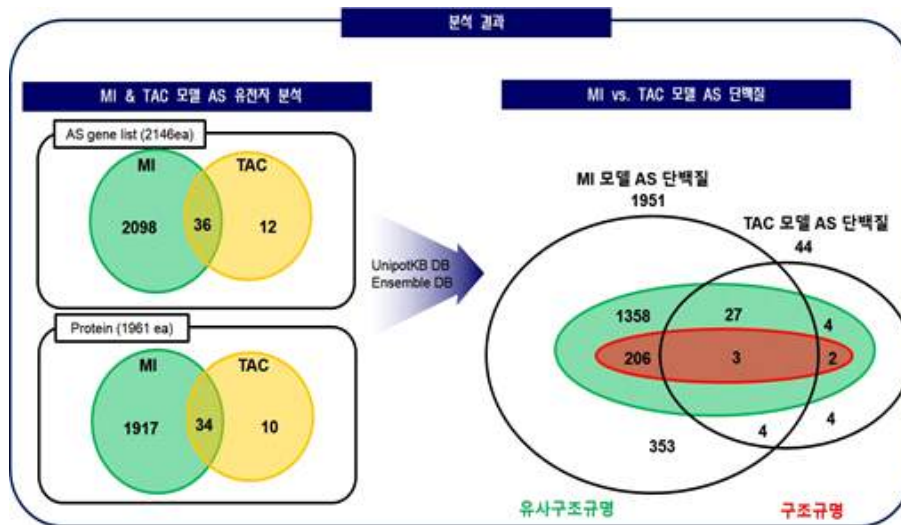


그림 64. 허혈성/비허혈성 심혈관 모델의 AS 단백질 분석

• 허혈성/비허혈성 심부전 모델 간 AS에 의한 구조-기능 변화분석

- 전체 단백질 목록에서 AS에 의한 isoform이 있는 유전자를 UniprotKB DB와 Ensemble DB 그리고 NCBI PDB blast를 이용하여 분석. 분석된 결과에서 AS에 의한 isoform이 있는 유전자를 선별하였고, 선별된 목록에서 유사구조가 규명된 1,389종의 단백질중에서 유사구조의 coverage와 homology가 50%가 넘는 유전자 100여종을 모델링 후보로 선정함

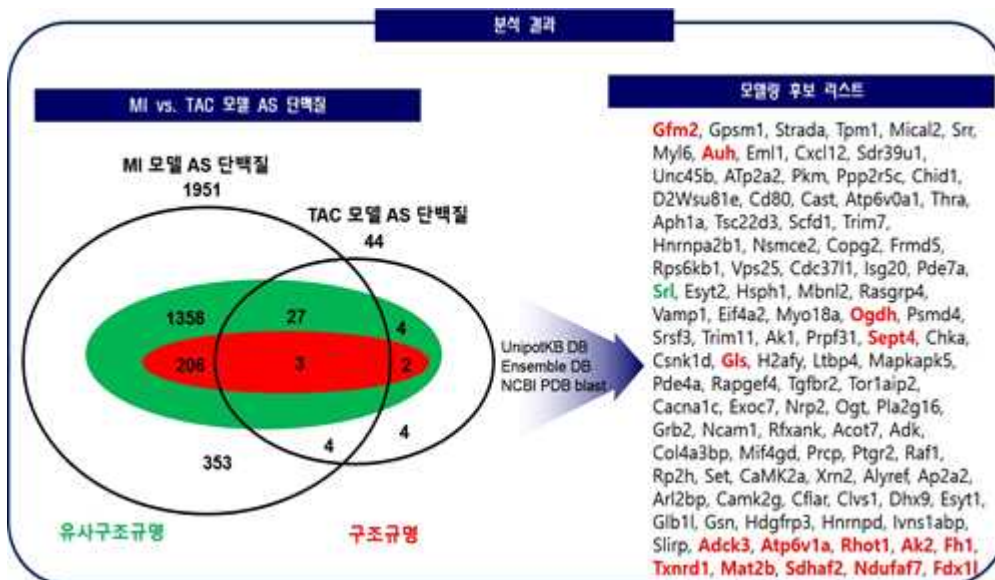


그림 65.

- 모델링 후보로 선정된 유전자 중 미토콘드리아 단백질, 칼슘 결합단백질, 막단백질을 타깃으로 SWISS-MODEL을 이용하여 구조 모델링을 진행하고, 모델링한 결과를 이용하여 유의미하게 구조 변화가 예상되는 단백질 유전자를 선별 함
- 허혈성 및 비허혈성 심부전 이행과정에서 AS에 의한 단백질 구조변화가 심부전관련 유전자 상호작용 네트워크에 미치는 영향을 분석함



그림 66. 모델링 후보 선정과 모델링 방법

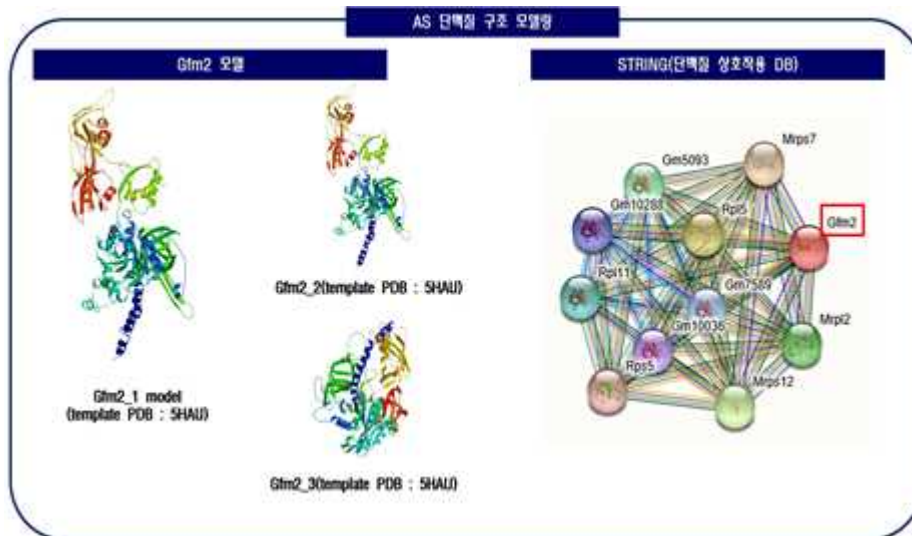


그림 67. 구조 모델링의 예와 상호작용 네트워크

- 차세대 염기서열분석법을 이용한 전사체 분석
- 전사체 데이터로부터 AS에 의한 단백질 구조변화의 심부전 연관성 연구
 - 김도한 교수 연구팀에서 분석된 AS 유전자 정보를 이용하여 타깃 선정 작업을 진행 (그림 68)



그림 68. 심부전 질환 치료 타깃 유전자 선정 방법

- AS 유전자 정보를 데이터베이스를 이용하여 모델링 타깃 단백질을 선정 (그림 69, 그림 70)

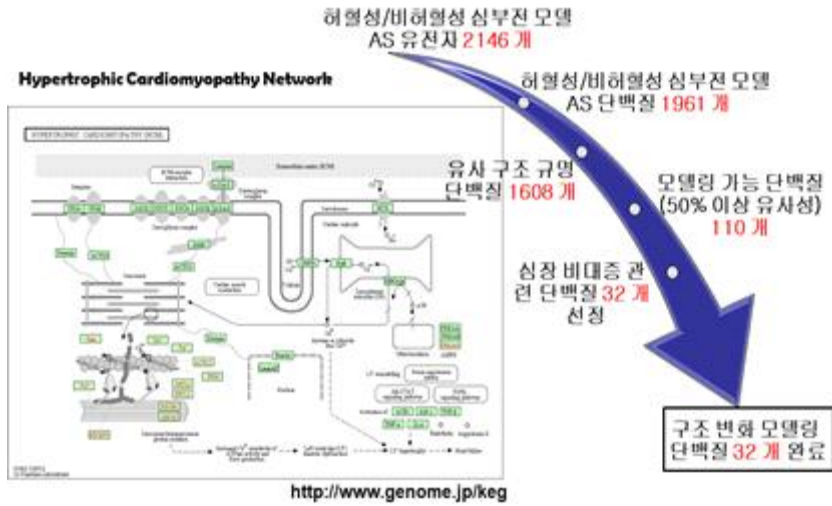


그림 69. 심부전 질환 관련 구조 모델링 타깃 선정

- Adck3
- Adk
- Ak2
- Atp2a2
- Atp6v1a
- Cacna1c
- Camk2g
- Cflar
- Chka
- Csnk1d
- Cxcl12
- Fh1
- Grb2
- Mapkapk5
- Ogt
- Pde4a
- Pkm
- Ppm1b
- Ppp2r5c
- Prcp
- Ptgr2
- Rasgrp4
- Rfxank
- Sdhaf2
- Slc4a2
- Slc6a8
- Slc9a3r1
- Srl
- Stk11
- Tgfbr2
- Tpm1
- Tsc22d3

그림 70 선정된 모델링 타깃 단백질

- 선정된 32 종의 타깃 단백질이 심혈관 질환과의 관계를 알아보기 위해 문헌 및 데이터베이스 조사를 진행
- 문헌 조사를 통해서 심혈관 질환과 연관 유무를 확인 함
- 타깃 단백질 중에 관련 연구가 된 경우 타깃과 연관된 상호작용 단백질도 조사하여 AS에 의한 단백질 구조변화가 단백질 네트워크 변화를 야기 시키는지 분석 (그림 71~74)

Gene/Protein	Information	Mitochondrial	HYPERTROPHY
Adck3	PDB ID: 4PED.A Identity: 90% Homology: 83% Coverage: 60%	Mitochondria	Possible
Adk Adenosine kinase	PDB ID: 4O1L chain A coverage: 95% Identity: 92% Homology: 94%	—	possible
Ak2	PDB ID: 2C9Y chain A coverage: 100% Identity: 95% Homology: 97%	Mitochondrial IMS	possible
Atp2a2 Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2	pdb id: 4BEW chain A coverage: 95% Identity: 84% Homology: 93%	—	Yes (TAC)
Atp6v1a	PDB ID: 3J9I chain A coverage: 93% Identity: 65% Homology: 79%	—	Possible
Cacna1c Voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1C	PDB ID: 3JBR chain A coverage: 72% Identity: 70% Homology: 81%	—	Yes
Camk2g Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit gamma	PDB ID: 2V7O.A Identity: 99% Homology: 93% Coverage: 59%	—	Yes (TAC)
Cflar	PDB ID: 3H11.A Identity: 62% Homology: 75% Coverage: 55%	—	Yes

그림 71 타깃 단백질 문헌 및 데이터 조사

Gene/Protein	Information	Mitochondrial	HYPERTROPHY
Ppm1b	PDB ID: 1A6Q.A Identity: 77% Homology: 88% Coverage: 96% pdb id : 2NPP chain B coverage : 84%	—	Possible
Ppp2r5c	Identity: 99% Homology: 99% pdb id : 3NZZ chain B coverage : 90%	—	Not found Other variants have role
Prcp	Identity: 80% Homology: 84% pdb id : 2ZB3 chain A coverage : 100%	—	Possible
Ptgr2	Identity: 99% Homology: 99% pdb id : 4L9M chain A coverage : 82%	—	maybe
Rasgrp4	Identity: 51% Homology: 68% pdb id : 3V30 chain A coverage : 67%	—	possible
Rfxank	Identity: 87% Homology: 89% pdb id : 4YZF chain A coverage : 74%	—	Maybe
Slc4a2	Identity: 58% Homology: 74% PDB ID: 4X0X.A Identity: 45%	—	Slc4a3→ strong Slc4a2→ maybe
Slc6a8	Homology: 63% Coverage: 86%	—	Possible

그림 72. 타깃 단백질 문헌 및 데이터 조사(계속)

Gene/Protein	Information	Mitochondrial	HYPERTROPHY
Ppm1b	PDB ID: 1A6Q.A Identity: 77% Homology: 88% Coverage: 96% pdb id : 2NPP chain B coverage : 84%	—	Possible
Ppp2r5c	Identity: 99% Homology: 99% pdb id : 3NZZ chain B coverage : 90%	—	Not found Other variants have role
Prcp	Identity: 80% Homology: 84% pdb id : 2ZB3 chain A coverage : 100%	—	Possible
Ptgr2	Identity: 99% Homology: 99% pdb id : 4L9M chain A coverage : 82%	—	maybe
Rasgrp4	Identity: 51% Homology: 68% pdb id : 3V30 chain A coverage : 67%	—	possible
Rfxank	Identity: 87% Homology: 89% pdb id : 4YZF chain A coverage : 74%	—	Maybe
Slc4a2	Identity: 58% Homology: 74% PDB ID: 4X0X.A Identity: 45%	—	Slc4a3→ strong Slc4a2→ maybe
Slc6a8	Homology: 63% Coverage: 86%	—	Possible

그림 73. 타깃 단백질 문헌 및 데이터 조사(계속)

Gene/Protein	Information	Mitochondrial	HYPERTROPHY
Chka	sdb id : 4DA5 chain A coverage : 100% Identity: 87% Homology: 94%	—	possible
Csnk1d	sdb id : 1CKJ chain A coverage : 76% Identity: 100% Homology: 100%	—	possible
Cxcl12	sdb id : 1VMC chain P coverage : 76% Identity: 97% Homology: 96%	—	Yes (MI)
Fh1 Fumarate hydratase	sdb id : 3E04 chain A coverage : 92% Identity: 96% Homology: 98%	Mitochondria	YES(MI)
Gtb2	sdb id : 1GFI chain A coverage : 100% Identity: 99% Homology: 99%	—	Yes (Ras signal Pathway)
Ogt	sdb id : 3PE3 chain A coverage : 97% Identity: 96% Homology: 99%	—	Strong evidence
Pde4a	sdb id : 4WZJ chain A coverage : 67% Identity: 77% Homology: 86%	—	maybe
Pkm	sdb id : 3E2Z chain A coverage : 100% Identity: 96% Homology: 98%	—	maybe

그림 74. 타깃 단백질 문헌 및 데이터 조사(계속)

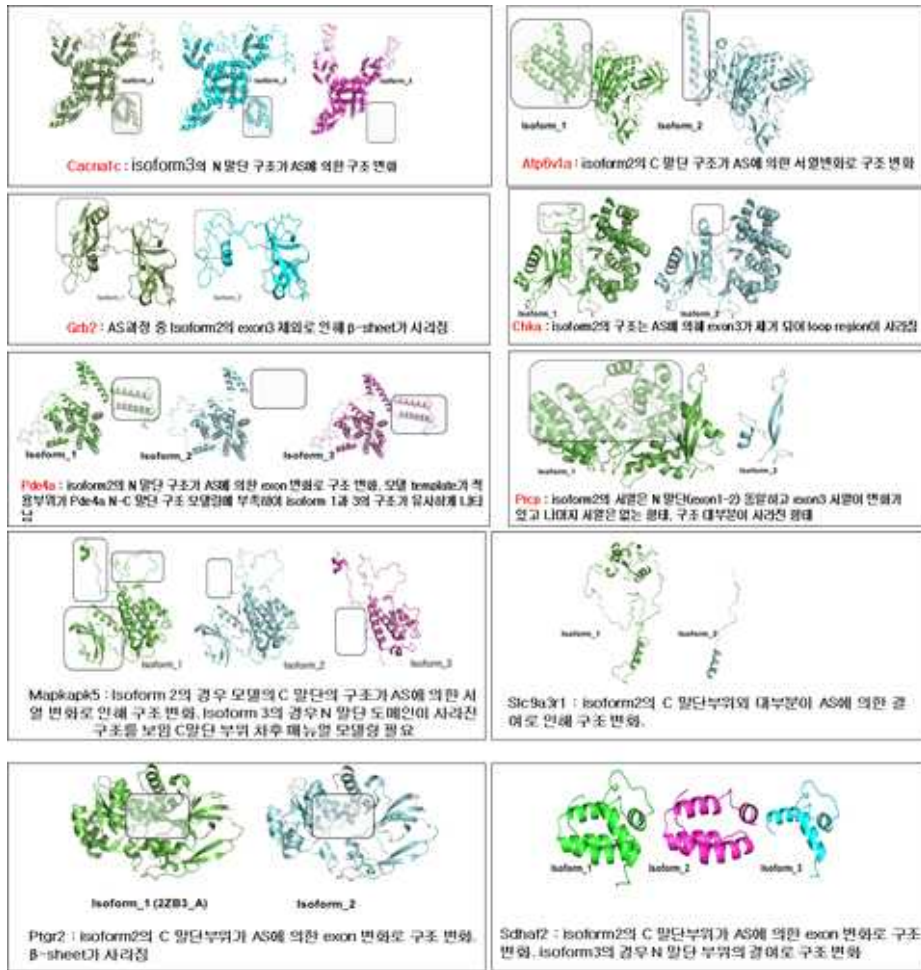


그림 75. AS에 의한 주요 타깃 단백질의 isoform 구조 변화 모델링

- 선정된 32 종의 타깃 단백질 구조 변화가 예상되는 단백질의 구조 모델 비교 (그림75)
- 주요 부위가 AS에 의해 변화는 경우가 예상됨
- 구조 변화는 단백질 상호작용 네트워크에 변화를 유발하고 심장질환과 관련 될 수 있음(그림 76)

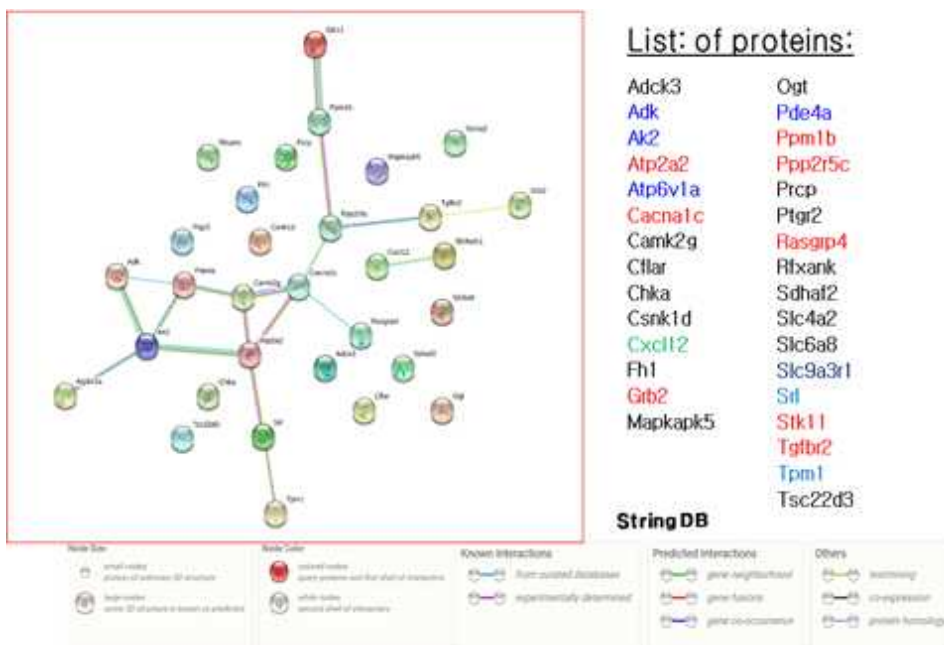


그림 76. 선정된 타깃 단백질의 네트워크

2-2. 제 2 세부과제

(1) 심부전 주요 전사인자 동정 및 전사인자 네트워크 규명

• 허혈성과 비허혈성 심부전 동물모델에 대한 2D-gel 기반의 전체 단백질 분석

- 총괄 주관연구기관인 광주과학기술원 생명과학과 시스템연구소에서 허혈성과 비허혈성 생쥐모델을 구축하여, 총 12개의 시료를 취득함
- 각 비교그룹은 총 3종류의 시료로 구성이 되어 있으며, 이들의 단백질 분석을 통해 허혈성/비허혈성 심부전의 단백질 네트워크의 변화를 모니터링함. 기존마커를 통한 검증 및 심부전증상에 대한 분석은 총괄과제 수준에서 별도로 정밀하게 진행됨
- 이 시료의 경우는 허혈성/비허혈성 심장질환 유도 8주 후의 시료로써, 허혈성/비허혈성 증상의 말기에 해당하는 시료임. 따라서 2차년도에는 허혈성/비허혈성 유도 후, 1일과 1주 혹은 2주의 초,중기 시료를 포함하여 단백질 분석을 시도함. 이상의 시료를 기반으로 허혈성 및 비허혈성 심장 질환의 단계별 단백질 변화를 모니터링 할 수 있으리라 사료됨(그림 1)



그림 77. 허혈성 및 비허혈성 단계별 시료 리스트

- 허혈성과 비허혈성으로 시료를 나누어 각각 분석을 시도함. 일차적으로 2-D gel 기반의 단백질분석을 주로 하였으며 후에 non-gel 기반의 단백질분석을 수행하여 gel-기반 분석의 한계를 보완해보고자 함
- 시료를 homogenizer를 파쇄 후에 2-DE용 urea buffer를 이용하여 solubilization 을 시도하고, 농도를 측정 후에 단백질 분석을 시도함
- 1차원 분리를 위해서는 18cm 길이의 pH 3-10 nonlinear IPG strip을 이용함. 이는 18cm 길이의 strip을 사용함으로써 보다 많은 단백질을 spot 형태로 관찰하고자 하였으며, pH 3-10 을 사용함으로써 넓은 범위의 단백질을 관찰 대상에 포함하였음
- 이 strip에 각각 80 ug의 단백질을 분석하여 1차원적으로 분리한 후에 10% SDS-PAGE gel을 이용하여 2차원적으로 단백질을 분자량에 따라 분리하였음
- 10% SDS-PAGE gel을 사용함으로써 약 10kDa~100kDa 분자량 정도의 단백질을 분자량에 따라 분리하였음
- 허혈성 심부전 동물모델에 대한 2D-gel 기반의 전체 단백질 분석 결과
 - 아래의 그림 83은 허혈성 심장질환 초기 (1 day) 시료로 분석한 대표 이미지 임
 - 허혈성 초기의 단백질 분석 결과 유의미한 발현 변화를 보이는 단백질 스팟을 다수 얻을 수 있었음
 - 특히 초기의 시료는 심부전 질환의 진단마커 등으로 이용할 가능성이 높다고 판단되며, 상세한 검증이 필요한 연구파트임
 - 이를 통해 진단마커 및 병인 유발 원인에 대한 실마리를 얻을 수 있으리라 기대하고 있음

- 허혈성 중기 및 말기 심장질환 동물모델 시료를 가지고 역시 단백질 분석을 수행하였으며, 위의 그림 83과 그림 84에 대표 이미지를 제시함
- 허혈성 초기 시료와는 다른 단백질 분포 패턴을 보이고 있음을 알 수 있었으며, 발현 변화를 보이는 단백질 스팟의 개수가 더욱 늘어나 있음을 알 수 있었음
- 이상의 결과를 살펴보면, 개체간의 단백질 분포 패턴 차이는 상대적으로 적어 보이지만, 대조군과 심장질환 시료간의 차이는 상당히 큰 것으로 나타나고 있으며, 특히 단계가 후반으로 갈수록 그 차이 정도는 급격히 늘어남을 볼 수 있었음

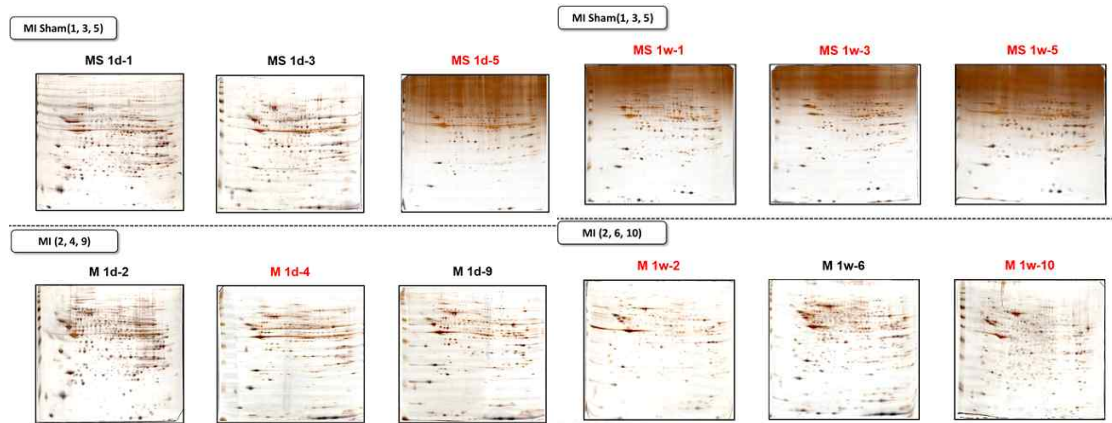


그림 78. 허혈성 초기 심장질환 동물모델 시료의 단백질 분석 대표 이미지

그림 79. 허혈성 중기 심장질환 모델 유래의 단백질 분석 대표 이미지

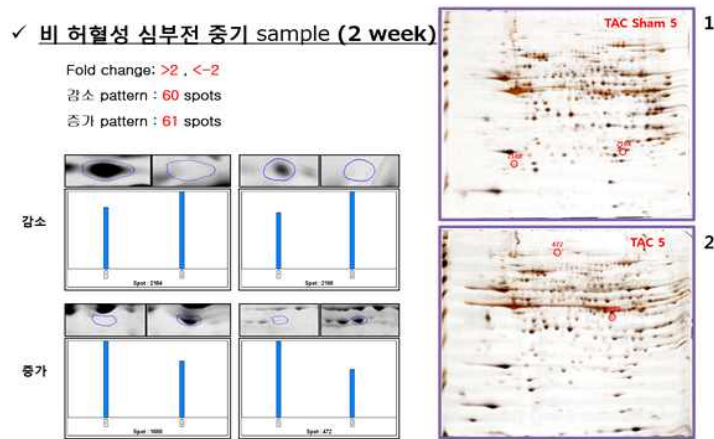


그림 80. 허혈성 말기 심장질환 모델 유래의 단백질 분석 대표 이미지

• 비허혈성 심부전 동물모델에 대한 2D-gel 기반의 전체 단백질 분석 결과

- 비허혈성 심장질환 시료를 대상으로 단계별로 단백질 분석을 수행함. 허혈성 시료와 동일한 조건과 처리 방법, 분석방법을 사용하여 질환단계별로 수행
- 비허혈성 sham 시료의 경우, 허혈성 시료와 유사한 단백질 분포 패턴을 보이지만 비허혈성 초기시료의 경우는 허혈성과는 상이한 단백질 분포 패턴을 보임을 알 수 있음
- 또한 개체 간에서도 어느 정도 변이가 존재함을 관찰함(그림 86-88)

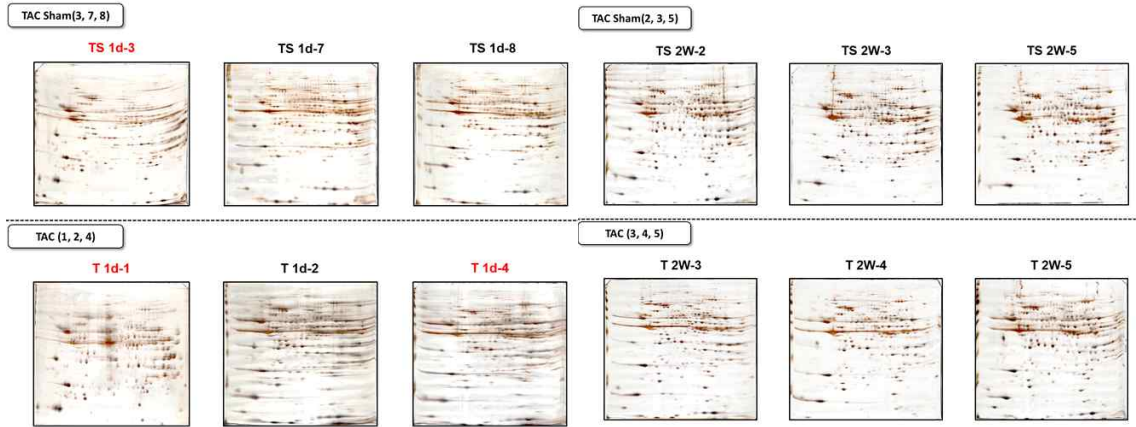


그림 81. 비허혈성 초기 (day 3) 심장질환 모델의 단백질 분석 대표이미지

그림 82. 비허혈성 중기 (2 week) 심장질환 모델의 단백질 분석 대표이미지

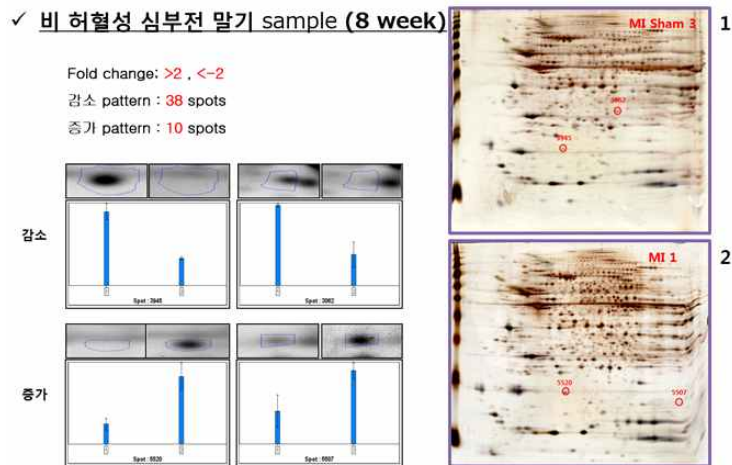


그림 83. 비허혈성 말기 시료의 단백질분석 대표이미지

• 허혈성과 비허혈성 심부전 동물모델에 대한 단백질 분석 결과

- 허혈성 심부전 시료의 경우, 총 850여 스팟에 대해 모니터링이 되었으며, fold change 2배로 변화여부를 결정했을 시에 총 29개의 단백질 스팟에서 변화를 관찰 함
- 그림 85은 허혈성 심부전 시료에서 변화를 보이는 단백질 스팟들의 예시와 그 위치를 나타내 주고 있음
- 표2은 허혈성 말기 시료의 단백질 분석을 통해 발현 변화를 보이는 단백질들을 동정한 결과임
- 비허혈성 심부전 시료의 경우, 총 800여 스팟에 대해 모니터링이 되었으며, fold change 2배로 변화여부를 결정했을 시에 총 48개의 단백질 스팟에서 변화를 관찰 함. 이 중 38 스팟의 경우는 증가하는 양상을, 10개의 스팟은 감소하는 양상을 보여줌(그림 88, 표3)

spot number	assession number	protein name	moscot score	coverage	function
1	gi 6755843	troponin T	85	25%	muscle protein
2	gi 12805431	pdhb protein	125	30%	glucose metabolism
3	gi 13097375	Electron transferring flavoprotein	142	43%	fatty acid beta-oxidation
5	gi 13097375	Electron transferring flavoprotein	281	45%	fatty acid beta-oxidation
10	gi 6680748	ATP synthase subunit alpha	863	27%	lipid metabolism
13	gi 3747134	myosin binding protein-C	615	17%	cardiac muscle protein
14	gi 3747134	myosin-binding protein C	452	15%	cardiac muscle protein
15	gi 3747134	myosin-binding protein C	715	19%	cardiac muscle protein
16	gi 31543942	vinculin	346	13%	cell adhesion
21	gi 199765	myosin	153	7%	cell adhesion
23	gi 192659	short chain acyl-CoA dehydrogenase	243	22%	fatty acid metabolism
24	gi 160298209	aspartate aminotransferase, cytoplasmic	567	28%	amino-acid biosynthesis
25	gi 10946916	myozenin-2	129	19%	actin binding protein
26	gi 33563264	myosin light chain 3	90	6%	muscle protein
27	gi 157787199	tropomyosin alpha-1 chain	631	40%	muscle protein
29	gi 1864018	ES1 protein homolog, mitochondria precursor	35	13%	not defined

표 2. 허혈성 말기 심부전 시료에서 2 fold-change 이상의 변화를 보이는 단백질 리스트 결과

Spot number	Accession number	protein Name	moscot score	function
1	gi 6755256	glycogen phosphorylase, muscle form	418	glycogen metabolism
2	gi 6755256	glycogen phosphorylase, muscle form	582	glycogen metabolism
3	gi 6755256	glycogen phosphorylase, muscle form	784	glycogen metabolism
6	gi 18859641	myosin-7	226	heart development
	gi 191618	alpha cardiac myosin heavy chain	225	
7	gi 15030102	Sdha protein	269	TCA cycle
9	gi 186700620	methylcrotonyl-CoA carboxylase subunit alpha, mitochondrial	270	ATP binding
10	gi 12276064	3-methylcrotonyl-CoA carboxylase alpha subunit	128	ATP binding
11	gi 23956084	very long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial precursor	559	lipid metabolism
14	gi 6680748	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial precursor	330	lipid metabolism
15	gi 6680748	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial precursor	887	lipid metabolism
16	gi 6680748	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial precursor	968	lipid metabolism
17		unnamed protein		
18	gi 9789985	isovaleryl-CoA dehydrogenase, mitochondrial precursor	263	oxidoreductase
19	gi 9789985	isovaleryl-CoA dehydrogenase, mitochondrial precursor	369	oxidoreductase
20	gi 160298209	aspartate aminotransferase, cytoplasmic	401	amino-acid biosynthesis
21	gi 31982522	short-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial precursor	363	lipid metabolism
	gi 18700024	isocitrate dehydrogenase 3, beta subunit	121	TCA cycle
22	gi 22122625	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase, mitochondrial precursor	231	amino-acid catabolism
23	gi 22122625	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase, mitochondrial precursor	239	amino-acid catabolism
24	gi 387129	cytosolic malate dehydrogenase	140	TCA cycle
25		unnamed protein		
27	gi 1103844	steroid dehydrogenase	402	steroidogenesis
28	gi 13097375	Electron transferring flavoprotein, alpha polypeptide	254	fatty acid beta-oxidation
37	gi 13097375	Electron transferring flavoprotein, alpha polypeptide	285	fatty acid beta-oxidation

표 3. 비허혈성 말기 심부전 시료에서 2 fold-change 이상의 변화를 보이는 단백질 리스트 결과

- 변화를 보이는 단백질 리스트를 살펴보면, 주로 대사관련, 특히 지방이나 포도당 대사관련 단백질이나 근육관련 단백질의 변화가 뚜렷함. 이는 심혈관 질환의 발생에 심근대사의 이상이 선행하거나 원인이 될 가능성을 내재하고 있다고 판단하고 있음
- 그러나, 허혈성과 비허혈성 심부전 시료에서 공통으로 변화를 나타내는 단백질은 소수에 불과함. 따라서, 허혈성과 비허혈성 심부전의 원인이나 진행과정이 상이하며, 각각에 상황에 맞는 치료법 개발이 필요함.
- 비허혈성 심부전 시료의 단백질체 결과를 바탕으로 IPA software를 이용하여 심부전 특이적 단백질 네트워크의 변화를 분석하여 봄. 그림 891은 주로 변화된 단백질들의 기능에 초점을 맞추어 분석한 결과임
- 다음으로 변화된 개별 단백질들에 초점을 맞추어 심부전시의 단백질 네트워크의 변화를 분석하여 봄(그림 90). 그림에서 보듯이 많은 단백질들이 서로 직,간접적 연결고리를 맺으며 변화를 보이고, 이러한 변화를 통해 단백질네트워크의 변화를, 궁극적으로 심부전 질환을 유발한 것으로 추론 됨.

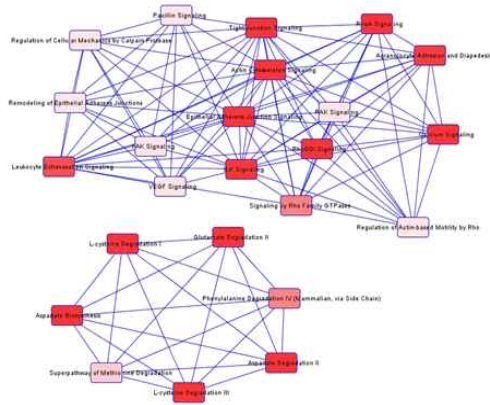


그림 84. 비허혈성 심부전 시료에서의 변화된 단백질의 기능에 초점을 맞춘 단백질 네트워크 변화 분석 이미지

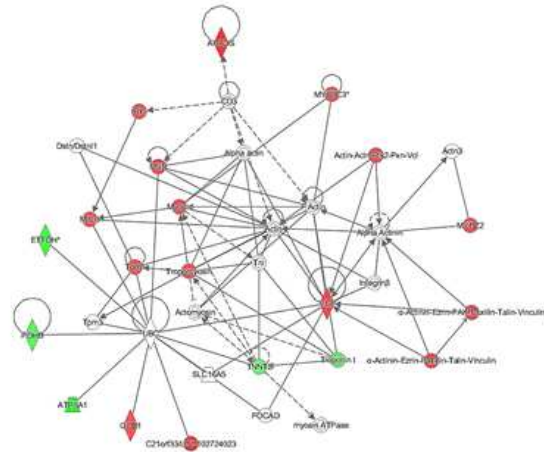
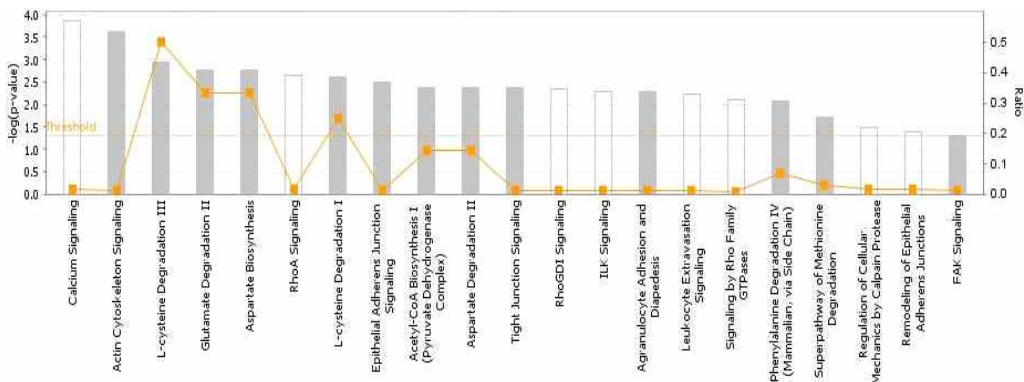


그림 85. 변화된 개별 단백질에 초점을 둔 단백질 네트워크 변화 분석 이미지

- 비허혈성 심부전 시료의 단백질 결과를 바탕으로 그림 91의 경우는 전형적인 canonical signal pathway 각 어떻게 변화하는지를 모니터링하였음. 특히 L-cysteine degradation pathway와 aspartate, glutamate biosynthesis pathway에서 많은 변화를 보임을 알 수 있었음. 차단계 연구에서 보다 세밀한 검증 연구가 요구됨.



© 2000-2015 QIAGEN. All rights reserved.

그림 86. 비허혈성 심부전 시료에서의 변화된 단백질에 바탕을 둔 canonical signal pathway의 변화 여부 모니터링 결과

- 허혈성 혹은 비허혈성 심부전 시료를 대상으로 한 단백질 결과에서 얻은 변화하는 단백질 중에 일부에 대해 western blot analysis를 통해 변화를 검증하여 보았음.
- 특히 비허혈성에서 감소하는 발현 변화를 보이는 isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2)에 대해 집중적으로 western blot 실험을 통해 검증해 보았음
- IDH2의 경우 그림 15에서 보듯이 mitochondria에 위치하며, TCA cycle에 관여하는 대표적인 효소이고, 또한 cytosol에 위치하는 IDH1과 더불어 lipid 대사에도 밀접히 관여하는 것으로 알려 있음.
- 그림 92에서 보듯이 IDH2는 비허혈성 심부전 시료에서 현격히 down-regulation되어 있음을 다시금 검증할 수 있었음. 보다 자세한 관여 기전은 차단계에 집중적으로 진행 할 예정임



그림 87. 발현 변화한 IDH2 단백질의 기능(a)과 western blot을 통한 변화 검증결과 (b)

- 현재까지의 단백질 분석과 이미지 분석 및 단백질동정을 통해서 아래 그림 93과 같은 변화하는 단백질들의 개수를 얻을 수 있었지만, 전체 단백질 126개를 각각 검증하는 것은 시간적으로나 비용적으로 과도하며, non-gel 기반의 단백질 연구와 병행하여 단백질네트워크를 규명 후에 핵심 단백질을 찾아내고자 함



그림 88. 전체단백체 분석을 통한 발현 변화 단백질 동정 개수 정리

• 허혈성과 비허혈성 심부전 동물모델에 대한 non-gel 기반의 전체 단백질 분석

- Gel 기반의 단백질 분석에서 얻는 126개의 단백질 리스트로는 총괄과제의 mRNA, miRNA 정도 등과 함께 심혈관질환 네트워크를 예측하는 데에 한계가 있으므로, 더 많은 단백체를 확보하기 위해 non-gel 기반의 단백질 분석을 수행하였음(그림 94).
- Tandem mass taq (TMT)기법을 이용하여, 각각의 시료에 표지를 한 후에, 정량적으로 분석하였음.

➤ **Non gel base analysis - Tandem mass tag (TMT)**

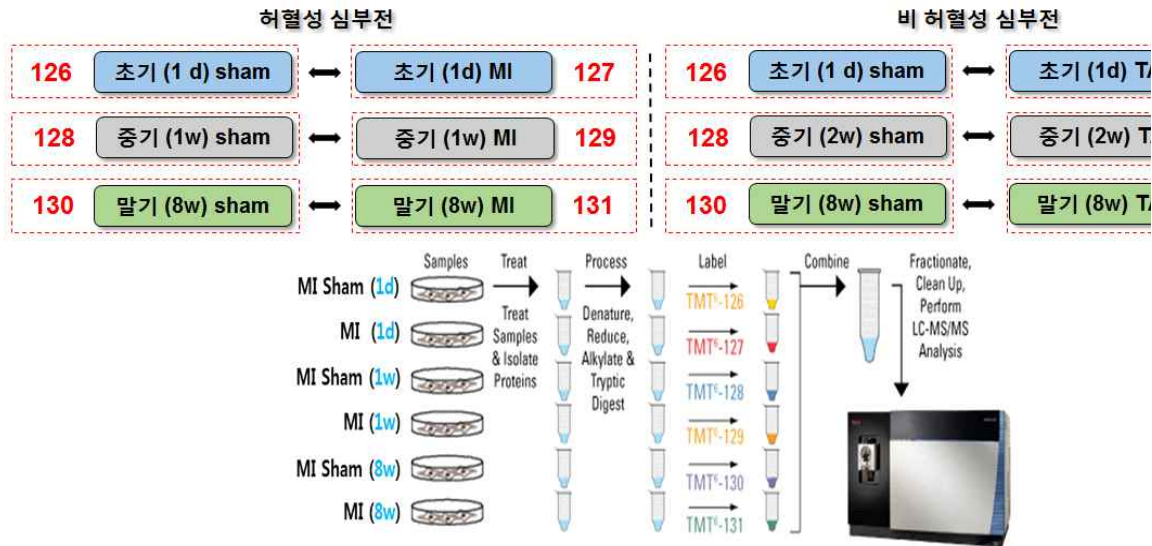


그림 89. Tandem mass tag 기법을 이용한 단백질 규명

- Non-gel 기반의 단백질 분석결과 허혈성 심부전 모델(MI) 및 비허혈성 심부전 모델(TAC)에서 각각 약 2000-3000개의 펩타이드가 동정되었으며, 그 중 1.5배 이상 증가하거나 감소하는 단백질이 약 100-200 종류, 1.3배 이상 증가하거나 감소하는 단백질이 약 400-500 종류 검출 되었음(표 4).

	MI (허혈성)			TAC (비허혈성)		
	초기	중기	말기	초기	중기	말기
1.5배 이상 증가	17	61	17	24	54	50
1.5배 이상 감소	11	93	50	15	101	62
1.3배 이상 증가	41	106	112	39	101	267
1.3배 이상 감소	64	321	119	72	291	123

표 4. Non-gel 기반 단백질 분석을 통해 동정된 발현이 변하는 단백질의 수

- 대표적인 단백질 리스트는 아래와 같음(표5-10)

Accession no.	Protein description	Protein score	MW (Da)	Peptide matches	Fold changes 1 day (1.5 <)
g 1806295	IGTP	300	54949	9	4.125
g 564731100	Chain L Crystal Structure Of Dem1-e106 Fab Bound To Dem1 Envelope Protein Dll	209	26736	5	3.964
g 3169279	larsin	71	54823	7	3.192
g 1174458	RacLamae Full-Signal transducer and activator of transcription 1	204	100201	15	2.394
g 94468197	anti-Foot-and-mouth disease virus immunoglobulin gamma heavy chain variable region	50	28409	4	2.366
g 545719891	Chain B, Murine IgG6 Bound To Toxoplasma Rop50, A Pseudokinase Gd	91	57103	11	2.198
g 17055637	guanylate binding protein 6	137	84039	8	2.114
g 21312994	mitochondrial 2-oxoglutarate carrier protein	109	38658	10	1.933
g 673450	proteasome subunit MC13	67	25552	12	1.875
g 19343851	lgbt protein	22	60306	5	1.858
g 74195628	unnamed protein product	39	51299	5	1.813
g 56998288	PREDICTED: inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase-interacting protein isoform X1	32	47523	7	1.771
g 12672284	larsin precursor	187	243653	16	1.742
g 4220346	immunoglobulin heavy chain variable region	43	16364	4	1.734
g 293736	H2D cell surface glycoprotein, partial	136	42043	10	1.726
g 226442901	la-related protein 1	90	140899	24	1.648
g 387176	alpha-1-acid glycoprotein, partial	27	19459	5	1.623
g 15029664	H2-Q10 protein	94	39766	8	1.521

표 8. 비허혈성 심부전(TAC) 초기(1일)에서의 단백질 분석 결과

Accession no.	Protein description	Protein score	MW (Da)	Peptide matches	Fold changes 1 day (1.5 <)
g 1177534	cathelin-like protein	127	23482	3	8.281
g 200904	serum amyloid A, partial	109	14594	5	7.898
g 7305453	protein S100-A8	161	12178	7	3.655
g 2570049	Prin	121	96077	24	3.616
g 130503001	serine protease inhibitor A3N precursor	392	54241	16	3.443
g 200403	plasminogen	184	104066	11	3.219
g 148683476	florigenin, alpha polypeptide, isoform CRA_a	323	98170	37	2.807
g 8753798	prothrombin precursor	80	79441	9	2.705
g 6680704	apolipoprotein C-I precursor	97	12211	6	2.468
g 148692823	inter alpha-1(I)-inhibitor, heavy chain 4, isoform CRA_c	213	115131	15	2.39
g 8850219	haatopogin precursor	146	44511	15	2.289
g 387176	alpha-1-acid glycoprotein, partial	27	19459	5	1.815
g 21426893	histone H1.5	380	37687	15	1.67
g 46309673	protein sel-1 homolog 1 isoform b precursor	97	90711	9	1.665
g 7385089	nuclear RNA helicase II/Gu	68	110489	13	1.654
g 6871501	apolipoprotein C-IV precursor	75	15367	5	1.645
g 11225384	lymphocyte-specific protein 1 isoform 2	74	42541	4	1.637
g 6879393	alpha-2-antiplasmin precursor	69	59978	4	1.632
g 2253399	vesicle associated membrane protein 2	139	14559	5	1.612
g 895636	inter-alpha-inhibitor H3 chain	72	113236	12	1.604
g 4578485	Complement component 4B (Chido blood group)	118	214485	19	1.555
g 15030153	Coiled-coil-helix-coiled-coil domain containing 9	79	36221	7	1.55
g 6678553	vesicle-associated membrane protein 3	180	13420	8	1.504
g 683481	hematopoietic specific protein 1	53	62486	8	1.5

표 9. 비허혈성 심부전(TAC) 중기(2주)에서의 단백질 분석 결과

Accession no.	Protein description	Protein score	MW (Da)	Peptide matches	Fold changes 1 day (1.5 <)
g 1177534	cathelin-like protein	127	23482	3	8.281
g 200904	serum amyloid A, partial	109	14594	5	7.898
g 7305453	protein S100-A8	161	12178	7	3.655
g 2570049	Prin	121	96077	24	3.616
g 130503001	serine protease inhibitor A3N precursor	392	54241	16	3.443
g 200403	plasminogen	184	104066	11	3.219
g 148683476	florigenin, alpha polypeptide, isoform CRA_a	323	98170	37	2.807
g 8753798	prothrombin precursor	80	79441	9	2.705
g 6680704	apolipoprotein C-I precursor	97	12211	6	2.468
g 148692823	inter alpha-1(I)-inhibitor, heavy chain 4, isoform CRA_c	213	115131	15	2.39
g 8850219	haatopogin precursor	146	44511	15	2.289
g 387176	alpha-1-acid glycoprotein, partial	27	19459	5	1.815
g 21426893	histone H1.5	380	37687	15	1.67
g 46309673	protein sel-1 homolog 1 isoform b precursor	97	90711	9	1.665
g 7385089	nuclear RNA helicase II/Gu	68	110489	13	1.654
g 6871501	apolipoprotein C-IV precursor	75	15367	5	1.645
g 11225384	lymphocyte-specific protein 1 isoform 2	74	42541	4	1.637
g 6879393	alpha-2-antiplasmin precursor	69	59978	4	1.632
g 2253399	vesicle associated membrane protein 2	139	14559	5	1.612
g 895636	inter-alpha-inhibitor H3 chain	72	113236	12	1.604
g 4578485	Complement component 4B (Chido blood group)	118	214485	19	1.555
g 15030153	Coiled-coil-helix-coiled-coil domain containing 9	79	36221	7	1.55
g 6678553	vesicle-associated membrane protein 3	180	13420	8	1.504
g 683481	hematopoietic specific protein 1	53	62486	8	1.5

표 10. 비허혈성 심부전(TAC) 말기(8주)에서의 단백질 분석 결과

(2) 허혈성과 비허혈성 심부전에서 단백질 변형 모니터링

• 허혈성과 비허혈성 심부전에서 인산화 단백질 분석

- 허혈성과 비허혈성으로 시료를 나누어 말기 시료에 집중하여 인산화 단백질 분석을 수행함
- 단백질의 인산화는 신호전달에 필수적이며, 발생, 사멸, 성장, 암, 분화 등 세포의 주요 기능과 밀접히 연결되어 있음이 오래전부터 알려져 있음
- 심부전과 단백질의 인산화 관련 연구는 아직까지 미흡한 실정이며, 본 연구에서는 ProQ diamond 라는 인산화단백질만을 특이적으로 염색하는 시약을 이용하여 인산화단백질 변화를 심부전과 연결하여 분석하여 봄
- 아래의 그림 95는 허혈성 시료의 인산화단백질 분석 대표 이미지이며, 일부 감소 및 증가하는 인산화단백질 스팟의 예시가 나타나 있음. 총 221개의 인산화 스팟이 감지되었으며, 이중 28개 인산화단백질 스팟에서 1.5 fold-change 이상의 변화가 관찰됨
- 인산화 단백질 분석을 통해서 약 200여개의 단백질들의 허혈성 심부전 말기에서의 인산화 정도 변화를 모니터링 할 수 있었음
- 비허혈성 말기 심부전 시료를 대상으로도 인산화 단백질 분석을 수행하여 아래의 그림 96과 같은 대표 이미지와 인산화 정도 변화 예시 스팟들을 볼 수 있었음
- 비허혈성 말기 시료의 경우, 총 218개의 인산화 스팟을 감지하였으며, 이 중 22개의 인산화단백질의 변화를 모니터링 할 수 있었음.

허혈성 심부전 sample

proQ staining
221개 공통 phosphoform protein spot
28개 특이 단백질 spot 확인(fold change >1.5)

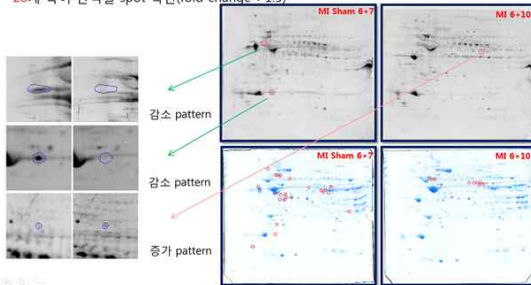


그림 90. 허혈성 말기 심부전 시료의 인산화 단백질 분석 대표 이미지 및 증,감 현상을 보이는 단백질 스팟들의 예시

비허혈성 심부전 sample

proQ staining
218개 공통 phosphoform protein spot
22개 특이 단백질 spot 확인(fold change >1.8)

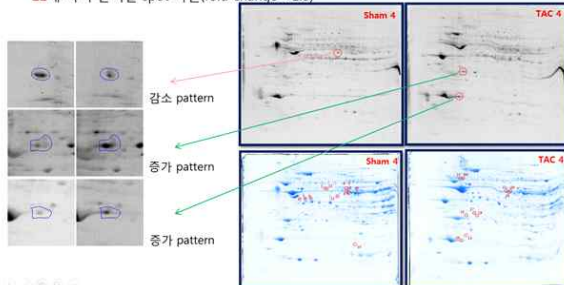


그림 91. 비허혈성 말기 심부전 시료의 인산화 단백질 분석 대표 이미지 및 증,감 현상을 보이는 단백질 스팟들의 예시

- 아래의 표 11과 표12는 허혈성과 비허혈성 말기 시료의 인산화단백질 분석 결과 변화를 보이는 인산화 단백질의 mass spectrometer를 통한 단백질 동정 결과임

Spot number	Accession number	protein Name	moscot score	function
1		unnamed		
2	gi 33563250	desmin	933	muscle development
3	gi 51455	heat shock protein 65	653	molecular chaperone
3	gi 51455	heat shock protein 65	1144	molecular chaperone
4	gi 18859641	myosin-7	408	heart development
4	gi 18859641	myosin-7	244	heart development
5		unnamed		
6	gi 12805413	Ech1 protein	464	fatty acid metabolism
7	gi 191618	alpha cardiac myosin heavy chain	690	cardiac muscle protein
8	gi 21313679	ATP synthase subunit d, mitochondrial	81	ion transport
9		unnamed		
10	gi 18700024	isocitrate dehydrogenase 3, beta subunit	335	TCA cycle
11	gi 6671762	isocitrate dehydrogenase (NAD) subunit alpha, mitochondrial precursor	200	energy transduction
11	gi 18250284	isocitrate dehydrogenase (NAD) subunit alpha, mitochondrial precursor	322	TCA cycle
12	gi 2623222	ATP synthase beta-subunit	462	ATP synthesis
13	gi 21313536	dihydrodipolysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, mitochondrial	403	
13	gi 6680748	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial precursor	328	ATP synthesis
13	gi 387090	alpha-cardiac actin	478	muscle protein
14	gi 8096783	pyruvate dehydrogenase kinase 2	200	glucose metabolism
14	gi 18152793	pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial precursor	667	glucose metabolism
15	gi 18152793	pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial precursor	1008	glucose metabolism
16	gi 6678674	L-lactate dehydrogenase B chain	255	carbohydrate metabolism
17	gi 6678674	L-lactate dehydrogenase B chain	745	carbohydrate metabolism

표 11. 허혈성 말기 시료의 인산화단백질 분석 결과 변화를 보이는 단백질 리스트

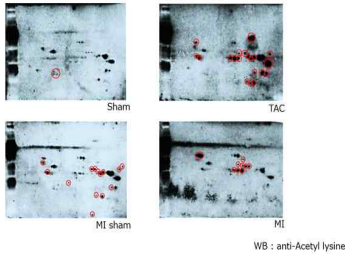
Spot number	Accession number	protein Name	moscot score	function
1	gi 13278096	Ndufs2 protein	249	mitochondrial metabolism
2	gi 18250284	isocitrate dehydrogenase (NAD) 2	306	metabolism
2	gi 18250284	isocitrate dehydrogenase (NAD) 2	284	metabolism
4	gi 18250284	isocitrate dehydrogenase (NAD) 2	299	metabolism
5	gi 6679651	beta-enolase isoform 1	452	metabolism
6	gi 13453903	Fumarate hydratase 1	168	metabolism
6	gi 6671762	creatine kinase M-type	384	glycolysis
7	gi 26095	long-chain acyl-CoA dehydrogenase	283	lipid metabolism
7	gi 6671762	creatine kinase M-type	490	energy transduction
7	gi 26095	long-chain acyl-CoA dehydrogenase	190	lipid metabolism
8	gi 387090	alpha-cardiac actin	112	cardiac muscle contraction
8	gi 273092	elongation factor Tu, mitochondrial isoform 1	725	protein biosynthesis
9	gi 6679651	beta-enolase isoform 1	671	metabolism
9	gi 273092	elongation factor Tu, mitochondrial isoform 1	222	protein biosynthesis
11	gi 13278096	Ndufs2 protein	350	electron transport
12	gi 1395624	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 10, mitochondrial precursor	353	electron transport
13	gi 21313679	ATP synthase subunit d, mitochondrial	242	ATP synthesis
13	gi 18250284	isocitrate dehydrogenase (NAD) 2	113	nucleotide metabolism
14	gi 33563250	desmin	1081	muscle development
15	gi 33563250	desmin	1259	muscle development
16	gi 524143	heat shock protein HSP27	103	molecular chaperone
18	gi 2698922	heat shock protein HSP27	219	molecular chaperone
19	gi 199985	myosin light chain 2	279	muscle protein
20	gi 29292610	Acyl-CoA thioesterase 2	595	TCA cycle
20	gi 387090	alpha-cardiac actin	213	muscle protein
21	gi 387090	alpha-cardiac actin	620	muscle protein
22	gi 387090	alpha-cardiac actin	569	muscle protein
	gi 501881	actin, alpha skeletal muscle	509	muscle protein

표 12. 비허혈성 말기 시료의 인산화단백질 분석 결과 변화를 보이는 단백질 리스트

• 허혈성과 비허혈성 심부전에서 아세틸화 단백질 분석

- 허혈성과 비허혈성 말기 시료를 pooling하여 전체 단백질의 아세틸화 변화 가능성을 분석함. Acetyl-Lys Ab를 이용하여 2-DE western blot 분석을 수행함. 아래의 그림 97에서와 같이, 심부전 시료에서 전체 아세틸화의 변화를 모니터링 할 수 있었으며, 허혈성과 비허혈성에서도 차이가 있음을 알 수 있었음. 표 13에 심부전과정에서 아세틸화가 변화하는 동정된 단백질 리스트를 일부 제시함. 차년도 연구에서 이들 단백질들에 대한 검증과 기전연구가 필요함
- 단백질의 아세틸화는 기본적으로 생체내의 에너지 상태와 밀접히 연결되어 있다고 알려져 있음. 따라서 심혈관 질환에서 단백질 아세틸화의 변화는 아마도 심혈관 질환의 원인 혹은 결과로서 심근조직 혹은 세포의 에너지 상태의 변화에 기인하는 것으로 사료됨. 따라서 이와 같은 단백질의 아세틸화를 모니터링 할 수 있다면, 심혈관 질환의 조기진단 혹은 예방에 큰 기여를 할 수 있으리라 판단됨

2DE western blot - Acetylation



Spot ID	Protein	Acc.No.	Nominal mass (Mr)	Calculated pI	Score
2	isocitrate dehydrogenase 3 (NAD+) alpha, isoform CRA_b	gi148893872	40255	6.11	498
3	L-lactate dehydrogenase B chain	gi1678674	36834	5.70	482
4	L-lactate dehydrogenase B chain	gi1678674	36834	5.70	752
5	pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial precursor	gi18152793	39254	6.41	738
6	pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial precursor	gi18152793	39254	6.41	524
7					
8	alpha-cardiac actin, partial	gi187090	42043	5.23	890
9	creatine kinase M-type	gi1671762	43246	6.58	605
10	creatine kinase M-type	gi1671762	43246	6.58	804
11	creatine kinase M-type	gi1671762	43246	6.58	737
12	Fumarate hydratase 1	gi13543801	54564	8.12	512
13					
14	medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial precursor	gi16880618	48908	8.60	292
15	creatine kinase S-type, mitochondrial precursor	gi18259206	47899	8.64	898
16	NADP-specific isocitrate dehydrogenase	gi12003362	51358	8.88	719
17	NADP-specific isocitrate dehydrogenase	gi12003362	51358	8.88	877

그림 92. 허혈성과 비허혈성 심부전 말기시료의 아세틸화 변화 패턴 분석 결과 대표 이미지

표 13. 심부전 과정에서 아세틸화가 변화하는 동정된 단백질 리스트

• 심근세포에서 대사 단백질의 인산화 및 아세틸화의 중요성

- 심근세포의 기능은 생명유지에 가장 중요하며, 따라서 거의 모든 에너지원으로부터 ATP를 생성할 수 있으며, 다양한 대사 스트레스 상황에서 에너지원이 효율적으로 전환되는 프로그램을 지니고 있음.
- 실제로, 심근세포 부피의 1/3을 미토콘드리아가 차지할 정도로 미토콘드리아의 기능이 중요함 (그림 98).

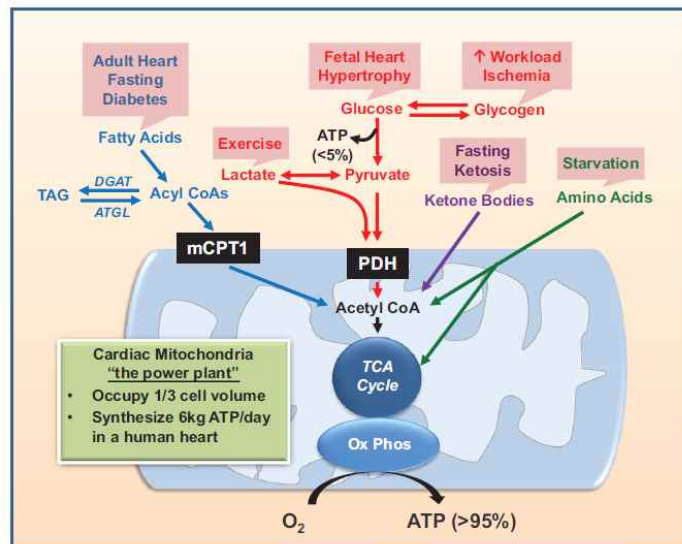


그림 93. 심근세포의 대사와 미토콘드리아

- 해당작용에 관여하는 효소의 발현이 gel 기반 및 non-gel 기반의 단백질 분석에서 검출되어, western blot을 통해 검증한 결과, 실제로 대사효소들의 발현의 변화가 크지는 않았음(그림 99).

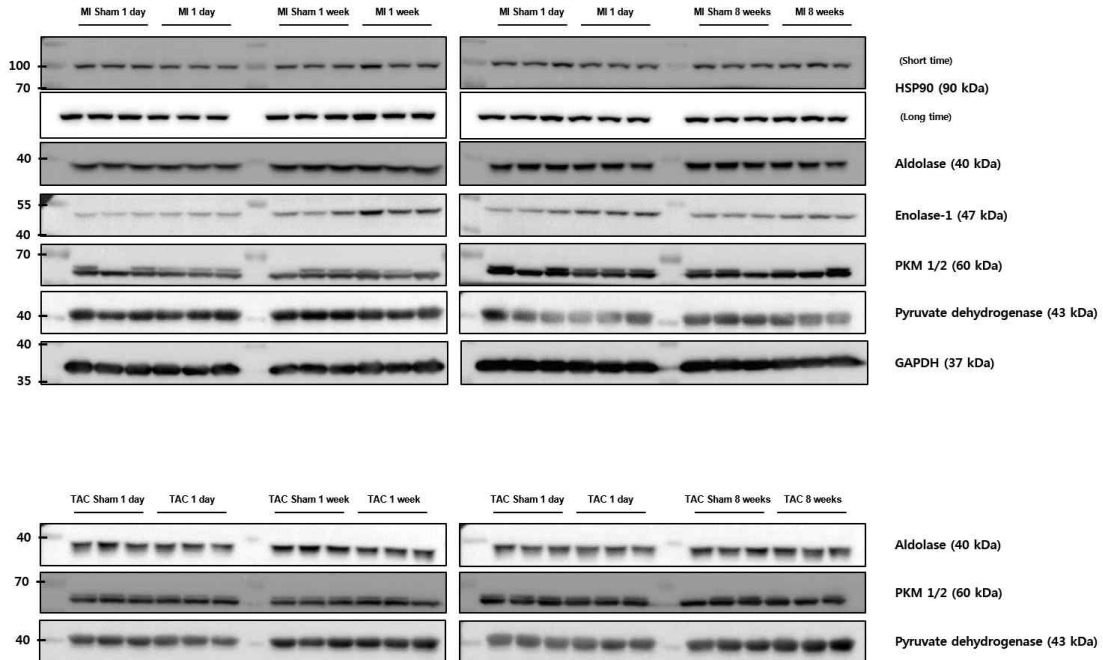


그림 94. 허혈성 및 비허혈성 심부전 동물모델 조직에서 해당작용 관련 대사효소의 발현 비교

- 대사효소들은 세포에서 중요한 역할을 수행하기 때문에, 발현 수준에서의 조절보다는 인산화, 아세틸화 등의 단백질 변형을 통해서 그 기능이 순간적으로 조절 될 가능성이 높음.
- 실제로, 인산화 및 아세틸화 단백질 분석에서도 많은 대사효소의 변형이 감지되었음.
- 해당작용과 TCA cycle의 경계에서 젖산발효를 조절하는 핵심 효소인 pyruvate dehydrogenase (PDH) 및 Lactate dehydrogenase의 인산화 및 아세틸화의 변화가 심부전 동물모델에서 감지되었음.
- 또한, TCA cycle과 amino acid 생합성 경로의 전환을 매개하는 isocitrate dehydrogenases (IDH1, IDH2, IDH3)의 인산화 및 아세틸화의 변화 또한 감지되었음.
- Ketone body와 TCA cycle의 전환에 관여하는 creatine kinase의 변형도 감지되었음.
- 추후에 PDH, LDH, IDH, Creatine kinase의 변형이 심근세포의 대사 및 심부전 질환으로의 이행에 대한 연구를 수행하고 자 함.

(3) 심근세포의 세포사멸 및 염증 조절단백질 연구

- 다양한 스트레스에 대해 발생하는 심근세포의 사멸은 궁극적으로 심부전 질환을 유도하게 됨.
- 심근세포의 사멸에는 apoptosis 뿐만 아니라 necroptosis (프로그래밍된 괴사) 및 passive necrosis (수동적으로 발생하는 괴사)가 관여함(그림 100).
- necroptosis로 죽게 되는 심근세포는 DAMP 물질들을 분비함으로써, 심장조직의 염증을 유도하게 되며, 심부전 질환의 진행을 촉진시킴(그림 101).

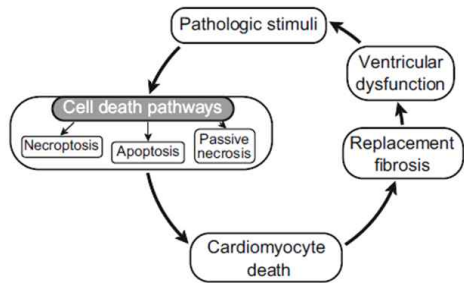


그림 95. 심부전질환과 심근세포사멸의 관계

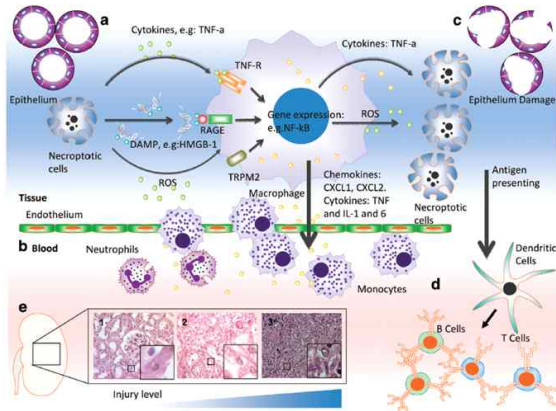


그림 96. 심근세포의 necroptosis가 심장조직의 염증반응에 미치는 영향

• 심부전 질환 모델에서 페롭토시스 세포사멸 연구

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 모델의 non-gel 기반 단백질 분석 결과 phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (GPX4)의 발현이 감소 해 있음을 확인(그림 102)

Description	MI			TAC		
	초기	중기	말기	초기	중기	말기
phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (GPX4)	0.863	0.551	1.5	0.982	0.617	1.289

그림 97. 허혈성 및 비허혈성 심부전 모델의 non-gel 기반 단백질 분석에서 GPX4의 발현

- 지질막의 인지질에 결합된 지방산들은 지속적으로 과산화(Hydroxidation)반응이 일어나게 되며, GPX4는 글루타치온(Glutathione, GSH)을 산화시킴으로써 지질의 과산화잔기(-OOH)를 알콜(-OH)로 환원시키며, 지질막의 항상성을 유지한다(그림 103).
- GPX4의 효소활성이 억제되거나, 세포 내에 GSH의 농도가 낮아 질 경우, 지질 내 지방산에 ROS가 발생하게 되며, 세포가 죽게 되는데, 이 과정에 Fe²⁺에 의한 라디칼 형성이 필수적이며, 이에 따라 iron-dependent regulated cell death란 의미로 ferroptosis라고 명명하게 됨(그림 104).
- 허혈성 및 비허혈성 심부전 모델에서 GPX4의 발현은 심근세포가 ferroptosis에 민감해졌다는 것을 의미하며, ferroptosis가 심근세포 사멸에 기여할 가능성이 있음.

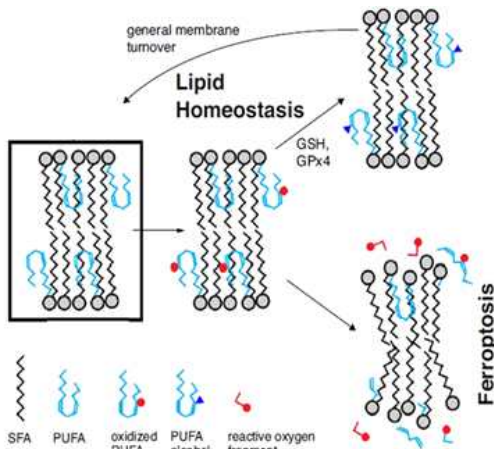


그림 98. 지질막 항상성과 Ferroptosis

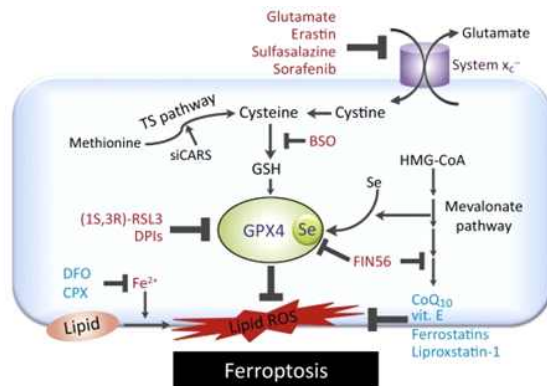


그림 99. GPX4 의 ferroptosis 억제 기능

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 모델의 non-gel 기반 단백질 분석(그림 24)에서 Gpx4의 발현 변화를 western blot을 통해 검증(그림 105).
- Non-gel 기반 단백질 분석결과와 동일하게 심부전이 진행됨에 따라 초기와 중기에서 감소했던 Gpx4의 발현이 말기에서 다시 증가 하는 것을 확인(그림 105).

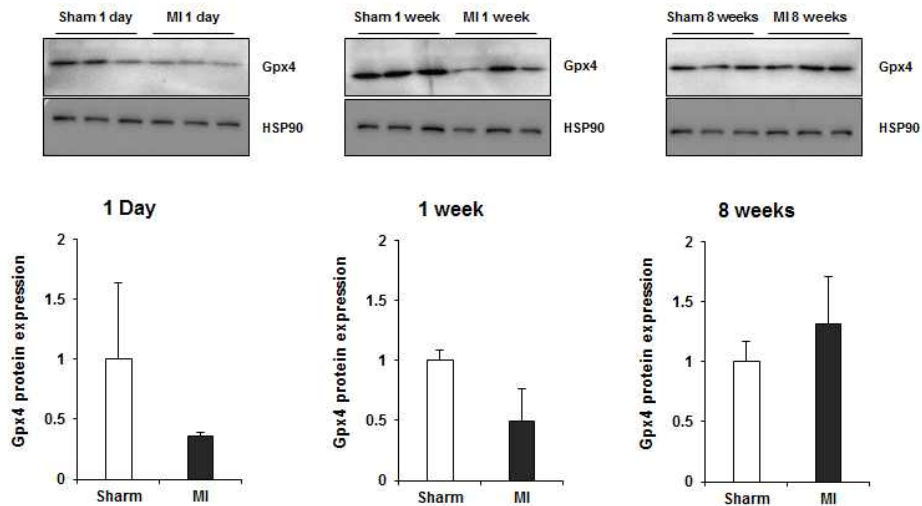


그림 100. Non-gel 기반 단백질 분석에서 확인한 Gpx4의 발현변화 양상을 western blot을 통해 검증 실시.

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 모델의 RNAseq 분석에서도 Gpx4의 발현이 감소 해 있는 것을 확인 하였고, 이를 qRT-PCR을 통해 Gpx4의 발현이 전사과정에서부터 감소 해 있는 것을 확인 (그림 106).

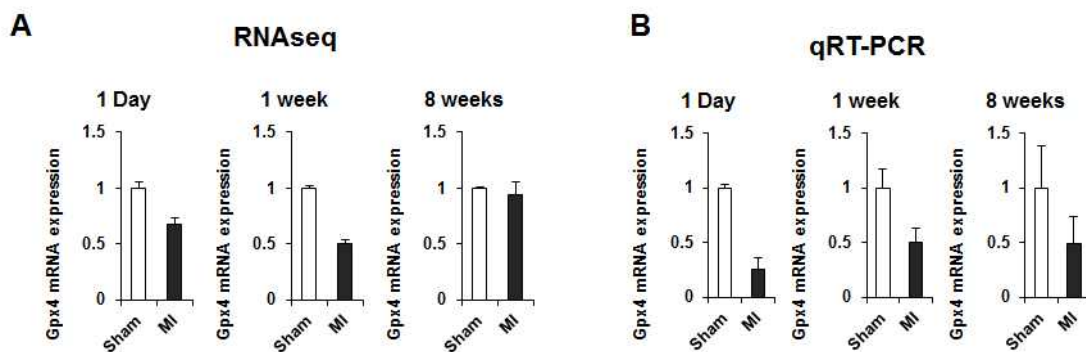


그림 101. RNAseq 분석에서 확인한 Gpx4의 발현변화 양상을 qRT-PCR을 통해 검증 실시

- Gpx4의 발현은 세포사멸의 일종인 ferroptosis의 조절에 있어 중요한 역할을 하고 있으며 단백질 분석을 통해 Gpx4의 발현이 감소되는 것을 확인하였기 때문에 심부전의 진행과 ferroptosis와의 연관성을 알아보기 위해 여러 심근 세포주를 사용하여 관찰함.
- H9C2 세포에 ferroptosis를 유도할 수 있는 RSL3를 농도별로 처리 하였을 때 농도가 높아짐에 따라 세포의 생존력이 감소함(그림 107A).
- H9C2세포에 Ferroptosis를 억제 할 수 있는 inhibitor인 ferrostatin-1 (Fer-1), lipoxstatin-1 (Lip-1)을 RSL3와 같이 처리 하였을 때 세포의 생존이 증가 하는 것을 확인 (그림 107B).
- GSH를 합성하는데 있어 중요한 cysteine을 배지로부터 제거 해 주었을 때에도 ferroptosis가 유도되는데 이때 Fer-1과 Lip-1을 같이 처리 해주면 ferroptosis에 의한 세포사멸을 억제시킬 수 있는 것을 확인(그림 107C).
- Apoptosis를 억제 할 수 있는 pan caspase inhibitor인 Z-VAD는 RSL3에 의한 세포사멸을 억

제 하지 못했으며, 따라서 RSL3에 의한 세포사멸은 apoptosis와는 무관함(그림 107C).

- Necroptosis를 억제할 수 있는 Necrostatin-1 (Nec-1)을 처리하였을 때에, RSL3에 의한 세포사멸을 일부분 감소시킬 수 있었음(그림 107C). 이는 RSL3에 의한 세포사멸이 necroptosis를 부분적으로 경유한다고 보여 짐.

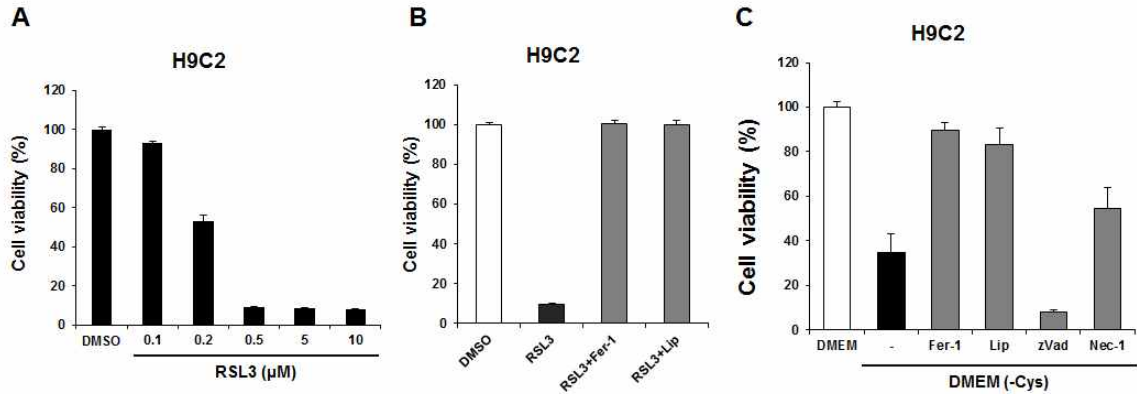


그림 102. RSL3에 의해 유도된 ferroptosis에 H9C2 세포가 민감하게 반응함.

- 보다 직접적인 검증을 위해 Neuronal Rat Ventricular Myocytes (NRVM) 세포를 분리 하여 RSL3에 대한 민감도를 관찰함.
- RSL3를 농도별로 처리 하였을 때, 농도가 증가됨에 따라 세포의 생존률을 감소시켰으나, 0.2 - 0.5 μM의 RSL3가 H9c2의 세포사멸을 유도한 반면, NRVM의 세포사멸은 2 - 5 μM의 RSL3를 필요로 함(그림 108A).
- Cysteine 결핍시에 H9c2 세포에서는 거의 모든 세포가 죽는 반면, NRVM 세포는 약 60%의 생존률을 보였음(그림 108B).
- NRVM 세포에 세포사멸을 유지하지 않는 낮은 농도 0.5 μM의 RSL3를 처리할 경우, cysteine 이 없는 배지에서 거의 모든 세포가 죽는 것을 확인하였으며, Fer-1이나 Lip-1을 처리했을 때, 생존률이 다시 증가하였음(그림 108B).
- 따라서, NRVM 세포에서 cysteine 결핍 또는 cysteine 결핍 + RSL3 처리에 의한 세포사멸이 ferroptosis 라는 것을 알 수 있음.

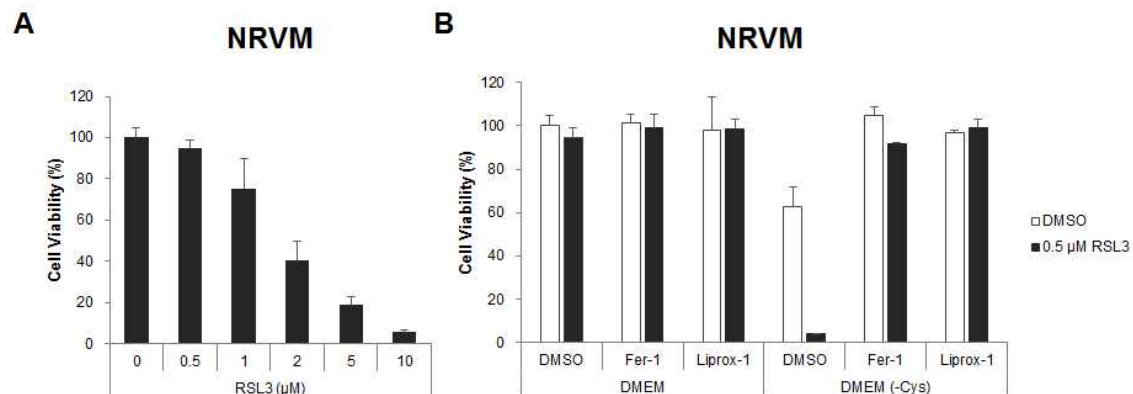


그림 103. RSL3에 의해 유도된 ferroptosis가 Neuronal Rat Ventricular Myocytes (NRVM)세포의 생존에도 영향을 주는 것을 확인.

- 위의 결과는, 허혈성 심부전 질환의 진행시에, 혈액 공급이 제한됨으로써 cysteine 결핍과 같은 상황이 생기며, 이때 Gpx4의 발현이 감소할 경우, 심근세포의 ferroptosis가 유도될 것이라는 것을 암시함.
- 따라서, 허혈성 심부전 질환에서 심근세포의 ferroptosis 세포사멸을 억제 할 수 있다면 심

부전 치료에 있어서도 긍정적인 결과를 기대 할 수 있기 때문에 직접적인 치료제로써의 적용이 가능한 새로운 ferroptosis inhibitor를 찾는 실험을 수행.

- Chemical library screening을 진행한 결과 세 가지의 chemical(#1, #2, #3)을 RSL3와 같이 H9C2세포에 처리 해주었을 때 ferroptosis에 의한 세포사멸을 거의 완벽하게 억제하였으며, 이는 ferroptosis를 억제 할 수 있는 새로운 물질로서의 가능성을 확인(그림 109).

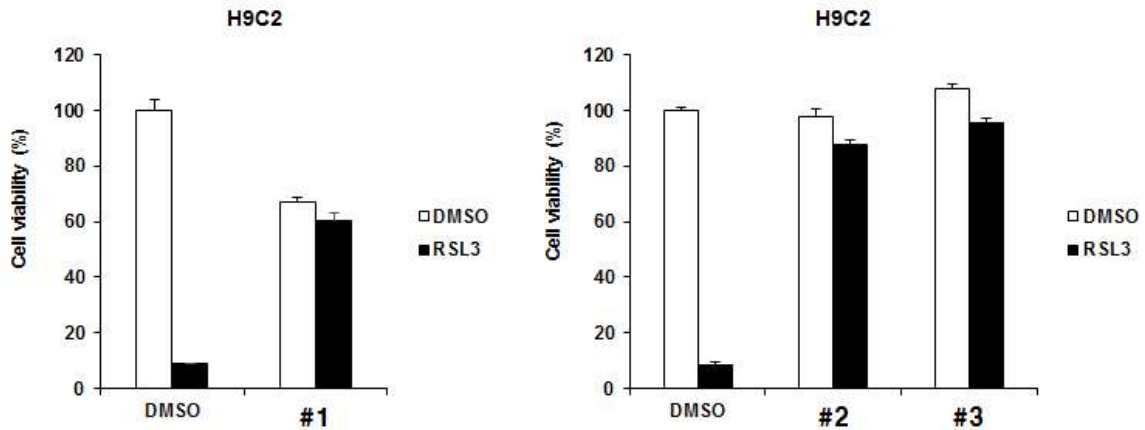


그림 104. H9C2세포에서 ferroptosis를 유도할 수 있는 RSL3와 새롭게 스크리닝 되어진 inhibitor들을 같이 처리 하였을 때 세포의 생존력이 증가되는 것을 확인

- 허혈성 심부전 동물모델에서 Gpx4의 mRNA의 발현 감소가 ferroptosis에 영향을 미칠 수 있기 때문에, Gpx4의 발현에 영향을 미치는 miRNA를 탐색하였음.
- 1 세부팀에서 수행한 miRNA-sequencing 결과를 바탕으로, 허혈성 심부전 동물모델의 초기와 중기에서 발현이 증가하는 miRNA list를 확보 하였음.
- 또한, GPX4의 mRNA와 결합이 가능한 miRNA 후보를 프로그램을 사용하여 예측하였음.
- 현재, 실제로 GPX4의 발현을 감소하는 miRNA를 찾기 위해 실험을 진행 중임.

• Annexin 단백질의 염증 조절기능 연구

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 동물 모델에서 염증관련 단백질인 Annexin A2와 Annexin A5 단백질의 발현이 유의적으로 증가함을 발견함.
- Annexin A 단백질군은 A1부터 A11까지 총 11종류가 알려져 있으며, 염증, 세포사멸, 신호전달 등의 다양한 기능을 하는 것으로 알려져 있음.
- 본 연구진은, 인간 암세포주에서 Annexin A2는 NF- κ B의 활성을 증가시키며, A4는 반대로 NF- κ B의 활성을 억제하는 것을 보고한 바 있음.
- 먼저, Annexin A2, A4, A5에 대한 siRNA smartpool을 구입하여, mouse embryonic fibroblast (MEF)에서 knockdown 효율을 확인(그림 110).
- Annexin A2를 knockdown 하였을 때, TNF에 의한 apoptosis 및 necroptosis가 증가하나, 반대로 Annexin A4를 knockdown 하였을 때, TNF에 의한 apoptosis가 지연되었고, Annexin A5는 TNF에 의한 apoptosis 및 necroptosis에 영향을 주지 않았음(그림 111).

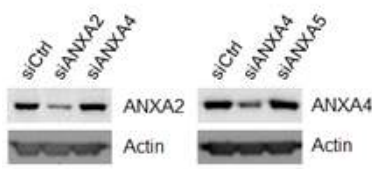


그림 105. MEF에서 Annexin A (ANXA)의 knockdown 확인.

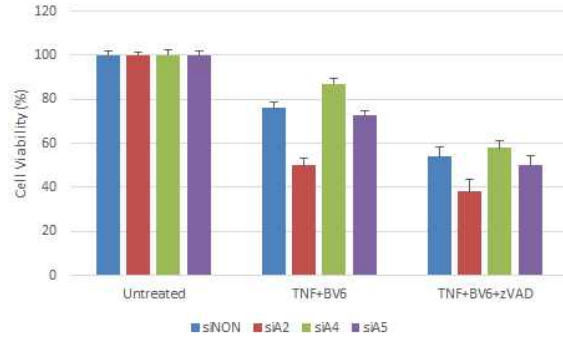


그림 106. Annexin 단백질이 TNF에 의한 apoptosis 및 necroptosis에 미치는 영향

- Annexin 단백질이 TNF에 의한 염증반응 및 세포사멸에 미치는 영향을 알아보기 위해, 관련단백질인 TRAF2, cIAP1, cIAP2와의 상호작용을 관찰 함(그림 112).
- Annexin A2는 TRAF2와 상호작용하며, TRAF2 활성이 없는 mutant와는 상호작용하지 않았으며, Annexin A2와 TRAF2 WT는 detergent-insoluble fraction에서도 잘 관찰되어, 두 단백질의 상호작용으로 인한 complex가 insoluble한 지역에서 뭉치는 것으로 기대됨(그림 113).
- 또한, TRAF2 WT의 발현시 Annexin A2의 단백질에 변형이 관찰되었음.
- TRAF2는 E3 ubiquitin ligase로 알려져 있기 때문에, 실제로 ubiquitination이 일어나는지 확인해본 결과, TRAF2 WT은 Annexin A2의 ubiquitination을 유도하지만, TRAF2 mutant의 경우는 기능이 없었음(그림 114).

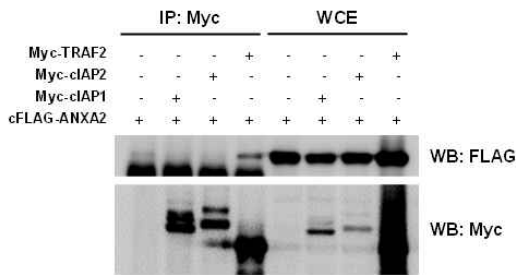


그림 107. Annexin A2와 TRAF2의 상호작용

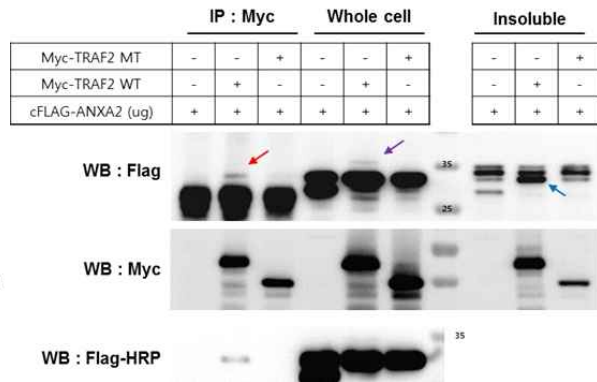


그림 108. TRAF2의 활성이 두 단백질 상호작용에 필요함

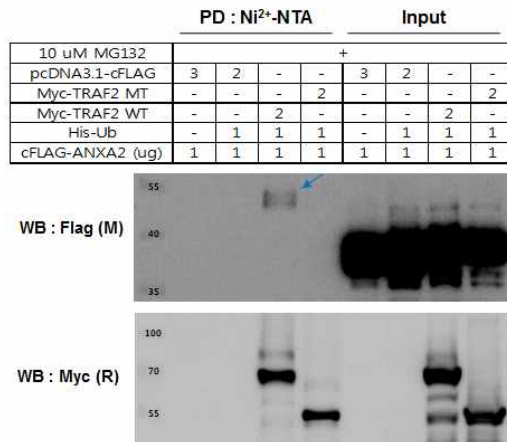


그림 109. TRAF2 단백질은 Annexin A2 단백질의 ubiquitination을 유도함

- 따라서, TNF의 자극시에 TRAF2가 Annexin A2 ubiquitination을 유도함으로써 세포사멸 및 염증반응을 조절할 것으로 예상되며, 이러한 조절작용이 심근세포의 사멸과 염증을 유도하고, 심부전으로 이행할 가능성을 보임.
- 차년도 연구에서는 TRAF2-Annexin A2 상호작용이 심부전 질환에 미치는 영향을 규명하고, 이를 조절함으로써 심부전 질환을 예방하고 치료할 가능성을 타진하고자 함.

• 허혈성 심부전 질환에서 GBP 단백질들의 역할

- 허혈성 및 비허혈성 심부전 동물 모델에서 Guanylate-binding proteins (GBPs) 단백질의 발현이 MI초기에 증가해 있음을 확인(그림 115).

	MI초기	중기	말기
guanylate-binding protein 10 [Mus musculus]	2.053	0.897	0.646
guanylate binding protein 2 [Mus musculus]	1.564	1.044	0.709
guanylate binding protein family, member 9 [Mus musculus]	1.452	0.913	0.765

그림 110. 허혈성 심부전 모델의 non-gel 기반 단백질 분석에서 GBP 단백질들의 발현

- GBP 단백질들은 박테리아나 바이러스 감염시에 인터페론에 의해서 활성화 되어, 박테리아나 바이러스를 제거하는 데 관여하는 것으로 알려져 있음.
- 따라서, 심부전 진행시에 발생하는 염증반응에 GBP 단백질이 관여 할 것으로 기대.
- GBP 단백질들이 실제로 인터페론에 의해서 발현이 증가함을 확인 (그림 116).
- 각각의 GBP 단백질들의 역할을 알아보기 위해, 각각의 GBP 단백질에 대한 4 종류의 siRNA로 된 siRNA pool을 이용하여, knockdown 여부를 검증 하였음.
- GBP2, GBP10 siRNA pool의 경우 특이적으로 GBP2의 발현을 감소시켰으며, GBP5 siRNA pool의 경우 GBP5 및 GBP10의 발현을 동시에 감소시켰음을 qRT-PCR로 확인함(그림 116).

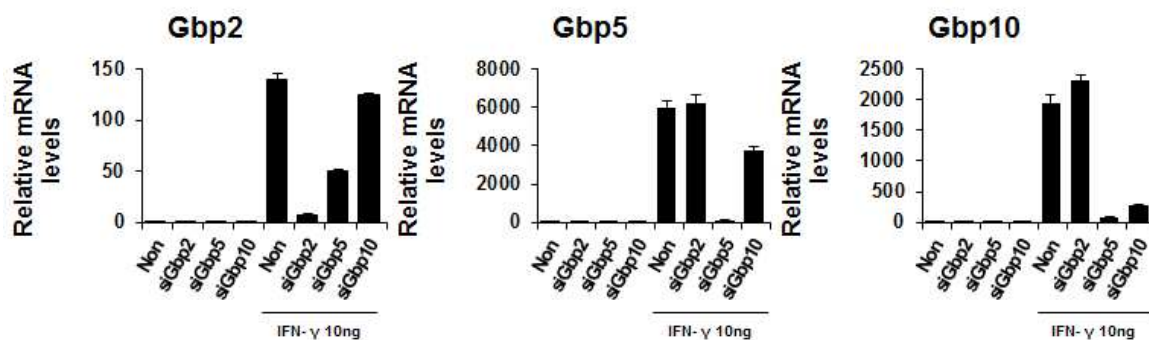


그림 111. qRT-PCR을 이용한 IFN γ 에 의한 Gbp 단백질들의 발현과 siRNA의 효과 확인



그림 112. Western blot을 이용한 IFN γ 에 의한 Gbp 단백질들의 발현과 siRNA의 효과 확인

- Western blot을 통해 GBP2의 knockdown 여부를 단백질 수준에서 확인하였으며, GBP5 siRNA의 경우 GBP5의 발현을 약간 감소시키는 데에 미쳤음(그림 117). 이는, GBP 단백질들의 유사성 때문에 GBP5외에 다른 GBP 단백질이 비특이적으로 반응 하였을 가능성이 있음.

- GBP 단백질이 $TNF\alpha$ 에 의한 cytokine 분비에 미치는 영향을 알기 위해, GBP siRNA를 처리한 후, $IFN\gamma$ 를 처리하여 GBP의 발현을 유도한 후, $TNF\alpha$ 자극을 주어 iNOS 및 $TNF\alpha$ mRNA의 양을 측정했을 때, GBP2와 GBP5의 siRNA의 경우, iNOS의 발현을 크게 감소하였으며, GBP10을 knockdown 했을 때, $TNF\alpha$ 의 발현이 크게 감소하였음(그림 118)

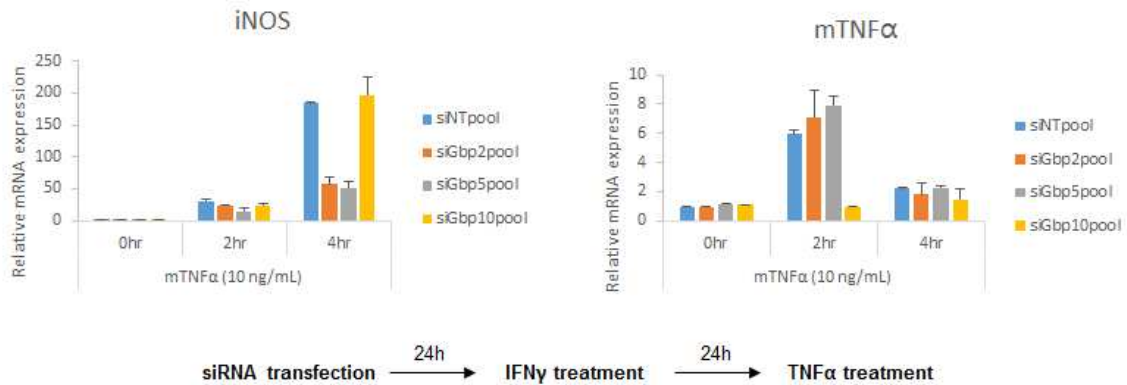


그림 113. BP 단백질들이 $TNF\alpha$ 자극에 의한 iNOS와 $mTNF\alpha$ 발현에 미치는 영향

- GBP 단백질이 $TNF\alpha$ 에 의한 cytokine 분비를 조절하는 기전을 이해하기 위해, $TNF\alpha$ 신호전달 경로에 있는 단백질의 인산화 및 분해를 측정하였음.
- $TNF\alpha$ 자극시에 15분내에 $I\kappa B\alpha$ 인산화가 일어나며, 이에 따라 $I\kappa B\alpha$ 단백질이 분해되어 NF- κB 가 활성화 되며, 이때 NF- κB 의 인산화가 검출이 됨(그림 119).
- NF- κB 가 활성화 되면, target gene인 $I\kappa B\alpha$ 의 발현이 증가하여, total $I\kappa B\alpha$ 단백질양이 30분에서 1시간 사이에 다시 증가하게 됨(그림 119).
- GBP10 siRNA를 처리한 세포에서는, $I\kappa B\alpha$ 의 인산화가 잘 안되며, 이에 따라 $I\kappa B\alpha$ 의 복구가 늦고, NF- κB 의 인산화가 지연되었음(그림 119). 따라서, GBP10의 역할은 $TNF\alpha$ 초기 단계에서 $I\kappa B\alpha$ 의 인산화를 유도하는 데에 관여 하는 것으로 보임.
- GBP5 siRNA를 처리한 세포에서는, $I\kappa B\alpha$ 의 인산화 및 분해에는 차이가 없으며, NF- κB 의 인산화가 지연되었음(그림 119). GBP5의 역할은 NF- κB 의 인산화를 유지시켜 주는 것으로 확인.
- GBP2 siRNA를 처리한 세포에서는, $I\kappa B\alpha$ 의 인산화 및 분해, NF- κB 의 인산화 모두 차이가 없었음(그림 119). 따라서, GBP2의 역할은 NF- κB 의 인산화 이후에 활성화에 관여하는 것으로 보임.

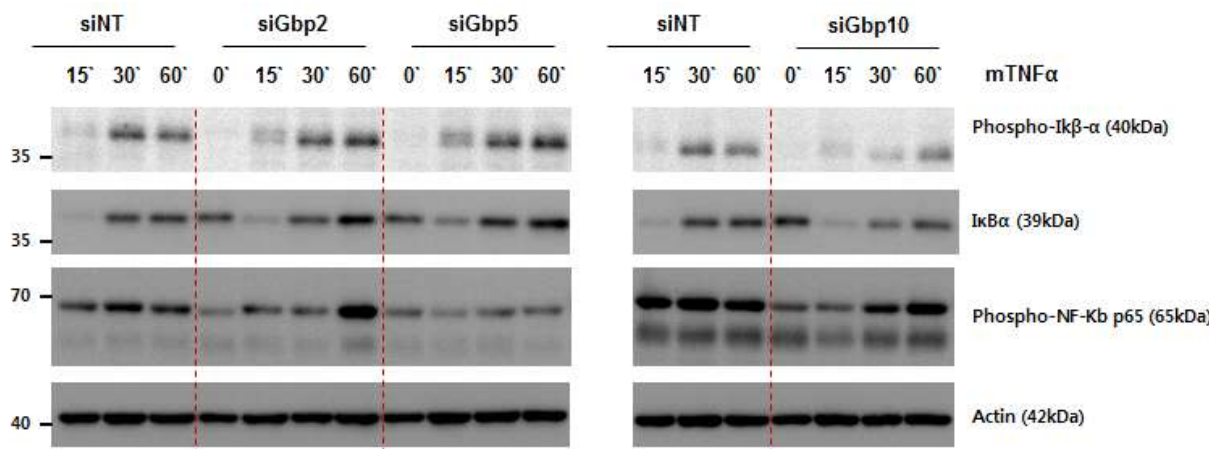


그림 114. GBP 단백질들이 $TNF\alpha$ 자극에 의한 $I\kappa B\alpha$ 인산화, $I\kappa B\alpha$ 분해, NF- κB 인산화에 미치는 영향

2-3. 제 3 세부과제

(1) 심부전 관련 신호전달경로 데이터 수집, 통합 및 실험계획

• 심부전이행과 관련된 문헌정보 및 실험데이터 수집

- 심부전 관련 대규모 데이터베이스를 구축하기 위해 심근세포의 신호전달경로에 관한 300여 편의 실험논문을 10명의 연구원이 직접 조사하여 신호전달분자들 간 상호작용 정보를 수집함. 심근세포에 여러 가지 입력신호들이 주어졌을 때의 반응들을 분자생물학 및 생화학적 실험을 통해 관찰한 문헌에 대한 정보를 일관된 형태로 표현함(표 14).
- 수집된 문헌정보 및 실험데이터를 바탕으로, 서로 다른 17가지 입력신호에 대한 심근세포의 반응을 정량적으로 분석한 5000여 건의 실험정보들을 체계적으로 정리함(그림 120).
- 수집된 실험정보들은 다음의 5가지 항목으로 일관되게 정리함. 첫째, 학회지의 이름 및 학회지의 펌메드 논문 고유 일련번호(PMID). 둘째, 실험의 대상이 되는 세포주(cell line) 및 실험동물의 종류. 셋째, 입력신호의 종류. 넷째, 시간에 따른 출력신호의 상대적인 변화의 정도. 다섯째, 생화학적 실험실 약물의 처리 순서(pretreatment 등)나 형질도입(transfection) 등의 실험조건.
- 정리된 실험정보들로부터 출력신호의 시간정보(출력신호가 최대치에 도달하거나 최대치를 유지하는 시간)를 4가지 범위(1초~1분, 1분~30분, 30분~12시간, 12시간~70일)로 분류함(그림 121A). 일례로 cAMP, RhoA는 1초~1분에, PI3K, ERK는 1분~30분에, HDAC2, ras는 30분~12시간에, Bcl2, Bad는 12시간~70일에 동작함을 확인할 수 있음.
- 정리된 실험데이터에서 출력신호의 상대적인 변화의 정도를 추출하고 이로부터 한 분자가 다른 분자에 미치는 영향력을 표준화하여 다른 실험과 비교할 수 있는 형태로 변환함.
- 실험조건, 입력신호, 출력신호 등을 바탕으로 정리된 실험데이터를 통합적으로 분석하여 심근세포내 복잡한 신호흐름을 반영한 논리적인 링크정보를 추론함. 데이터로부터 추론된 링크는 논리 게이트(logic gate), 분지(branch), 음성피드백(negative feedback), 양성피드백(positive feedback)등 다양한 네트워크 모티프를 구성하고 있음을 확인함(그림 121B).

• 수집된 대규모데이터 분석 및 네트워크 구축

- 수집된 심부전이행과 관련된 대규모 실험데이터를 숫자, 문자 및 기호로 단순화하고, 이를 매트랩(MATLAB)을 통해 거대행렬로 변환함(그림 122).
- 거대행렬을 통해 각 노드간의 활성화 및 억제 정보, 수집된 데이터의 실험 조건 및 설정 정보, 실험에 사용된 세포의 종류, 시간정보를 시각화함으로써 수집된 대규모데이터의 성격을 쉽게 파악할 수 있음(그림 123).
- 집대성된 총 5000여 건의 실험데이터 중 중복되거나 모순된 정보를 제외한 링크는 총 837개이다. 그 중 활성화 링크(부호가 양수인 링크)의 개수는 702개로 그 수가 억제링크(부호가 음수인 링크)보다 많고, 데이터의 설정 정보 상 논리적 연결 관계와 시간정보를 동시에 포함하고 있는 링크가 699개로 대다수를 차지하고 있음(그림 124A-B).
- 수집된 모든 실험데이터는 억제제 실험을 통해 유추된 두 노드들 간의 논리적 연결 관계를 포함하고 있음(그림 124C).
- 수집된 실험데이터의 75%는 Neonatal Rat Ventricular Myocytes(NRVM) 세포주를 사용한 것으로, 이로부터 대규모 심근세포 신호전달네트워크가 생물학적으로 타당하게 구축되었다고 판단됨(그림 124D).
- 다양한 종류의 데이터베이스를 통합·구축하고 실험데이터 및 문헌정보를 기반으로 주요 심근세포 신호전달경로들을 집대성하여, 이로부터 상호소통(crosstalk) 및 다양한

피드백조절을 포함하는 121개의 노드와 258개의 링크로 구성된 대규모 신호전달네트워크를 구축함(그림 125).

- 특히 본 연구에서 구축된 대규모 심근세포 신호전달네트워크는 기존의 네트워크와는 달리 세포사멸과 관련된 신호전달경로를 구체적(신호전달분자 수준)으로 포함하고 있어, 다양한 자극신호에 따른 심근세포 비대와 세포사멸 등 두 가지 표현형의 변화를 동시에 분석가능하게 함.

- 네트워크 모티프 분석결과, 구축된 대규모 심근세포 네트워크는 피드포워드 회로구조(feedforward loop), 양측팬(bi-fan) 그리고 양측평행(bi-parallel) 모티프를 포함하고 있어, 네트워크 내 다양한 방식의 조절기작을 통하여 정보처리가 이루어지고 있음을 알 수 있음(그림 126).

• 대규모 심근세포 네트워크의 동역학 시뮬레이션 방법 수립 및 분석

- 대규모 네트워크를 새로운 형태의 미분방정식 모델로 표현하여 동역학 시뮬레이션 분석을 할 수 있는 방법을 개발함(그림 127).
- 새로이 개발된 방법은 특정 노드를 활성화시키는 인자들만이 존재하는 경우, 또는 억제하는 인자들만이 존재하는 경우, 그리고 이를 활성화시키는 인자들과 억제하는 인자들이 함께 존재하는 경우 등 세 가지로 분류하여 시뮬레이션 수식을 구성함.
- 특정 노드를 활성화시키는 인자들만이 존재하는 경우는 평형상태(steady state)에서의 그 노드의 활성화도는 이를 활성화시키는 인자들의 평균값으로 결정된다. 특정 노드를 억제하는 인자들만이 존재하는 경우는 이 노드의 활성화도는 평형상태에서의 최대 활성화도와 억제하는 인자들의 평균값과의 차이로 결정된다. 마지막으로 특정 노드를 활성화시키는 인자들과 이를 억제하는 인자들이 동시에 존재하는 경우는 두 상반된 인자 그룹의 활성화도간 비율에 따라 결정됨.
- 개발된 방법의 생물학적 특성을 검증하기 위해 이미 알려진 2개 및 3개의 노드로 구성된 총 20개의 네트워크 모티프 구조를 대상으로 시뮬레이션 분석을 수행함(그림 128).
- 네트워크 모티프 구조를 대상으로 한 시뮬레이션 분석결과 신호의 전달(signal transduction, motif6), 신호의 분지(branch, motif7), 논리 게이트(logic gate, motif8) 등의 간단한 구조의 특징뿐만 아니라 일관성 피드포워드회로구조(coherent feedforward loop, motif11)에서 나타나는 신호의 지연효과 및 비일관성 피드포워드회로구조(incoherent feedforward loop, motif12)에서 보이는 펄스형성효과(pulse generator) 역시 성공적으로 표현할 수 있음을 확인함(그림 129).
- 대규모 심근세포 신호전달네트워크의 동역학 시뮬레이션 분석을 통해 심근세포 생리를 조절하는 17가지 입력신호에 따른 심근세포 표현형의 변화를 분석함.
- 시뮬레이션 분석결과, 심근세포에 가해질 수 있는 다양한 입력신호(isoproterenol, norepinephrine, phenylephrine, IGF1, EGF, endothelin1, angiotensinII 등)에 따라 심근세포사멸(apoptosis of cardiomyocyte) 및 세포비대(hypertrophy) 등의 표현형의 변화가 상이하다는 것을 확인함(그림 130).
- 구체적으로 TGF-beta, FGF, IL6, TNF-alpha의 자극이 심근세포에 주어진 경우, 세포사멸이 아닌 세포비대만이 유발되고, isoproterenol 또는 norepinephrine의 자극이 주어진 경우에는 비교적 낮은 칼슘 활성화도에 대해서도 심근세포사멸과 세포비대가 함께 일어남을 관찰함.
- 대규모 심근세포 신호전달네트워크를 대상으로 17가지 입력신호를 각각 처리한 후, 심장 약물(칼슘억제제 혹은 Ras억제제)의 효과에 대한 가상 시뮬레이션분석을 진행함. 시뮬레이션 분석결과 칼슘억제제는 세포비대에 비하여 세포사멸을 상대적으로 강하게 억제하였으며, 이러한 효과는 isoproterenol과 norepinephrine의 자극신호가 주어졌을 경우 가장 뚜렷하게 나타남(그림 131). 이에 반해 Ras억제제는 세포사멸에 비해 세포비대를

상대적으로 강하게 억제하는 것을 알 수 있음(그림 132).

- 수집된 대규모 실험데이터와 구축된 네트워크에서의 동역학 시뮬레이션 결과를 비교함.
- 비교결과 대규모 실험데이터로부터 논리적 개연성을 확인할 수 있는 총 411개의 링크 중 405개의 링크(98.54%)가 시뮬레이션 상에서 재현되는 것을 확인하였고, 이로써 구축된 네트워크가 실험적 사실을 잘 반영하고 있음을 검증함(표 15).

(2) 핵심 심근세포 신호전달네트워크 구축

• 핵심 심근세포 신호전달네트워크 구축을 위한 실험데이터 재구성

- 핵심 심근세포 신호전달네트워크 구축을 위해 현재까지 수집된 대규모 실험 데이터베이스를 일관된 형태로 표준화하여 활용가능한 정보로 재구성함. 수집된 정보 중에서 심근세포 혹은 심근세포와 밀접하게 연관된 세포에서의 실험결과만을 입력신호, 출력신호, 정량적 효과, 관찰 시간 등의 항목을 기준으로 체계적으로 표현함(표 16).
- 핵심 신호전달 네트워크에 활용가능한 정보를 일관성있게 표현하기 위하여 논문, 실험조건, 입력, 출력으로 단순하게 구분된 플랫폼을 개발함. 서로 다른 문헌에서도 일관된 결과를 보이는 실험결과를 우선적으로 활용할 수 있도록 설정함.
- 재구성된 데이터베이스를 이루는 각각의 실험 대상이 된 세포주의 종류를 종합하여 분석함. 결과상, NRVM(neonatal rat ventricular myocyte)가 300건 이상으로 가장 많이 관찰되었고, 세부조직이 표기되지 않은 심근세포주들도 다음으로 많은 부분을 차지하고 있음을 확인함(그림 133A).
- 재구성된 데이터베이스를 이루는 각각의 실험에서 사용된 입력신호의 종류를 종합하여 분석함. 결과상, isoproterenol, phenylephrine, angiotensin II 등 심근세포의 사멸 및 비대를 일으키는 것으로 알려진 자극원이 대부분을 이루고 있음을 확인함. 또한 transfection 등의 기법을 활용한 입력신호를 통해 세포 내 분자들간의 상호작용을 탐구한 실험도 다수 포함되어 있음을 확인함(그림 133B).
- 재구성된 데이터베이스를 이루는 각각의 실험에서 사용된 출력신호의 종류를 종합하여 분석함. 결과상 세포 내의 주요 인산화 효소(ERK1/2 등) 및 전사인자(ANP, BNP 등)를 관찰한 실험이 다수 포함되어 있음을 확인함(그림 133C).
- 추출된 핵심 심근세포 신호전달네트워크 구축을 위한 정보 중 출력 분자가 최대치에 도달하거나 최대치를 유지하는 시간을 일괄적으로 추출하여 경향성을 분석함. 결과상, 입력신호가 세포 내부 인산화효소의 활성도를 변화시키는 작용은 비교적 짧은 시간동안 일어나는 반면 세포의 표현형을 결정하는 전사인자의 활성도는 충분히 긴 시간에 걸쳐 서서히 변화하는 것을 확인함(그림 134).
- 개별 실험별로 실험조건 및 입력을 체계적으로 확인하여 서로 다른 실험에서 공통적으로 발견되는 링크를 추출함.

• 핵심 심근세포 신호전달네트워크 구축을 위한 대규모 신호전달 네트워크 분석

- 대규모 신호전달네트워크가 위상학적으로 PKA 신호전달 경로, PI3K 신호전달 경로, 칼슘 신호전달경로 및 MAPK 신호전달 경로 등의 핵심 모듈들로 구성되어 있음을 확인함[참고 문헌 1](그림 135).
- 대규모 신호전달네트워크로부터 핵심 심근세포 신호전달네트워크를 추출해 내기 위해 동역학 분석을 시행함. 이를 위해 대규모 신호전달네트워크의 동역학적 특성을 효율적으로 분석할 수 있는 시뮬레이션 기술을 개발함[참고 문헌 2-3].
- 대규모 신호전달네트워크를 대상으로 자극에 따른 표현형의 변화에 대한 시뮬레이션 분석을

수행함. 자극에 따라 특징적인 세포사멸과 세포비대의 표현형이 유도됨을 확인하고, 표현형 변화의 패턴에 따라 자극을 3가지 그룹으로 분류함(그림 136).

• **핵심 신호전달네트워크 구축 및 핵심 심근세포 신호전달네트워크 분석을 위한 방법론 수립**

- 재구성된 데이터베이스에서 추출된 서로 다른 실험조건에서도 공통적으로 작동하는 링크와 대규모 신호전달 네트워크의 분석결과를 활용하여 심근세포의 병적 표현형을 결정하는 데 주요한 역할을 담당하는 분자들을 중심으로 59개의 노드와 74개의 링크로 구성된 핵심 신호전달 네트워크를 구축함(그림 37). 분석에서 확인된 핵심 모듈(PKA 모듈, MAPK 모듈, Calcium 모듈 등)이 구축된 핵심 네트워크의 중심 구조를 이루고 있음.
- 핵심 신호전달네트워크의 분석을 위한 단계적 방법론을 개발함. 먼저 59개의 노드로 구성된 네트워크는 259가지의 가능한 상태 조합이 가능하지만, 모든 상태를 고려하는 것은 현실적으로 불가능하므로 확률 전이 행렬 자체에 임계값을 설정하여 희소 행렬(sparse matrix)의 형태로 변환함. 다음으로 구축된 희소 행렬의 열벡터의 합을 계산하여 도달할 수 없는 상태(unachievable state)를 정의하여 이를 제거함. 축소된 확률 전이 행렬을 기반으로 하여 포텐셜 에너지를 계산하고 계산된 에너지가 수렴하는지 확인함. 마지막으로 임계치에 따른 어트랙터(attractor)의 기저 크기(basin size)의 분포를 비교하여 결과가 임계치에 따른 결과의 차이가 허용할 만한 수준인지 확인함(그림 138). 수립된 방법론은 핵심 심근세포 신호전달네트워크 이외에 Yeast cell cycle네트워크를 대상으로 한 분석에서도 합리적인 결과를 도출함을 확인하여 일반적인 네트워크 분석에 광범위하게 활용될 수 있음을 검증함(그림 139).

• **핵심 베타수용체 신호전달네트워크에 대한 정밀한 수학 모델구축 및 대규모 시뮬레이션 분석**

- 베타수용체 신호전달경로는 심근세포의 생존을 촉진하지만 동시에 심근세포의 사멸을 유도하기도 하여 심장독성을 유발하기도 함. 구축된 핵심 신호전달네트워크를 기반으로 세포의 운명을 결정하는 데 중요한 역할을 담당하는 베타 수용체 신호전달경로에 대한 정밀한 수학 모델을 구축함[참고 문헌 4](그림 143).
- 세포의 운명결정과정(증식/사멸/생존/비대 등)을 조절하는 핵심분자스위치를 규명하고 제어기술을 개발함[참고 문헌 5-6]
- 개발된 세포운명결정과정 제어기술을 활용하여 ERK 신호전달경로와 ICER 신호전달경로가 매개하는 피드포워드회로가 심근세포의 생존과 사멸을 결정하는 핵심 분자스위치임을 밝힘(그림 144).
- 약한 베타수용체의 자극에 대해서는 ERK 신호전달경로가 활성화되고 이로 인하여 Bcl-2 단백질의 발현량이 증가되어 심근세포의 생존이 촉진되지만, 강한 베타수용체의 자극에 대해서는 ICER 신호전달경로가 활성화되고 Bcl-2 단백질의 발현량이 감소하게 되어 심근세포의 사멸이 유발된다는 사실을 확인함.
- 베타차단제의 작동원리를 밝히기 위한 추가적인 분석을 수행함. 결과상, 심근세포에 베타1차단제를 처리하였을 때 강한 베타수용체 자극에서의 Bcl-2 발현량이 증가하고 이로 인하여 심근세포의 생존율이 향상되어 세포보호효과가 일어남을 확인함(그림 145).

• **심근세포의 핵심 신호전달네트워크에 대한 자체적인 분자세포생물학 실험 수행**

- 심근세포의 핵심 신호전달네트워크에 대한 자체적인 분자세포생물학 실험을 수행함. 구체적으로 심근세포의 사멸에 과산화수소와 isoproterenol이 함께 미치는 영향을 밝히기 위한 정밀한 세포실험을 수행함. 정상 배지상태에서 과산화수소 단독, isoproterenol 단독, 그리고 과산화수소와 isoproterenol을 함께 처리한 세 가지 경우에 대하여 심근세포의 사멸정도를 반복적으로 측정하여 확인함. 결과상, 과산화수소에 의해서 유도되는 심근세포의 사멸이 isoproterenol에 의해 저해됨을 확인함(그림 146). 심근세포의 사멸정도는 세포의 형태변화를 기준으로 판단함(그림 147).
- 과산화수소와 isoproterenol이 심근세포의 사멸에 시간에 따라 미치는 영향에 대한

분자생물학 실험을 수행함(실시간 세포 이미징 시스템인 IncuCyte ZOOM을 활용함). 결과상, 낮은 농도의 과산화수소를 처리한 경우, 세포의 사멸이 시간에 따라 달라지는 것을 확인함. 구체적으로 과산화수소를 처리한 후 48시간 이후에는, 과산화수소에 의한 세포사멸을 isoproterenol이 저해하지만, 그 이후에는 isoproterenol을 추가적으로 처리한 경우 오히려 세포사멸이 유발되고 과산화수소 단독으로 처리한 경우 다시 세포증식이 유도됨을 확인함(그림 148).

(3) 핵심 심근세포신호전달네트워크에 대한 미분방정식 모델 개발

• 핵심 심근세포신호전달네트워크에 대한 미분방정식 모델 개발

- 심근세포의 생리 및 심부전이행 과정의 메커니즘을 심층적으로 탐구하기 위하여 핵심 심근세포 신호전달네트워크에 대한 표준화 미분방정식 모델을 개발함(그림 149).
- 핵심 심근세포 신호전달네트워크는 59개의 노드와 75개의 링크로 구성됨. 표준화 미분방정식 모델에서 각 노드의 활성화도는 0과 1사이의 값을 가짐.
- 300여편의 논문들에서 수집된 5500개의 실험정보들을 바탕으로 개별 노드들 간 상호작용을 모사하는 서로 다른 선형(linear), 포화형(saturating), 가속형(accelerating), 힐형(Hill equation) 등 총 4가지 형태의 미분방정식 모델을 수립함(그림 150).
- 다양한 파라미터세트들에 대한 수학적시뮬레이션분석을 통하여 핵심 심근세포 신호전달네트워크의 표준화 미분방정식 모델이 실제 실험적 사실을 잘 반영하고 있음을 확인함(그림 151).

• 핵심 심근세포 신호전달네트워크의 미분방정식 모델 분석을 위한 방법론 수립

- 개별 심근세포 간 이질성에 영향을 받지 않는 심부전이행의 핵심 메커니즘을 분석하기 위하여 미분방정식 모델을 구성하는 파라미터들의 분포특성에 기반한 섭동분석법(perturbation analysis)을 개발함.
- 섭동분석법의 수행절차는 다음과 같음(그림 152).
 1. 문헌 정보 및 데이터베이스로부터 수집된 실험데이터를 기반으로 심근세포 신호전달네트워크를 구축하고 (Step 1) 4가지 형태의 표준화 미분방정식을 활용하여 심근세포 신호전달네트워크에 대한 수학모델을 개발함(Step 2).
 2. 개별 심근세포의 이질적인 생물학적 특성을 모델에 반영하기 위하여 4가지 형태의 미분방정식 모델 각각에 대한 백만 개의 파라미터세트를 균등분포에 따라 추출함(Step 3).
 3. 균등분포에 따라 추출된 백만 개의 파라미터세트들에 대한 모델시뮬레이션 분석을 통하여(Step 4) 심부전을(상위 10%의 심근세포 비대 혹은 사멸) 유발하는 파라미터세트들을 수집하고 이들을 심부전이행 파라미터세트라고 명명함(Step 5). 이 때 심근세포의 비대와 사멸은 각 심근세포의 생리를 조절하는 핵심 단백질들의 활성화도로 결정됨(세포비대의 경우 NFAT, MEF2, GATA4가, 세포사멸의 경우 CREB, CaMK, ERK1/2, JNK, p38이 각 세포상태를 대표하는 마커단백질로 사용됨). 심부전이행 파라미터세트들에서 특정 파라미터가 보이는 분포특성을 심부전이행 주변분포라고 명명함.
 4. 각 파라미터의 심부전이행 주변분포를 분석함. 일례로 파라미터 P1의 심부전이행 주변분포와 같이 심부전이행 파라미터세트 내에서 이 파라미터가 작은 값을 가지는 빈도수가 높을 경우, 이 파라미터의 생물학적 역할은 심부전이행과 음의 상관관계를 가진다고 생각해 볼 수 있음(Step 6A). 또한 파라미터 P2의 심부전이행 주변분포처럼 중간값을 가지는 빈도수가 높을 경우, 이 파라미터의 값이 높거나 혹은 낮을 때에는 그 생물학적 역할이 심부전이행과 밀접한 관련이 없다는 것을 의미함(Step 6B). 그리고

파라미터 P3의 경우처럼 균등분포(점선)와 유사한 주변분포 특성을 보이는 경우에는 이 파라미터가 어떠한 범위값에서도 심부전이행과는 밀접한 관련이 없음을 의미함(Step 6C).

5. 심근세포의 비대와 사멸을 유발하는데 있어서 일관된 주변분포 특성을 보이는 파라미터를 동정함. 세포비대와 사멸에 대하여 상반된 주변분포 특성을 보이는 파라미터의 경우 세포비대와 사멸을 동시에 효과적으로 조절하는 치료타겟으로서 적합하지 않음.
6. 심부전이행에 대하여 개별 파라미터가 갖는 영향력을 분석함. 이를 위해 균등분포에 따라 추출된 백만 개의 파라미터세트들에 특정 파라미터의 주변분포 특성을 반영한 후(Step 7) 심부전이행 여부의 변화를 시뮬레이션 분석을 통해 관찰함(Step 8).
7. 특정 파라미터의 주변분포 특성이 반영되었을 때 심부전 관련 파라미터세트의 수가 전체 파라미터세트 중 10% 이상을 차지하는 경우, 이 파라미터를 잠재적으로 효과적인 심부전 치료타겟으로 고려함(그림 153).

• 시뮬레이션 분석에 기반한 심부전이행 과정의 메커니즘

- 복잡한 심근세포 신호전달네트워크 내 심부전 이행과정을 분석하기 위하여 아래와 같은 4가지 기준을 마련하였고, 이들 기준을 모두 만족하는 파라미터를 개별 심근세포 간 이질성(미분방정식의 4가지 형태와 랜덤모델 파라미터로 반영됨)에 상관없이 일관되게 심근세포의 사멸과 비대를 조절하는 핵심 상호작용으로 제안함.
 1. Non-uniform association 분석: 먼저 심부전이행 파라미터세트 내에서 4가지 형태의 표준화 미분방정식 모델 간 일관된 경향성의 주변분포를 지닌 가운데 균등분포(녹색 점선)와는 유의한 차이(이를 non-uniform association이라고 정의함)를 보이는 파라미터를 조사하였고 전체 37개의 파라미터 중 18개가 이에 해당되었음(그림 154).
 2. Non-inverse association 분석: 파라미터 Pm1, Pm28, 그리고 Pm30 등의 경우, 세포비대와 사멸에 대하여 상반된 주변분포 특성(이를 inverse association이라고 정의함)을 보임. 일례로 리간드-베타수용체 간 상호작용을 모사하는 Pm1의 경우, 그 주변분포가 심근세포비대와는 양의 상관관계를 가지지만 심근세포사멸과는 음의 상관관계를 가짐. 이는 즉 Pm1을 억제함으로써 심부전을 치료하고자 하는 경우, 심근세포비대는 감소하지만 오히려 심근세포사멸이 증가하게 되고, 반면 Pm1의 값을 증가시키므로써 심부전을 제어하고자 하는 경우에는 심근세포사멸은 감소하지만 오히려 심근세포비대가 증가하는 결과를 초래함. 이와 같이 심근세포비대와 사멸에 대하여 상반된 주변분포 특성을 보이는 파라미터들은 세포비대와 사멸을 동시에 효과적으로 조절하는 신호전달메커니즘이 아님을 확인함(그림 154).
 3. Inducing relationship association 분석: 개별 파라미터의 주변분포가 심부전이행에 미치는 영향력을 분석함. 이를 위해 균등분포에 따라 추출된 백만 개의 파라미터세트들에 각각의 파라미터의 주변분포 특성을 각각 반영한 후 심부전이행 여부의 변화(심근세포의 비대 혹은 사멸)를 시뮬레이션 분석을 통해 관찰함. 이 때 특정 파라미터의 주변분포가 심부전이행을 증가시키는 경우 이 파라미터가 inducing relationship association 특성을 보인다고 정의함(그림 155A, C).
 4. Suppressing relationship association 분석: 개별 파라미터의 역주변분포(균등분포에 대하여 대칭이동된 주변분포)가 심부전이행에 미치는 영향력을 분석함. 이를 위해 균등분포에 따라 추출된 백만 개의 파라미터세트들에 각각의 파라미터의 역주변분포 특성을 각각 반영한 후 심부전이행 여부의 변화(심근세포의 비대 혹은 사멸)를 시뮬레이션 분석을 통해 관찰함. 이 때 특정 파라미터의 역주변분포가 심부전이행을 감소시키는 경우 이 파라미터가 suppressing relationship association 특성을 보인다고 정의함(그림 155B, D).
- 위 4가지 조건을 모두 만족하는 파라미터는 37개의 파라미터 중 Pm7, Pm10, Pm12, Pm16, Pm17 등 총 5개임(표 17). Pm7은 alpha-adrenergic receptor와 Galphaq subunit 간

상호작용을, Pm10은 IP3-Calcium간 상호작용을, Pm12는 Calmodulin-CaMK간 상호작용을, Pm16은 Calcineurin-NFAT 간 상호작용을, 그리고 Pm17은 p38-NFAT간 상호작용을 의미함. 위 시뮬레이션 결과로부터 이들 신호분자들 간 상호작용이 세포 간 이질성에 영향을 받지 않는 가운데 심근세포비대/사멸을 효과적으로 제어할 수 있는 치료타겟으로 제안될 수 있음을 확인함.

• 대규모 컴퓨터 시뮬레이션을 통한 심장질환에 사용되는 약물의 섭동효과 분석

- 심부전을 효과적으로 억제할 수 있는 최적치료타겟을 발굴하기 위하여 컴퓨터 시뮬레이션 기반의 약물표적 효능예측 기술을 개발함[참고 문헌 7-9].
- 약물표적 효능예측 기술을 활용하여 심장질환에 사용되는 약물의 심부전 치료효과를 분석함. 시뮬레이션 결과, 심근세포에 가해지는 다양한 자극원에 따라 심부전이행을 효과적으로 제어하는 치료전략이 달라짐을 확인함(그림 156, 표 18).
- 일례로 Akt 억제제의 경우 ISO, NE, FGF, IL-6, TGF-beta, AngII, ET-1, PE 등에 의해 유발되는 심근세포 비대 모두를 효과적으로 억제할 수 있으나, PDE5 억제제의 경우 AngII, ET-1, PE 등에 의해 유발되는 심근세포 비대만을 효과적으로 제어할 수 있음.

(4) 핵심 신호전달네트워크를 기반으로 정밀한 수학적모델 구축

• 심부전 관련 심근세포 신호전달네트워크 구축

- Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) 그리고 PID(Pathway Interaction Database) 등을 포함한 여러 다양한 문헌/데이터베이스 정보를 통합·활용하여 심부전 관련 대규모 심근세포 신호전달네트워크를 구축하였음[참고 문헌 10].
- 이 네트워크는 17개 입력 노드(PGE2, ET1, AngII, NE, PE, CT1, LIF, EGF, NRG1, HGF, VEGF, IGF1, FGF, TGF β , ECM, IL, and TNF α) 및 15개 출력 노드(cFos, ATF2, COX-2, CREB, eIF4E, BNP, NFAT, α MHC, ANP, cJun, β MHC, GATA, MEF2, eIF2B, and Casp3)를 포함한 141개 노드 그리고 289개 링크로 구성됨(그림 157, 표 19).
- 심근세포 신호전달네트워크에 포함된 입력 노드들은 심근세포의 외부에서 세포 내부로 신호를 전달하여 적절한 세포 반응을 생성하는 하단 부 신호전달 경로를 활성화시키는 다양한 외부 자극을 나타냄(그림 157, 표 19). 구축된 네트워크에는 α - or β -AR, Ca, cGMP-PKG, MAPK, PI3K-Akt, TGF β , Src-FAK, JAK-STAT, TNF α , 그리고 NFkB 경로(pathway) 등 현재까지 보고된 주요 심근세포 내 여러 신호전달 경로를 포함함.
- 심근세포 신호전달네트워크의 출력 노드 중 Casp3는 세포 사멸의 지표로, 나머지 14개의 출력 노드(cFos, ATF2, COX-2, CREB, eIF4E, BNP, NFAT, α MHC, ANP, cJun, β MHC, GATA, MEF2, 그리고 eIF2B)는 세포 비대의 지표로 사용됨(그림 157, 표 20).

• 심근세포 신호전달네트워크에 대한 수학적모델

- 약물처치에 따른 질병세포의 동역학적 특성을 효과적으로 분석할 수 있는 논리형 수학적모델링 기법을 개발함[참고 문헌 11-12].
- 불리언 네트워크 수학적모델에서 각각의 노드의 상태 값은 활성도를 나타내며 활성화/비활성화 상태는 각각 1과 0으로 반영됨. 불리언 네트워크 모델링 기법을 활용하여 심근세포 내에 존재하는 여러 신호전달 단백질들의 활성화/비활성화 정보에 기초한 대규모 심근세포 신호전달네트워크에 대한 수학적모델을 개발하였음(표 21). 각 노드의 진리표는 관련 문헌과 데이터베이스에 포함된 생물학적 정보를 기반으로 수립함(표 19, 21).
- 심근세포 신호전달네트워크 수학적모델에 대한 대규모 컴퓨터 시뮬레이션 분석을 활용하여 심근세포의 정상상태를 가장 잘 재현해낼 수 있는 최적 입력 노드 조건을 설정하였음(표 22).

- 심근세포 신호전달네트워크 수학모델의 최적 입력 노드 조건이 기존에 보고된 여러 실제 생물학적 현상의 특성들을 잘 모사할 수 있음을 컴퓨터 시뮬레이션 분석을 통해 검증함(그림 158, 표 23).

• 허혈성/비허혈성 심부전에 대한 심근세포 신호전달네트워크 수학모델 개발

- 심장 기능은 자율신경계 및 내분비계의 작용에 의해 분비되는 성장 인자(growth factor)(IGF1, EGF, VEGF, TGF β , FGF 등), 카테콜아민(catecholamine)(NE, PE 등), 그리고 사이토카인(cytokine)(TNF α , ET1, IL 등) 등에 의해 조절됨. 교감신경계와 부신은 심부전 상황 하에서 심박출량을 최대한 유지하기 위한 목적으로 보상기전을 활성화시키고, 이로 인하여 정상생리 상태에서와는 다른 양상의 인자들이 분비되어 심장 기능을 조절함.
- 분비 인자들의 변화가 심근세포의 사멸과 비대를 조절하는 중요한 역할을 한다고 보고된 바에 기초하여 본 연구에서는 심근세포 신호전달네트워크에 존재하는 입력 노드들의 강도를 조절하여 임상에서 가장 빈번하게 관찰되는 심부전 유형인 허혈성/비허혈성 심부전에 대한 수학모델을 개발함. 이를 위해 먼저 다양한 문헌과 생체 데이터베이스를 조사하여 허혈성/비허혈성 심부전 상황 각각에서 특이적으로 활성화 또는 비활성화되는 생체분자 정보들을 수집하였음(표 24). 이 수집된 데이터에는 심부전 상황에서 활성도가 변화하는 리간드(ligand) 뿐만 아니라 세포내의 신호전달 키나아제(intracellular signaling kinase) 또는 전사 인자 등 광범위한 범주의 생체분자가 포함되어 있음.
- 대규모 컴퓨터 시뮬레이션 분석을 활용하여 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서의 심근세포 상태를 가장 잘 재현해낼 수 있는 최적 입력 노드 조건을 설정하였음(그림 159).
- 허혈성/비허혈성 심부전 상황을 모사하는 최적 입력 노드 조건이 기존에 보고된 심부전 실험데이터들을 잘 재현할 수 있음을 컴퓨터 시뮬레이션 분석을 통해 검증함(그림 160). 종합하여 볼 때, 정상생리 상태 및 심부전 상황을 모사하는 각각의 최적 입력 노드 조건이 반영된 수학모델 시뮬레이션 결과들은 실제 생물학적 상황을 잘 모사할 수 있음.

• 심근세포 신호전달네트워크 수학모델에서의 끌개 지형 분석

- 끌개(attractor)는 동역학 시스템에서 안정화된 상태로 정의가 되고 끌개는 세포가 결과적으로 획득하는 상태, 즉, 세포의 특정 표현형(phenotype)을 나타냄. 끌개의 개념을 사용하여 신호전달네트워크의 동역학적 특징을 끌개지형(attractor landscape)으로 표현할 수 있음. 끌개지형의 각 점은 네트워크 시스템이 가질 수 있는 모든 상태들로 이루어진 상태공간(state space)으로 정의되고 이 시스템의 상태는 신호전달네트워크를 구성하는 모든 분자들의 활성도(볼리언 네트워크 모델의 경우 0 또는 1) 집합으로 정의됨.
- 볼리언 네트워크에서 N 노드들의 상태 공간은 2^N 의 다른 상태를 가지며 동역학적 상태 전환은 순차적인 상태의 흐름의 특징을 가지고 결국 끌개로 수렴이 됨. 끌개는 네트워크 노드들의 활성도를 대표하는 고정된 상태의 점끌개(point attractor)와 주기적으로 상태가 반복되는 순환끌개(cyclic attractor)로 나뉨. 또한 끌개에 수렴하는 상태들의 집합은 끌개수렴공간(basin of attraction)으로 정의됨.
- 심근세포 안에서 일어나는 신호전달 과정의 동역학적 특성을 분석하기 위해 심근세포 신호전달네트워크 수학모델에서 끌개지형 분석을 수행하였음. 심근세포 신호전달네트워크 수학모델에서의 각 끌개는 나타나는 표현형에 따라 3개의 그룹으로 분류하였음. 사멸 표현형은 Casp3가 한번이라도 ON 되어있는 끌개, 비대 표현형은 14개의 비대 마커들이 한 번이라도 ON 되어있는 끌개, 그리고 남은 끌개들은 정상 표현형으로 정의하였음.
- 정상생리 상태 및 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서의 최적 입력 노드 조건이 반영된(그림 159) 심근세포 신호전달네트워크 수학모델의 대규모 컴퓨터 시뮬레이션을 통하여 각 상황에서의 끌개지형을 분석함.
- 끌개지형 분석 결과, 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서 정상생리 상태의 경우에 비해 정상 표현형의 끌개수렴공간은 매우 감소하였고, 반면 심근세포 사멸과 비대 표현형의

끝개수렴공간은 상당히 증가한 것을 확인함(그림 161-162, 표 25-28). 특히 비허혈성에 비해 허혈성 심부전에서 심근세포 사멸 표현형의 끝개수렴공간이 높은 것으로 관찰되는데, 이는 허혈성 심부전이 비허혈성 심부전보다 강하게 심근세포 사멸을 유도한다는 기존의 실험 결과들과 일관됨(그림 161). 종합하여 볼 때, 본 연구팀이 개발한 심부전 관련 심근세포 신호전달네트워크 수학적모델이 실험데이터들을 정밀하게 모사할 수 있음을 알 수 있음.

(5) 심부전 이행의 네트워크 질병조절자

• 심부전 이행의 네트워크 질병조절자 규명 및 동역학 특성 분석

- 대규모 컴퓨터 시뮬레이션 분석을 통하여 허혈성 심부전 상황에서는 $G\alpha q/11$, TRAF, PI3K, AC, G/S, 그리고 비허혈성 심부전 상황에서는 TGFR, Integrins, PI3K, $G\alpha q/11$, TRAF, Ras, $Gs\alpha$ 가 심근세포의 사멸과 비대를 효과적으로 조절할 수 있는 질병조절자임을 확인함(표 29).
- 질병조절자의 활성도를 저해하였을 때 심부전 상황에서 심근세포의 사멸과 비대가 크게 감소하는 것을 확인함(그림 163).
- 질병조절자의 활성도를 제어하는 경우 random node의 활성도를 조절하였을 때보다 효과적으로 심근세포의 사멸과 비대를 억제할 수 있음을 확인함. 또한 더 많은 개수의 질병조절자의 활성도를 제어할수록 심근세포의 사멸과 비대가 더욱 억제되는 것을 확인함(그림 164).
- 종합적으로, 이 결과는 본 연구에서 규명한 질병조절자들이 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서 심근세포의 사멸과 비대를 효과적으로 억제하는데 중요하다는 것을 제시하였음.

• 심부전 이행의 네트워크 질병조절자에 기반을 둔 원인별 최적 심부전 치료전략

- 질병조절자와 약물표적 간의 관계성을 분석하기 위하여 먼저 DrugBank 데이터베이스 및 문헌 조사를 통해 승인되었거나 연구 중에 있는 심부전 치료약물의 표적단백질 정보를 수집하였음(표 30).
- 질병조절자가 통계적으로 유의하게 약물표적일 경향성이 높다는 것을 확인함(그림 165).
- 질병조절자가 현재 임상에서 사용 중인 심부전 치료제(β -blocker, α -blocker, AT1R-blocker, ET1R-blocker)의 효능을 증진시키는 데에 활용될 수 있는지 탐구해보기 위하여 대규모 컴퓨터 시뮬레이션 분석을 수행함. 그 결과 약물처치와 더불어 질병조절자의 활성도를 동시에 제어하였을 경우 심부전 상황에서 심근세포의 사멸과 비대가 더욱 억제되는 것을 확인함(그림 166, 표 31). 이는 질병조절자가 심부전 치료제의 효능을 증진시킬 수 있음을 시사함.
- 대규모 컴퓨터 시뮬레이션 분석 결과, 심부전 치료제의 효능을 효과적으로 증진시킬 수 있는 질병조절자의 조합이 각 심부전 상황 혹은 약물의 종류에 따라 달라진다는 것을 확인함(표 32). 종합적으로, 본 연구에서는 심부전에 대한 새로운 약물표적을 밝힐 수 있는 효과적인 치료 전략을 제시하였음.

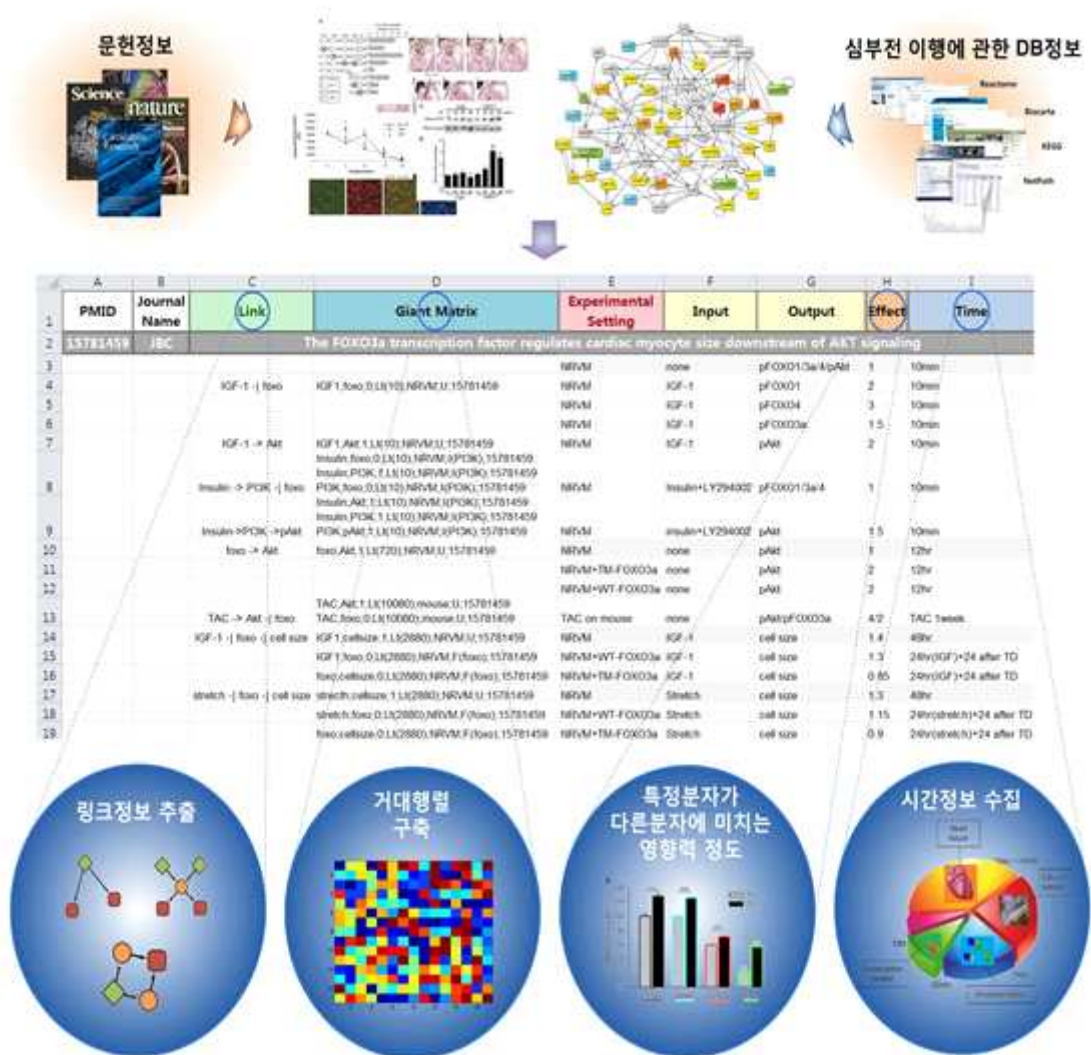


그림 120. 수집한 심근세포생리 관련 논문 및 대규모데이터를 활용가능한 정보로 재구성하는 과정에 대한 모식도.

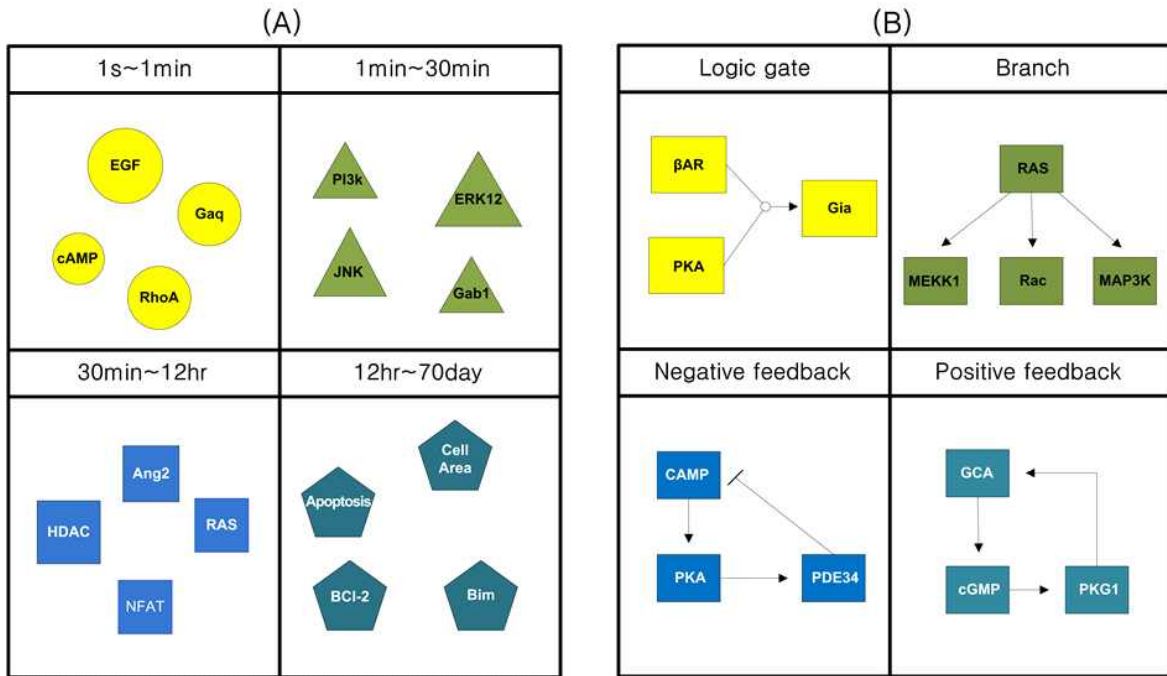


그림 121. 수집한 심근세포생리 관련 문헌정보에서 추출한(A) 시간정보와(B) 링크정보의 예시.

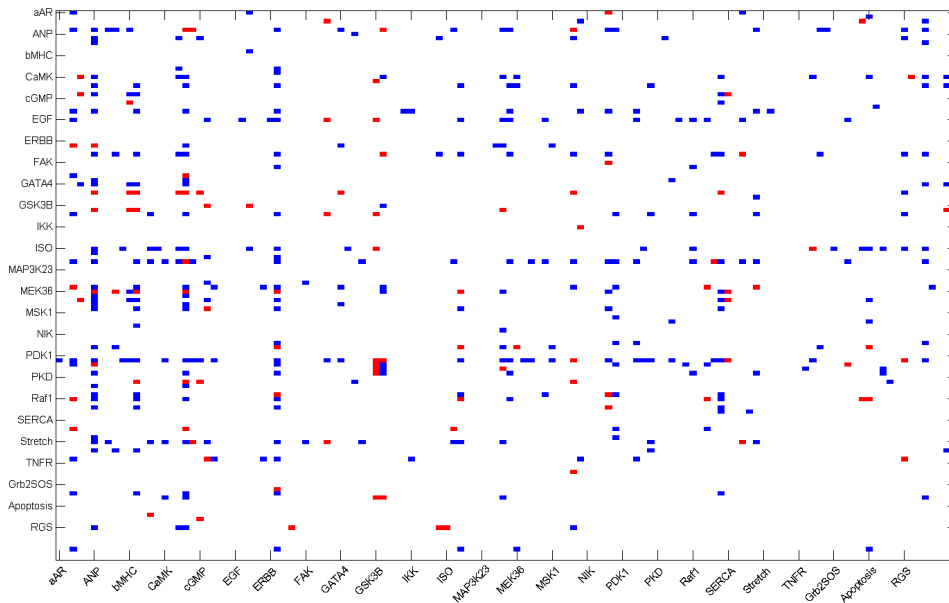


그림 122. 거대행렬을 통한 각 노드간의 활성화와 억제 정보에 대한 시각화.

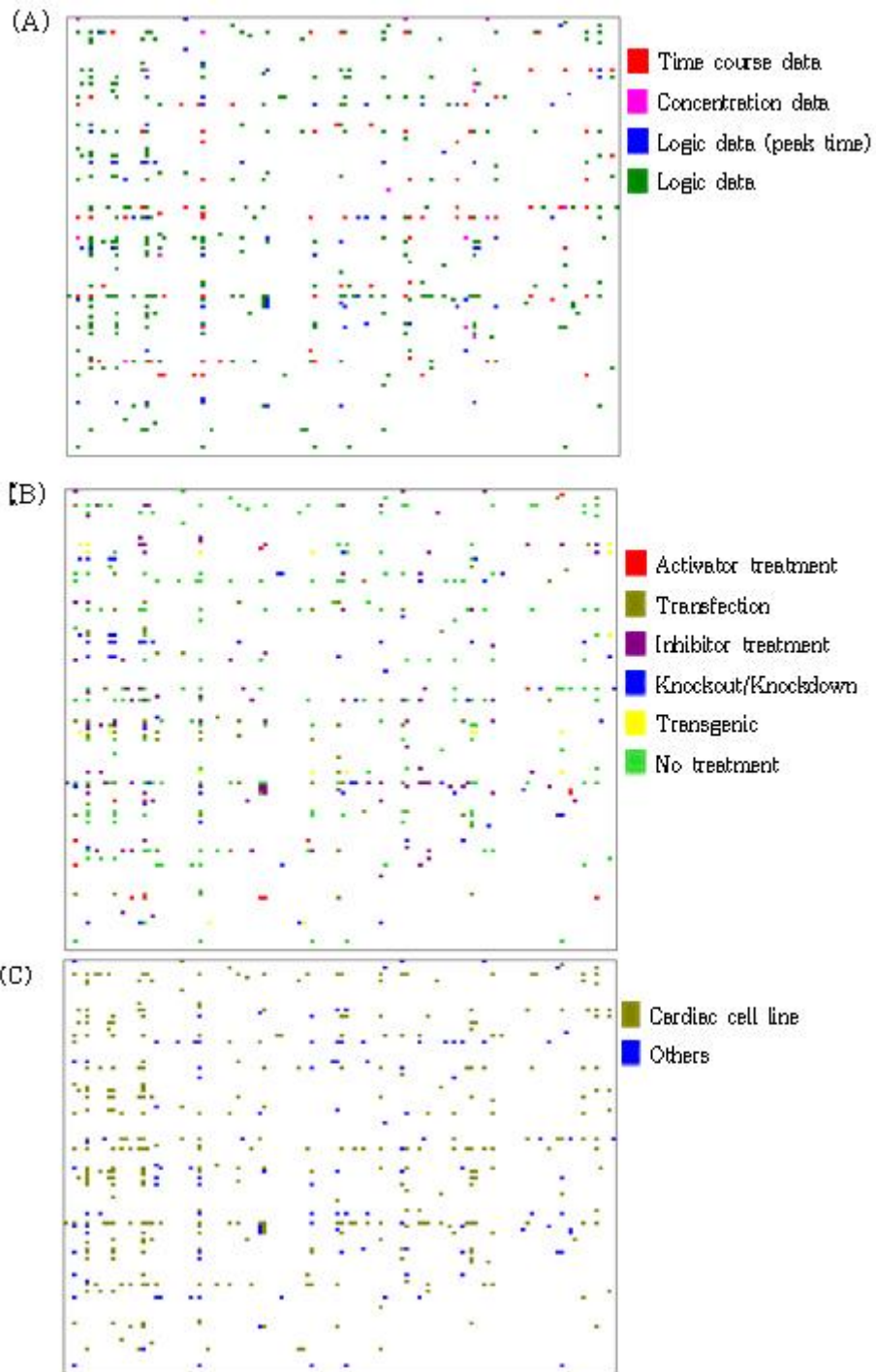


그림 123. 거대행렬을 통한 각 노드간의(A) 데이터의 성격(B) 특수실험정보 (C) 세포주 분류에 따른 시각화.

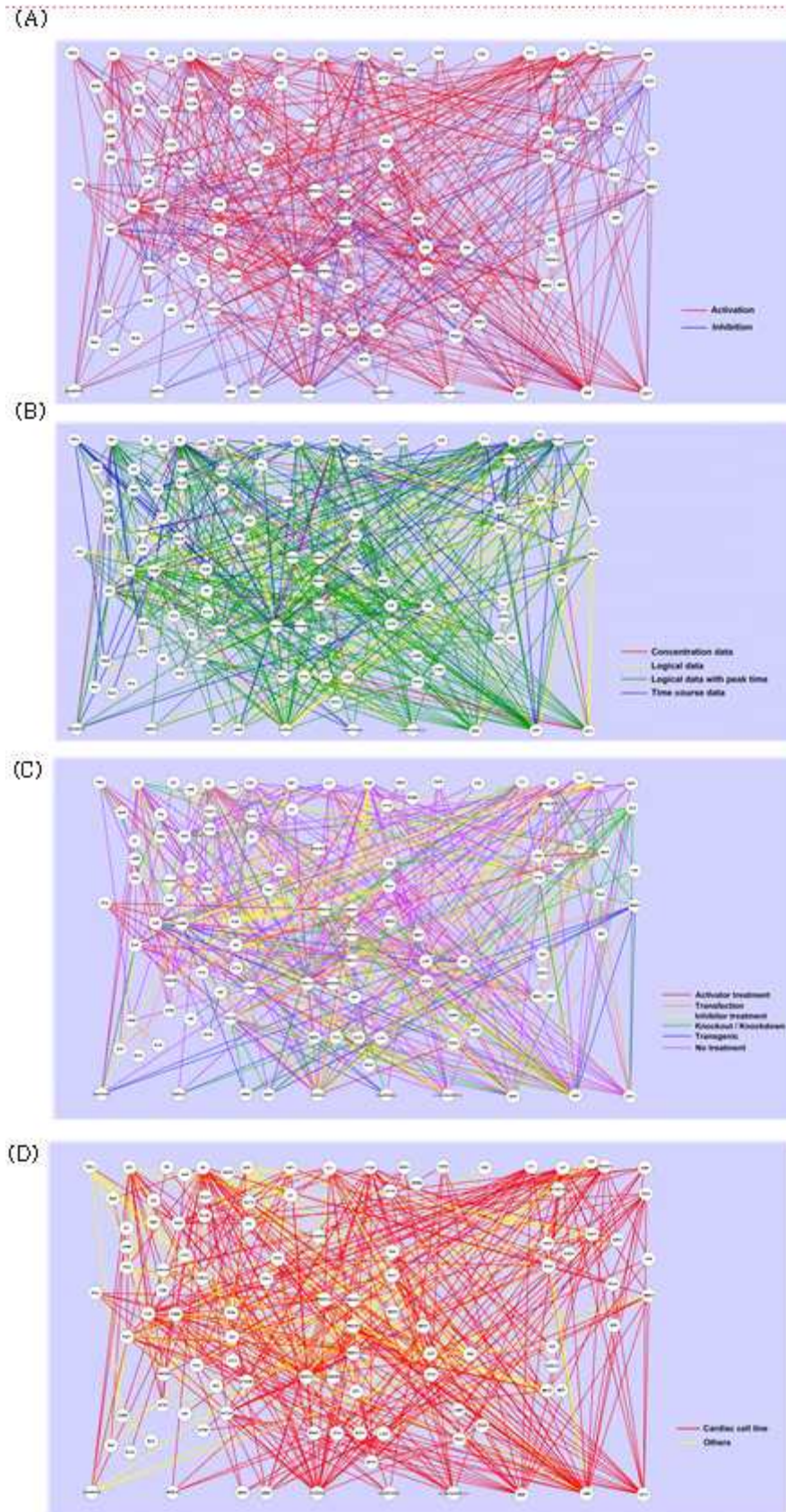


그림 124. 수집된 대규모 심근세포생리 실험데이터의 특성. (A) 활성화링크의 개수가 억제링크의 개수보다 많고, (B) 두 노드간의 논리적 연결 관계와 시간정보를 모두 포함한 실험 (C) 억제자를 이용한 실험 (D) 심근세포주를 이용한 실험이 데이터의 많은 부분을 차지하고 있음.

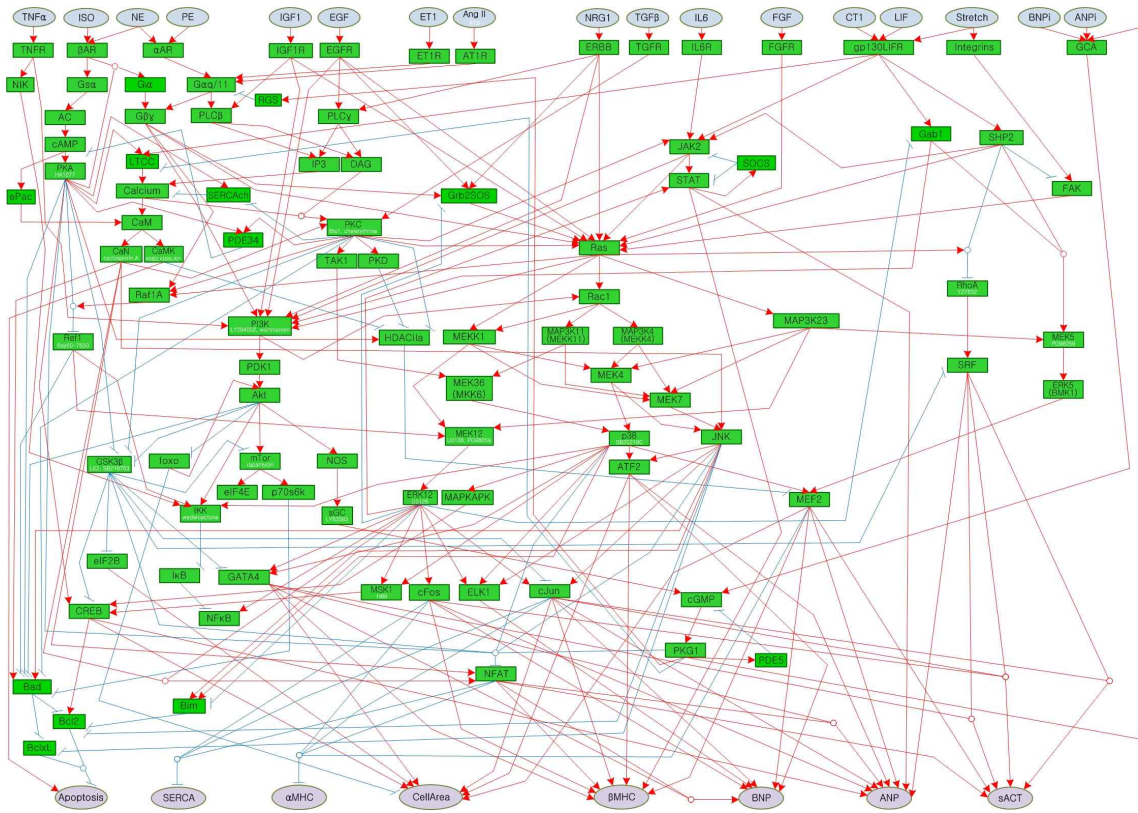


그림 125. 수집된 대규모 심근세포생리 데이터베이스로부터 구축한 심근세포 신호전달네트워크. 전체 네트워크는 121개의 노드와 258개의 링크로 구성되어 있으며 활성화 링크는 붉은색으로, 억제 링크는 푸른색으로 표시함.

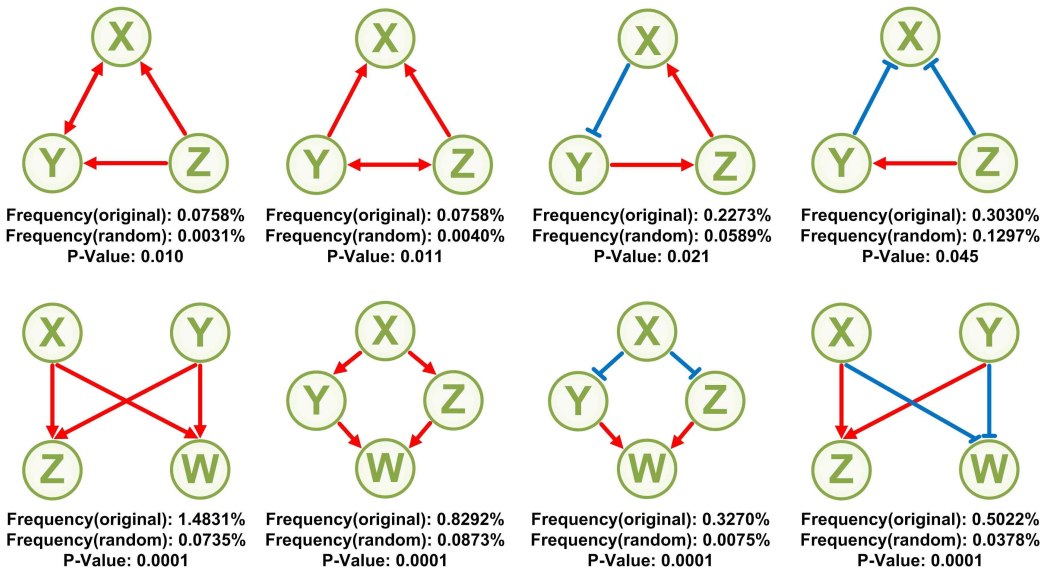


그림 126. 대규모 심근세포 신호전달네트워크에서 유의하게 관찰되는 주요 네트워크 모티프.

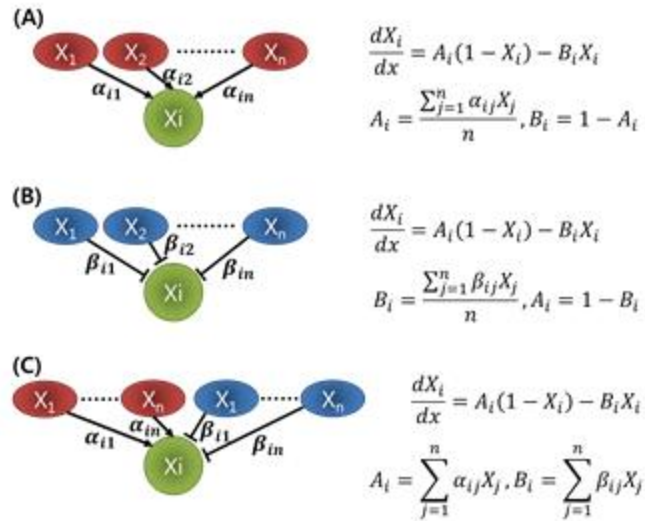


그림 127. 대규모 네트워크에 대한 동역학 시뮬레이션을 수행하기 위한 미분방정식 모델. (A) 특정 노드를 활성화시키는 인자만 존재하는 경우 또는 (B) 억제하는 인자만 존재하는 경우, 그리고 (C) 두 가지 인자가 함께 존재하는 경우로 나누어 수식을 기술함.

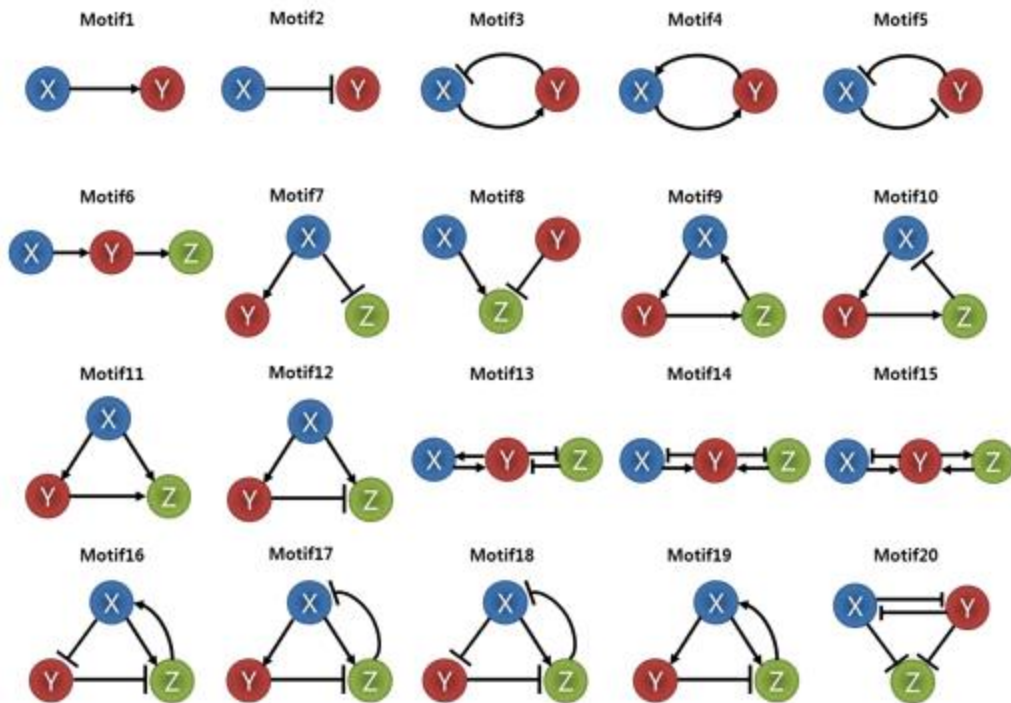


그림 128. 개발된 동역학 시뮬레이션 방법의 생물학적 타당성을 검증하는 데에 이용된 20개의 네트워크 모티프.

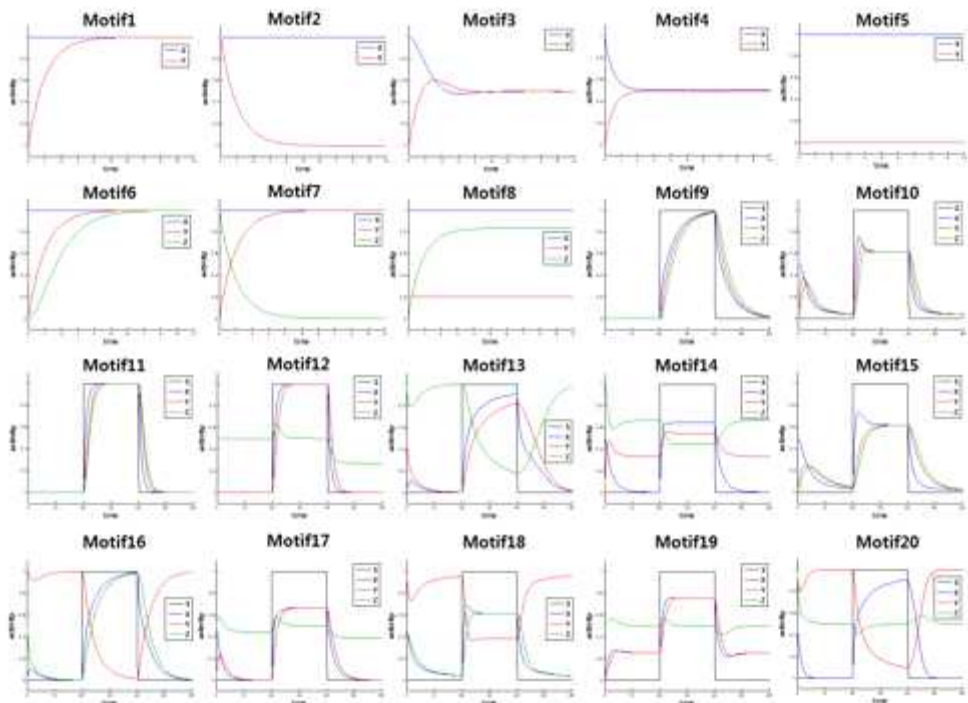


그림 129. 개발된 모델의 생물학적 특성을 검증하기 위하여 20개의 네트워크 모티프 구조를 대상으로 동역학적 시뮬레이션 분석을 수행함.

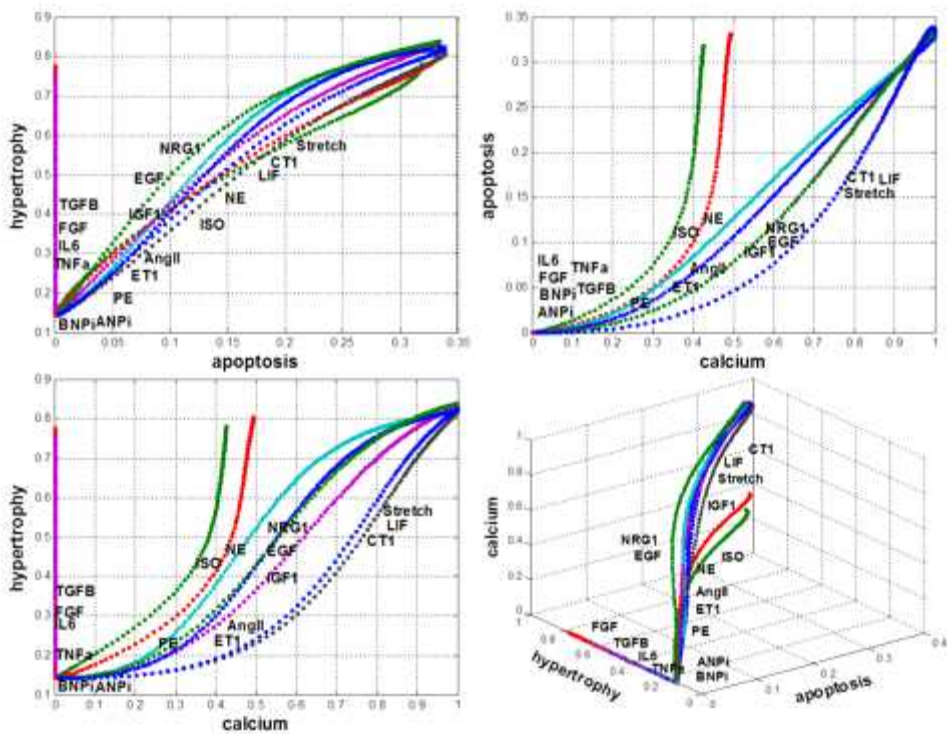


그림 130. 대규모 심근세포 신호전달네트워크의 시뮬레이션 분석결과. 17개의 입력신호에 대한 심근세포의 비대(hypertrophy) 및 사멸(apoptosis)의 변화양상은 크게 3가지 패턴으로 분류됨.

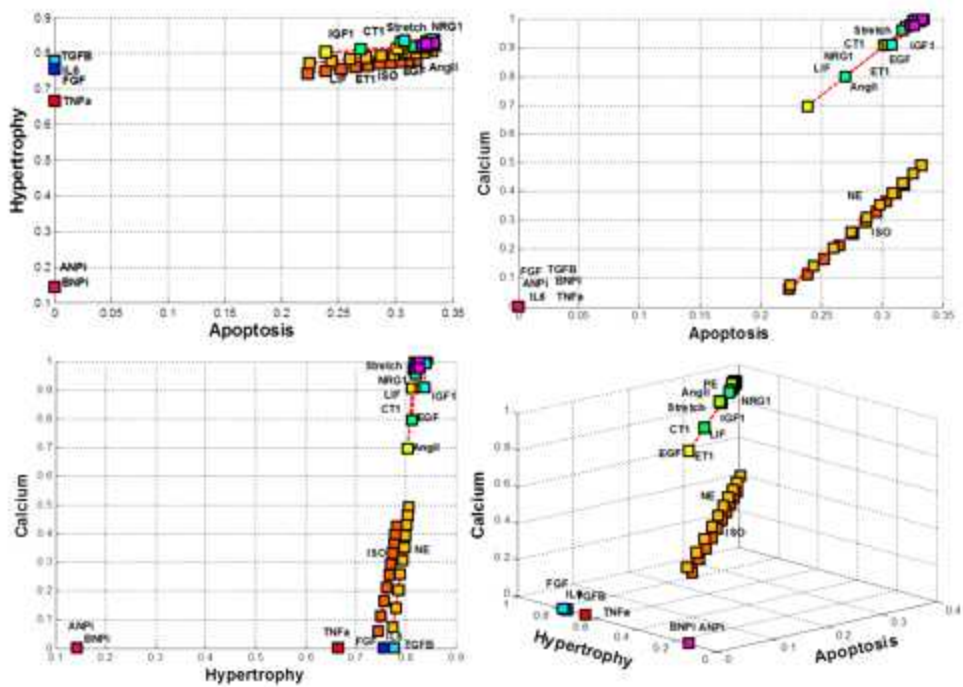


그림 131. 심부전 치료제의 일종인 칼슘억제제의 효과에 대한 시뮬레이션 분석결과. 17가지 입력신호가 각각 주어졌을 때 칼슘억제제의 효과를 심근세포 비대와 사멸로서 확인함.

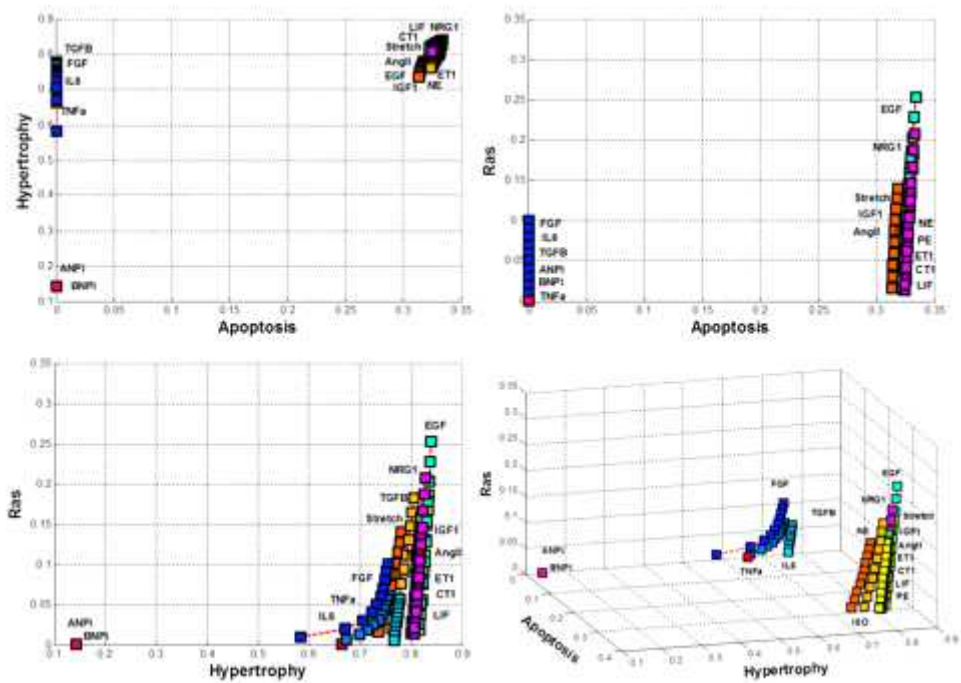


그림 132. 17가지 입력신호가 각각 주어졌을 때 Ras 억제제의 효과를 심근세포 비대와 사멸로서 확인함.

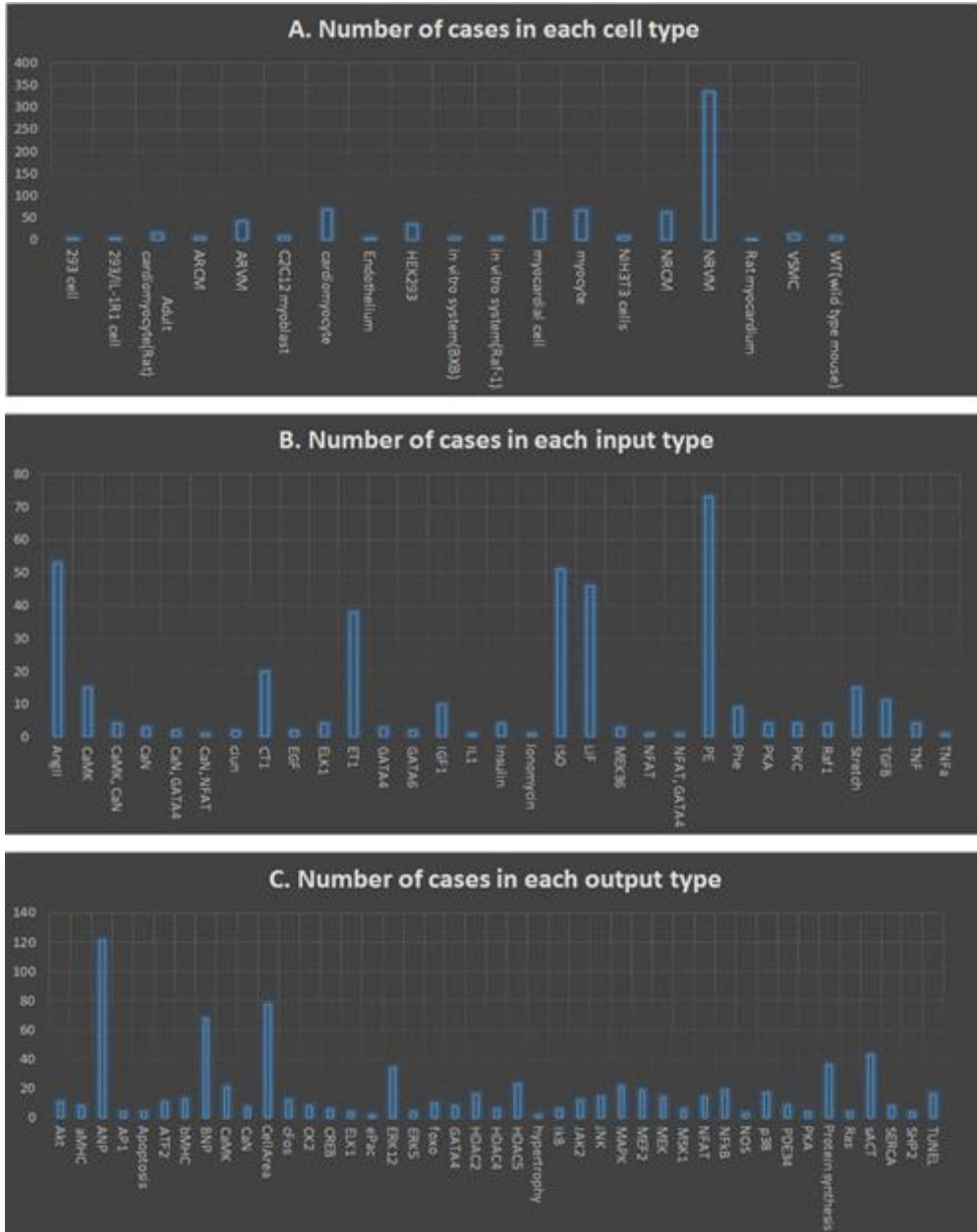


그림 133. 핵심 신호전달 네트워크 구축을 위해 추출된 데이터의 특성. (A) 활용된 세포주는 주로 심근세포주 및 심근세포주와 밀접하게 연관된 세포주가 대다수를 차지하였고, (B) 입력신호는 isoproterenol, phenylephrine, angiotensin II 등 심근세포와 사멸 및 비대를 일으키는 자극이 주로 활용되었으며, (C) 출력신호로는 세포 내의 인산화효소 및 전사인자가 골고루 포함되어 있음.

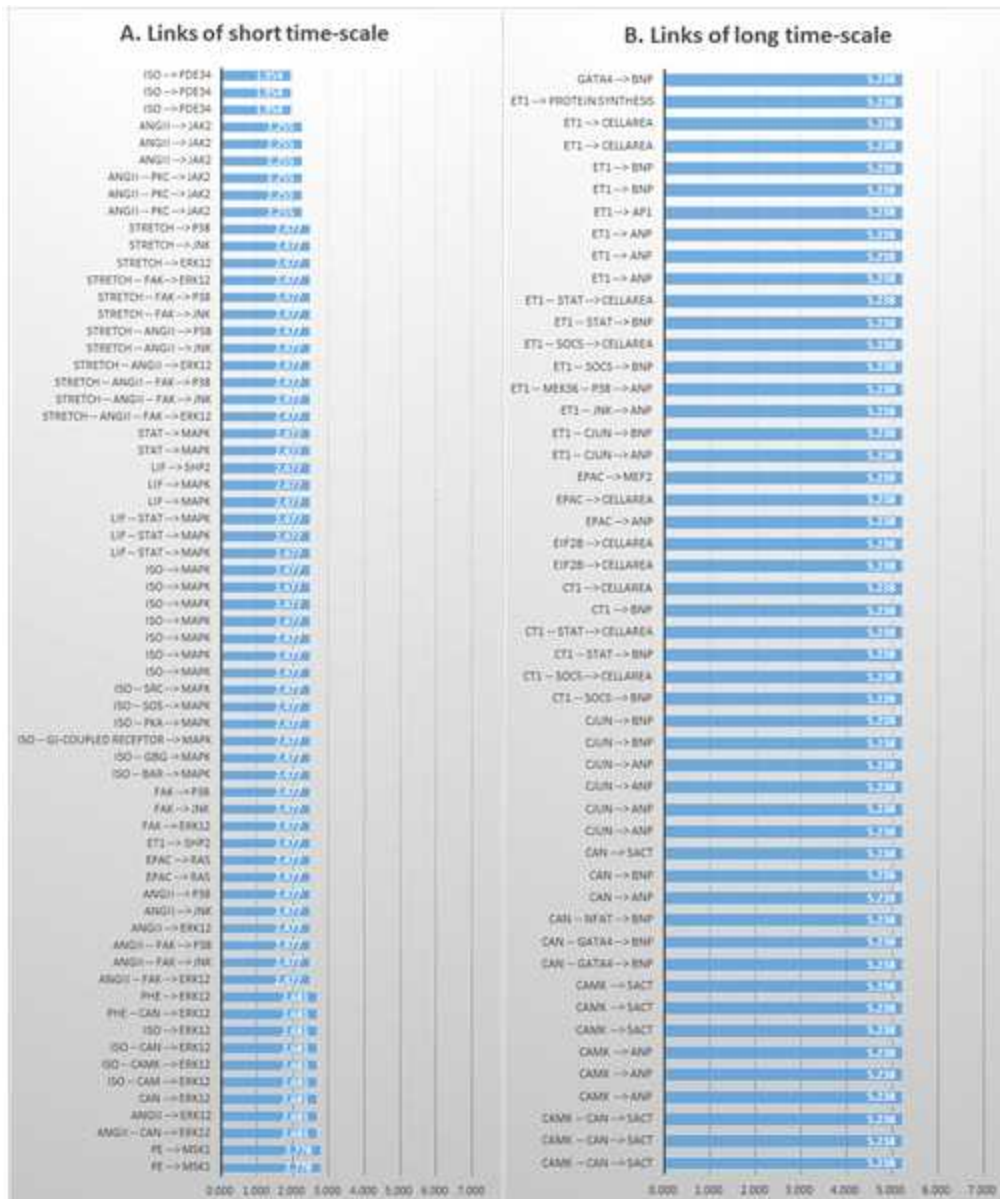


그림 134. 핵심 신호전달 네트워크 구축을 위해 추출된 데이터의 시간 정보의 특성. (A) 입력신호 (isoproterenol, phenylephrine, angiotensin II, endothelin 1, leukocyte induced factor 등)가 세포 내부 인산화효소의 활성도를 변화시키는 작용은 비교적 짧은 시간동안 일어나는 반면 (B) 세포의 표현형을 결정하는 전사인자(ANP, BNP 등)의 활성도는 충분히 긴 시간에 걸쳐 서서히 변화함. 위의 막대 그래프에 표시된 숫자는 시간을 초 단위로 환산한 값을 다시 밑이 10인 log를 취한 값임(예를 들어, ISO가 MAPK를 활성화시키는 작용이 최대로 일어나는 시간은 5분, 즉 300초에 해당하므로 $\log(300)$ 의 값인 2.477이 표시되어 있음). 이러한 방법으로 계산된 (A)와 (B)의 로그-시간 스케일을 비교해 보면 로그 값으로 2이상 차이가 나므로, 세포 내의 작용이 넓은 시간영역대에 걸쳐 일어남을 확인할 수 있음

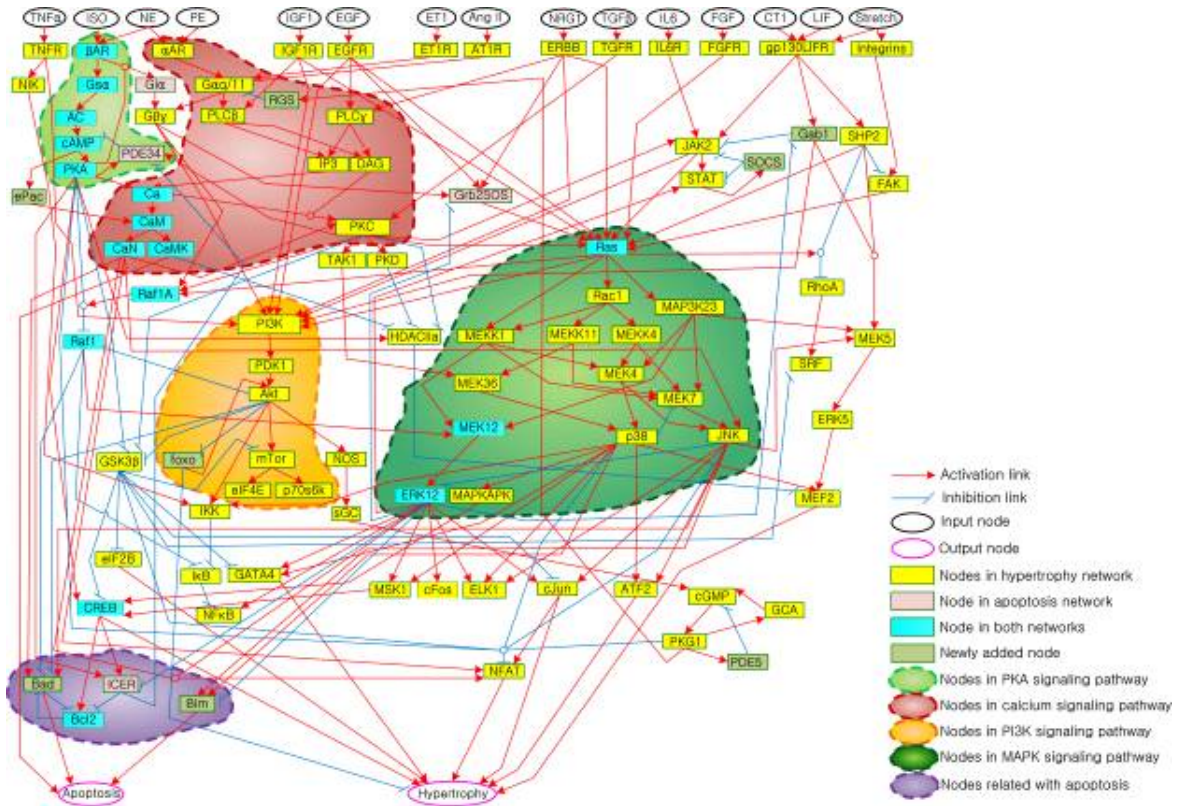


그림 135. 대규모 신호전달 네트워크 핵심 모듈. 대규모 신호전달 네트워크는 103개의 노드와 204개의 링크로 구성되어 있으며, 이전에 구축된 hypertrophy network와 apoptosis network를 통합하여 구축됨. 노드의 색깔을 이전에 소속되었던 네트워크에 따라 서로 다른 색깔로 표시하여 구분하였음. 대규모 신호전달 네트워크는 위상학적으로 PKA 신호전달 경로, PI3K 신호전달 경로, 칼슘 신호전달 경로 및 MAPK 신호전달 경로 등의 핵심 모듈들로 구성되어 있음 확인함.

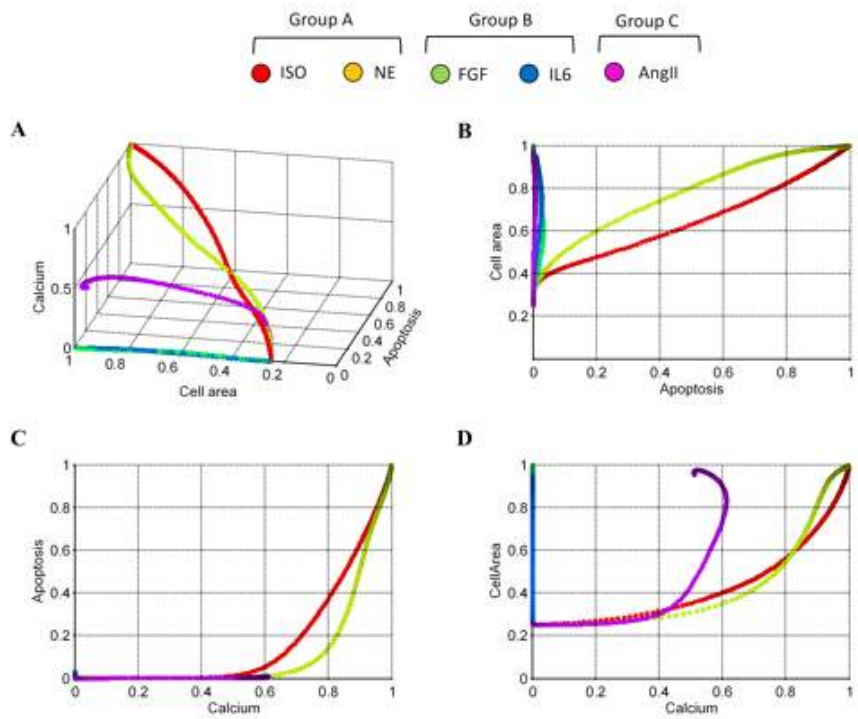


그림 136. 대규모 신호전달 네트워크를 대상으로 한 시뮬레이션 분석결과. 자극에 따라 특징적인 apoptosis와 hypertrophy의 표현형이 유도됨을 관찰할 수 있음. 그러한 표현형 변화의 패턴에 따라 자극은 3가지 그룹(i.e. group A, group B, group C)으로 분류됨

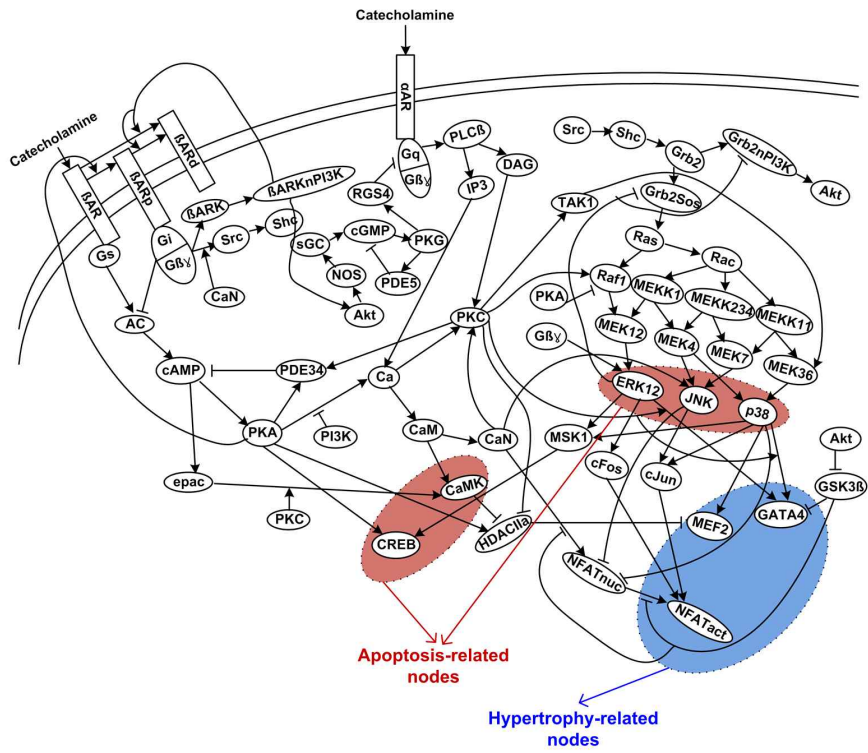
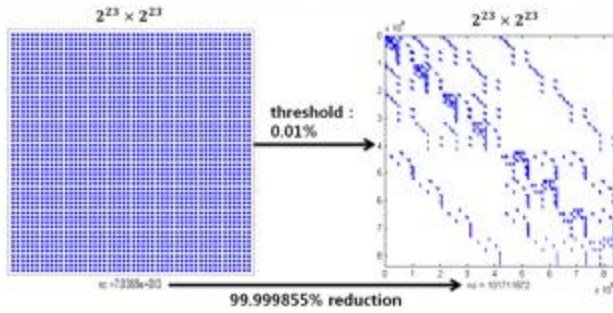
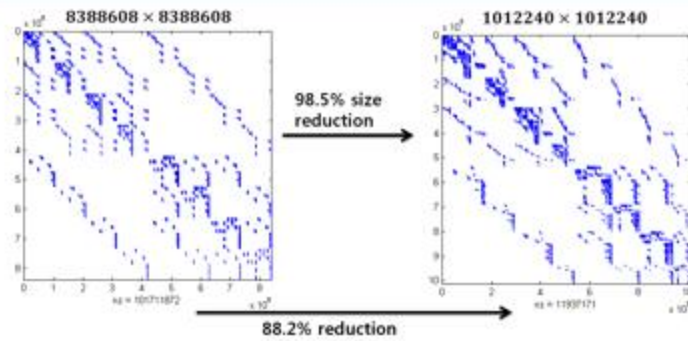


그림 137. 핵심 심근세포 신호전달네트워크. 59개의 노드와 74개의 링크로 구성되어 있으며, 이전의 분석에서 확인된 핵심 모듈(PKA 모듈, MAPK 모듈, Calcium 모듈 등)이 중심 구조를 이루고 있음.

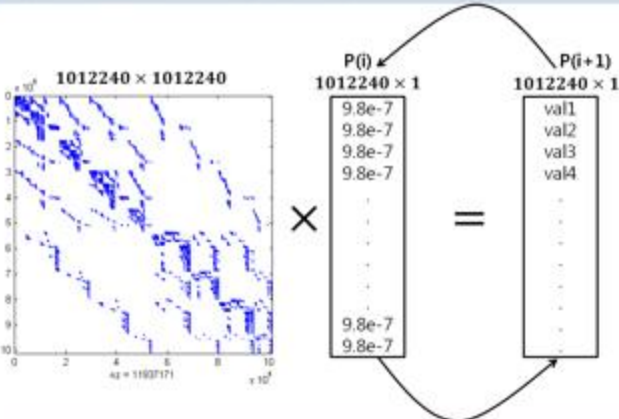
Step 1. 확률 전이 행렬에 임계값을 설정하여 희소 행렬의 형태로 변환함



Step 2. 희소 행렬을 활용하여 도달할 수 없는 상태를 정의하고, 이를 제거하여 확률 전이 행렬을 축소함



Step 3. 확률 및 에너지를 계산하고 수렴성을 확인



Step 4. 임계값에 따른 확률분포의 변동성을 확인하여 방법론을 검증

그림 138. 핵심 심근세포 신호전달네트워크의 분석을 위하여 수립된 방법론. Step 1; 확률 전이 행렬에 임계값을 설정하여 희소 행렬(sparse matrix)의 형태로 변환함, step 2; 구축된 희소 행렬의 열벡터의 합을 계산하여 도달할 수 없는 상태(unachievable state)를 정의하여 이를 제거함, step 3; 축소된 확률 전이 행렬을 기반으로 하여 포텐셜 에너지를 계산하고 계산된 에너지가 수렴하는지 확인함, step 4; 임계치에 따른 어트랙터(attractor)의 기저 크기(basin size)의 분포를 비교하여 임계치에 따른 결과의 차이가 허용할 만한 수준인지를 확인함.

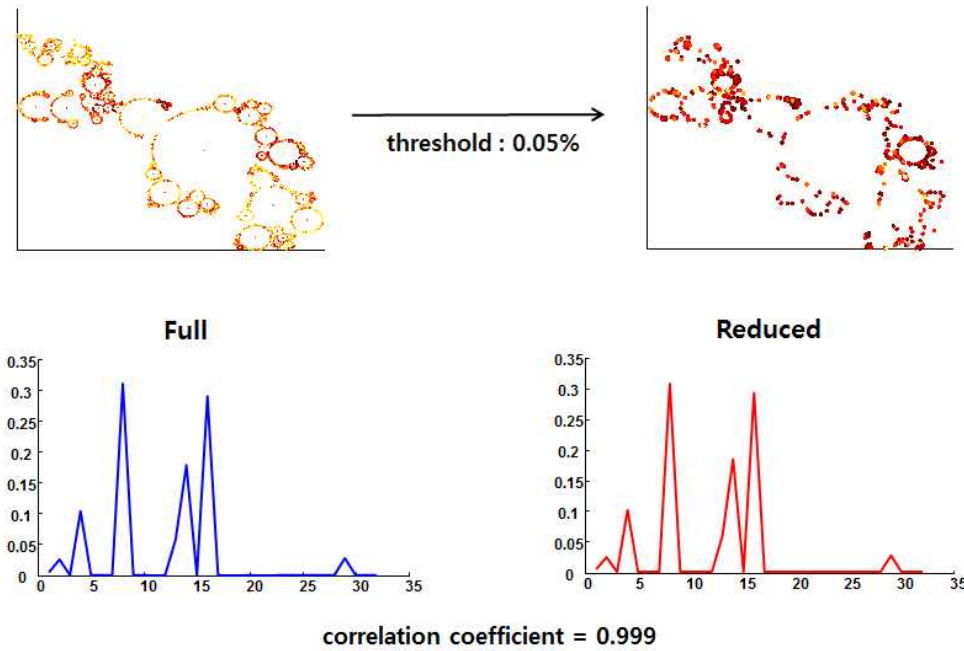


그림 139. 수립된 방법론에 대한 검증. Yeast cell cycle네트워크를 대상으로 수립된 방법론을 적용한 경우 계산된 최종 확률값 및 포텐셜 에너지가 상당한 수준으로 원래 네트워크의 특성을 잘 반영하고 있음을 확인함.

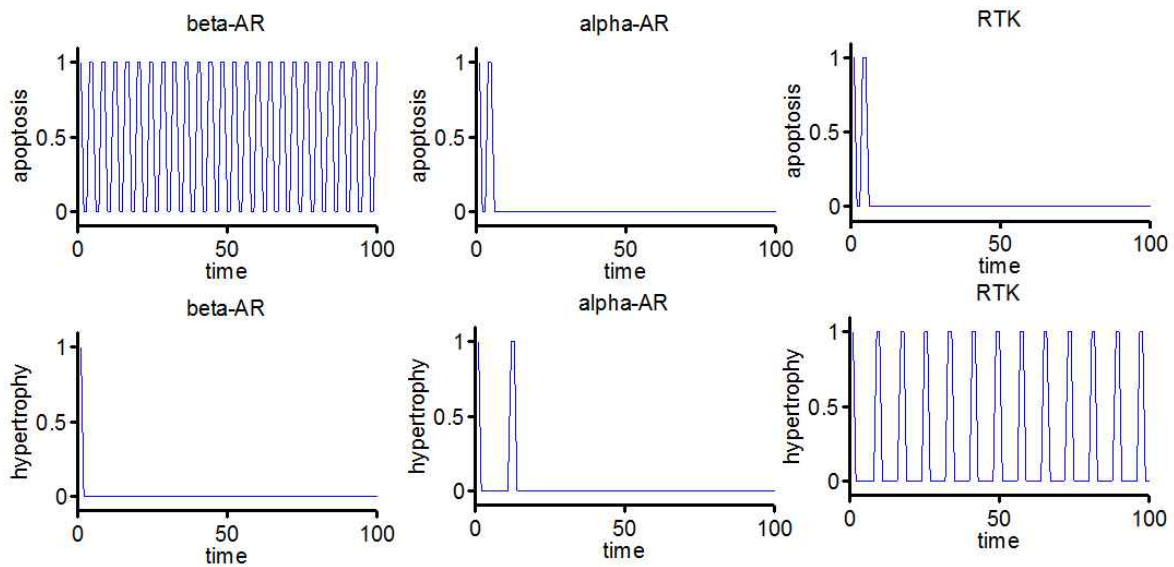


그림 140. 핵심 신호전달 네트워크에서의 자극에 따른 반응을 확인하기 위한 불리언 시뮬레이션 분석결과. 베타 수용체를 자극한 경우에는 심근세포의 사멸이 주로 발생하고, 타이로신 키나아제 타입의 수용체를 자극한 경우에는 심근세포의 비대가 주로 발생함.

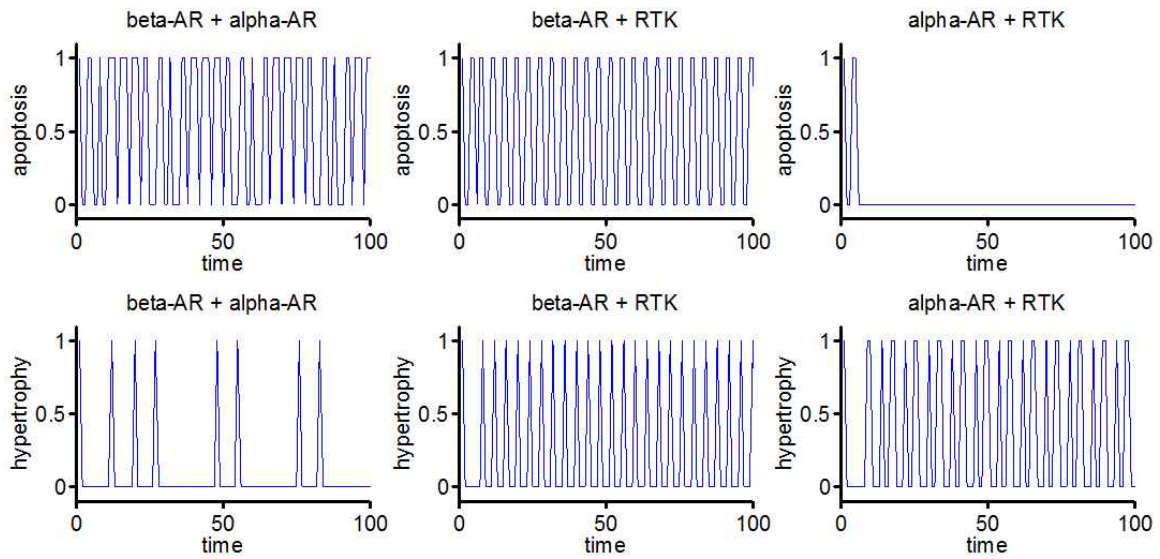


그림 141. 핵심 신호전달 네트워크에서 두 개 이상의 자극이 동시에 주어진 경우 관찰된 네트워크의 동역학적 변화. 베타 수용체와 알파 수용체를 동시에 자극한 경우, 각각의 경우 관찰되지 않았던 심근세포의 비대가 관찰되어 두 수용체와 관련된 신호전달경로 수준에서 시너지 효과가 있음을 확인함.

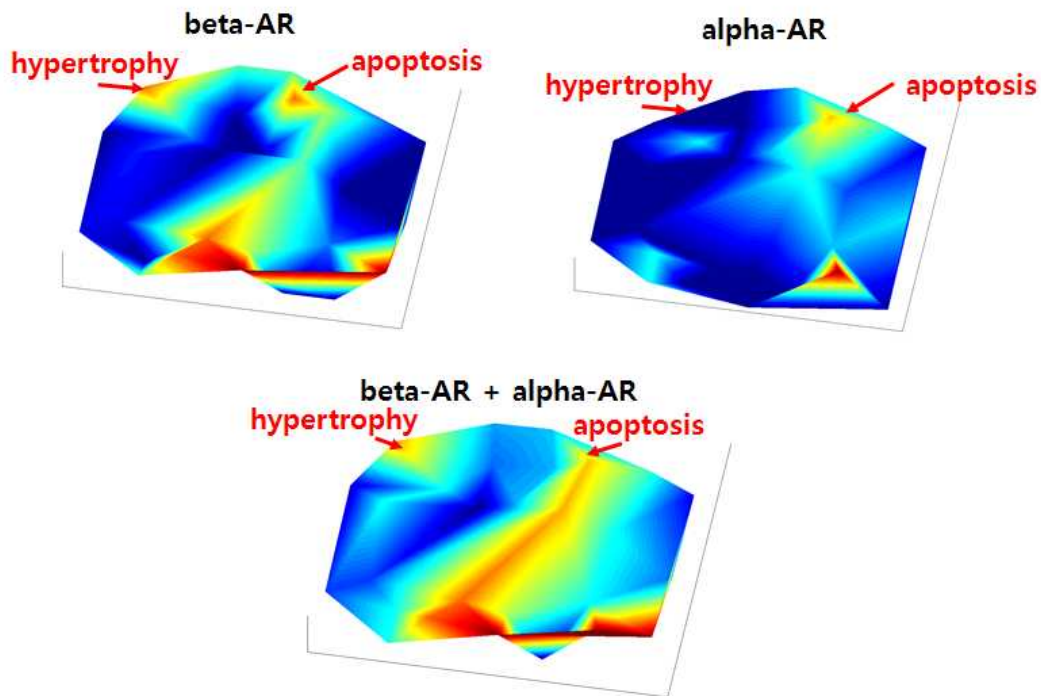


그림 142. 베타 수용체와 알파 수용체를 동시에 자극한 경우의 신호 흐름의 모식도. 두 수용체를 각각 자극하였을 경우에는 심근세포의 사멸 혹은 비대로 향하는 신호의 흐름이 일시적으로 생성되는 반면, 두 수용체를 동시에 자극한 경우에는 세포 사멸로 향하는 항시적인 신호의 흐름이 관찰됨.

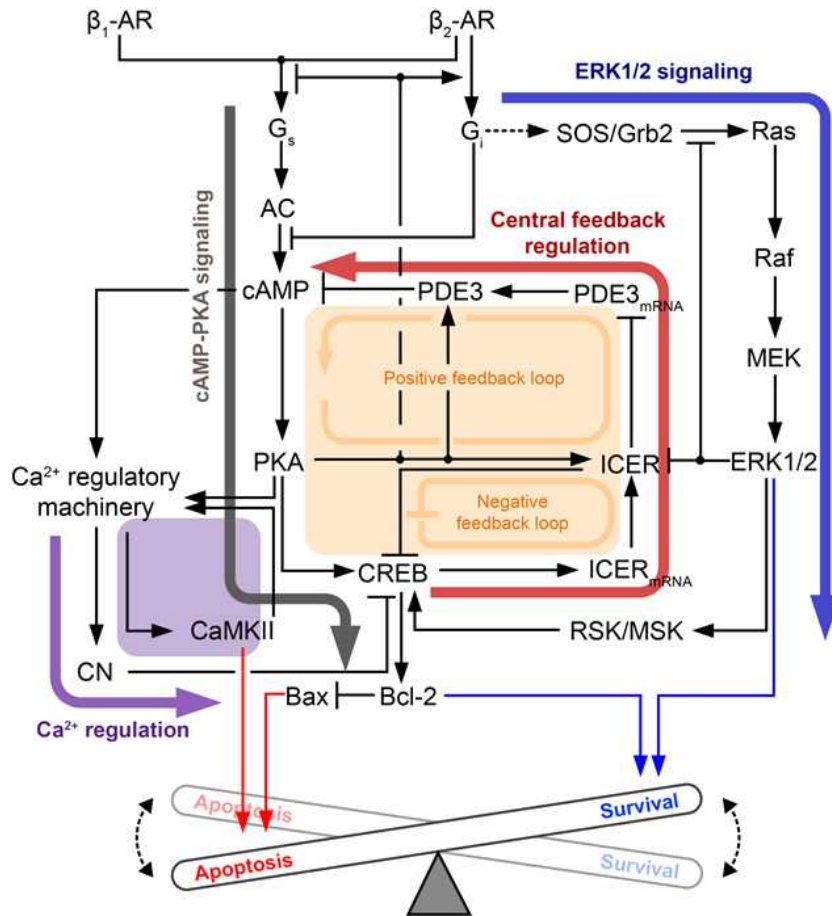


그림 143. 핵심 신호전달 네트워크를 기반으로 구축된 핵심 베타수용체 신호전달 네트워크의 모식도. 피드백 회로와 피드포워드 회로가 복잡하게 얽혀있음을 확인할 수 있음.

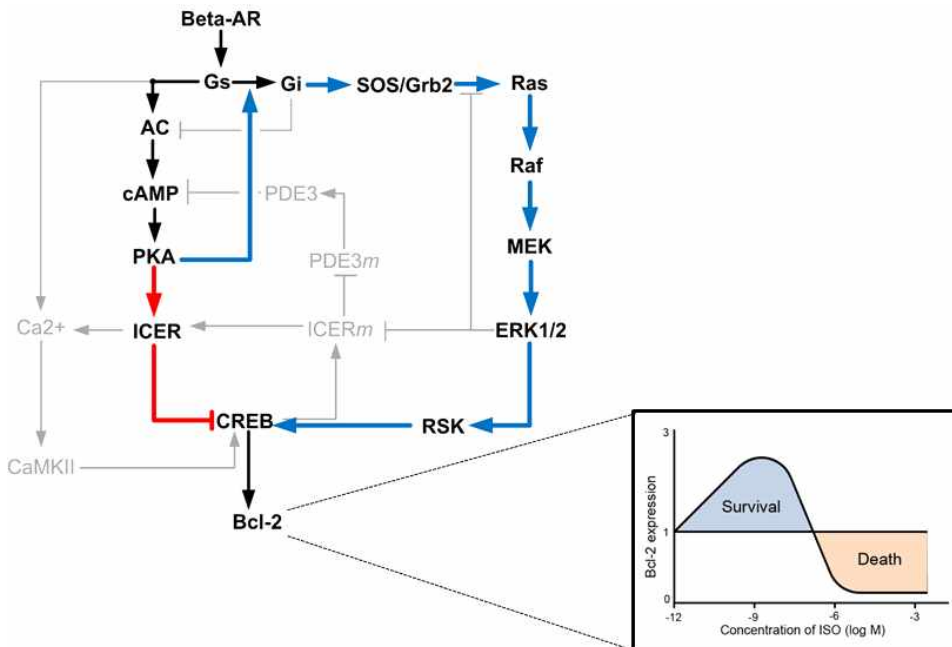


그림 144. 핵심 베타수용체 신호전달 네트워크의 핵심 구조. ERK와 ICER를 매개로 하여 작용하는 피드포워드회로가 Bcl-2분자의 스위치 반응을 유도하는데 핵심적 역할을 담당함.

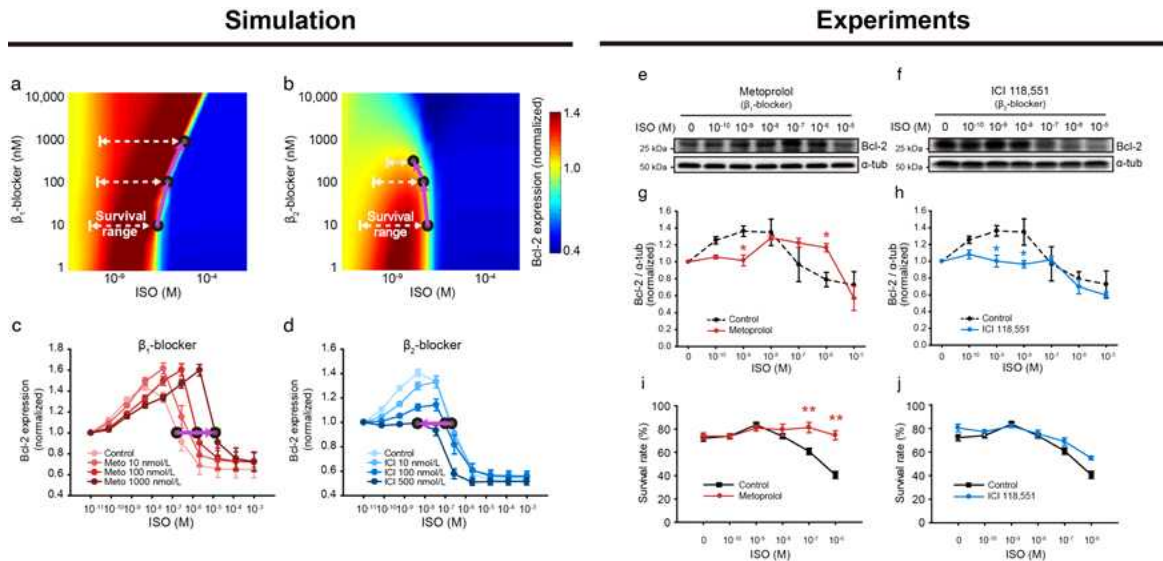


그림 145. 베타차단제의 효과에 대한 시뮬레이션 분석결과. 베타1차단제를 처리하면 강한 베타수용체 자극에서의 Bcl-2 발현량이 증가하고 이로 인하여 심근세포의 생존율이 향상되어 세포보호효과가 일어남을 확인함.

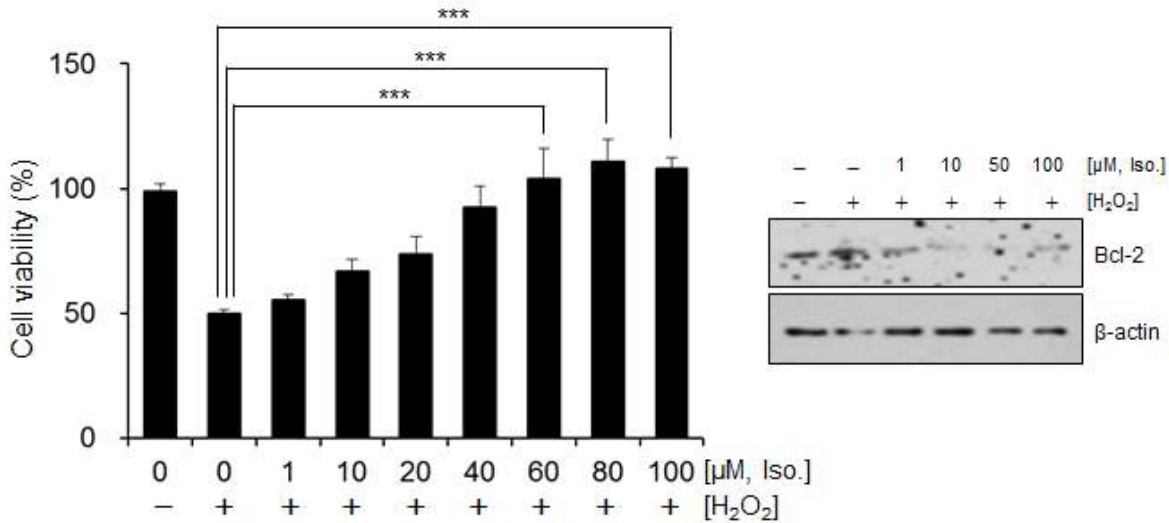


그림 146. 심근세포의 사멸에 과산화수소와 isoproterenol이 함께 미치는 영향에 대한 분자생물학 실험결과(본 세부과제 연구팀의 자체실험결과임). 정상 배지상태에서 과산화수소 단독, isoproterenol 단독, 그리고 과산화수소와 isoproterenol을 함께 처리한 세 가지 경우에 대하여 심근세포의 사멸정도를 반복적으로 측정함. 과산화수소에 의해서 유도되는 심근세포의 사멸이 isoproterenol에 의해 저해됨을 확인할 수 있음.

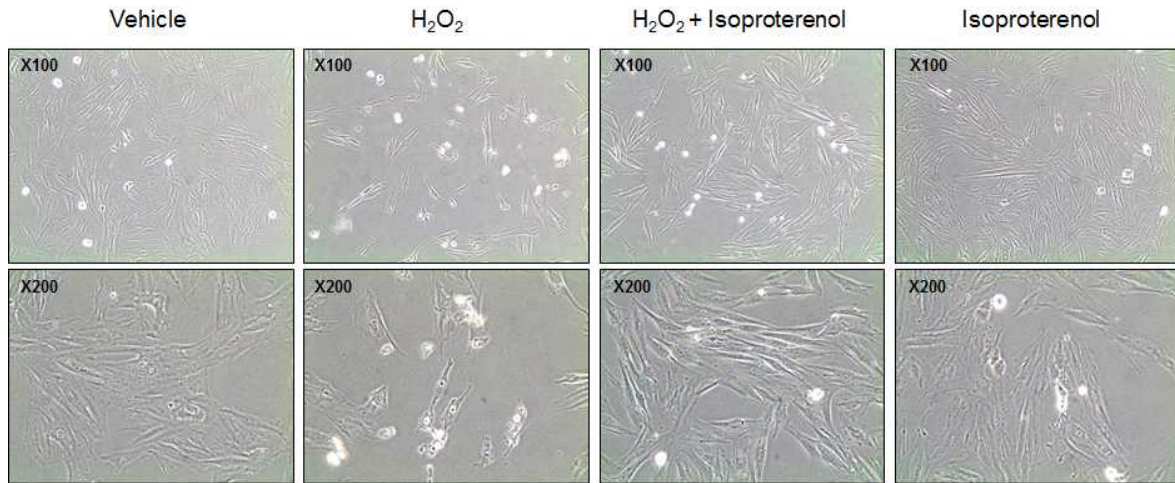


그림 147. 각 자극에 따른 심근세포의 형태 변화(본 세부과제 연구팀의 자체실험결과임). 그림 31에서의 심근세포의 사멸은 심근세포의 형태변화를 기준으로 판단함

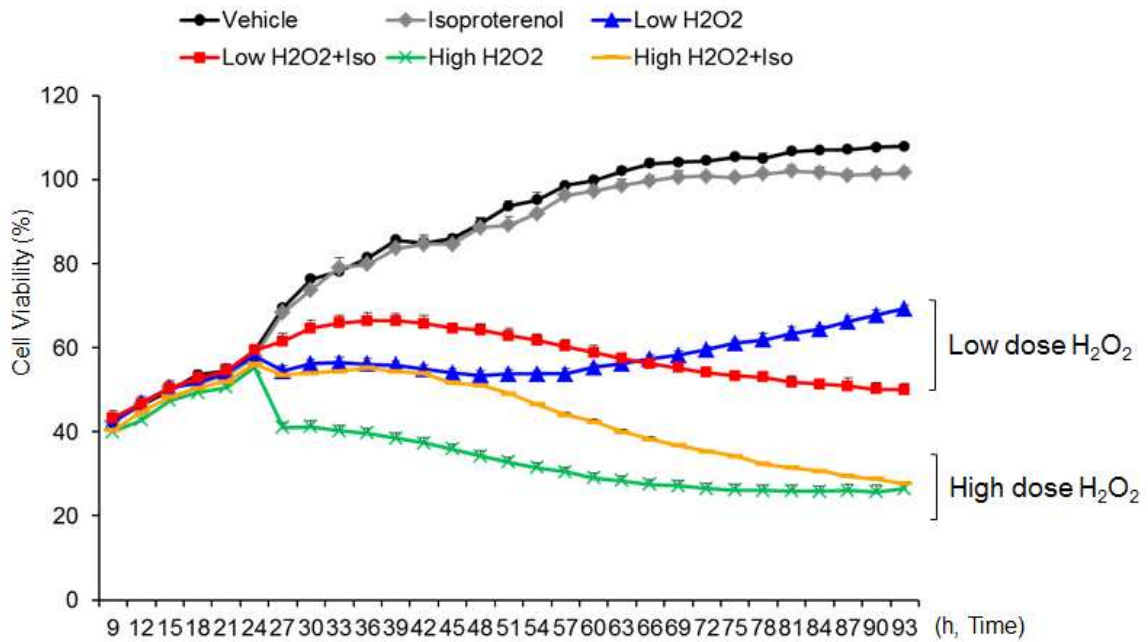


그림 148. 과산화수소와 isoproterenol이 시간의존적으로 심근세포의 사멸에 미치는 영향에 대한 분자생물학 실험결과(실시간 세포 이미징 시스템인 IncuCyte ZOOM을 활용한 본 세부과제 연구팀의 자체실험결과임). 낮은 농도의 과산화수소를 처리한 경우, 세포의 사멸이 시간에 따라 달라지는 것을 확인할 수 있음.

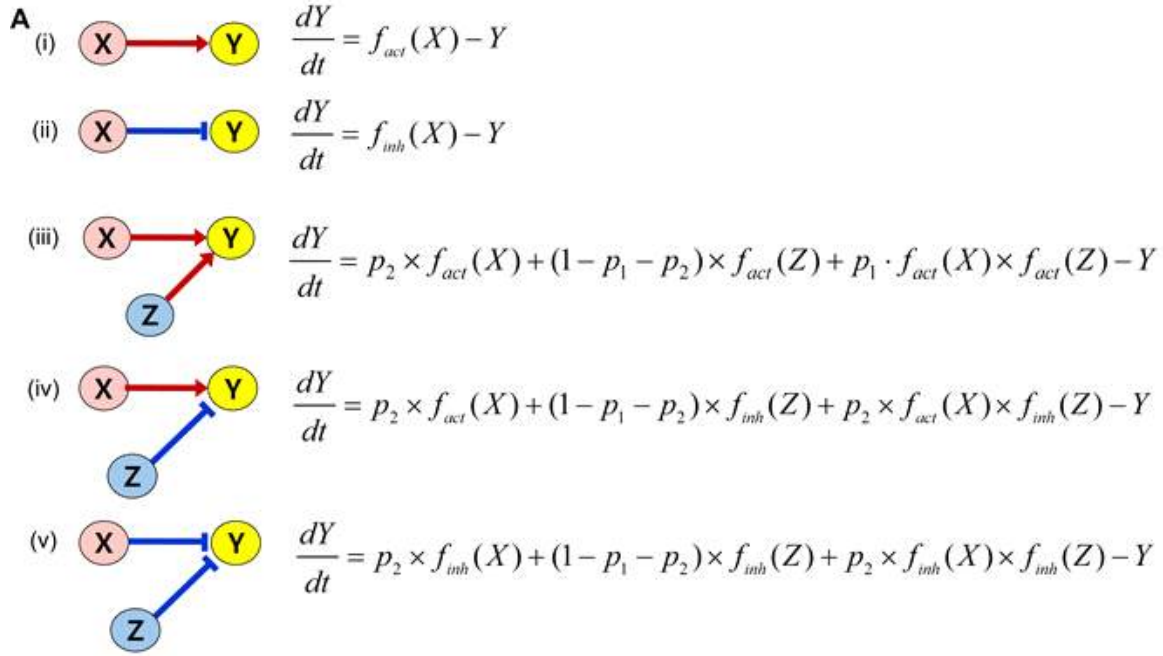


그림 149. 핵심 심근세포 신호전달네트워크를 구성하는 각 신호전달분자들 간 상호작용을 표현하는 표준화 미분방정식 형태.

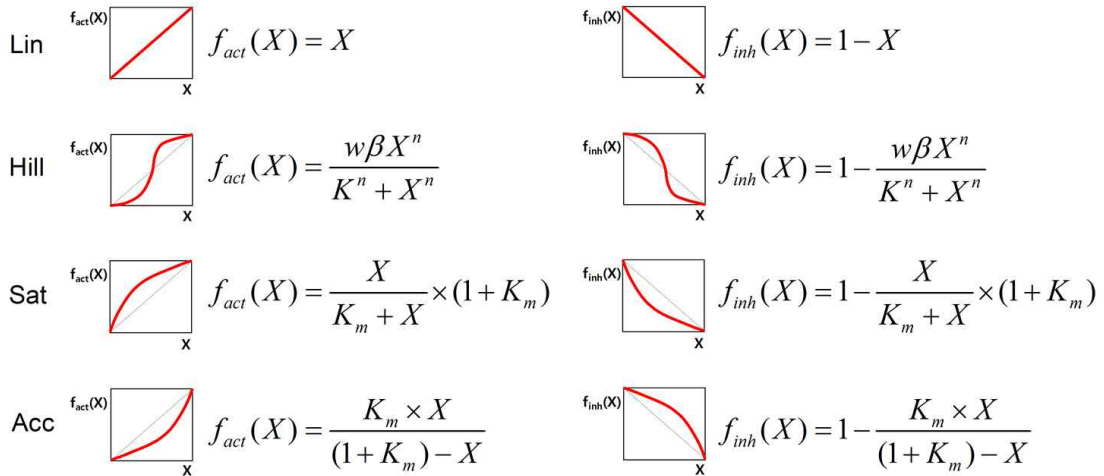


그림 150 핵심 심근세포 신호전달네트워크에 대한 표준화 미분방정식 모델에 사용된 선형(Linear; Lin), 힐형(Hill), 포화형(Saturating; Sat), 가속형(Accelerating; Acc) 등 4가지의 미분방정식 형태.

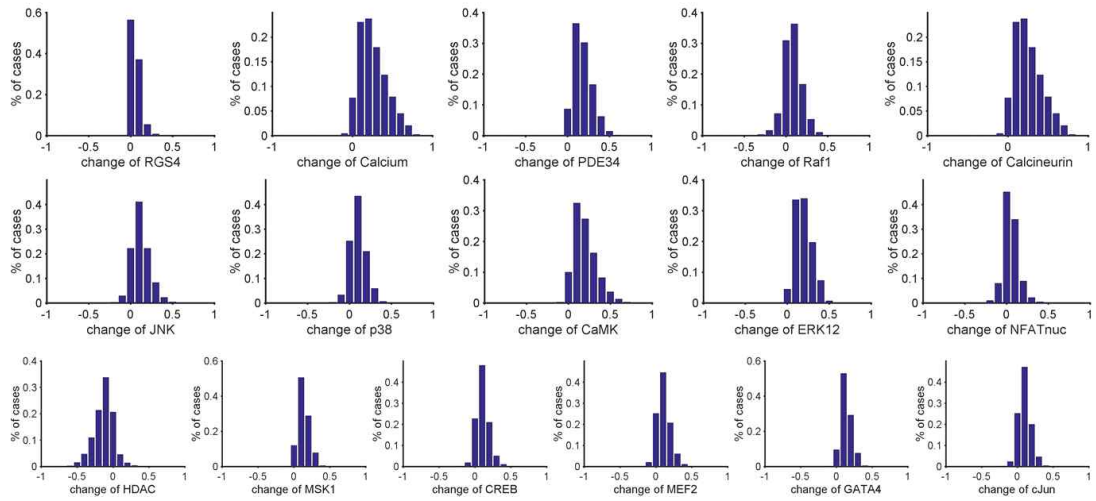


그림 151. 핵심 심근세포 신호전달네트워크에 대한 표준화 미분방정식 모델의 검증. 다양한 파라미터셋들에 대하여 모델시뮬레이션 분석을 수행한 결과 표준화 미분방정식 모델이 기존의 문헌으로부터 보고된 실험적 사실을 잘 재현해낸다는 것을 확인함.

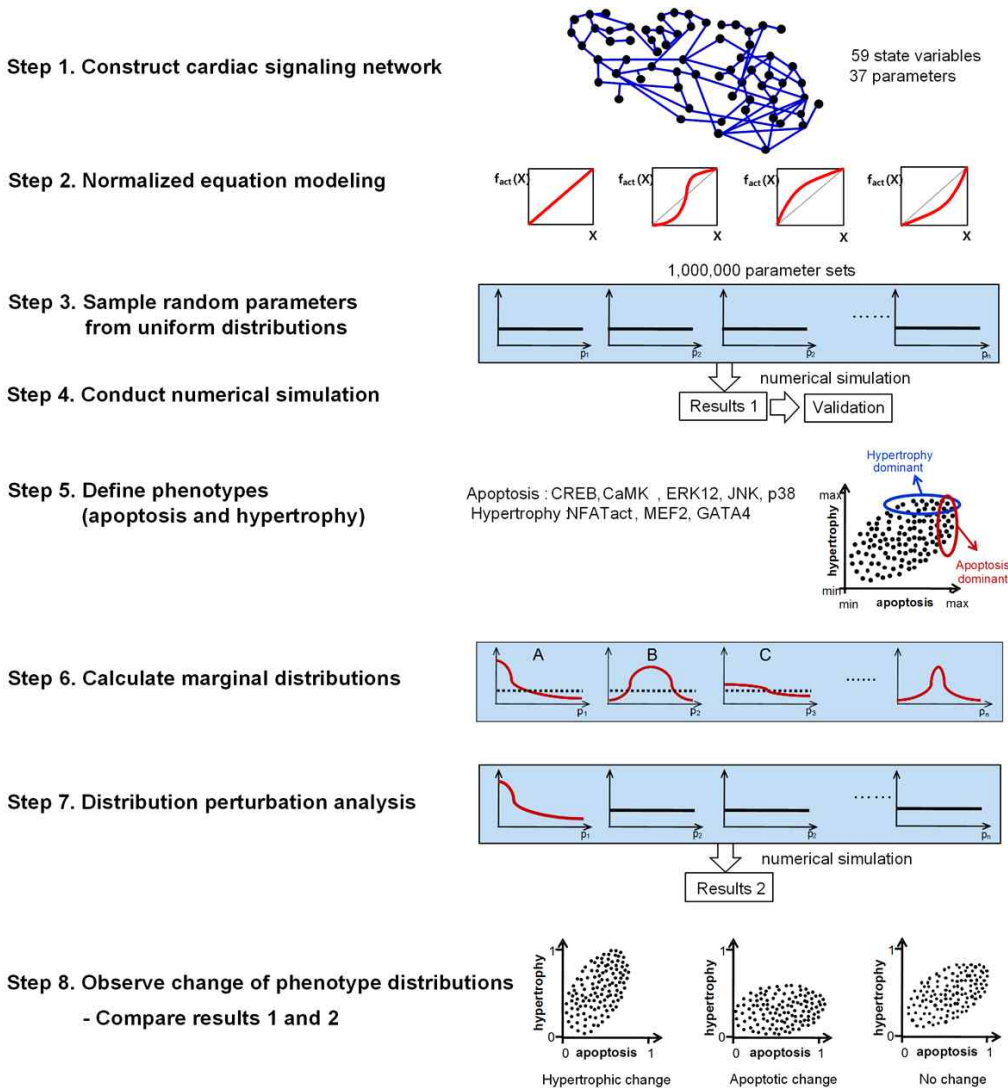


그림 152. 핵심 심근세포 신호전달네트워크에 대한 표준화 미분방정식 모델의 섭동분석법 수행 절차. (Step 1) 문헌 정보와 데이터베이스 정보를 기반으로 핵심 심근세포 신호전달네트워크를 구축함. (Step 2) 선형, 힐형, 포화형, 가속형 등 4가지의 미분방정식 형태로 구성된 핵심 심근세포 신호전달네트워크에 대한 표준화 미분방정식 모델을 개발함. (Step 3) 개별 심근세포의 이질적인 생물학적 특성을 모델에 반영하기 위하여 4가지 형태의 미분방정식 모델 각각에 대한 백만 개의 파라미터셋을 균등분포에 따라 추출함. (Step 4) 균등분포에 따라 추출된 백만 개의 파라미터셋들에 대한 모델시뮬레이션 분석을 수행함. (Step 5) 심부전을(심근세포의 비대 혹은 사멸) 유발하는 파라미터셋들을 수집하고 이들을 심부전이행 파라미터셋이라고 명명함. 이때 심근세포의 비대와 사멸은 각 심근세포의 생리를 조절하는 핵심 단백질들의 활성도로 결정됨(세포비대의 경우 NFAT, MEF2, GATA4가, 세포사멸의 경우 CREB, CaMK, ERK1/2, JNK, p38이 각 세포상태를 대표하는 마커단백질로 사용됨). (Step 6) 심부전이행 파라미터셋들에서 특정 파라미터가 가지는 분포특성을 분석하고 이를 심부전이행 주변분포라고 명명함. (Step 7) 균등분포에 따라 추출된 백만 개의 파라미터셋들에 특정 파라미터의 주변분포 특성을 반영한 후, 이 섭동이 가해진 파라미터셋들에 대한 대규모 시뮬레이션 분석을 통하여 (Step 8) 개별 파라미터가 심부전이행에 미치는 영향력을 분석함.

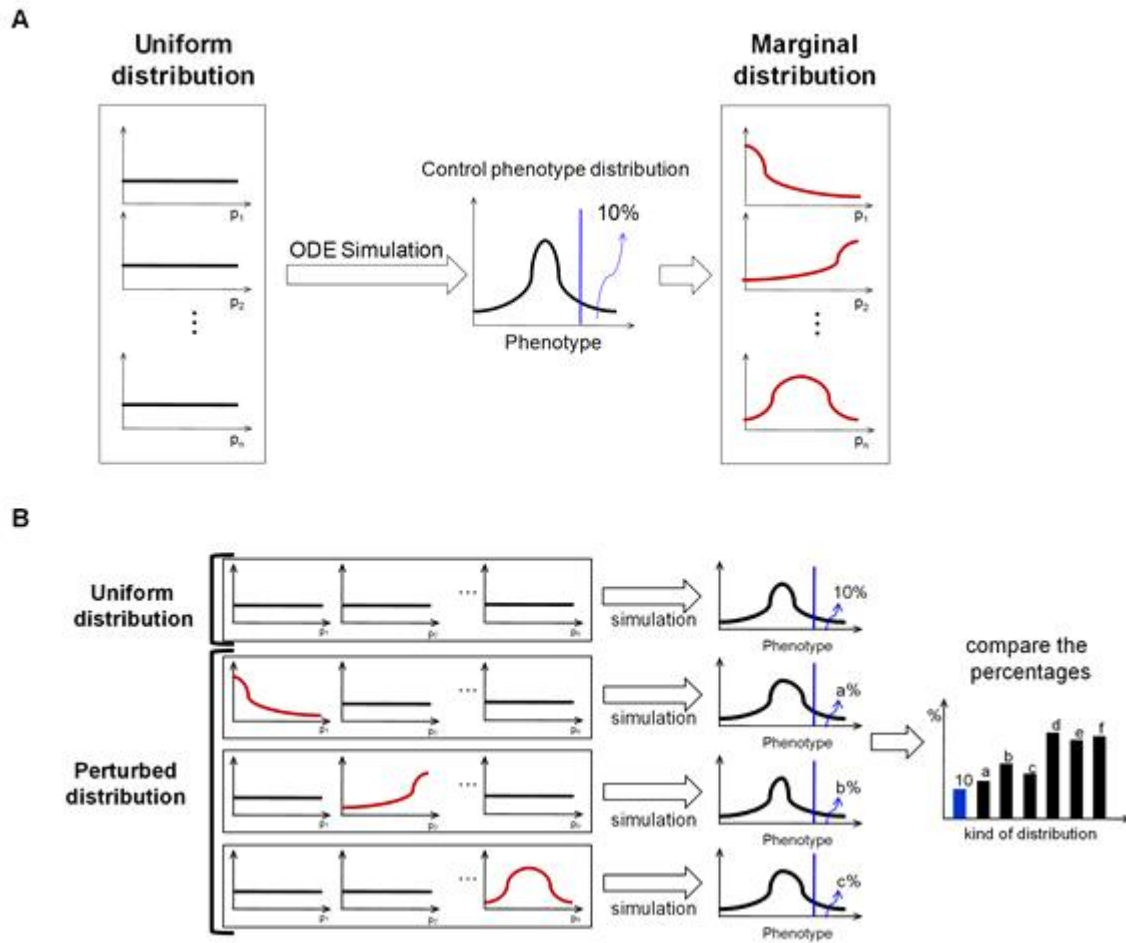


그림 153. 심부전이행 파라미터세트들의 선정기준 및 심부전이행에 대한 개별 파라미터의 영향력 분석방법. (A) 상위 10%의 세포사멸/비대를 유발하는 파라미터세트를 심부전이행 파라미터세트로 정의함. 이 심부전이행 파라미터세트에서 각 파라미터가 가지는 분포특성을 심부전이행 주변분포라고 명명함. (B) 심부전이행에 대하여 개별 파라미터가 갖는 영향력을 분석함. 이를 위해 균등분포에 따라 추출된 백만 개의 파라미터세트들에 특정 파라미터의 심부전이행 주변분포 특성을 반영한 후 시뮬레이션 분석을 통해 심부전이행의 변화를 관찰함.

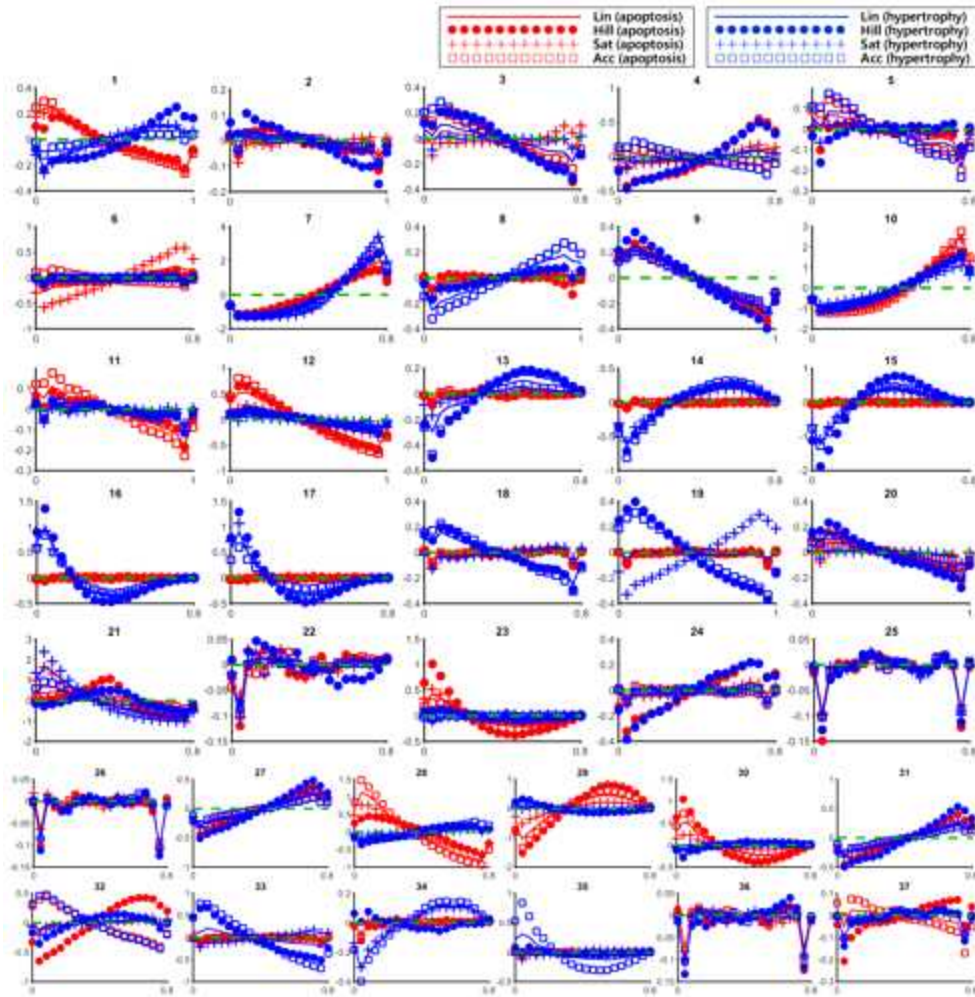


그림 154. 핵심 심근세포 신호전달네트워크의 표준화 미분방정식 모델을 구성하는 37개의 파라미터의 심부전이행 주변분포를 분석함.

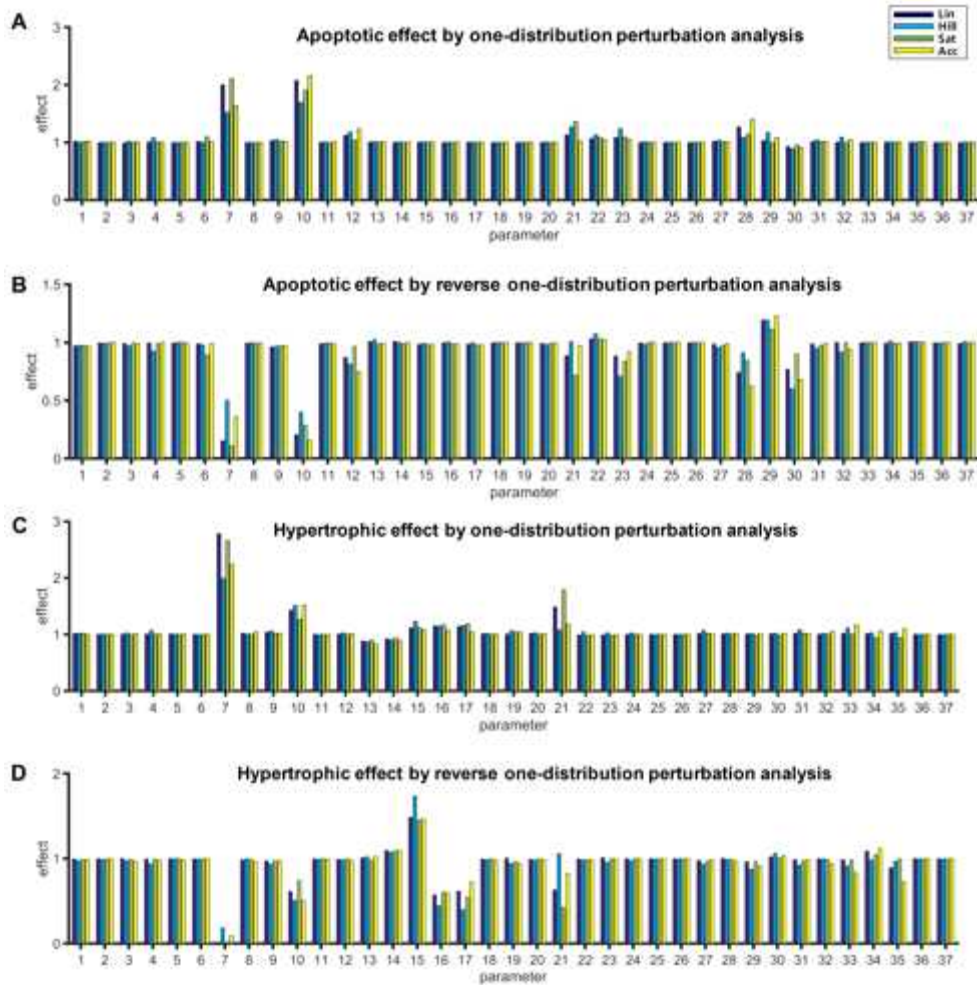


그림 155. 심부전이행에 대하여 개별 파라미터가 갖는 영향력을 분석함. 이를 위해 균등 분포에 따라 추출된 백만 개의 파라미터세트들에 특정 파라미터의 심부전이행 주변분포 특성을 반영한 후 시뮬레이션 분석을 통해 심부전이행의 변화를 관찰함.

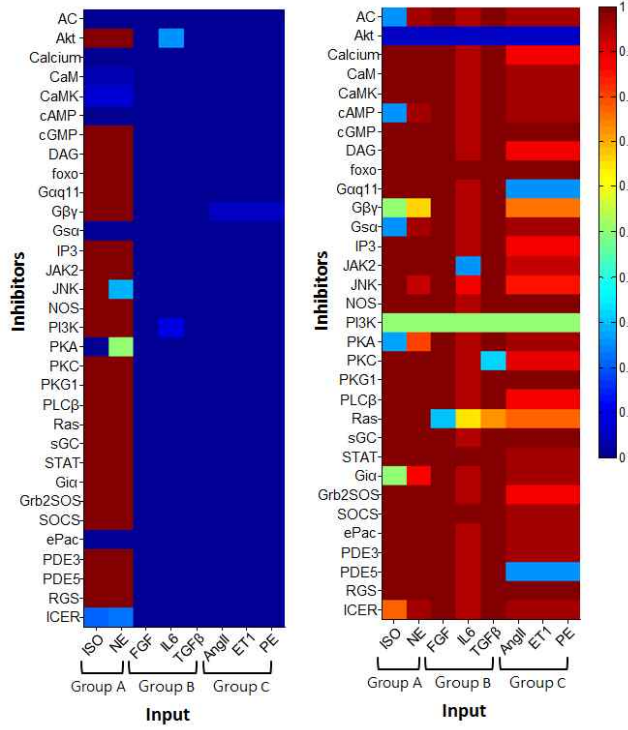


그림 156 심근비대 및 심근세포 사멸에 대한 가상 치료제의 효과에 대한 시뮬레이션 분석결과. 왼쪽은 심근세포 사멸에 대한 효과를, 오른쪽은 심근비대에 대한 효과를 나타냄. 특정 자극에 따른 병적 표현형이 발생한 경우 효과적인 억제제가 서로 다르다는 점을 확인함.

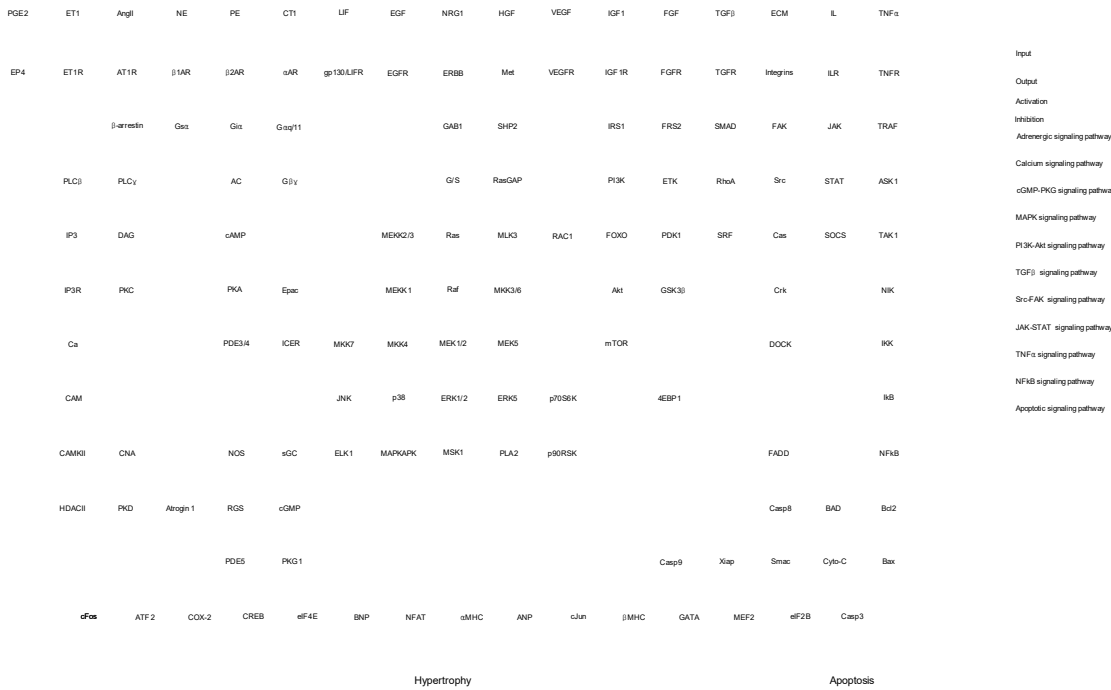


그림 157. 심부전 관련 대규모 심근세포 신호전달네트워크. 구축된 심근세포 신호전달네트워크는 141개의 노드와 289개의 링크로 구성됨. 227개의 적색 링크는 활성화 링크를, 62개의 청색 링크는 억제 링크를 의미함.

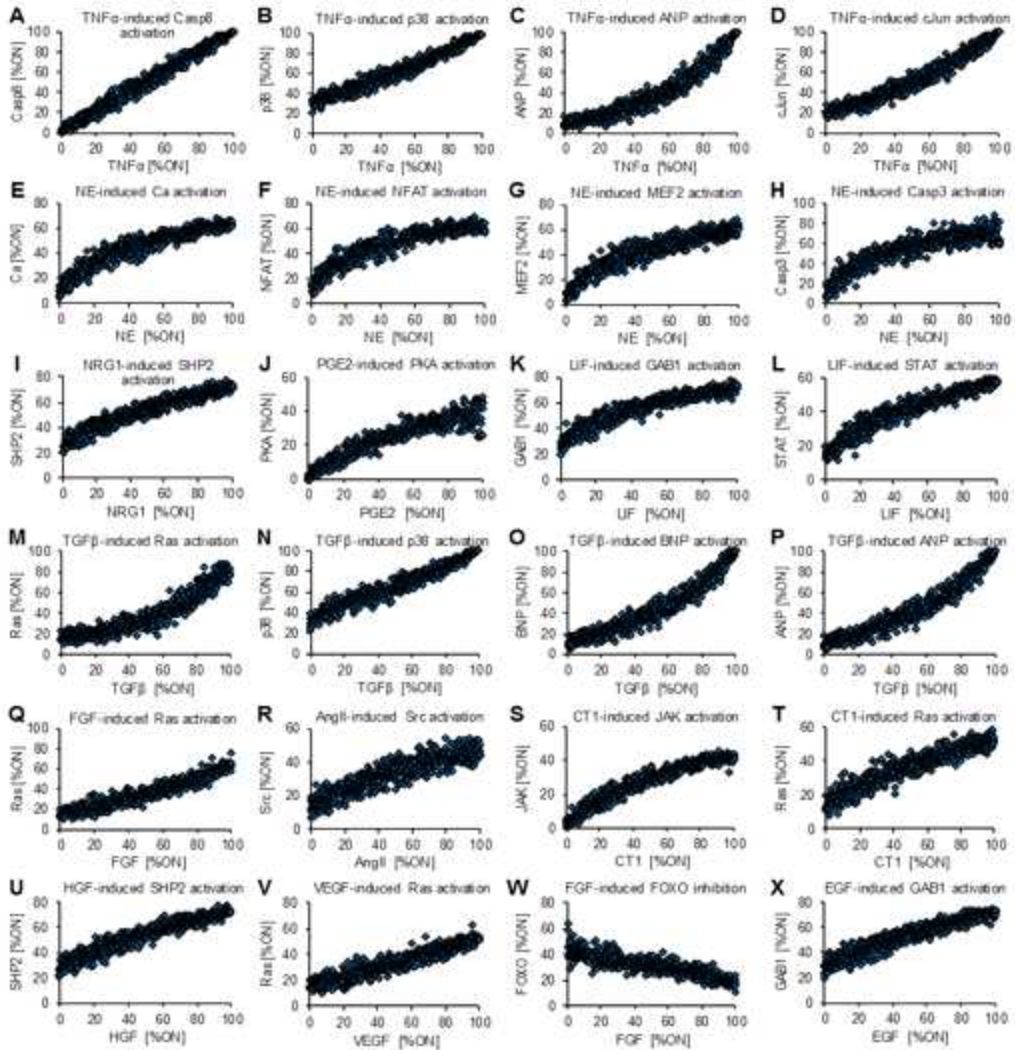


그림 158. 심근세포 신호전달네트워크 수학적모델의 특정 입력자극에 따른 출력 노드들의 활성화도 변화.

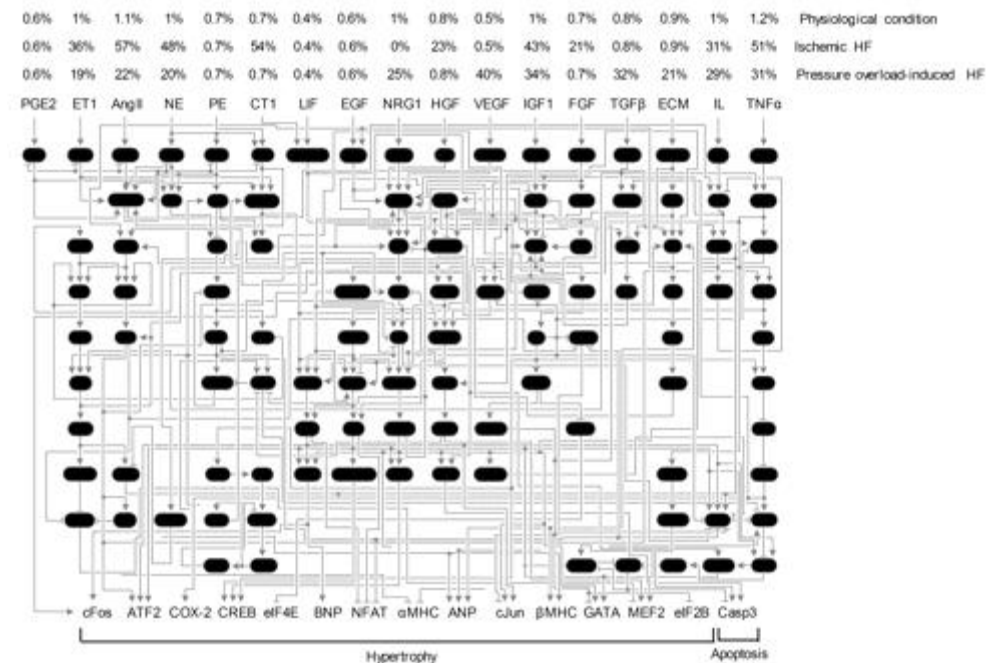


그림 159. 정상생리 상태 및 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서의 심근세포의 동역학적 특성을 결정짓는 최적 입력 노드 조건.

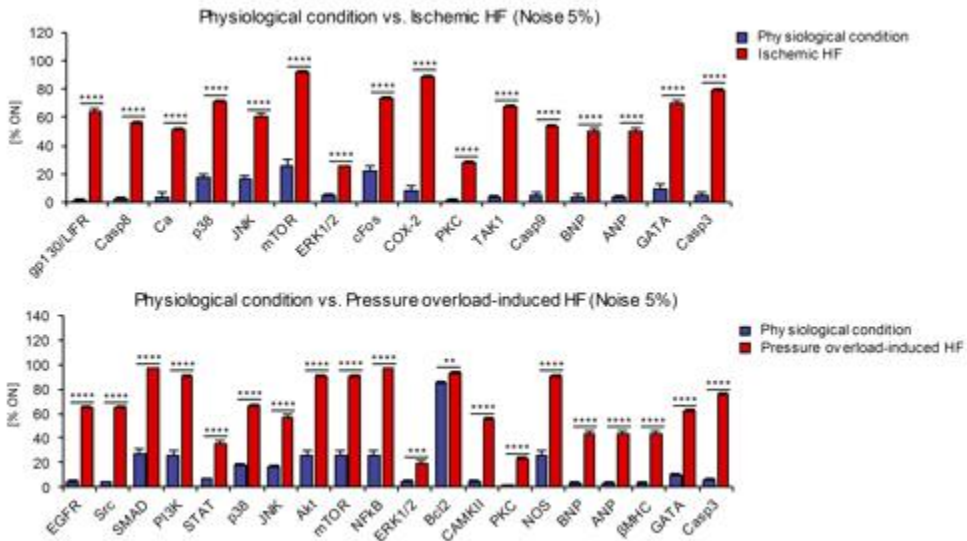


그림 160. 허혈성(A)/비허혈성(B) 심부전 상황에서의 다양한 생체분자들의 활성도.

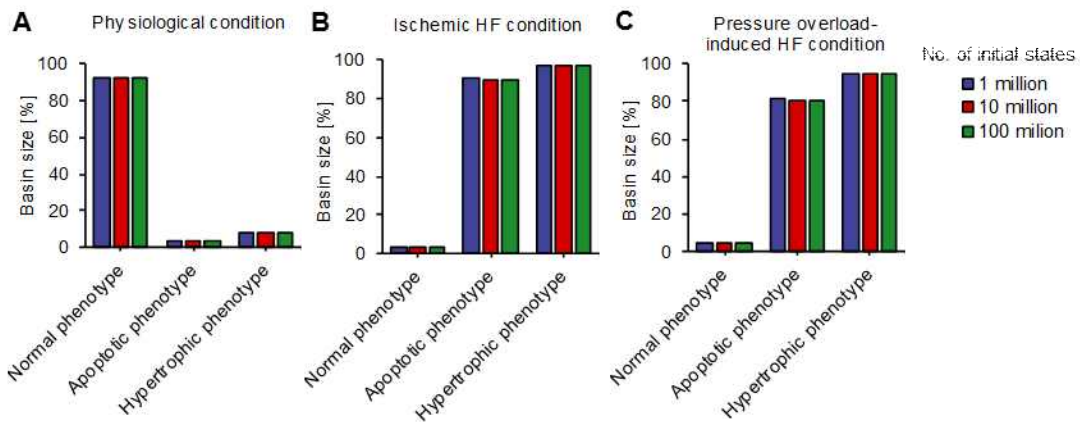


그림 161. 심근세포 신호전달네트워크 수학적모델의 끌개지형 분석. 정상생리(A), 허혈성 심부전(B), 또는 비허혈성 심부전(C) 상황에서 심근세포의 정상, 사멸, 또는 비대 끌개수렴공간에 대한 분포임.

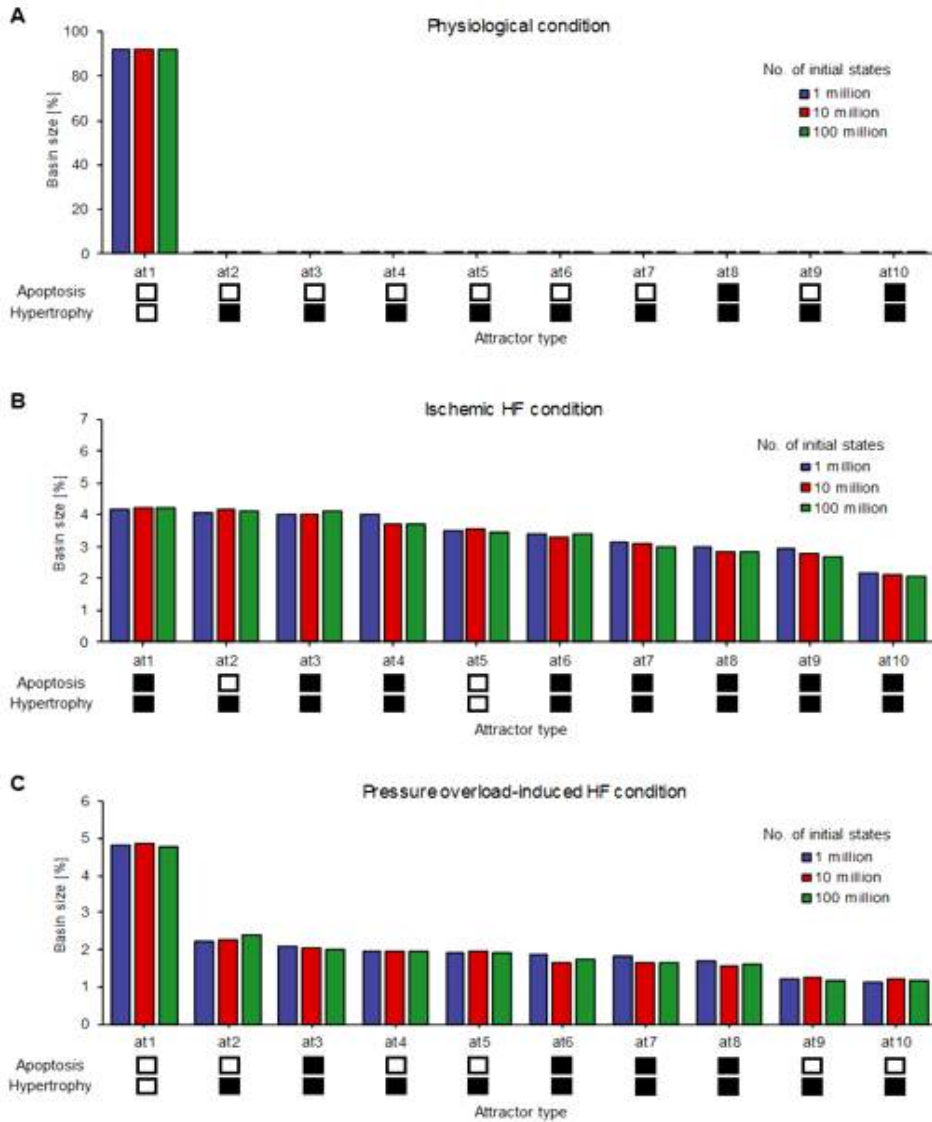


그림 162. 정상생리(A), 허혈성 심부전(B), 또는 비허혈성 심부전(C) 상황에서 끌개수렴 공간에 대한 분포.

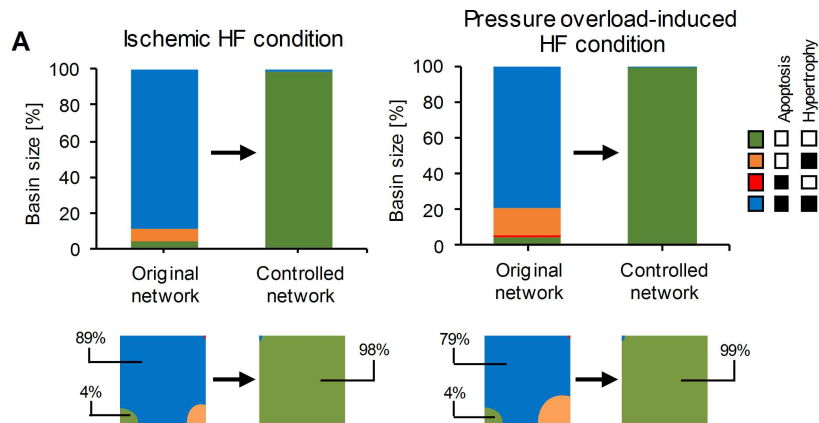


그림 163. 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서 질병조절자를 제어사멸하기 전과 후의 심근세포반응. 녹색 바는 정상표현형을, 주황색은 비대표현형을, 적색은 사멸표현형을, 청색은 비대/사멸 표현형을 의미함.

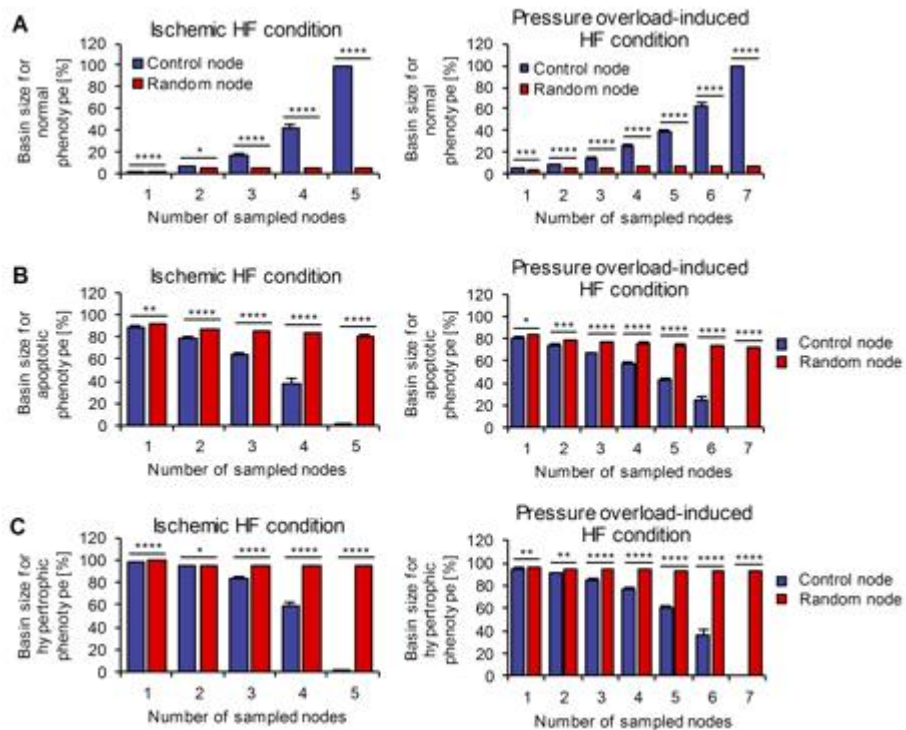


그림 164. 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서 질병조절자의 활성도를 제어하였을 때의 심근세포반응: (A), (B), (C)는 각각 정상, 사멸, 비대 표현형을 의미함.

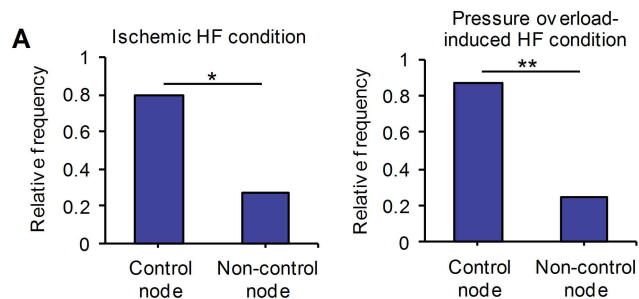


그림 165. 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서의 질병조절자와 약물표적 단백질과의 관련성.

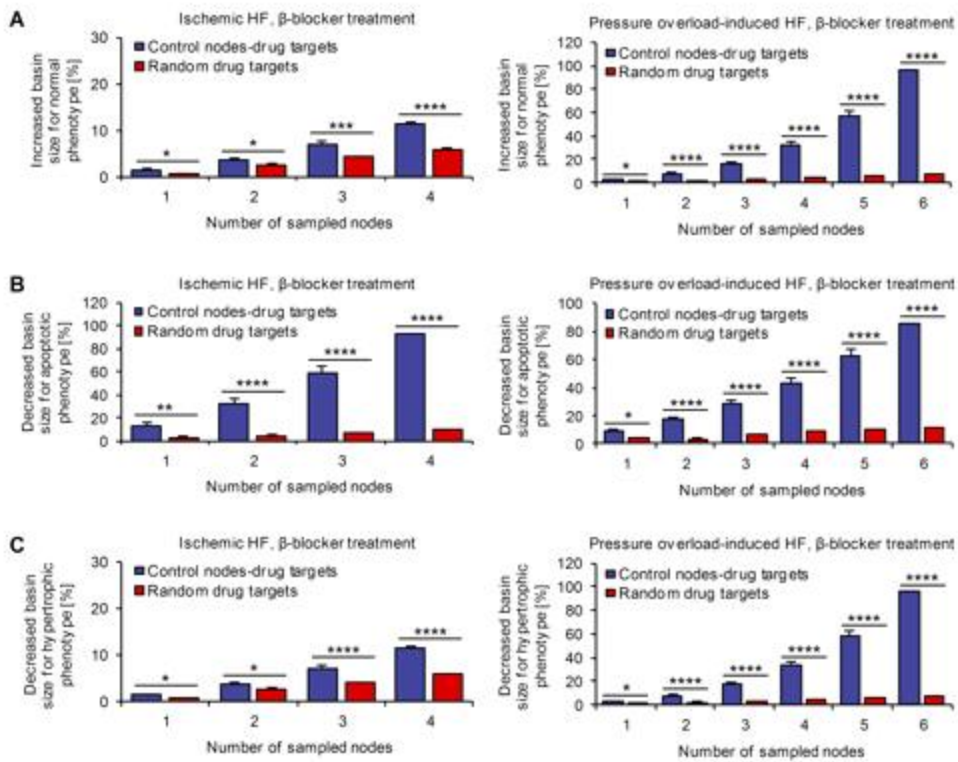


그림 166. 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서 β -blocker 처치와 더불어 질병조절자의 활성도를 제어하였을 때의 심근세포반응: (A), (B), (C)는 각각 정상, 사멸, 비대 표현형을 의미함

표 14. 심근세포생리 관련 대규모 실험데이터수집(5000여 개의 데이터 중 1000개의 예). 수집된 실험데이터는 5가지 항목으로 일관되게 표현하여 대규모 네트워크 구축에 활용 가능한 형태로 정리함.

No.	Cell line	Input	Output	Effect	Time
1	NRVM	none	pFOXO1/3a/4/pAkt	1	10min
2	NRVM	IGF-1	pFOXO1	2	10min
3	NRVM	IGF-1	pFOXO4	3	10min
4	NRVM	IGF-1	pFOXO3a	1.5	10min
5	NRVM	IGF-1	pAkt	2	10min
6	NRVM	Insulin+LY294002	pFOXO1/3a/4	1	10min
7	NRVM	insulin+LY294002	pAkt	1.5	10min
8	NRVM	none	pAkt	1.	12hr
9	NRVM+TM-FOXO3a	none	pAkt	2.	12hr
10	NRVM+WT-FOXO3a	none	pAkt	2.	12hr
11	TAC on mouse	none	pAkt/pFOXO3a	4/2	TAC 1wk
12	NRVM	IGF-1	cell size	1.4	48hr
13	NRVM+WT-FOXO3a	IGF-1	cell size	1.3	24hr(IGF)+24 after TD
14	NRVM+TM-FOXO3a	IGF-1	cell size	0.85	24hr(IGF)+24 after TD
15	NRVM	stretch	cell size	1.3	48hr
16	NRVM+WT-FOXO3a	stretch	cell size	1.15	24hr(stretch)+24 after TD
17	NRVM+TM-FOXO3a	stretch	cell size	0.9	24hr(stretch)+24 after TD
18	HEK293	none	pMAPK	1	5min
19	HEK293	Isoprenaline(10 ⁻¹⁰ /-9/-8/-7/-6/-5)	pMAPK	1.2/2/4/5.5/6/5.8	5min
20	HEK293	Isoprenaline+Propranolol	pMAPK	1	5min
21	HEK293	Isoprenaline	pMAPK	6.5	5min
22	HEK293+bARKct TF	Isoprenaline	pMAPK	3	5min
23	HEK293	Isoprenaline+PTX	pMAPK	1.7	5min
24	HEK293+Csk TF	Isoprenaline	pMAPK	3	5min
25	HEK293+Sos-Pro TF	Isoprenaline	pMAPK	2.6	5min
26	HEK293	Isoprenaline	pMAPK	7	5min
27	HEK293	Isoprenaline+H-89	pMAPK	1.5	5min
28	HEK293	LPA	pMAPK	8	5min
29	HEK293	LPA+H-89	pMAPK	8	5min
30	HEK293	isoprenaline	pMAPK	5	5min
31	HEK293+ERK1 TF+b2ARWT TF	isoprenaline	pMAPK	7	5min
32	HEK293+ERK1 TF+b2ARmut TF	isoprenaline	pMAPK	3	5min
33	Adult cardiomyocyte(Rat)	phenylephrine(10uM)	normalized LTCC current	1.0/0.95/0.9/0.92/0.98/1/1.15/1.18	0/1/2/3/4/5/10/15min
34	Adult cardiomyocyte(Rat)+B APTA pretx	phenylephrine(10uM)	normalized LTCC current	1/1/1/1/1/1/1	0/1/2/3/4/5/10/15min
35	Adult cardiomyocyte(Rat)+KN-93(0.5uM) pretx	phenylephrine(10uM)	normalized LTCC current	1.0/0.9/0.8/0.8/0.79/0.76/0.7/0.65	0/1/2/3/4/5/10/15min
36	Adult cardiomyocyte(Rat)+KN-92(0.5uM) pretx	phenylephrine(10uM)	normalized LTCC current	1.0/0.98/0.95/1.0/1.03/1.05/1.15/1.17	0/1/2/3/4/5/10/15min
37	Adult cardiomyocyte(Rat)+chelerythrine(10uM) pretx	phenylephrine(10uM)	normalized LTCC current	1.0/0.9/0.8/0.77/0.75/0.7/0.55/0.45	0/1/2/3/4/5/10/15min
38	Adult cardiomyocyte(Rat)	control/phe(0.1uM)/10/100	CaMKII activation	100/130/170/190/185	15min
39	Adult cardiomyocyte(Rat)	control/prazosin/praz+phe	CaMKII activation	100/100/105	15min
40	Adult	control/KN-93/KN-93	CaMKII activation	100/70/75	15min

	cardiomyocyte(Rat)	+ phe			
41	Adult cardiomyocyte(Rat)	control/che/che+ phe	CaMKII activation	100/85/99	15min
42	control mouse	none	p38 kinase activity	1	
43	control	phenylephrine	p38 kinase activity	1.6	30min
44	p38aCKO(10wk)	none	p38 kinase activity	0.25	
45	p38aCKO(10wk)	phenylephrine	p38 kinase activity	0.4	30min
46	control	none	FS	37	
47	p38aCKO(10wk)	none	FS	37	
48	p38aCKO(10wk)	TAC(1wk)	FS	15	
49	p38aCKO(10wk)	sham(1wk)	FS	37	
50	control	TAC(1wk)	FS	37	
51	control	sham(1wk)	FS	37	
52	control	sham(1wk)	TUNEL(+) myocytes	37	
53	control	TAC(1wk)	TUNEL(+) myocytes	37	
54	p38aCKO(10wk)	sham(1wk)	TUNEL(+) myocytes	37	
55	p38aCKO(10wk)	TAC(1wk)	TUNEL(+) myocytes	115	
56	control	sham(1wk)	cytochrome c in cytosol	1	
57	control	TAC(1wk)	cytochrome c in cytosol	1.5	
58	p38aCKO(10wk)	sham(1wk)	cytochrome c in cytosol	1.3	
59	p38aCKO(10wk)	TAC(1wk)	cytochrome c in cytosol	3.7	
60	control	TAC(1wk)	Bax/Bcl	1	
61	p38aCKO(10wk)	TAC(1wk)	Bax/Bcl	1.7	
62	control	sham(1wk)	pJNK/totalJNK	1	
63	control	TAC(1wk)	pJNK/totalJNK	2.2	
64	p38aCKO(10wk)	sham(1wk)	pJNK/totalJNK	0.7	
65	p38aCKO(10wk)	TAC(1wk)	pJNK/totalJNK	3.5	
66	control	sham(1wk)	pERK/totalERK	1	
67	control	TAC(1wk)	pERK/totalERK	2	
68	p38aCKO(10wk)	sham(1wk)	pERK/totalERK	1	
69	p38aCKO(10wk)	TAC(1wk)	pERK/totalERK	2	
70	control	sham(1wk)	pMKK3/6 / totalMKK3/6	1	
71	control	TAC(1wk)	pMKK3/6 / totalMKK3/6	5	
72	p38aCKO(10wk)	sham(1wk)	pMKK3/6 / totalMKK3/6	5	
73	p38aCKO(10wk)	TAC(1wk)	pMKK3/6 / totalMKK3/6	40	
74	control	saline	LVDd	3.5	
75	control	isoproterenol(7.5mg/kg/day for 2days)	LVDd	3.5	
76	p38aCKO(10wk)	saline	LVDd	3.5	
77	p38aCKO(10wk)	isoproterenol(7.5mg/kg/day for 2days)	LVDd	4.5	
78	control	saline	FS	40	
79	control	isoproterenol(7.5mg/kg/day for 2days)	FS	48	
80	p38aCKO(10wk)	saline	FS	38	
81	p38aCKO(10wk)	isoproterenol(7.5mg/kg/day for 2days)	FS	15	
82	control	saline	TUNEL(+) myocytes	23	
83	control	isoproterenol(7.5mg/kg/day for 2days)	TUNEL(+) myocytes	26	
84	p38aCKO(10wk)	saline	TUNEL(+) myocytes	25	
85	p38aCKO(10wk)	isoproterenol(7.5mg/kg/day for 2days)	TUNEL(+) myocytes	50	
86	control cell	isoproterenol(0uM)	survival	100	
87	p38aCKO(10wk) cell	isoproterenol(0uM)	survival	100	
88	control cell	isoproterenol(0.31uM)	survival	120	
89	p38aCKO(10wk) cell	isoproterenol(0.31uM)	survival	110	
90	control cell	isoproterenol(0.63uM)	survival	110	
91	p38aCKO(10wk) cell	isoproterenol(0.63uM)	survival	105	
92	control cell	isoproterenol(1.25uM)	survival	120	
93	p38aCKO(10wk) cell	isoproterenol(1.25uM)	survival	102	
94	control cell	isoproterenol(2.5uM)	survival	120	
95	p38aCKO(10wk) cell	isoproterenol(2.5uM)	survival	50	
96	control cell	isoproterenol(5uM)	survival	120	
97	p38aCKO(10wk) cell	isoproterenol(5uM)	survival	30	

98	control cell	isoproterenol(10uM)	survival	50	
99	p38aCKO(10wk) cell	isoproterenol(10uM)	survival	25	
100	control cell	isoproterenol(20uM)	survival	28	
101	p38aCKO(10wk) cell	isoproterenol(20uM)	survival	28	
102	control cell	isoproterenol(40uM)	survival	28	
103	p38aCKO(10wk) cell	isoproterenol(40uM)	survival	28	
104	H9C2 myocyte	none	MEF2	1	
105	H9C2 myocyte	dbcAMP(1mM)	MEF2	0.1	
106	H9C2 myocyte	dbcAMP(1mM) + KT5720(2uM)	MEF2	0.8	
107	COS cells	Myc-PKA:none	MEF2	0.05	
108	COS cells+MEF2C	Myc-PKA:none	MEF2	1	
109	COS cells+MEF2C+HDAC4	Myc-PKA:none	MEF2	0.1	
110	COS cells+MEF2C+HDAC4 +CaMKII	Myc-PKA:none	MEF2	1.2	
111	COS cells	Myc-PKA:low	MEF2	0.05	
112	COS cells+MEF2C	Myc-PKA:low	MEF2	1	
113	COS cells+MEF2C+HDAC4	Myc-PKA:low	MEF2	0.15	
114	COS cells+MEF2C+HDAC4 +CaMKII	Myc-PKA:low	MEF2	0.5	
115	COS cells	Myc-PKA:high	MEF2	0.05	
116	COS cells+MEF2C	Myc-PKA:high	MEF2	1	
117	COS cells+MEF2C+HDAC4	Myc-PKA:high	MEF2	0.13	
118	COS cells+MEF2C+HDAC4 +CaMKII	Myc-PKA:high	MEF2	0.3	
119	NRVM	none	ERK1/2	0.1	
120	NRVM+thapsigargin/nifedipine/EGTA pretx	none	ERK1/2	0.1/0.1/0.1	0.1/0.1/0.1
121	NRVM	Iso	ERK1/2	1	
122	NRVM+thapsigargin/nifedipine/EGTA pretx	Iso	ERK1/2	0.5/0.2/0.2	0.5/0.2/0.2
123	NRVM	none	ERK1/2	0.1	8min
124	NRVM	Iso	ERK1/2	1	8min
125	NRVM+KN93/W7/CsA pretx	Iso	ERK1/2	1.3/0.4/0.4	8min
126	NRVM	none	ERK1/2	0.1	8min
127	NRVM	AngII	ERK1/2	0.4	8min
128	NRVM	PHE	ERK1/2	2	8min
129	NRVM+CsA pretx	none	ERK1/2	0.1	8min
130	NRVM+CsA pretx	AngII	ERK1/2	0.4	8min
131	NRVM+CsA pretx	PHE	ERK1/2	1.5	8min
132	NRVM	Iso(10uM)	calcineurin	100/120/180/260/150/130	0/1/2/5/15/30min
133	NRVM	Iso(0/0.01/0.1/1/10/100uM)	calcineurin	100/180/190/200/310/300	5min
134	NRVM	Iso	Raf-1	0.1/0.5/1/1/1/0.5	0/1/2/5/10/15min
135	NRVM+CsA pretx	Iso	Raf-1	0.1/0.1/0.1/0.1/0.1/0.1	0/1/2/5/10/15min
136	Rat myocardium	Sham/TAC	Epac1 expression	1/1.6	5day
137	ARVM	Sham/Sham+8-CPT/TAC/TAC+8-CPT	Cell area	100/110/110/140	24hr(8-CPT)
138	ARVM	Ad.GFP/Ad.GFP+8-CPT/Ad.Epac/Ad.Epac+8-CPT	Cell area	100/115/105/130	36hr(Ad.Epac or 8-CPT)
139	ARVM	Ad.GFP/Ad.GFP+8-CPT/Ad.Epac/Ad.Epac+8-CPT	Ras-GTP/total Ras	0.1/0.7/0.3/1	36hr(Ad.Epac)+5min(8-CPT)

140	ARVM	Ad.GFP/Ad.GFP+Ad.RasS17N/Ad.Epac/Ad.Epac+8-CPT	[3H]-Leucine uptake	100/105/120/85	1day(8-CPT)
141	ARVM	Ad.GFP/Ad.GFP+Ad.RasS17N/Ad.Epac/Ad.Epac+8-CPT	Calcineurin activity	100/150/220/130	30min(8-CPT)
142	ARVM	Ad.GFP/Ad.Epac1/Ad.Epac1+8-CPT/Ad.Epac1+8-CPT+KN-93	P-CaMKII/total CaMKII	1/1.2/3/1.2	30min(8-CPT)
143	ARVM	none/CsA/KN93/8-CPT/8-CPT+CsA/8-CPT+KN-93	[3H]-Leucine uptake	100/95/96/150/115/98	24hr
144	NRVM	shCT/shCT+ISO/shEpac1/shEpac1+ISO	Cell area	100/150/104/130	48hr(ISO)
145	NRVM	shCT/shCT+ISO/shEpac1/shEpac1+ISO	ANF	25/225/60/140	48hr(ISO)
146	ARVM	none/Ad.PKI/ISO/Ad.PKI+ISO	[3H]-Leucine uptake	110/95/150/140	24hr(ISO)
147	ARVM	none/Ad.PKI/ISO/Ad.PKI+ISO	PKA activity	80/70/180/90	10min(ISO)
148	ARVM	Ad.Epac1/Ad.Epac1+ISO/Ad.Epac1R279K/Ad.Epac1R279K+ISO	[3H]-Leucine uptake	100/135/115/115	24hr
149	Human heart(NonFailing(NF)/Heart Failure(HF))	none	Epac1 expression	1.0/2.0	
150	ARVM	8-CPT(10uM)	nuclear HDAC5	1.0/1.0/0.87/0.72/0.66/0.63	0/10/20/30/40/50/60min
151	ARVM	endothelin(100nM)	nuclear HDAC5	1.0/0.95/0.87/0.82/0.78/0.67/0.55	0/10/20/30/40/50/60min
152	NRVM	control/epac1WT TF	MEF-2	100/300	
153	NRVM	8-CPT/KN93+8-CPT	nuclear HDAC5	0.7/1.0	
154	NRVM	control/Iso(10 ⁻⁷)/Iso(10 ⁻⁶)/Iso(10 ⁻⁵)/Iso(5*10 ⁻⁵)/Ionomycin(10 ⁻⁶)	% of TUNEL positive cells	4/5/10/15/21/18	48hr
155	NRVM	control/Iso(50uM)/CsA pretx(1hr)+Iso/FK506(1hr)+Iso/nifedipine(1hr)+Iso	% of TUNEL positive cells	5/18/5/5/9	48hr
156	NRVM	Iso(50uM)	pBad	1/0.5/0.5/1	0/2/4/6hr
157	NRVM	Iso(50uM)+FK506	pBad	1/1/1/1	0/2/4/6hr
158	NRVM	Iso(50uM)+nifedipine	pBad	1/1/1/1	0/2/4/6hr
159	NRVM	Iso(50uM)	Bcl-2	1/1/1/1/1	0/6/12/24/48hr
160	NRVM	Iso(50uM)	cytosolic cyt c	1/2/3/3	0/8/18/24hr
161	control	none	survival	1.0/1.0/1.0/0.95/0.95	0/100/200/300/400
162	Creb1 deficient mice	none	survival	1.0/0.98/0.95/0.9/0.9	0/100/200/300/400
163	control/creb1 deficient mice	none	bcl-2 expression	100/100	
164	3T3 cells	Vector/Active AKT TF/WT AKT TF/Inactive AKT TF	pBAD	0/1/0/0	
165	3T3 cells	none/PDGF/Wort+PDGF/LY294002+PDGF	pBAD	0.1/1/0.5/0.5	0.1/1/0.5/0.5
166	DHL-9 cells	Basal Promoter/WtUREDRE/MutCRE	bcl-2	1.0/3.0/1.3	1.0/3.0/1.3
167	ARCM	none	TUNEL positive cells(%)	2/4/5/8/9	0/1/2/3/4day
168	ARCM	CA-CaMKII ^{dc}	TUNEL positive cells(%)	3/9/18/20/22	0/1/2/3/4day
169	ARCM	CA-CaMKII ^{dc} +DN-CaMKII ^{dc}	TUNEL positive cells(%)	3/4/12/13/14	0/1/2/3/4day
170	ARCM	CA-CaMKII ^{dc} +AIP	TUNEL positive cells(%)	3/7/8/12/13	0/1/2/3/4day
171	ARCM	CA-CaMKII ^{dc} +Bcl-XL	TUNEL positive cells(%)	3/5/10/12/14	0/1/2/3/4day
172	ARCM	CaMKII activity(1/2/3/5/7)	TUNEL positive cells(%)	4/6/14/16/17	24hr

173	HEK293+BAD TF+B-RAF TF	DMSO/BAY43-9006 0.1uM/1uM/10uM	pBAD(S75)	0.35/0.45/0 .25	16hr TF + 22hr BAY
174	HEK293+BAD TF+B-RAF TF	DMSO/BAY43-9006 0.1uM/1uM/10uM	pBAD(S99)	0.4/0.4/0.0 5/0	16hr TF + 22hr BAY
175	HEK293+BAD TF+B-RAF TF	DMSO/BAY43-9006 0.1uM/1uM/10uM	pBAD(S118)	0.15/0.3/0. 01/0.01	16hr TF + 22hr BAY
176	HEK293+BAD	none	Apoptotic cells(%)	25	16hr TF + 30hr culture
177	HEK293+BAD+B-RAF -KD	none	Apoptotic cells(%)	24	16hr TF + 30hr culture
178	HEK293+BAD+B-RAF	none	Apoptotic cells(%)	10	16hr TF + 30hr culture
179	HEK293+B-RAF	none	Apoptotic cells(%)	8	16hr TF + 30hr culture
180	HEK293+PDE3A2	Ctrl/ISO/PMA	PDE3A2-pS428	0.1/0.1/1.0	ISO(1uM) 90s, PMA(10ng/ml) for 15min
181	HEK293+PDE3A1	Ctrl/ISO/PMA	PDE3A1-pS312	0.1/1.0/0.1	ISO(1uM) 90s, PMA(10ng/ml) for 15min
182	HEK293+PDE3A2	Ctrl/ISO/IBMX/IBMX+ ISO	PDE3A1-pS312	0.2/0.2/0.2/ 1.0	ISO(1uM) 90s, PMA(10ng/ml) for 15min
183	HEK293+PDE3A2	Ctrl/ISO/IBMX/IBMX+ ISO	PDE3A1-pS312	0.1/0.2/0.2/ 1.0	ISO(1uM) 90s, PMA(10ng/ml) for 15min
184	HEK293+PDE3A2	PKA 0nM/10nM/100nM	PDE3A2-pS312	0.1/0.5/1.0	20min
185	HEK293+PDE3A1	PKA 0nM/10nM/100nM	PDE3A1-pS312	0.1/0.2/1.0	20min
186	HEK293+PDE3A2	Ctrl/PMA/dBcAMP	PDE3 activity	100/120/12 5	PMA 15min, dBcAMP 1h
187	HEK293+PDE3A1	Ctrl/ISO/PMA/dBcAMP	PDE3 activity	100/100/10 0/145	ISO 90s, PMA 15min, dBcAMP 1h
188	ARVM	Ctrl/Bay/Iso/Iso+Bay	t1/2off relaxation(s) of calcium transient	0.45/0.4/0. 25/0.25	0.45/0.4/0.25/0 .25
189	ARVM	Ctrl/Bay/Iso/Iso+Bay	Sarcomere shortening	-1/-2/-10/-1 5	-1/-2/-10/-15
190	ARVM	Ctrl/Bay/Iso/Iso+Bay	t1/2off relaxation(s) of sarcomere shortening	0.5/0.35/0. 15/0.15	0.5/0.35/0.15/0 .15
191	ARVM	Ctrl/Cil/Iso/Iso+Cil	Fura2 ratio(% of diastolic ratio)	20/45/100/ 140	20/45/100/140
192	ARVM	Ctrl/Cil/Iso/Iso+Cil	t1/2off relaxation(s) of calcium transient	0.4/0.3/0.2 5/0.2	0.4/0.3/0.25/0. 2
193	ARVM	Ctrl/Cil/Iso/Iso+Cil	Sarcomere shortening	-1/-3/-10/-1 7	-1/-3/-10/-17
194	ARVM	Ctrl/Cil/Iso/Iso+Cil	t1/2off relaxation(s) of sarcomere shortening	0.5/0.25/0. 15/0.1	0.5/0.25/0.15/0 .1
195	ARVM	Ctrl/Ro/Iso/Iso+Ro	Fura2 ratio(% of diastolic ratio)	20/20/80/1 40	20/20/80/140
196	ARVM	Ctrl/Ro/Iso/Iso+Ro	t1/2off relaxation(s) of calcium transient	0.4/0.35/0. 25/0.25	0.4/0.35/0.25/0 .25
197	ARVM	Ctrl/Ro/Iso/Iso+Ro	Sarcomere shortening	-1/-1/-12/-1 8	-1/-1/-12/-18
198	ARVM	Ctrl/Ro/Iso/Iso+Ro	t1/2off relaxation(s) of sarcomere shortening	0.5/0.45/0. 15/0.1	0.5/0.45/0.15/0 .1
199	ARVM	KT/DT-2/SNAP/SNAP+KT/SNAP+DT-2/S p-8	ICNG density	0.1/0.1/2.0/ 4.0/4.5/23	SNAP(1~2min)
200	ARVM	none/KT/IBMX/IBMX +KT	cGMP	80/90/100/ 110	SNAP(5min)
201	ARVM	SNAP/SNAP+KT/IBMX +SNAP/IBMX+SNAP+KT	cGMP	180/280/42 0/400	SNAP(5min)
202	ARVM	ANP/ANP+KT5823/S p-8	ICNG current	4.0/2.0/5.0	less than 1min
203	ARVM	control/DT-2/SNAP/S	PDE5	1.2/0.8/2.3/	SNAP(5min)

		NAP+DT-2		1.2	
204	ARVM	ANP/ANP+PKG(+)/ANP+PKG(+)+KT	ICNG density	8.0/12.0/7.0	8.0/12.0/7.0
205	ARVM	control/PKGI/ANP(10nM)/ANP(10nM)+PKGI/ANP(100nM)/ANP(100nM)+PKGI	pGC activity	0.3/0.4/0.5/0.7/0.8/1.3	0.3/0.4/0.5/0.7/0.8/1.3
206	NRCM	AngII	ANF	1.8	12hr
207	NRCM	AngII+Los	ANF	1.1	12hr
208	C2C12 myoblast+AT1a TF	AngII	ANF	14	12hr
209	C2C12 myoblast+AT1a TF	AngII+Los	ANF	1	12hr
210	C2C12 myoblast+N74D	AngII	ANF	1	12hr
211	C2C12 myoblast+AT2 TF	AngII	ANF	1	12hr
212	C2C12 myoblast	AngII	ANF	10	12hr
213	C2C12 myoblast+STAT site del	AngII	ANF	5	12hr
214	C2C12 myoblast+AP-1 site del	AngII	ANF	13	12hr
215	C2C12 myoblast+GATA site del	AngII	ANF	7	12hr
216	C2C12 myoblast+GATA site del+GATA/SRE 중 GATA site del	AngII	ANF	1	12hr
217	C2C12 myoblast+GATA/SRE site del	AngII	ANF	8	12hr
218	C2C12 myoblast+STAT site del+AP-1 site del+GATA site del	AngII	ANF	3	12hr
219	C2C12 myoblast+STAT site del+AP-1 site del+GATA site del+GATA/SRE 중 SRE site del	AngII	ANF	2.5	12hr
220	C2C12 myoblast+promoter	AngII	ANF	1	
221	C2C12 myoblast+promoter+S TAT site	AngII	ANF	5	
222	C2C12 myoblast+promoter+G ATA/SRE site	AngII	ANF	7	
223	C2C12 myoblast+promoter +STAT site+GATA/SRE site	AngII	ANF	31	
224	C2C12 myoblast+promoter+S TAT site del+GATA/SRE site	AngII	ANF	6	
225	C2C12 myoblast+promoter+G	AngII	ANF	14	

	ATA/SRE 중 GATA site del+GATA/SRE site				
226	C2C12 myoblast+promoter+S TAT site+GATA/SRE 중 SRE site del	AngII	ANF	11	
227	C2C12 myoblast	AngII	ANF	5.2	24hr
228	C2C12 myoblast+GATA mut	AngII	ANF	1	24hr
229	C2C12 myoblast+STAT del	AngII	ANF	2.5	24hr
230	C2C12 myoblast	AngII	ANF	100	12hr
231	C2C12 myoblast	AngII+GF109203X	ANF	20	12hr
232	C2C12 myoblast	AngII+LY294002	ANF	180	12hr
233	C2C12 myoblast	AngII+U73122	ANF	5	12hr
234	C2C12 myoblast	AngII+SB203580	ANF	80	12hr
235	C2C12 myoblast	AngII+PD98059	ANF	150	12hr
236	C2C12 myoblast	AngII+AG490	ANF	40	12hr
237	C2C12 myoblast+AT1aR WT	AngII	ANF	100	12hr
238	C2C12 myoblast+AT1aR IIGG	AngII	ANF	70	12hr
239	C2C12 myoblast+AT1aR WT+STAT mut	AngII	ANF	60	12hr
240	C2C12 myoblast+AT1aR IIGG+STAT mut	AngII	ANF	60	12hr
241	C2C12 myoblast+AT1aR expression vector	AngII	ANF	100	12hr
242	C2C12 myoblast+AT1aR expression vector+PKC	AngII	ANF	225	12hr
243	C2C12 myoblast+AT1aR expression vector+ERK1	AngII	ANF	140	12hr
244	C2C12 myoblast+AT1aR expression vector+ERK2	AngII	ANF	135	12hr
245	C2C12 myoblast+SRE mut/-135 ANF	AngII	ANF	4	12hr
246	C2C12 myoblast+SRE mut/-135 ANF	AngII+GF109203X	ANF	1	12hr
247	C2C12 myoblast+STAT/-57 ANF	AngII	ANF	4.5	12hr
248	C2C12 myoblast+STAT/-57 ANF	AngII+GF109203X	ANF	4.3	12hr
249	C2C12 myoblast	none	ANF promotor activation	1.8	12hr
250	C2C12 myoblast	GF109203X	ANF promotor activation	1	12hr
251	C2C12 myoblast+GATA 4	none	ANF promotor activation	6.5	12hr
252	C2C12	GF109203X	ANF promotor activation	0.1	12hr

	myoblast+GATA-4				
253	C2C12 myoblast	none	ANF promotor activation	1	12hr
254	C2C12 myoblast	Ang II	ANF promotor activation	3	12hr
255	C2C12 myoblast+GATA-4 WT	none	ANF promotor activation	7	12hr
256	C2C12 myoblast+GATA-4 WT	Ang II	ANF promotor activation	9	12hr
257	C2C12 myoblast+DBD	none	ANF promotor activation	0.8	12hr
258	C2C12 myoblast+DBD	Ang II	ANF promotor activation	1	12hr
259	C2C12 myoblast+ZN mut	none	ANF promotor activation	1	12hr
260	C2C12 myoblast+ZN mut	Ang II	ANF promotor activation	0.9	12hr
261	NIH 3T3 cell+STAT1a	none	ANF promotor activation	2.5	12hr
262	NIH 3T3 cell+STAT1a	Ang II	ANF promotor activation	5	12hr
263	NIH 3T3 cell	none	ANF promotor activation	1	12hr
264	NIH 3T3 cell+GATA-4	none	ANF promotor activation	2.5	12hr
265	NIH 3T3 cell+STAT1a(+)	none	ANF promotor activation	1.8	12hr
266	NIH 3T3 cell+GATA-4+STAT1a(+)	none	ANF promotor activation	5.8	12hr
267	NIH 3T3 cell+STAT1a(++)	none	ANF promotor activation	0.5	12hr
268	NIH 3T3 cell+GATA-4+STAT1a(++)	none	ANF promotor activation	11	12hr
269	NIH 3T3 cell+STAT3(+)	none	ANF promotor activation	1	12hr
270	NIH 3T3 cell+GATA-4+STAT3	none	ANF promotor activation	2	12hr
271	NIH 3T3 cell+STAT3(++)	none	ANF promotor activation	0.6	12hr
272	NIH 3T3 cell+GATA-4+STAT3(++)	none	ANF promotor activation	2.2	12hr
273	NIH 3T3 cell+STAT5b(+)	none	ANF promotor activation	0.4	12hr
274	NIH 3T3 cell+GATA-4+STAT5b(+)	none	ANF promotor activation	6	12hr
275	NIH 3T3 cell+STAT5b(++)	none	ANF promotor activation	0.2	12hr
276	NIH 3T3 cell+GATA-4+STAT5b(++)	none	ANF promotor activation	6	12hr
277	NIH 3T3 cell+GATA-4	none	ANF promotor activation	1	12hr
278	NIH 3T3 cell+HA-STAT1a	none	ANF promotor activation	0.2	12hr
279	NIH 3T3 cell	CBP(+)	ANF promotor activation	0.5	12hr
280	NIH 3T3 cell	CBP(++)	ANF promotor activation	0.4	12hr
281	NIH 3T3 cell+GATA-4+HA-STAT1a	CBP(++)	ANF promotor activation	5	12hr
282	NIH 3T3	CBP(+)	ANF promotor activation	0.7	12hr

	cell+GATA-4				
283	NIH 3T3 cell+GATA-4	CBP(++)	ANF promotor activation	0.6	12hr
284	NIH 3T3 cell+HA-STAT1α	CBP(+)	ANF promotor activation	0.7	12hr
285	NIH 3T3 cell+HA-STAT1α	CBP(++)	ANF promotor activation	0.6	12hr
286	NIH 3T3 cell+GATA-4+HA-STAT1α	CBP(+)	ANF promotor activation	25	12hr
287	NIH 3T3 cell+GATA-4+HA-STAT1α	CBP(++)	ANF promotor activation	40	12hr
288	cardiomyocyte WT+STAT1α(+)	none	ANF promotor activation	1.3	12hr
289	cardiomyocyte WT+STAT1α(+)+GATA mut	none	ANF promotor activation	1.4	12hr
290	cardiomyocyte WT+STAT1α(++)	none	ANF promotor activation	2	12hr
291	cardiomyocyte WT+STAT1α(++)+GATA mut	none	ANF promotor activation	1	12hr
292	cardiomyocyte WT+STAT1α(+++)	none	ANF promotor activation	4	12hr
293	cardiomyocyte WT+STAT1α(+++)+GATA mut	none	ANF promotor activation	2	12hr
294	cardiomyocyte+aG4	Ang II	ANF fold enrichment(distal)	3.8	48hr
295	cardiomyocyte+aG4	Ang II	ANF fold enrichment(proximal)	4.8	48hr
296	cardiomyocyte+aSTAT1/3	Ang II	ANF fold enrichment(distal)	3.8	48hr
297	cardiomyocyte+aSTAT1/3	Ang II	ANF fold enrichment(proximal)	3.9	48hr
298	NIH 3T3 cell+ -1176VEGF+GATA-4	none	ANF promotor activation	1	
299	NIH 3T3 cell+ -1176VEGF+STAT1α	none	ANF promotor activation	3	
300	NIH 3T3 cell+ -1176VEGF+GATA-4+ STAT1α	none	ANF promotor activation	6	
301	NIH 3T3 cell+ -360cFos+GATA-4	none	ANF promotor activation	3	
302	NIH 3T3 cell+ -360cFos+STAT1α	none	ANF promotor activation	3	
303	NIH 3T3 cell+ -360cFos+GATA-4+STAT1α	none	ANF promotor activation	7	
304	NIH 3T3 cell+-757Bcl-X+GATA-4	none	ANF promotor activation	2	
305	NIH 3T3 cell+-757Bcl-X+STAT1α	none	ANF promotor activation	4	
306	NIH 3T3 cell+-757Bcl-X+GATA-4+STAT1α	none	ANF promotor activation	16	
307	C2C12 myoblast+STAT1α	none	ANF promotor activation	1	
308	C2C12 myoblast+SRF	none	ANF promotor activation	2	

309	C2C12 myoblast+GATA-4	none	ANF promotor activation	15	
310	C2C12 myoblast+STAT1 α +SRF	none	ANF promotor activation	5	
311	C2C12 myoblast+STAT1 α +GATA-4	none	ANF promotor activation	22	
312	C2C12 myoblast+SRF+GATA-4	none	ANF promotor activation	25	
313	C2C12 myoblast+STAT1 α +SRF+GATA-4	none	ANF promotor activation	55	
314	NRCM	none	MEF2 fold activation	1	15hr
315	NRCM	PE	MEF2 fold activation	4.5	15hr
316	NRCM	FBS	MEF2 fold activation	5.5	15hr
317	NRCM+Gal-MEF2C	PE	MEF2C fold activation	45	15hr
318	NRCM+Gal-MEF2C	PE+KN62	MEF2C fold activation	25	15hr
319	NRCM+Gal-MEF2C	PE+SB202190	MEF2C fold activation	35	15hr
320	NRCM+Gal-MEF2C	PE+KN62+SB202190	MEF2C fold activation	5	15hr
321	NRCM	none	MEF2C fold activation	1	15hr
322	NRCM+activated CaMK IV	none	MEF2C fold activation	15	15hr
323	NRCM+activated MKK6	none	MEF2C fold activation	1	15hr
324	NRCM	none	MEF2C- Δ N fold activation	1	15hr
325	NRCM+activated CaMK IV	none	MEF2C- Δ N fold activation	2	15hr
326	NRCM+activated MKK6	none	MEF2C- Δ N fold activation	9	15hr
327	10T1/2 cell	none	MEF2 fold activation	1	48hr
328	10T1/2 cell+MEF2A reporter TF	none	MEF2 fold activation	10	48hr
329	10T1/2 cell+MEF2A reporter TF+HDAC1	none	MEF2 fold activation	15	48hr
330	10T1/2 cell+MEF2A reporter TF+HDAC3	none	MEF2 fold activation	10	48hr
331	10T1/2 cell+MEF2A reporter TF+HDAC4	none	MEF2 fold activation	0.5	48hr
332	10T1/2 cell+MEF2A reporter TF+HDAC5	none	MEF2 fold activation	0.7	48hr
333	10T1/2 cell+MEF2A reporter TF+HDAC5 Δ N	none	MEF2 fold activation	6	48hr
334	10T1/2 cell	none	MEF2 fold activation	1	48hr
335	10T1/2 cell+MEF2C reporter TF	none	MEF2 fold activation	12.5	48hr
336	10T1/2 cell+MEF2C reporter TF+HDAC1	none	MEF2 fold activation	15	48hr
337	10T1/2 cell+MEF2C reporter TF+HDAC3	none	MEF2 fold activation	9.5	48hr
338	10T1/2 cell+MEF2C reporter TF+HDAC4	none	MEF2 fold activation	0.2	48hr
339	10T1/2 cell+MEF2C reporter TF+HDAC5	none	MEF2 fold activation	0.5	48hr
340	10T1/2 cell+MEF2C reporter TF+HDAC5 Δ N	none	MEF2 fold activation	7	48hr
341	10T1/2 cell	none	MEF2 fold activation	1	48hr
342	10T1/2 cell+MEF2D reporter TF	none	MEF2 fold activation	50	48hr
343	10T1/2 cell+MEF2D	none	MEF2 fold activation	40	48hr

	reporter TF+HDAC1				
344	10T1/2 cell+MEF2D reporter TF+HDAC3	none	MEF2 fold activation	40	48hr
345	10T1/2 cell+MEF2D reporter TF+HDAC4	none	MEF2 fold activation	0.5	48hr
346	10T1/2 cell+MEF2D reporter TF+HDAC5	none	MEF2 fold activation	1	48hr
347	10T1/2 cell+MEF2D reporter TF+HDAC5 Δ N	none	MEF2 fold activation	35	48hr
348	10T1/2 cell	none	GAL fold activation	1	48hr
349	10T1/2 cell+Gal-MEF2C vector	none	GAL fold activation	15	48hr
350	10T1/2 cell+Gal-MEF2C vector+HDAC1	none	GAL fold activation	20	48hr
351	10T1/2 cell+Gal-MEF2C vector+HDAC3	none	GAL fold activation	13.5	48hr
352	10T1/2 cell+Gal-MEF2C vector+HDAC4	none	GAL fold activation	0.5	48hr
353	10T1/2 cell+Gal-MEF2C vector+HDAC5	none	GAL fold activation	0.5	48hr
354	10T1/2 cell+Gal-MEF2C vector+HDAC5 Δ N	none	GAL fold activation	15	48hr
355	10T1/2 cell	none	GAL fold activation	1	48hr
356	10T1/2 cell+Gal-MEF2C Δ N vector	none	GAL fold activation	150	48hr
357	10T1/2 cell+Gal-MEF2C Δ N vector+HDAC4	none	GAL fold activation	120	48hr
358	10T1/2 cell+Gal-MEF2C Δ N vector+HDAC5	none	GAL fold activation	150	48hr
359	10T1/2 cell+Gal-MEF2C Δ N vector+HDAC5 Δ N	none	GAL fold activation	160	48hr
360	10T1/2 cell	none	MEF2C fold activation	1	48hr
361	10T1/2 cell+Gal-MEF2C	none	MEF2C fold activation	12.5	48hr
362	10T1/2 cell+Gal-MEF2C+HDAC5	none	MEF2C fold activation	1	48hr
363	10T1/2 cell+Gal-MEF2C+CaMK I	none	MEF2C fold activation	60	48hr
364	10T1/2 cell+Gal-MEF2C+CaMK I+HDAC5	none	MEF2C fold activation	25	48hr
365	10T1/2 cell+Gal-MEF2C+MKK6	none	MEF2C fold activation	30	48hr
366	10T1/2 cell+Gal-MEF2C+MKK6+HDAC5	none	MEF2C fold activation	2	48hr
367	10T1/2 cell+Gal-MEF2C+CaM	none	MEF2C fold activation	150	48hr

	K I+MKK6				
368	10T1/2 cell+Gal-MEF2C+CaM KII+MKK6+HDAC5	none	MEF2C fold activation	35	48hr
369	293T cell	none	HDAC enzymatic activity	200	48hr
370	293T cell+HDAC4	none	HDAC enzymatic activity	650	48hr
371	293T cell+HDAC4+CaMK IV	none	HDAC enzymatic activity	750	48hr
372	NRVM	none	surface area	4.4	72hr
373	NRVM	PE	surface area	9.7	72hr
374	NRVM+Afos TF	none	surface area	5	72hr
375	NRVM+Afos TF	PE	surface area	9.7	72hr
376	NRVM	none	α -MHC	1	72hr
377	NRVM	PE	α -MHC	0.3	72hr
378	NRVM+Afos TF	none	α -MHC	1.1	72hr
379	NRVM+Afos TF	PE	α -MHC	8	72hr
380	NRVM	none	SERCA2a	1	72hr
381	NRVM	PE	SERCA2a	0.4	72hr
382	NRVM+Afos TF	none	SERCA2a	1.1	72hr
383	NRVM+Afos TF	PE	SERCA2a	0.7	72hr
384	NRVM	none	ANP	1	72hr
385	NRVM	PE	ANP	8	72hr
386	NRVM+Afos TF	none	ANP	0.8	72hr
387	NRVM+Afos TF	PE	ANP	2	72hr
388	NRVM	none	β -MHC	1	72hr
389	NRVM	PE	β -MHC	1.7	72hr
390	NRVM+Afos TF	none	β -MHC	0.3	72hr
391	NRVM+Afos TF	PE	β -MHC	0.2	72hr
392	NRVM	none	sACT	1	72hr
393	NRVM	PE	sACT	4.5	72hr
394	NRVM+Afos TF	none	sACT	0.9	72hr
395	NRVM+Afos TF	PE	sACT	2.4	72hr
396	NRVM	none	BNP	1	72hr
397	NRVM	PE	BNP	7	72hr
398	NRVM+Afos TF	none	BNP	0.9	72hr
399	NRVM+Afos TF	PE	BNP	2.3	72hr
400	NRVM	none	α -MHC	1	72hr
401	NRVM+Afos TF	none	α -MHC	1.3	72hr
402	NRVM+MKK6 TF	none	α -MHC	0.2	72hr
403	NRVM+Afos TF+MKK6 TF	none	α -MHC	0.8	72hr
404	NRVM	none	SERCA2a	1	72hr
405	NRVM+Afos TF	none	SERCA2a	1	72hr
406	NRVM+MKK6 TF	none	SERCA2a	0.2	72hr
407	NRVM+Afos TF+MKK6 TF	none	SERCA2a	1.2	72hr
408	NRVM	none	ANP	1	72hr
409	NRVM+Afos TF	none	ANP	0.9	72hr
410	NRVM+MKK6 TF	none	ANP	18	72hr
411	NRVM+Afos TF+MKK6 TF	none	ANP	4	72hr
412	NRVM	none	β -MHC	1	72hr
413	NRVM+Afos TF	none	β -MHC	0.3	72hr
414	NRVM+MKK6 TF	none	β -MHC	3.8	72hr
415	NRVM+Afos TF+MKK6 TF	none	β -MHC	0.1	72hr
416	NRVM	none	sACT	1	72hr
417	NRVM+Afos TF	none	sACT	0.7	72hr
418	NRVM+MKK6 TF	none	sACT	9	72hr
419	NRVM+Afos TF+MKK6 TF	none	sACT	2	72hr
420	NRVM	none	BNP	1	72hr
421	NRVM+Afos TF	none	BNP	0.1	72hr
422	NRVM+MKK6 TF	none	BNP	11	72hr
423	NRVM+Afos TF+MKK6 TF	none	BNP	1.3	72hr
424	NRVM+ β -MHC TF	none	promotor activity	1	48hr
425	NRVM+ β -MHC TF+RSVc-Jun	none	promotor activity	10	48hr

426	NRVM+ α -MHC TF	none	promotor activity	1	48hr
427	NRVM+ α -MHC TF+RSVc-Jun	none	promotor activity	0.4	48hr
428	NRVM+sACT/CAT TF	none	promotor activity	1	48hr
429	NRVM+sACT/CAT TF+RSVc-Jun	none	promotor activity	5	48hr
430	NRVM+SERCA2/CAT TF	none	promotor activity	1	48hr
431	NRVM+SERCA2/CAT TF+RSVc-Jun	none	promotor activity	0.8	48hr
432	HEK293	TNF(1nM)	PI3K	0	0
433	HEK293	TNF(1nM)	PI3K	3.8	5min
434	HEK293	TNF(1nM)	PI3K	5	10min
435	HEK293	TNF(1nM)	PI3K	7.2	20min
436	HEK293	TNF(1nM)	PI3K	7	40min
437	HEK293	TNF(1nM)	Phos-Akt	0	0
438	HEK293	TNF(1nM)	Phos-Akt	x	10min
439	HEK293	TNF(1nM)	Phos-Akt	1.7	20min
440	HEK293	TNF(1nM)	Phos-Akt	2.2	40min
441	HEK293	TNF(1nM)	Phos-Akt	1.5	60min
442	HEK293	TNF(1nM)	Phos-Akt	X	120min
443	HEK293	none	Phos-Akt	1	30min
444	HEK293	TNF(1nM)	Phos-Akt	2	30min
445	HEK293	wortmannin(100nM)	Phos-Akt	1	30min
446	HEK293	wortmannin(100nM) pretx 30min + TNF(1nM)	Phos-Akt	1	30min
447	HEK293	TNF(1nM)	Phos-Akt	2	30min
448	HEK293+dnp85	TNF(1nM)	Phos-Akt	1	30min
449	HEK293+pCMV	none	NF-kB	1	6hr
450	HEK293+pCMV	TNF(1nM)	NF-kB	5	6hr
451	HEK293+pCMV+CA-Akt	none	NF-kB	4	6hr
452	HEK293+pCMV+CA-Akt	TNF(1nM)	NF-kB	5.5	6hr
453	HEK293+pCMV+KD-Akt	TNF(1nM)	NF-kB	3	6hr
454	HEK293	TNF(1nM)	IKK α	1	0min
455	HEK293	TNF(1nM)	IKK α	1	10min
456	HEK293	TNF(1nM)	IKK α	0.5	20min
457	HEK293	TNF(1nM)	IKK α	0.4	40min
458	HEK293	TNF(1nM)	IKK α	0.3	60min
459	HEK293	wortmannin(100nM) pretx + TNF(1nM)	IKK α	1	10min
460	HEK293	wortmannin(100nM) pretx + TNF(1nM)	IKK α	1	20min
461	HEK293	wortmannin(100nM) pretx + TNF(1nM)	IKK α	1	40min
462	HEK293	wortmannin(100nM) pretx + TNF(1nM)	IKK α	1	60min
463	HEK293	wortmannin(100nM) pretx + TNF(1nM)	IKK α	1	60min
464	HEK293+IKK α mutant(T23A)	TNF(1nM)	IKK α	1	10min
465	HEK293+IKK α mutant(T23A)	TNF(1nM)	IKK α	1	20min
466	HEK293+IKK α mutant(T23A)	TNF(1nM)	IKK α	1	40min
467	HEK293+IKK α mutant(T23A)	TNF(1nM)	IKK α	1	60min
468	HEK293+IKK α mutant(T23A)	TNF(1nM)	IKK α	1	60min
469	NRVM+p3TP-Lux TF+ β -gal	none	hypertrophy	1	24hr
470	NRVM+p3TP-Lux TF+ β -gal	TGF- β 1	hypertrophy	5.5	24hr
471	NRVM+ANF TF+ β -gal	none	ANF promotor activity	1	24hr
472	NRVM+ANF TF+ β -gal	TGF- β 1	ANF promotor activity	1.87	24hr
473	NRVM+ANF TF+ β -gal	ET-1	ANF promotor activity	2.12	24hr
474	NRVM+BNP TF+ β -gal	none	BNP promotor activity	1	24hr
475	NRVM+BNP TF+ β -gal	TGF- β 1	BNP promotor activity	2.12	24hr
476	NRVM+BNP TF+ β -gal	ET-1	BNP promotor activity	1.87	24hr

477	NRVM	TGF- β 1	pATF2	0	0min
478	NRVM	TGF- β 1	pATF2	0	2.5min
479	NRVM	TGF- β 1	pATF2	2	5min
480	NRVM	TGF- β 1	pATF2	6	10min
481	NRVM	TGF- β 1	pATF2	3	15min
482	NRVM	TGF- β 1	pATF2	0	30min
483	NRVM	TGF- β 1	pATF2	0	60min
484	NRVM	TGF- β 1	pATF2	0	120min
485	NRVM+Gal-4	none	GAL4 ATF2 binding activity	0	24hr
486	NRVM+Gal-4+TGF- β 1	none	GAL4 ATF2 binding activity	0	24hr
487	NRVM+Gal-4 ATF-2	none	GAL4 ATF2 binding activity	1	24hr
488	NRVM+Gal-4 ATF-2+TGF- β 1	none	GAL4 ATF2 binding activity	2.4	24hr
489	NRVM+Gal-4 ATF-2+AngII	none	GAL4 ATF2 binding activity	1.5	24hr
490	NRVM+Gal-4 ATF-2+ET-1	none	GAL4 ATF2 binding activity	1.3	24hr
491	NRVM+pcDNA	none	ANF promotor activity	1	24hr
492	NRVM+pcDNA	TGF- β 1	ANF promotor activity	1.8	24hr
493	NRVM+ATF-2DN	none	ANF promotor activity	0.5	24hr
494	NRVM+ATF-2DN	TGF- β 1	ANF promotor activity	0.6	24hr
495	NRVM+TAK1DN	none	ANF promotor activity	1	24hr
496	NRVM+TAK1DN	TGF- β 1	ANF promotor activity	1.1	24hr
497	NRVM+pcDNA	none	ANF promotor activity	1	24hr
498	NRVM+pcDNA	TGF- β 1	ANF promotor activity	1.3	24hr
499	NRVM+ATF-2WT	none	ANF promotor activity	1.7	24hr
500	NRVM+ATF-2WT	TGF- β 1	ANF promotor activity	2.3	24hr
501	NRVM+p38WT	none	ANF promotor activity	1.7	24hr
502	NRVM+p38WT	TGF- β 1	ANF promotor activity	2	24hr
503	NRVM+ANF TF+ β -gal	none	ANF promotor activity	1	24hr
504	NRVM+ANF TF+ β -gal	TGF- β 1	ANF promotor activity	1.8	24hr
505	NRVM+ANF TF+ β -gal	GF109203X	ANF promotor activity	0.9	24hr
506	NRVM+ANF TF+ β -gal	TGF- β 1+GF109203X	ANF promotor activity	1	24hr
507	NRVM+Ad β -gal	none	NFAT transcriptional activity	1	48hr
508	NRVM+AdNFAT	none	NFAT transcriptional activity	2.5	48hr
509	NRVM+AdMEK1	none	NFAT transcriptional activity	2.3	48hr
510	NRVM+AdNFAT+AdMEK1	none	NFAT transcriptional activity	9.8	48hr
511	NRVM	none	NFAT	1	2hr
512	NRVM+AdMEK1+NFA T-luc	none	NFAT	2.8	2hr
513	NRVM	none	NFAT	0.5	2hr
514	NRVM+AdMEK1+TAT A-luc	none	NFAT	0.7	2hr
515	NRVM	none	NFAT transcriptional activity	5	6weeks
516	NRVM+NFAT-luc	none	NFAT transcriptional activity	50	6weeks
517	NRVM+NFAT-luc	MEK1	NFAT transcriptional activity	320	6weeks
518	NRVM	none	% nuclear NFATc1	1	48hr
519	NRVM+AdNFATc1-G FP+Ad Δ CnA	none	% nuclear NFATc1	90	48hr
520	NRVM+AdNFATc1-G FP+Ad Δ CnA+AdMEK1	none	% nuclear NFATc1	85	48hr
521	NRVM+AdNFATc1-G FP+Ad Δ CnA+AdMKK7	none	% nuclear NFATc1	50	48hr
522	NRVM+AdNFATc1-G FP+Ad Δ CnA+AdMKK6	none	% nuclear NFATc1	18	48hr
523	NRVM	none	% nuclear NFATc1	1	48hr
524	NRVM+AdNFATc1-G FP+Ad Δ CnA	none	% nuclear NFATc1	95	48hr
525	NRVM+AdNFATc1-G FP+Ad Δ CnA+AdMEK1dn	none	% nuclear NFATc1	90	48hr
526	NRVM+AdNFATc1-G	none	% nuclear NFATc1	85	48hr

	FP+Ad Δ CnA+AdMKP3				
527	CnB1(+/+) MEF+Ad β -gal	none	% nuclear NFATc1	5	30min
528	CnB1(+/+) MEF+AdMEK1	none	% nuclear NFATc1	10	30min
529	CnB1(+/+) MEF	Iono	% nuclear NFATc1	90	30min
530	CnB1(-/-) MEF+Ad β -gal	none	% nuclear NFATc1	3	30min
531	CnB1(-/-) MEF+AdMEK1	none	% nuclear NFATc1	5	30min
532	CnB1(-/-) MEF	Iono	% nuclear NFATc1	6	30min
533	CnB1(+/+)	none	NFAT transcriptional activity	1000	12.5day
534	AdMEK1+CnB1(+/+)	none	NFAT transcriptional activity	200000	12.5day
535	CnB1(-/-)	none	NFAT transcriptional activity	500	12.5day
536	AdMEK1+CnB1(-/-)	none	NFAT transcriptional activity	50000	12.5day
537	CnB1(+/+)	none	fold NFAT activation	1	12.5day
538	AdMEK1+CnB1(+/+)	none	fold NFAT activation	11	12.5day
539	CnB1(-/-)	none	fold NFAT activation	1	12.5day
540	AdMEK1+CnB1(-/-)	none	fold NFAT activation	8	12.5day
541	NRVM+AdNFAT-luc	none	NFAT transcriptional activity	1	48hr
542	NRVM+AdNFAT-luc+MEK1	none	NFAT transcriptional activity	10	48hr
543	NRVM+AdNFAT-luc+ Δ NFAT	none	NFAT transcriptional activity	110	48hr
544	NRVM+AdNFAT-luc+MEK1+ Δ NFAT	none	NFAT transcriptional activity	280	48hr
545	NRVM+AdNFAT-luc+TAM67	none	NFAT transcriptional activity	1	48hr
546	NRVM+AdNFAT-luc+MEK1+TAM67	none	NFAT transcriptional activity	1	48hr
547	NRVM+AdNFAT-luc+ Δ NFAT+TAM67	none	NFAT transcriptional activity	40	48hr
548	NRVM+AdNFAT-luc+MEK1+ Δ NFAT+TAM67	none	NFAT transcriptional activity	70	48hr
549	NRVM+AP-1-luc	none	NFAT transcriptional activity	1	6hr
550	NRVM+AP-1-luc+MEK1	none	NFAT transcriptional activity	3.5	6hr
551	NRVM+AP-1-luc+TAM67	none	NFAT transcriptional activity	0.7	6hr
552	NRVM+AP-1-luc	U0126	NFAT transcriptional activity	0.3	6hr
553	NRVM+AP-1-luc+MKP3	none	NFAT transcriptional activity	0.8	6hr
554	NRVM+Ad β -gal	none	cardiomyocyte surface area	1	48hr
555	NRVM+AdMEK1	none	cardiomyocyte surface area	1.6	48hr
556	NRVM+Adcain	none	cardiomyocyte surface area	1.1	48hr
557	NRVM+AdVIVIT	none	cardiomyocyte surface area	0.9	48hr
558	NRVM+MEK1+cain	none	cardiomyocyte surface area	1.2	48hr
559	MEK1+VIVIT	none	cardiomyocyte surface area	1.1	48hr
560	NRVM+ANF-luc	none	ANF promotor activity	1	48hr
561	NRVM+ANF-luc+MEK1	none	ANF promotor activity	3.5	48hr
562	NRVM+ANF-luc+cain	none	ANF promotor activity	0.5	48hr
563	NRVM+ANF-luc+MEK1+cain	none	ANF promotor activity	1.7	48hr
564	NRVM+Ad β -gal	none	cardiomyocyte surface area	1	48hr
565	NRVM+Ad Δ CnA	none	cardiomyocyte surface area	1.7	48hr
566	NRVM+AdMEK1dn+Ad Δ CnA	none	cardiomyocyte surface area	1.2	48hr
567	NRVM+AdMKP3+Ad Δ CnA	none	cardiomyocyte surface area	1.2	48hr
568	NRVM+NFAT-luc+Ad	none	NFAT transcriptional	1	48hr

	β -gal		activity		
569	NRVM+NFAT-luc+Ad MEK1dn	none	NFAT transcriptional activity	1	48hr
570	NRVM+NFAT-luc+Ad MKP3	none	NFAT transcriptional activity	1	48hr
571	NRVM+NFAT-luc+Ad Δ CnA	none	NFAT transcriptional activity	160	48hr
572	NRVM+NFAT-luc+Ad MEK1dn+Ad Δ CnA	none	NFAT transcriptional activity	50	48hr
573	NRVM+NFAT-luc+Ad MKP3+Ad Δ CnA	none	NFAT transcriptional activity	50	48hr
574	NRVM+ANF-luc	none	ANF promotor activity	1	48hr
575	NRVM+ANF-luc+Ad Δ CnA	none	ANF promotor activity	11	48hr
576	NRVM+ANF-luc+Ad Δ CnA+MEK1dn	none	ANF promotor activity	3	48hr
577	NRVM+ANF-luc+Ad Δ CnA+MKP3	none	ANF promotor activity	3	48hr
578	NRVM	none	3H-Phe incorporation	1	48hr
579	NRVM	ET1	3H-Phe incorporation	1.4	48hr
580	NRVM	PE	3H-Phe incorporation	1.5	48hr
581	NRVM	none	cardiomyocyte size	1	48hr
582	NRVM	ET1	cardiomyocyte size	2.3	48hr
583	NRVM	PE	cardiomyocyte size	2.5	48hr
584	NRVM	ET1	AP-1 DNA binding activity	1	0hr
585	NRVM	ET1	AP-1 DNA binding activity	3.5	3hr
586	NRVM	ET1	AP-1 DNA binding activity	3.8	6hr
587	NRVM	ET1	AP-1 DNA binding activity	3.5	12hr
588	NRVM	ET1	AP-1 DNA binding activity	2.2	24hr
589	NRVM	PE	AP-1 DNA binding activity	1	0hr
590	NRVM	PE	AP-1 DNA binding activity	4.8	3hr
591	NRVM	PE	AP-1 DNA binding activity	4	6hr
592	NRVM	PE	AP-1 DNA binding activity	3.8	12hr
593	NRVM	PE	AP-1 DNA binding activity	2.1	24hr
594	NRVM	none	AP-1/Luciferease activity	1	48hr
595	NRVM	ET1	AP-1/Luciferease activity	2.4	48hr
596	NRVM	PE	AP-1/Luciferease activity	2.9	48hr
597	NRVM+LacZ	none	AP-1/Luciferease activity	0.8	48hr
598	NRVM+LacZ	ET1	AP-1/Luciferease activity	2.2	48hr
599	NRVM+LacZ	PE	AP-1/Luciferease activity	3.8	48hr
600	NRVM	none	ANP	1	48hr
601	NRVM	ET1	ANP	1.9	48hr
602	NRVM	none	BNP	1	48hr
603	NRVM	ET1	BNP	1.6	48hr
604	NRVM+LacZ	none	ANP	1	48hr
605	NRVM+LacZ	ET1	ANP	1.7	48hr
606	NRVM+LacZ	none	BNP	1	48hr
607	NRVM+LacZ	ET1	BNP	1.5	48hr
608	NRVM+DNJun	none	ANP	1	48hr
609	NRVM+DNJun	ET1	ANP	1	48hr
610	NRVM+DNJun	none	BNP	0.5	48hr
611	NRVM+DNJun	ET1	BNP	0.6	48hr
612	NRVM	none	ANP	1	48hr
613	NRVM	PE	ANP	1.8	48hr
614	NRVM	none	BNP	1	48hr
615	NRVM	PE	BNP	1.7	48hr
616	NRVM+LacZ	none	ANP	0.9	48hr
617	NRVM+LacZ	PE	ANP	1.6	48hr
618	NRVM+LacZ	none	BNP	1.1	48hr
619	NRVM+LacZ	PE	BNP	1.4	48hr
620	NRVM+DNJun	none	ANP	0.8	48hr
621	NRVM+DNJun	PE	ANP	0.9	48hr
622	NRVM+DNJun	none	BNP	0.3	48hr

623	NRVM+DNJun	PE	BNP	0.4	48hr
624	NRVM	PE	pCREB/CREB	0.2	0min
625	NRVM	PE	pCREB/CREB	0.3	1min
626	NRVM	PE	pCREB/CREB	0.5	2min
627	NRVM	PE	pCREB/CREB	1.5	5min
628	NRVM	PE	pCREB/CREB	1.4	10min
629	NRVM	PE	pCREB/CREB	1.5	15min
630	NRVM	PE	pCREB/CREB	0.6	30min
631	NRVM	none	p-MSK1	50	10min
632	NRVM	PE	p-MSK1	200	10min
633	NRVM	Ro318220 pretx 10min+PE	p-MSK1	150	10min
634	NRVM	H89 pretx 10min+PE	p-MSK1	210	10min
635	NRVM	none	p-MSK1	40	10min
636	NRVM	PE	p-MSK1	200	10min
637	NRVM	RpcAMP 10min+PE	p-MSK1	220	10min
638	NRVM	none	MSK1 activity	60	10min
639	NRVM	PE	MSK1 activity	270	10min
640	NRVM	Ro318220 pretx 10min+PE	MSK1 activity	280	10min
641	NRVM	PE+Ro318220	MSK1 activity	50	10min
642	NRVM	H89 pretx 10min+PE	MSK1 activity	200	10min
643	NRVM	PE+H89	MSK1 activity	70	10min
644	NRVM	RpcAMP pretx 10min+PE	MSK1 activity	280	10min
645	NRVM	none	pCREB/CREB	1	10min
646	NRVM	PE	pCREB/CREB	4	10min
647	NRVM	PE+Ro318220 pretx 10min	pCREB/CREB	2	10min
648	NRVM	PE+H89 pretx 10min	pCREB/CREB	1.9	10min
649	NRVM	none	pCREB/CREB	1	10min
650	NRVM	PE	pCREB/CREB	4	10min
651	NRVM	PE+SB203580 pretx 10min	pCREB/CREB	1.5	10min
652	NRVM	PE+PD98059 pretx 10min	pCREB/CREB	1.4	10min
653	NRVM	PE+SB203580 pretx 10min+PD98059 pretx 10min	pCREB/CREB	1.4	10min
654	NRVM	none	pCREB/CREB	1	10min
655	NRVM	PE	pCREB/CREB	4	10min
656	NRVM	PE+RpcAMP pretx 10min	pCREB/CREB	1.5	10min
657	NRVM	PE+FORSKOLIN	pCREB/CREB	2.2	10min
658	NRVM	PE	ANF mRNA expression	1.6	0min
659	NRVM	PE	ANF mRNA expression	1.7	20min
660	NRVM	PE	ANF mRNA expression	2.6	30min
661	NRVM	PE	ANF mRNA expression	1.8	40min
662	NRVM	PE	ANF mRNA expression	2.5	60min
663	NRVM	PE	ANF mRNA expression	2.9	90min
664	NRVM	PE	ANF mRNA expression	2.8	120min
665	NRVM	none	ANF mRNA expression	1.9	40min
666	NRVM	PE	ANF mRNA expression	3.1	40min
667	NRVM	PE+SB203580 pretx 10min	ANF mRNA expression	2.1	40min
668	NRVM	PE+PD98059 pretx 10min	ANF mRNA expression	2.3	40min
669	NRVM	PE+SB203580 pretx 10min+PD98059 pretx 10min	ANF mRNA expression	2	40min
670	NRVM	PE+Ro318220 pretx 10min	ANF mRNA expression	2.4	40min
671	NRVM	PE+H89 pretx 10min	ANF mRNA expression	1.6	40min
672	NRVM	PE+RpcAMP pretx 10min	ANF mRNA expression	2.5	40min
673	NRVM	none	BNP mRNA level	1	24hr
674	NRVM	ET-1	BNP mRNA level	2.2	24hr
675	NRVM	none	ANP mRNA level	1	24hr
676	NRVM	ET-1	ANP mRNA level	1.5	24hr
677	NRVM	none	BNP	1	24hr
678	NRVM	ET-1	BNP	3.4	24hr
679	NRVM	ET-1+BQ610	BNP	1.1	24hr

680	NRVM	ET-1+bosentan	BNP	1.4	24hr
681	NRVM	none	p-ERK1	x	0min
682	NRVM	ET-1	p-ERK1	positive	5min
683	NRVM	ET-1	p-ERK1	positive	15min
684	NRVM	ET-1	p-ERK1	little positive	1hr
685	NRVM	ET-1	p-ERK1	x	3hr
686	NRVM	ET-1	p-ERK1	x	24hr
687	HEK293	ERK2	MSK1 activity	0/375/500/580	0/10/20/40min
688	HEK293	p38 β	MSK1 activity	0/350/440/470	0/10/20/40min
689	HEK293	p38 α	MSK1 activity	0/200/310/400	0/10/20/40min
690	HEK293	p38 δ	MSK1 activity	0/50/70/100/120	0/10/20/40min
691	HEK293	p38 γ	MSK1 activity	0/10/20/30/40	0/10/20/40min
692	HEK293	ERK2	MAPKAPK-1a	0/43/65/70/75	0/10/20/30/40min
693	HEK293	p38 β /SAPK2b	MAPKAPK-1a	0/0/0/0/0	0/10/20/30/40min
694	HEK293	p38 α /SAPK2a	MAPKAPK-1a	0/0/0/0/0	0/10/20/30/40min
695	HEK293	p38 δ /SAPK4	MAPKAPK-1a	0/0/0/0/0	0/10/20/30/40min
696	HEK293	p38 γ /SAPK3	MAPKAPK-1a	0/0/0/0/0	0/10/20/30/40min
697	NRVM	CT-1	p-p38	1	0min
698	NRVM	CT-1	p-p38	2.1	1min
699	NRVM	CT-1	p-p38	2.2	5min
700	NRVM	CT-1	p-p38	2.8	15min
701	NRVM	CT-1	p-p38	5.1	30min
702	NRVM	CT-1	p-p38	1.7	60min
703	NRVM	CT-1	p-Akt	1	0min
704	NRVM	CT-1	p-Akt	1	1min
705	NRVM	CT-1	p-Akt	2.7	5min
706	NRVM	CT-1	p-Akt	9.7	15min
707	NRVM	CT-1	p-Akt	7.1	30min
708	NRVM	CT-1	p-Akt	1.9	60min
709	NRVM	CT-1	p-ERK	1	0min
710	NRVM	CT-1	p-ERK	6.1	1min
711	NRVM	CT-1	p-ERK	7.1	5min
712	NRVM	CT-1	p-ERK	15.7	15min
713	NRVM	CT-1	p-ERK	6.2	30min
714	NRVM	CT-1	p-ERK	1.4	60min
715	NRVM	none	p-p38	1	30min
716	NRVM	CT-1	p-p38	3	30min
717	NRVM	CT-1+SB202190pretx 1hr	p-p38	4	30min
718	NRVM	CT-1+LY294002 pretx 1hr	p-p38	2	30min
719	NRVM	CT-1+U0126 pretx 1hr	p-p38	3	30min
720	NRVM	none	p-Akt	0	15min
721	NRVM	CT-1	p-Akt	1	15min
722	NRVM	CT-1+SB202190 pretx 1hr	p-Akt	1	15min
723	NRVM	CT-1+LY294002 pretx 1hr	p-Akt	0	15min
724	NRVM	CT-1+U0126 pretx 1hr	p-Akt	1	15min
725	NRVM	none	p-ERK	1	15min
726	NRVM	CT-1	p-ERK	3	15min
727	NRVM	CT-1+SB202190 pretx 1hr	p-ERK	5	15min
728	NRVM	CT-1+LY294002 pretx 1hr	p-ERK	3	15min
729	NRVM	CT-1+U0126 pretx 1hr	p-ERK	1	15min
730	Myocardial	CT-1 0nM	NF-kB	20	24hr

	cells+NF-kB/luciferase +βgal				
731	Myocardial cells+NF-kB/luciferase +βgal	CT-1 0.01nM	NF-kB	26	24hr
732	Myocardial cells+NF-kB/luciferase +βgal	CT-1 0.1nM	NF-kB	65	24hr
733	Myocardial cells+NF-kB/luciferase +βgal	CT-1 1.0nM	NF-kB	95	24hr
734	Myocardial cells+NF-kB/luciferase +βgal	CT-1 5.0nM	NF-kB	100	24hr
735	Myocardial cells+NF-kB/luciferase +βgal	CT-1 10nM	NF-kB	86	24hr
736	NRVM	CT-1	IκB	81	0min
737	NRVM	CT-1	IκB	91	1min
738	NRVM	CT-1	IκB	101	15min
739	NRVM	CT-1	IκB	27	30min
740	NRVM	CT-1	IκB	25	50min
741	NRVM	CT-1	IκB	89	90min
742	NRVM	none	NF-kB	28	24hr
743	NRVM	CT-1	NF-kB	100	24hr
744	NRVM	CT-1+SB202190	NF-kB	65	24hr
745	NRVM	CT-1+LY294002	NF-kB	55	24hr
746	NRVM	CT-1+U0126	NF-kB	45	24hr
747	NRVM	CT-1+SB202190+LY294002+ U0126	NF-kB	29	24hr
748	NRVM	none	NF-kB	18	24hr
749	NRVM	CT-1	NF-kB	100	24hr
750	NRVM+IκBα-M	CT-1	NF-kB	38	24hr
751	NRVM+IKKβ-M	CT-1	NF-kB	30	24hr
752	NRVM+TAK1-M	CT-1	NF-kB	39	24hr
753	NRVM+MEK-M	CT-1	NF-kB	32	24hr
754	NRVM+p110-M	CT-1	NF-kB	40	24hr
755	NRVM	none	Apoptosis	12	60min
756	NRVM+H/R	none	Apoptosis	49	60min
757	NRVM+H/R	CT-1	Apoptosis	13	60min
758	NRVM+H/R	control peptide	Apoptosis	44	60min
759	NRVM+H/R	CT-1+control peptide	Apoptosis	18	60min
760	NRVM+H/R	NBD peptide	Apoptosis	48	60min
761	NRVM+H/R	CT-1+NBD peptide	Apoptosis	52	60min
762	NRVM+AdGATA4	none	GATA4 : DNA binding activity	1	3hr
763	NRVM+AdGATA4	PE	GATA4 : DNA binding activity	2.1	3hr
764	NRVM+AdGATA4	none	GATA4 binding activity	1	48hr
765	NRVM+AdGATA4+Ad Engr	none	GATA4 binding activity	1.1	48hr
766	NRVM+AdGATA4+Ad G4-Engr	none	GATA4 binding activity	0.5	48hr
767	NRVM+AdGATA6	none	GATA6 binding activity	1	48hr
768	NRVM+AdGATA6+Ad Engr	none	GATA6 binding activity	1.1	48hr
769	NRVM+AdGATA6+Ad G6-Engr	none	GATA6 binding activity	0.7	48hr
770	NRVM+pCDNA	none	BNP promotor	1	24hr
771	NRVM+AdGATA4	none	BNP promotor	4	24hr
772	NRVM+AdGATA6	none	BNP promotor	3.9	24hr
773	NRVM+pCDNA	PE	BNP promotor	4	24hr
774	NRVM+AdGATA4	PE	BNP promotor	16	24hr
775	NRVM+AdGATA6	PE	BNP promotor	10	24hr
776	NRVM+G4-Engr	PE	BNP promotor	1	24hr
777	NRVM+G4-Engr+GAT A4	PE	BNP promotor	2	24hr
778	NRVM+G4-Engr+GAT A6	PE	BNP promotor	1.5	24hr
779	NRVM+Engr	PE	BNP promotor	10	24hr
780	NRVM+βgal	none	cardiomyocyte surface area	800	48hr
781	NRVM+GATA4	none	cardiomyocyte surface area	2200	48hr

782	NRVM+GATA6	none	cardiomyocyte surface area	2250	48hr
783	NRVM+GATA4+Engr	none	cardiomyocyte surface area	2150	48hr
784	NRVM+GATA6+Engr	none	cardiomyocyte surface area	2250	48hr
785	NRVM+GATA4+G4-Engr	none	cardiomyocyte surface area	1000	48hr
786	NRVM+GATA6+G4-Engr	none	cardiomyocyte surface area	1000	48hr
787	NRVM+βgal	none	3H-Leucine incorporation	1	48hr
788	NRVM+GATA4	none	3H-Leucine incorporation	1.28	48hr
789	NRVM+GATA6	none	3H-Leucine incorporation	1.3	48hr
790	NRVM+GATA4+Engr	none	3H-Leucine incorporation	1.25	48hr
791	NRVM+GATA6+Engr	none	3H-Leucine incorporation	1.27	48hr
792	NRVM+GATA4+G4-Engr	none	3H-Leucine incorporation	1	48hr
793	NRVM+GATA6+G4-Engr	none	3H-Leucine incorporation	1	48hr
794	NRVM+Adβgal	none	cardiomyocyte surface area	800	24hr
795	NRVM+Adβgal	PE	cardiomyocyte surface area	1800	24hr
796	NRVM+AdEngr	PE	cardiomyocyte surface area	1600	24hr
797	NRVM+AdG4-Engr	PE	cardiomyocyte surface area	1000	24hr
798	NRVM+Adβgal	none	3H-Leucine incorporation	1	24hr
799	NRVM+Adβgal	PE	3H-Leucine incorporation	1.2	24hr
800	NRVM+AdEngr	PE	3H-Leucine incorporation	1.15	24hr
801	NRVM+AdG4-Engr	PE	3H-Leucine incorporation	1	24hr
802	NRVM+Adβgal	none	ANF expression	17	24hr
803	NRVM+Adβgal	PE	ANF expression	68	24hr
804	NRVM+AdEngr	PE	ANF expression	68	24hr
805	NRVM+AdG4-Engr	PE	ANF expression	30	24hr
806	WT mouse	none	Heart/body weight ratio	4.2	2month
807	NRVM+GATA4 TG(2.5fold)	none	Heart/body weight ratio	4.5	2month
808	WT mouse	none	Heart/body weight ratio	4.1	4month
809	NRVM+GATA4 TG(2.5fold)	none	Heart/body weight ratio	4.7	4month
810	WT mouse	none	Heart/body weight ratio	4.3	6month
811	NRVM+GATA4 TG(2.5fold)	none	Heart/body weight ratio	5.5	6month
812	WT mouse	none	Heart/body weight ratio	4.5	8month
813	NRVM+GATA4 TG(2.5fold)	none	Heart/body weight ratio	6.5	8month
814	WT mouse	none	ANF mRNA levels	1	wild-type
815	2month old mouse heart+GATA4 TG	none	ANF mRNA levels	3.8	2month
816	4month old mouse heart+GATA4 TG	none	ANF mRNA levels	4.2	4month
817	6month old mouse heart+GATA4 TG	none	ANF mRNA levels	13	6month
818	8month old mouse heart+GATA4 TG	none	ANF mRNA levels	9.5	8month
819	WT mouse	none	BNP mRNA levels	1	wild-type
820	2month old mouse heart+GATA4 TG	none	BNP mRNA levels	2	2month
821	4month old mouse heart+GATA4 TG	none	BNP mRNA levels	3.9	4month
822	6month old mouse heart+GATA4 TG	none	BNP mRNA levels	6	6month
823	8month old mouse heart+GATA4 TG	none	BNP mRNA levels	4	8month
824	WT mouse	none	Sk-α-actin mRNA levels	1	wild-type
825	2month old mouse heart+GATA4 TG	none	Sk-α-actin mRNA levels	1.1	2month
826	4month old mouse heart+GATA4 TG	none	Sk-α-actin mRNA levels	1	4month
827	6month old mouse heart+GATA4 TG	none	Sk-α-actin mRNA levels	6	6month
828	8month old mouse heart+GATA4 TG	none	Sk-α-actin mRNA levels	5	8month
829	NRVM	none	BNP mRNA levels	1	24hr
830	NRVM+AS4	none	BNP mRNA levels	0.35	24hr

831	NRVM+AS6	none	BNP mRNA levels	0.39	24hr
832	NRVM	none	α -MHC mRNA levels	1	24hr
833	NRVM+AS4	none	α -MHC mRNA levels	0.18	24hr
834	NRVM+AS6	none	α -MHC mRNA levels	0.7	24hr
835	NRVM	none	β -MHC mRNA levels	1	24hr
836	NRVM+AS4	none	β -MHC mRNA levels	0.27	24hr
837	NRVM+AS6	none	β -MHC mRNA levels	0.6	24hr
838	NRVM	none	c.a-actin	1	24hr
839	NRVM+AS4	none	c.a-actin	0.97	24hr
840	NRVM+AS6	none	c.a-actin	1.1	24hr
841	NRVM	none	pERK	1	0min
842	NRVM+stretch 2min	none	pERK	1.6	2min
843	NRVM+stretch 5min	none	pERK	2.3	5min
844	NRVM+stretch 10min	none	pERK	1.8	10min
845	NRVM+stretch 15min	none	pERK	1.6	15min
846	NRVM	ATB	pERK	1	0min
847	NRVM+stretch 2min	ATB	pERK	1.7	2min
848	NRVM+stretch 5min	ATB	pERK	2	5min
849	NRVM+stretch 10min	ATB	pERK	1.2	10min
850	NRVM+stretch 15min	ATB	pERK	1.1	15min
851	NRVM	none	p-p38	1	0min
852	NRVM+stretch 2min	none	p-p38	1.3	2min
853	NRVM+stretch 5min	none	p-p38	1.7	5min
854	NRVM+stretch 10min	none	p-p38	1.6	10min
855	NRVM+stretch 15min	none	p-p38	1.6	15min
856	NRVM	ATB	p-p38	1	0min
857	NRVM+stretch 2min	ATB	p-p38	1.2	2min
858	NRVM+stretch 5min	ATB	p-p38	1.5	5min
859	NRVM+stretch 10min	ATB	p-p38	1.2	10min
860	NRVM+stretch 15min	ATB	p-p38	1	15min
861	NRVM	none	pJNK	1	0min
862	NRVM+stretch 2min	none	pJNK	1.8	2min
863	NRVM+stretch 5min	none	pJNK	2	5min
864	NRVM+stretch 10min	none	pJNK	1.5	10min
865	NRVM+stretch 15min	none	pJNK	1.4	15min
866	NRVM	ATB	pJNK	1	0min
867	NRVM+stretch 2min	ATB	pJNK	1.6	2min
868	NRVM+stretch 5min	ATB	pJNK	2	5min
869	NRVM+stretch 10min	ATB	pJNK	1.9	10min
870	NRVM+stretch 15min	ATB	pJNK	1.9	15min
871	NRVM+stretch	none	FAK-pY397	1	0min
872	NRVM+stretch	none	FAK-pY397	1.7	2min
873	NRVM+stretch	none	FAK-pY397	1.9	5min
874	NRVM+stretch	none	FAK-pY397	1.2	10min
875	NRVM+stretch	none	FAK-pY397	1.2	15min
876	NRVM+stretch	ATB	FAK-pY397	1	0min
877	NRVM+stretch	ATB	FAK-pY397	1.7	2min
878	NRVM+stretch	ATB	FAK-pY397	2	5min
879	NRVM+stretch	ATB	FAK-pY397	1.1	10min
880	NRVM+stretch	ATB	FAK-pY397	1.1	15min
881	NRVM+no stretch+GFP	none	pERK	1	5min
882	NRVM+no stretch+FRNK	none	pERK	0.8	5min
883	NRVM+stretch 5min+GFP	none	pERK	2	5min
884	NRVM+stretch 5min+FRNK	none	pERK	1.2	5min
885	NRVM+no stretch+GFP	ATB	pERK	1	5min
886	NRVM+no stretch+FRNK	ATB	pERK	1.5	5min
887	NRVM+stretch 5min+GFP	ATB	pERK	1.6	5min
888	NRVM+stretch 5min+FRNK	ATB	pERK	1.7	5min
889	NRVM+no stretch+GFP	none	p-p38	1	5min
890	NRVM+no stretch+FRNK	none	p-p38	1.4	5min
891	NRVM+stretch	none	p-p38	1.3	5min

	5min+GFP				
892	NRVM+stretch 5min+FRNK	none	p-p38	1.6	5min
893	NRVM+no stretch+GFP	ATB	p-p38	1	5min
894	NRVM+no stretch+FRNK	ATB	p-p38	1.4	5min
895	NRVM+stretch 5min+GFP	ATB	p-p38	1.4	5min
896	NRVM+stretch 5min+FRNK	ATB	p-p38	1.6	5min
897	NRVM+no stretch+GFP	none	pJNK	1	5min
898	NRVM+no stretch+FRNK	none	pJNK	1.6	5min
899	NRVM+stretch 5min+GFP	none	pJNK	1.8	5min
900	NRVM+stretch 5min+FRNK	none	pJNK	3.3	5min
901	NRVM+no stretch+GFP	ATB	pJNK	1	5min
902	NRVM+no stretch+FRNK	ATB	pJNK	1.8	5min
903	NRVM+stretch 5min+GFP	ATB	pJNK	2	5min
904	NRVM+stretch 5min+FRNK	ATB	pJNK	3.2	5min
905	wild type	none	HDAC kinase activity	0.25	
906	CM+Cn-Tg	none	HDAC kinase activity	1	
907	CM+Cn-Tg	rapamycin	HDAC kinase activity	0.8	
908	CM+Cn-Tg	wortmannin	HDAC kinase activity	0.9	
909	CM+Cn-Tg	PD98059	HDAC kinase activity	1	
910	CM+Cn-Tg	SB203580	HDAC kinase activity	1	
911	CM+Cn-Tg	olomoucine	HDAC kinase activity	0.9	
912	CM+Cn-Tg	roscovitine	HDAC kinase activity	0.8	
913	CM+Cn-Tg	62	HDAC kinase activity	0.7	
914	CM+Cn-Tg	92	HDAC kinase activity	0.9	
915	CM+Cn-Tg	93	HDAC kinase activity	1	
916	CM+Cn-Tg	AIP	HDAC kinase activity	0.9	
917	CM+Cn-Tg	GF109203X	HDAC kinase activity	0.8	
918	CM+Cn-Tg	Go6976	HDAC kinase activity	1	
919	CM+Cn-Tg	Go6983	HDAC kinase activity	1	
920	CM+Cn-Tg	Ro-31-8425	HDAC kinase activity	0.8	
921	CM+Cn-Tg	H89	HDAC kinase activity	0.9	
922	CM+Cn-Tg	4-cyano	HDAC kinase activity	0.75	
923	CM+Cn-Tg	HA1004	HDAC kinase activity	0.6	
924	CM+Cn-Tg	AIP+Go6983	HDAC kinase activity	1	
925	CM+Cn-Tg	HA1004+Go6983	HDAC kinase activity	0.8	
926	NRVM	none	ANF expression	1	24hr
927	NRVM	PE	ANF expression	4	24hr
928	NRVM+Ad-HDAC5(S2 59/498A)	PE	ANF expression	0.3	24hr
929	NRVM+Ad-MITR(S21 8/448A)	PE	ANF expression	1.2	24hr
930	NRVM	none	β -MHC expression	1	24hr
931	NRVM	PE	β -MHC expression	2.5	24hr
932	NRVM+Ad-HDAC5(S2 59/498A)	PE	β -MHC expression	0.4	24hr
933	NRVM+Ad-MITR(S21 8/448A)	PE	β -MHC expression	0.4	24hr
934	wild type	none	Heart weight/body weight	5.1	1month
935	HDAC9(-/-)	none	Heart weight/body weight	5.1	1month
936	wild type	none	Heart weight/body weight	4.2	8month
937	HDAC9(-/-)	none	Heart weight/body weight	6.3	8month
938	wild type+Sham	none	LV weight/body weight	3.7	21days
939	wild type+TAB	none	LV weight/body weight	5	21days
940	HDAC9(-/-)+Sham	none	LV weight/body weight	3.9	21days
941	HDAC9(-/-)+TAB	none	LV weight/body weight	7.8	21days
942	non-Tg+HDAC9(+/-)	none	Heart weight/body weight	5	4weeks
943	non-Tg+HDAC9(+/-)	none	Heart weight/body weight	5	4weeks
944	non-Tg+HDAC9(-/-)	none	Heart weight/body weight	5	4weeks
945	Cn-Tg+HDAC9(+/-)	none	Heart weight/body weight	12	4weeks
946	Cn-Tg+HDAC9(+/-)	none	Heart weight/body weight	15	4weeks

947	Cn-Tg+HDAC9(-/-)	none	Heart weight/body weight	17	4weeks
948	wild type	none	ANF mRNA expression	1	4weeks
949	HDAC9(-/-)	none	ANF mRNA expression	1.1	4weeks
950	Cn-Tg	none	ANF mRNA expression	1.2	4weeks
951	Cn-Tg+HDAC9(-/-)	none	ANF mRNA expression	3	4weeks
952	wild type	none	BNP mRNA expression	1	4weeks
953	HDAC9(-/-)	none	BNP mRNA expression	1.1	4weeks
954	Cn-Tg	none	BNP mRNA expression	2.9	4weeks
955	Cn-Tg+HDAC9(-/-)	none	BNP mRNA expression	5.8	4weeks
956	wild type	none	β -MHC mRNA expression	1	4weeks
957	HDAC9(-/-)	none	β -MHC mRNA expression	1.1	4weeks
958	Cn-Tg	none	β -MHC mRNA expression	5	4weeks
959	Cn-Tg+HDAC9(-/-)	none	β -MHC mRNA expression	9.8	4weeks
960	myocardial cell+pCEP	none	p38 fold activation	8	48hr
961	myocardial cell+activated Ras TF	none	p38 fold activation	5	48hr
962	myocardial cell+activated Rac	none	p38 fold activation	7	48hr
963	myocardial cell+activated Raf-1	none	p38 fold activation	8	48hr
964	myocardial cell+activated MEKK1	none	p38 fold activation	30	48hr
965	myocardial cell+activated MKK6	none	p38 fold activation	100	48hr
966	myocardial cell+pCEP	none	JNK fold activation	10	48hr
967	myocardial cell+activated Ras	none	JNK fold activation	10	48hr
968	myocardial cell+activated Rac	none	JNK fold activation	75	48hr
969	myocardial cell+activated Raf-1	none	JNK fold activation	5	48hr
970	myocardial cell+activated MEKK1	none	JNK fold activation	100	48hr
971	myocardial cell+activated MKK6	none	JNK fold activation	8	48hr
972	myocardial cell+pCEP	none	ERK fold activation	4	48hr
973	myocardial cell+activated Ras	none	ERK fold activation	38	48hr
974	myocardial cell+activated Rac	none	ERK fold activation	2	48hr
975	myocardial cell+activated Raf-1	none	ERK fold activation	28	48hr
976	myocardial cell+activated MEKK1	none	ERK fold activation	100	48hr
977	myocardial cell+activated MKK6	none	ERK fold activation	1	48hr
978	myocardial cell+ANP-300GL+pCEP	none	ANP	1	48hr
979	myocardial cell+ANP-300GL+activated Ras	none	ANP	18	48hr
980	myocardial cell+ANP-300GL+activated Rac	none	ANP	8	48hr
981	myocardial cell+ANP-300GL+activated Raf-1	none	ANP	5	48hr
982	myocardial cell+ANP-300GL+activated MEKK1	none	ANP	16	48hr
983	myocardial cell+ANP-300GL+activated MKK6	none	ANP	100	48hr
984	myocardial cell+BNP-2501GL+pCEP	none	BNP	1	48hr
985	myocardial cell+BNP-2501GL+activated Ras	none	BNP	100	48hr
986	myocardial cell+BNP-2501GL+activated Rac	none	BNP	20	48hr

987	myocardial cell+BNP-2501GL+activated Raf-1	none	BNP	10	48hr
988	myocardial cell+BNP-2501GL+activated MEKK1	none	BNP	22	48hr
989	myocardial cell+BNP-2501GL+activated MKK6	none	BNP	80	48hr
990	myocardial cell+ α -SkA-394GL+pCEP	none	α -SkA	1	48hr
991	myocardial cell+ α -SkA-394G+activated Ras	none	α -SkA	100	48hr
992	myocardial cell+ α -SkA-394G+activated Rac	none	α -SkA	30	48hr
993	myocardial cell+ α -SkA-394G+activated Raf-1	none	α -SkA	20	48hr
994	myocardial cell+ α -SkA-394G+activated MEKK1	none	α -SkA	20	48hr
995	myocardial cell+ α -SkA-394G+activated MKK6	none	α -SkA	90	48hr
996	myocardial cell+pCEP	none	Cardiac myocyte area	600	48hr
997	myocardial cell+pCEP	PE	Cardiac myocyte area	1800	48hr
998	myocardial cell+activated Raf-1	none	Cardiac myocyte area	1000	48hr
999	myocardial cell+activated MEKK1	none	Cardiac myocyte area	1700	48hr
1000	myocardial cell+activated MKK6	none	Cardiac myocyte area	2300	48hr

표 15. 구축된 대규모 심근세포 네트워크에 대한 동역학적 시뮬레이션 결과를 실험적 사실과 비교·검증함. 실험 정보로부터 확인한 총 411개의 링크 중에서 405개의 링크(98.54%)가 시뮬레이션에서 재현됨. 일치여부(coherency, coh) 항목의 C는 시뮬레이션결과와 실험결과가 일치함을, I는 일치하지 않음을 나타냄.

Link	coh	PMID	Link	coh	PMID	Link	coh	PMID
CREB→Bcl2	C	165545	IGF1→p70s6k	C	11493700	Stretch↓ foxo	C	15781459
ERK12↓ Bim	C	1091313	p70s6k↓ Bad	C	11493700	cFos↓ aMHC	C	15795322
PKC↓ GSK3B	C	1324914	ERK12→GATA4	C	11585926	cFos↓ SERCA	C	15795322
EGF→PLCG	C	2472219	MEK12→GATA4	C	11585926	cFos→ANP	C	15795322
EGF→EGFR	C	2472219	MEK12→CellArea	C	11585926	cFos→bMHC	C	15795322
PE→ANP	C	8621626	MEK12→ANP	C	11585926	cFos→BNP	C	15795322
MEK36→p38	C	8622669	MEK7→GATA4	C	11585926	cJun→bMHC	C	15795322
cFos→sACT	C	8631897	MEK7→CellArea	C	11585926	MEK36↓ SERCA	C	15795322
cJun→sACT	C	8631897	MEK7→ANP	C	11585926	MEK36→bMHC	C	15795322
EGF→MEK12	C	8798560	PE→MEK12	C	11585926	PE↓ SERCA	C	15795322
gp130LIFR→STAT	C	8921810	IGF1→Akt	C	11715022	PE→sACT	C	15795322
LIF→STAT	C	8921810	SHP2→p70s6k	C	11715022	JNK→cJun	C	15961069
LIF→ERK12	C	8921810	mTor→p70s6k	C	11715023	JNK→ERK12	C	15961069
EGF→MEKK1	C	9305638	ET1→CellArea	C	11799083	NFkB→MEF2	C	15961069
EGF→JNK	C	9305638	ET1→BNP	C	11799083	Stretch→JNK	C	15961069
EGF→ERK12	C	9305638	CaN→NFAT	C	12177418	Stretch→ERK12	C	15961069
MEKK1→ERK12	C	9305638	LTCC→NFAT	C	12177418	Stretch→FAK	C	15961069
MEK36→ANP	C	9314533	PE→cGMP	C	12177418	PE→aAR	C	15964981
MEK36→BNP	C	9314533	JNK→Bad	C	12189144	EGF↓ foxo	C	16020479
MEK36→sACT	C	9314533	HDACIIa↓ CellArea	C	12202037	EGF↓ GSK3B	C	16020479
MEK36→CellArea	C	9314533	MEK12→HDACIIa	C	12202037	PE↓ foxo	C	16020479
MEK36→MEF2	C	9314533	PE→bMHC	C	12202037	PE→Akt	C	16020479
MEKK1→p38	C	9314533	PI3K→HDACIIa	C	12202037	PE↓ GSK3B	C	16020479
MEKK1→ANP	C	9314533	PKA→HDACIIa	C	12202037	Akt↓ foxo	C	16021479
MEKK1→BNP	C	9314533	AngII→MEK12	C	12494267	AngII→ATF2	C	16125722
MEKK1→sACT	C	9314533	ANPi→cGMP	C	12727932	ET1→ATF2	C	16125722
MEKK1→CellArea	C	9314533	JNK→Bim	C	12818176	TGFB→CellArea	C	16125722
PE→CellArea	C	9314533	Gab1→sACT	C	12855672	TGFB→ANP	C	16125722

PE→MEF2	C	9314533	Gab1→ERK12	C	12855672	TGFB→BNP	C	16125722
Rac1→JNK	C	9314533	Gab1→Akt	C	12855672	TGFB→ATF2	C	16125722
Rac1→ANP	C	9314533	LIF→SHP2	C	12855672	TGFB→PKC	C	16125722
Rac1→BNP	C	9314533	LIF→Akt	C	12855672	PKC→Raf1	C	16172266
Rac1→sACT	C	9314533	aAR→eIF2B	C	15001529	PKC→MEK12	C	16172266
Raf1→JNK	C	9314533	BAR→eIF2B	C	15001529	PKC→ERK12	C	16172266
Raf1→ERK12	C	9314533	GSK3B→eIF2B	C	15001529	PKC→STAT	C	16172266
Raf1→ANP	C	9314533	ISO→eIF2B	C	15001529	AngII→ANP	C	16260600
Raf1→BNP	C	9314533	ISO→GSK3B	C	15001529	AT1R→ANP	C	16260600
Raf1→sACT	C	9314533	ISO→CellArea	C	15001529	JAK→ANP	C	16260600
Raf1→CellArea	C	9314533	GSK3B→HDACIIa	C	15367659	PKC→ANP	C	16260600
Ras→ERK12	C	9314533	PE→HDACIIa	C	15367659	PLCB→ANP	C	16260600
Ras→ANP	C	9314533	PE→RhoA	C	15367659	STAT→ANP	C	16260600
Ras→BNP	C	9314533	PE→PI3K	C	15367659	ERK12→Akt	C	16687399
Ras→sACT	C	9314533	PE→PKC	C	15367659	PI3K→Gab1	C	16687399
Akt→Bad	C	9346240	PE→CREB	C	15522277	Bim→Apoptosis	C	16818494
ISO→BAR	C	9363896	PE→MSK1	C	15522277	p38→Bim	C	16818494
ISO→GBG	C	9363896	p38→Apoptosis	C	15572667	PKA→RGS	C	16885398
ISO→PKA	C	9363896	CT1→BNP	C	15623435	PKA→Gaq11	C	16885398
AngII→JAK	C	9468195	CT1→CellArea	C	15623435	PKG1→RGS	C	16885398
AngII→AT1R	C	9468195	ET1→MEK12	C	15623435	PKG1→Gaq11	C	16885398
LIF→JAK	C	9468195	MEK12→BNP	C	15623435	cAMP→GSK3B	C	16934435
TNFa→NFkB	C	9520446	CaN→MEK12	C	15657416	ePac→GSK3B	C	16934435
TNFa→IKK	C	9520446	MEK12→NFAT	C	15657416	IGF1→GSK3B	C	16934435
EGF→Raf1	C	9525855	foxo→Akt	C	15781459	PI3K→GSK3B	C	16934435
EGF→Ras	C	9525855	IGF1→foxo	C	15781459	PKA→GSK3B	C	16934435
AngII→NFAT	C	9568714	IGF1→CellArea	C	15781459	MEK12→ELK1	C	17082647
CaN→BNP	C	9568714	CaMK→CaN	C	10811847	MEK12→CREB	C	17082647
CaN→CellArea	C	9568714	CaMK→sACT	C	10811847	TNFa→ERK12	C	17082647
PE→NFAT	C	9568714	CaMK→CellArea	C	10811847	TNFa→ELK1	C	17082647
ET1→p38	C	9584192	CaMK→aMHC	C	10811847	TNFa→CREB	C	17082647
ET1→JNK	C	9584192	EGF→MEF2	C	10849446	CaMK→Apoptosis	C	17296607
ET1→ERK12	C	9584192	EGF→cJun	C	10849446	CaMK→BclxL	C	17296607
ET1→ANP	C	9584192	ERK12→MEF2	C	10849446	MEK12→Ras	C	18059341
LIF→p38	C	9584192	MEF2→cJun	C	10849446	Raf1→Akt	C	18059341
MEKK1→cJun	C	9584192	MEK5→ERK12	C	10849446	Raf1→Ras	C	18059341
p38→ANP	C	9584192	MEK5→cJun	C	10849446	ePac→CellArea	C	18323524
PE→JNK	C	9584192	CT1→STAT	C	10856262	ePac→CaMK	C	18323524
PE→ERK12	C	9584192	JNK→Bcl2	C	10913135	ISO→ANP	C	18323524
ERK12→MSK1	C	9687510	JNK→BclxL	C	10913135	Gaq11→PLCB	C	18390926
p38→MSK1	C	9687510	ISO→Apoptosis	C	10931827	AngII→RGS	C	18443239
p38→ATF2	C	9688607	ISO→CaN	C	10931827	ANPi→RGS	C	18443239
AC→Apoptosis	C	9751683	ISO→Bad	C	10931827	ANPi→PKG1	C	18443239
NE→Apoptosis	C	9751683	LIF→Raf1	C	11009450	ANPi→ANP	C	18443239
p38→MEF2	C	10330143	LIF→p70s6k	C	11009450	ANPi→CaN	C	18443239
GATA4→BNP	C	10330176	LIF→MEK12	C	11009450	ANPi→NFAT	C	18443239
GATA4→bMHC	C	10330176	LIF→PI3K	C	11009450	ET1→NFAT	C	18443239
Stretch→STAT	C	10347087	ET1→IP3	C	11073891	GCA→RGS	C	18443239
Stretch→JAK	C	10347087	LIF→Calcium	C	11073891	RGS→IP3	C	18443239
Stretch→gp130LIFR	C	10347087	LIF→CaMK	C	11073891	RGS→ANP	C	18443239
Stretch→Calcium	C	10347087	LIF→CaN	C	11073891	RGS→CaN	C	18443239
Stretch→CaMK	C	10347087	LIF→MEKK1	C	11073891	RGS→NFAT	C	18443239
Stretch→PKC	C	10347087	LIF→cFos	C	11073891	Gaq11→CellArea	C	19564249
FGF→ERK12	C	10362356	LIF→BNP	C	11073891	Gaq11→ANP	C	19564249
FGF→Raf1	C	10362356	LIF→sACT	C	11073891	NE→PLCB	C	19564249
Akt→NFkB	C	10485710	LIF→NFAT	C	11073891	PE→PLCB	C	19564249
TNFa→PI3K	C	10485710	EGF→PI3K	C	11134009	PLCB→CellArea	C	19564249
IGF1→Raf1	C	10559134	EGF→Akt	C	11134009	Raf1→Apoptosis	C	19667065
IGF1→ERK12	C	10559134	PI3K→Akt	C	11134009	AngII→bMHC	C	19713680
IGF1→STAT	C	10559134	SHP2→Ras	C	11134009	AngII→cFos	C	19713680
IGF1→Calcium	C	10559134	RhoA→sACT	C	11259397	AngII→CellArea	C	19713680
IGF1→PKC	C	10559134	RhoA→SRF	C	11259397	AngII→Akt	C	20052676
MEK12→ERK12	C	10564160	GATA4→CellArea	C	11356841	AngII→p38	C	20052676
NRG1→p70s6k	C	10564160	GATA4→ANP	C	11356841	AngII→MEF2	C	20052676
NRG1→ERK12	C	10564160	PE→GATA4	C	11356841	ET1→sACT	C	20226789
PI3K→p70s6k	C	10564160	PE→BNP	C	11356841	ET1→RhoA	C	20226789

NRG1→PI3K	C	10564360	LIF→MEK5	C	11387209	ET1↓ SHP2	C	20226789
Raf1↓ Bad	C	10597268	MEK5→ANP	C	11387209	LIF→RhoA	C	20226789
CaMK→MEF2	C	10737771	MEK5→BNP	C	11387209	IGF1→RGS	C	20362664
CaMK→MEK36	C	10737771	MEK5→sACT	C	11387209	ISO→RGS	C	20362664
HDACIIa↓ MEF2	C	10737771	MEK5→Apoptosis	C	11387209	PI3K→Rac1	C	20518848
M E K 3 6 → HDACIIa	C	10737771	MEK5↓ aMHC	C	11387209	PI3K→ERK12	C	20518848
PE→CaMK	C	10737771	MEK5↓ SERCA	C	11387209	ANP→GCA	C	20847310
Stretch→cFos	C	10784353	PE→MEK5	C	11387209	PDE5↓ cGMP	C	20847310
Stretch→ANP	C	10784353	AngII→ERK12	C	11435346	PKG1↓ cGMP	C	20847310
Stretch→cJun	C	10784353	CaM→ERK12	C	11435346	PKG1→PDE5	C	20847310
Calcium→CaN	C	10788473	ISO→ERK12	C	11435346	PKG1→GCA	C	20847310
CaN→JNK	C	10788473	ISO→Raf1	C	11435346	AngII→p70s6k	C	21376054
CaN→ERK12	C	10788473	CT1→p38	C	11448959	ePac↓ HDACIIa	C	22056318
CaN→PKC	C	10788473	CT1→Akt	C	11448959	ePac→MEF2	C	22056318
CaN→ANP	C	10788473	CT1→ERK12	C	11448959	ET1↓ HDACIIa	C	22056318
MEK4→CellArea	C	10788473	CT1→PI3K	C	11448959	aAR→Akt	C	22845314
MEK4→ANP	C	10788473	CT1→NFkB	C	11448959	RGS→CellArea	C	23454748
PE→MEK4	C	10788473	CT1↓ Ikb	C	11448959	AngII↓ HDACIIa	C	24152730
PKC→CellArea	C	10788473	CT1→IKK	C	11448959	AngII→GATA4	C	24152730
ET1→CaN	C	10809760	CT1→TAK1	C	11448959	ISO→PDE34	C	24248367
CaMK→ANP	C	10811847	CT1→MEK12	C	11448959	PKA→PDE34	C	24248367
GSK3B- cJun	C	165545	PKG1- BNP	C	9314533	PKC→PDE34	C	24248367
MEK36- ANP	C	1324914	PKG1- CellArea	C	9314533	ERK12- ANP	C	9468195
MEK36- ATF2	C	2472219	HDACIIa- ANP	C	9314533	PI3K- ANP	C	9468195
MEK36- CellArea	C	2472219	HDACIIa- BNP	C	9314533	PKG1->Gaq11	C	9520446
Rac1- p38	C	8621626	HDACIIa- bMHC	C	9314533	FAK- p38	C	9520446
Rac1- ERK12	C	8622669	PE->HDACIIa	C	9314533	ANPi->IP3	C	9525855
Ras- p38	C	8631897	PKC->HDACIIa	C	9314533	GCA- CellArea	C	9568714
IKK- NFkB	C	8631897	AngII- ERK12	C	9314533	GCA- BNP	C	9568714
AngII- NFAT	C	8798560	GCA- ANP	C	9314533	GCA- CaN	C	9568714
PE- NFAT	C	8921810	GCA- sACT	C	9314533	GCA- NFAT	C	9568714
MEKK1- JNK	C	8921810	GCA- bMHC	C	9314533	GCA- GATA4	C	9568714
SHP2- JAK	C	9305638	GCA- cGMP	C	9314533	SHP2- CellArea	C	9584192
PKA- Bad	C	9305638	p38- JNK	C	9314533	Stretch- FAK	C	9584192
CaMK->HDACIIa	C	9305638	p38- ERK12	C	9314533	AngII- bMHC	C	9584192
Stretch- cJun	C	9314533	MEK12- STAT	I	9314533	AngII- cFos	C	9584192
Stretch- cFos	C	9314533	PE->foxo	I	9468195	AngII- CellArea	C	9584192
LIF- CellArea	C	9314533	LIF- sACT	I	9584192	p38- MEK36	C	9314533
ISO- LTCC	C	9314533	LIF- RhoA	I	9584192	SOCS- ERK12	C	9314533
CT1->Ikb	I	9314533	PE- RGS	C	9584192	foxo- CellArea	C	9314533
IGF1- Bad	C	9314533	TNFa- RGS	I	9687510	cJun- bMHC	C	9314533
SHP2- Akt	C	9314533	PKA- MEF2	C	9688607	PE- CellArea	C	9314533
PKG1- NFAT	C	9314533	aAR- p38	C	9751683	PE- cFos	C	9346240

표 16. 심부전 관련 대규모 실험데이터수집(5000여 개의 데이터 중 700개의 예). 수집된 실험데이터는 6가지 항목으로 일관되게 표현하여 대규모 네트워크 구축에 활용가능한 형태로 정리함.

No	cell	Input	output	Intervention	effec t	Time
1	NRCM	AngII	ANP		1	12 hour
2	NRCM	AngII	ANP	AT1R(-)	0.61	12 hour
3	cardiomyocyte	AngII	ANP	GATA4(-)	0.79	48 hour
4	cardiomyocyte	AngII	ANP	GATA4(-)	1	48 hour
5	cardiomyocyte	AngII	ANP	STAT(-)	0.79	48 hour
6	cardiomyocyte	AngII	ANP	STAT(-)	0.81	48 hour
7	NRCM		MEF2		0.02	15 hour
8	NRCM	PE	MEF2		0.1	15 hour
9	NRCM		MEF2		0.02	15 hour
10	NRCM	PE	MEF2		1	15 hour
11	NRCM	PE	MEF2	CaMK(-)	0.56	15 hour
12	NRCM	PE	MEF2	p38(-)	0.78	15 hour
13	NRCM	PE	MEF2	CaMK(-), p38(-)	0.11	15 hour
14	NRCM		MEF2		0.07	15 hour

15	NRCM		MEF2	CaMK(+)	1	15 hour
16	NRCM		MEF2	MEK36(+)	0.07	15 hour
17	NRCM		MEF2		0.07	15 hour
18	NRCM		MEF2	CaMK(+)	0.13	15 hour
19	NRCM		MEF2	MEK36(+)	0.6	15 hour
20	NRVM		aMHC		0.13	72 hour
21	NRVM	PE	aMHC		0.04	72 hour
22	NRVM		aMHC	cFos(-)	0.14	72 hour
23	NRVM	PE	aMHC	cFos(-)	1	72 hour
24	NRVM		SERCA		0.91	72 hour
25	NRVM	PE	SERCA		0.36	72 hour
26	NRVM		SERCA	cFos(-)	1	72 hour
27	NRVM	PE	SERCA	cFos(-)	0.64	72 hour
28	NRVM		ANP		0.13	72 hour
29	NRVM	PE	ANP		1	72 hour
30	NRVM		ANP	cFos(-)	0.1	72 hour
31	NRVM	PE	ANP	cFos(-)	0.25	72 hour
32	NRVM		bMHC		0.59	72 hour
33	NRVM	PE	bMHC		1	72 hour
34	NRVM		bMHC	cFos(-)	0.18	72 hour
35	NRVM	PE	bMHC	cFos(-)	0.12	72 hour
36	NRVM		sACT		0.22	72 hour
37	NRVM	PE	sACT		1	72 hour
38	NRVM		sACT	cFos(-)	0.2	72 hour
39	NRVM	PE	sACT	cFos(-)	0.53	72 hour
40	NRVM		BNP		0.14	72 hour
41	NRVM	PE	BNP		1	72 hour
42	NRVM		BNP	cFos(-)	0.13	72 hour
43	NRVM	PE	BNP	cFos(-)	0.33	72 hour
44	NRVM		aMHC		0.77	72 hour
45	NRVM		aMHC	cFos(-)	1	72 hour
46	NRVM		aMHC	MEK36(+)	0.15	72 hour
47	NRVM		aMHC	cFos(-), MEK36(+)	0.62	72 hour
48	NRVM		SERCA		0.83	72 hour
49	NRVM		SERCA	cFos(-)	0.83	72 hour
50	NRVM		SERCA	MEK36(+)	0.17	72 hour
51	NRVM		SERCA	cFos(-), MEK36(+)	1	72 hour
52	NRVM		ANP		0.06	72 hour
53	NRVM		ANP	cFos(-)	0.05	72 hour
54	NRVM		ANP	MEK36(+)	1	72 hour
55	NRVM		ANP	cFos(-), MEK36(+)	0.22	72 hour
56	NRVM		bMHC		0.26	72 hour
57	NRVM		bMHC	cFos(-)	0.08	72 hour
58	NRVM		bMHC	MEK36(+)	1	72 hour
59	NRVM		bMHC	cFos(-), MEK36(+)	0.03	72 hour
60	NRVM		sACT		0.11	72 hour
61	NRVM		sACT	cFos(-)	0.08	72 hour
62	NRVM		sACT	MEK36(+)	1	72 hour
63	NRVM		sACT	cFos(-), MEK36(+)	0.22	72 hour
64	NRVM		BNP		0.09	72 hour
65	NRVM		BNP	cFos(-)	0.01	72 hour
66	NRVM		BNP	MEK36(+)	1	72 hour
67	NRVM		BNP	cFos(-), MEK36(+)	0.12	72 hour
68	HEK293		Akt		0.5	30 minute
69	HEK293	TNF	Akt		1	30 minute
70	HEK293	TNF	Akt	PI3K(-)	0.5	30 minute
71	HEK293		NFkB		0.18	6 hour
72	HEK293		NFkB	Akt(+)	0.73	6 hour
73	HEK293	TNF	NFkB		0.91	6 hour
74	HEK293	TNF	NFkB	Akt(+)	1	6 hour
75	NRVM		hypertrophy		0.18	24 hour
76	NRVM	TGFB	hypertrophy		1	24 hour
77	NRVM		ANP		0.43	24 hour
78	NRVM	TGFB	ANP		0.81	24 hour
79	NRVM		ANP		0.47	24 hour
80	NRVM	ET1	ANP		1	24 hour
81	NRVM		BNP		0.47	24 hour
82	NRVM	TGFB	BNP		1	24 hour
83	NRVM		BNP		0.53	24 hour

84	NRVM	ET1	BNP		1	24 hour
85	NRVM		ATF2		0.42	24 hour
86	NRVM		ATF2	TGFB(+)	1	24 hour
87	NRVM		ATF2		0.42	24 hour
88	NRVM		ATF2	AngII(+)	0.63	24 hour
89	NRVM		ATF2		0.42	24 hour
90	NRVM		ATF2	ET1(+)	0.54	24 hour
91	NRVM		ANP		0.43	24 hour
92	NRVM	TGFB	ANP		0.78	24 hour
93	NRVM		ANP	ATF2(-)	0.22	24 hour
94	NRVM	TGFB	ANP	ATF2(-)	0.26	24 hour
95	NRVM		ANP	TAK1(-)	0.43	24 hour
96	NRVM	TGFB	ANP	TAK1(-)	0.48	24 hour
97	NRVM		ANP	ATF2(+)	0.74	24 hour
98	NRVM	TGFB	ANP	ATF2(+)	1	24 hour
99	NRVM		ANP	p38(+)	0.74	24 hour
100	NRVM	TGFB	ANP	p38(+)	0.87	24 hour
101	NRVM		ANP		0.43	24 hour
102	NRVM	TGFB	ANP		0.78	24 hour
103	NRVM		ANP		0.43	24 hour
104	NRVM		ANP	PKC(-)	0.39	24 hour
105	NRVM	TGFB	ANP		0.78	24 hour
106	NRVM	TGFB	ANP	PKC(-)	0.43	24 hour
107	NRVM		NFAT		0.1	48 hour
108	NRVM		NFAT	MEK12(+)	0.23	48 hour
109	NRVM		NFAT		0.26	48 hour
110	NRVM		NFAT	MEK12(+)	1	48 hour
111	NRVM		Protein synthesis		0.71	48 hour
112	NRVM	ET1	Protein synthesis		1	48 hour
113	NRVM		Protein synthesis		0.67	48 hour
114	NRVM	PE	Protein synthesis		1	48 hour
115	NRVM		CellArea		0.43	48 hour
116	NRVM	ET1	CellArea		1	48 hour
117	NRVM		CellArea		0.4	48 hour
118	NRVM	PE	CellArea		1	48 hour
119	NRVM		AP1		0.42	48 hour
120	NRVM	ET1	AP1		1	48 hour
121	NRVM		AP1		0.34	48 hour
122	NRVM	PE	AP1		1	48 hour
123	NRVM		ANP		0.53	48 hour
124	NRVM	ET1	ANP		1	48 hour
125	NRVM		BNP		0.63	48 hour
126	NRVM	ET1	BNP		1	48 hour
127	NRVM		ANP	cJun(-)	0.53	48 hour
128	NRVM	ET1	ANP	cJun(-)	0.53	48 hour
129	NRVM		BNP	cJun(-)	0.31	48 hour
130	NRVM	ET1	BNP	cJun(-)	0.38	48 hour
131	NRVM		ANP		0.56	48 hour
132	NRVM	PE	ANP		1	48 hour
133	NRVM		BNP		0.59	48 hour
134	NRVM	PE	BNP		1	48 hour
135	NRVM		ANP	cJun(-)	0.44	48 hour
136	NRVM	PE	ANP	cJun(-)	0.5	48 hour
137	NRVM		BNP	cJun(-)	0.18	48 hour
138	NRVM	PE	BNP	cJun(-)	0.24	48 hour
139	NRVM		MSK1		0.18	10 minute
140	NRVM	PE	MSK1		0.71	10 minute
141	NRVM	PE	MSK1	PKA(-)	0.79	10 minute
142	NRVM		MSK1		0.21	10 minute
143	NRVM	PE	MSK1		0.96	10 minute
144	NRVM	PE	MSK1	PKA(-)	1	10 minute
145	NRVM		CREB		0.25	10 minute
146	NRVM	PE	CREB		1	10 minute
147	NRVM	PE	CREB	MSK1(-)	0.5	10 minute
148	NRVM	PE	CREB	p38(-), MEK12(-)	0.35	10 minute
149	NRVM	PE	CREB	PKA(-)	0.38	10 minute
150	NRVM	PE	CREB	AC(+)	0.55	10 minute
151	NRVM		ANP		0.61	40 minute

152	NRVM	PE	ANP		1	40 minute
153	NRVM	PE	ANP	p38(-), MEK12(-)	0.65	40 minute
154	NRVM	PE	ANP	MSK1(-)	0.52	40 minute
155	NRVM	PE	ANP	PKA(-)	0.81	40 minute
156	NRVM		p38		0.33	30 minute
157	NRVM	CT1	p38		1	30 minute
158	NRVM	CT1	p38	PI3K(-)	0.67	30 minute
159	NRVM		Akt		0	15 minute
160	NRVM	CT1	Akt		1	15 minute
161	NRVM	CT1	Akt	PI3K(-)	0	15 minute
162	NRVM		ERK12		0.33	15 minute
163	NRVM	CT1	ERK12		1	15 minute
164	NRVM	CT1	ERK12	MEK12(-)	0.33	15 minute
165	NRVM		NFkB		0.28	24 hour
166	NRVM	CT1	NFkB		1	24 hour
167	NRVM	CT1	NFkB	p38(-)	0.65	24 hour
168	NRVM	CT1	NFkB	PI3K(-)	0.55	24 hour
169	NRVM	CT1	NFkB	MEK12(-)	0.45	24 hour
170	NRVM	CT1	NFkB	IkB(-)	0.38	24 hour
171	NRVM	CT1	NFkB	IKK(-)	0.3	24 hour
172	NRVM	CT1	NFkB	TAK1(-)	0.39	24 hour
173	NRVM	CT1	NFkB	MEK12(-)	0.32	24 hour
174	NRVM		ERK12		0.5	5 minute
175	NRVM		ERK12	FAK(-)	0.4	5 minute
176	NRVM	Stretch	ERK12		1	5 minute
177	NRVM	Stretch	ERK12	FAK(-)	0.6	5 minute
178	NRVM		ERK12	AngII(-)	0.5	5 minute
179	NRVM		ERK12	FAK(-), AngII(-)	0.75	5 minute
180	NRVM	Stretch	ERK12	AngII(-)	0.8	5 minute
181	NRVM	Stretch	ERK12	FAK(-), AngII(-)	0.85	5 minute
182	NRVM		p38		0.63	5 minute
183	NRVM		p38	FAK(-)	0.88	5 minute
184	NRVM	Stretch	p38		0.81	5 minute
185	NRVM	Stretch	p38	FAK(-)	1	5 minute
186	NRVM		p38	AngII(-)	0.63	5 minute
187	NRVM		p38	FAK(-), AngII(-)	0.88	5 minute
188	NRVM	Stretch	p38	AngII(-)	0.88	5 minute
189	NRVM	Stretch	p38	FAK(-), AngII(-)	1	5 minute
190	NRVM		JNK		0.3	5 minute
191	NRVM		JNK	FAK(-)	0.48	5 minute
192	NRVM	Stretch	JNK		0.55	5 minute
193	NRVM	Stretch	JNK	FAK(-)	1	5 minute
194	NRVM		JNK	AngII(-)	0.3	5 minute
195	NRVM		JNK	FAK(-), AngII(-)	0.55	5 minute
196	NRVM	Stretch	JNK	AngII(-)	0.61	5 minute
197	NRVM	Stretch	JNK	FAK(-), AngII(-)	0.97	5 minute
198	NRVM		sACT		0.5	24 hour
199	NRVM	ET1	sACT		1	24 hour
200	NRVM		sACT		0.48	24 hour
201	NRVM	LIF	sACT		0.48	24 hour
202	NRVM		BNP		0.59	24 hour
203	NRVM	ET1	BNP		1	24 hour
204	NRVM		BNP		0.63	24 hour
205	NRVM	LIF	BNP		0.94	24 hour
206	NRVM		SHP2		1	5 minute
207	NRVM	ET1	SHP2		0.8	5 minute
208	NRVM		SHP2		0.59	5 minute
209	NRVM	LIF	SHP2		1	5 minute
210	NRVM		sACT		0.5	24 hour
211	NRVM		sACT	RhoA(-)	0.25	24 hour
212	NRVM	ET1	sACT		0.85	24 hour
213	NRVM	ET1	sACT	RhoA(-)	0.3	24 hour
214	NRVM		sACT		0.48	24 hour
215	NRVM		sACT	SHP2(+)	0.57	24 hour
216	NRVM	LIF	sACT		0.38	24 hour
217	NRVM	LIF	sACT	SHP2(-)	1	24 hour
218	NRVM		BNP		0.63	24 hour
219	NRVM		BNP	SHP2(-)	0.56	24 hour
220	NRVM	LIF	BNP		1	24 hour

221	NRVM	LIF	BNP	SHP2(-)	0.81	24 hour
222	NRVM		sACT	SHP2(-)	0.48	24 hour
223	NRVM		sACT	SHP2(-), RhoA(-)	0.24	24 hour
224	NRVM	LIF	sACT	SHP2(-)	0.86	24 hour
225	NRVM	LIF	sACT	SHP2(-), RhoA(-)	0.24	24 hour
226	NRVM		sACT	SHP2(-)	0.48	24 hour
227	NRVM		sACT	SHP2(-), RhoA(+)	0.29	24 hour
228	NRVM	LIF	sACT	SHP2(-)	0.86	24 hour
229	NRVM	LIF	sACT	SHP2(-), RhoA(+)	0.38	24 hour
230	NRVM		ERK5		0.4	15 minute
231	NRVM		ERK5	SHP2(+)	0.68	15 minute
232	NRVM	LIF	ERK5		0.92	15 minute
233	NRVM	LIF	ERK5	SHP2(+)	1	15 minute
234	NIH3T3 cells		MEK		0.01	15 minute
235	NIH3T3 cells	Raf1	MEK		0.4	15 minute
236	NIH3T3 cells		MEK	cAMP(+)	0.01	15 minute
237	NIH3T3 cells	Raf1	MEK	cAMP(+)	0.01	15 minute
238	NIH3T3 cells		MEK	PKC(+)	1	15 minute
239	NIH3T3 cells	Raf1	MEK	PKC(+)	1	15 minute
240	NIH3T3 cells		MEK	cAMP(+), PKC(+)	0.01	15 minute
241	NIH3T3 cells	Raf1	MEK	cAMP(+), PKC(+)	0.15	15 minute
242	in vitro system(BXB)		IkB		0.33	20 minute
243	in vitro system(BXB)	PKA	IkB		0.03	20 minute
244	in vitro system(BXB)	PKC	IkB		1	20 minute
245	in vitro system(BXB)		MEK		0.01	20 minute
246	in vitro system(BXB)	PKA	MEK		0.01	20 minute
247	in vitro system(BXB)	PKC	MEK		1	20 minute
248	in vitro system(Raf-1)		IkB		0.33	20 minute
249	in vitro system(Raf-1)	PKA	IkB		0	20 minute
250	in vitro system(Raf-1)	PKC	IkB		1	20 minute
251	in vitro system(Raf-1)		MEK		0.01	20 minute
252	in vitro system(Raf-1)	PKA	MEK		0.01	20 minute
253	in vitro system(Raf-1)	PKC	MEK		1	20 minute
254	myocyte	ELK1	ELK1		0.22	48 hour
255	myocyte	ELK1	ELK1	p38(+), MEK36(+)	1	48 hour
256	myocyte	ELK1	ELK1	MEK36(+)	0.97	48 hour
257	myocyte	ELK1	ELK1	MEK36(+), p38(-)	0.06	48 hour
258	myocyte		ANP		0.01	48 hour
259	myocyte		ANP	MEK36(+)	1	48 hour
260	myocyte		ANP	p38(+)	0.18	48 hour
261	myocyte		ANP	MEK36(+)	0.2	48 hour
262	myocyte		ANP	p38(+), MEK36(+)	0.6	48 hour
263	myocyte		ANP	p38(+), MEK36(+)	0.03	48 hour
264	myocyte		ANP		0.01	48 hour
265	myocyte	ET1	ANP		0.1	48 hour
266	myocyte	ET1	ANP	p38(+), MEK36(+)	1	48 hour
267	myocyte		ANP		0	48 hour
268	myocyte	PE	ANP		0.12	48 hour
269	myocyte	PE	ANP	p38(+), MEK36(+)	1	48 hour
270	myocyte		ANP		0.03	48 hour
271	myocyte	LIF	ANP		0.27	48 hour
272	myocyte	LIF	ANP	p38(+), MEK36(+)	1	48 hour
273	myocyte		ANP		0.2	48 hour
274	myocyte	cJun	ANP		1	48 hour
275	myocyte	cJun	ANP		0.4	48 hour
276	myocyte		ANP		0.14	48 hour
277	myocyte	ET1	ANP		1	48 hour
278	myocyte	ET1	ANP	JNK(+)	0.29	48 hour
279	myocyte		ANP		0.04	48 hour
280	myocyte	PE	ANP		1	48 hour
281	myocyte	PE	ANP	JNK(+)	0.4	48 hour
282	myocyte		ANP		0.17	48 hour
283	myocyte	LIF	ANP		1	48 hour
284	myocyte	LIF	ANP	JNK(+)	0.67	48 hour
285	293 cell		NFkB		0.01	36 hour
286	293 cell		NFkB	NFkB(+)	0.21	36 hour
287	293 cell		NFkB	NFkB(+), IKK(+)	1	36 hour
288	293/IL-1R1 cell		NFkB		0.06	6 hour
289	293/IL-1R1 cell	IL1	NFkB		1	6 hour

290	293/IL-1R1 cell	TNF α	NF κ B		0.23	6 hour
291	NRVM		HDAC5		0.75	2 hour
292	NRVM	PE	HDAC5		0.15	2 hour
293	NRVM	PE	HDAC5	CaMK(-)	0.1	2 hour
294	NRVM	PE	HDAC5	MEK12(-)	0.15	2 hour
295	NRVM	PE	HDAC5	PKA(-)	0.3	2 hour
296	NRVM	PE	HDAC5	RhoA(-)	0.2	2 hour
297	NRVM	PE	HDAC5	DAG(-)	0.25	2 hour
298	NRVM	PE	HDAC5	PI3K(-)	0.02	2 hour
299	NRVM	PE	HDAC5	S6 kinase(-)	0.2	2 hour
300	NRVM	PE	HDAC5	GSK3B(-)	0.01	2 hour
301	NRVM	PE	HDAC5	PKC(-)	0.6	2 hour
302	NRVM	PE	HDAC5	Ser/Thr protein kinase(-)	1	2 hour
303	NRVM		HDAC5		0.33	2 hour
304	NRVM	PE	HDAC5		0.1	2 hour
305	NRVM	PE	HDAC5	PKC(-)	0.43	2 hour
306	NRVM	ET1	HDAC5		0.96	2 hour
307	NRVM	ET1	HDAC5	PKC(-)	1	2 hour
308	NRCM		HDAC4		1	24 hour
309	NRCM	AngII	HDAC4		0.3	24 hour
310	NRCM	ET1	HDAC4		0.5	24 hour
311	NRCM		HDAC5		1	24 hour
312	NRCM	AngII	HDAC5		0.29	24 hour
313	NRCM	ET1	HDAC5		0.43	24 hour
314	NRCM		HDAC4		1	24 hour
315	NRCM	AngII	HDAC4		0.33	24 hour
316	NRCM	ET1	HDAC4		0.32	24 hour
317	NRCM		HDAC5		1	24 hour
318	NRCM	AngII	HDAC5		0.23	24 hour
319	NRCM	ET1	HDAC5		0.23	24 hour
320	NRCM		HDAC2		0.11	24 hour
321	NRCM	AngII	HDAC2		0.56	24 hour
322	NRCM		HDAC2		0.22	24 hour
323	NRCM	AngII	HDAC2		1	24 hour
324	NRCM		CK2		0.44	24 hour
325	NRCM	AngII	CK2		1	24 hour
326	NRCM	ET1	CK2		1	24 hour
327	NRCM		HDAC2		0.17	24 hour
328	NRCM	AngII	HDAC2		0.42	24 hour
329	NRCM		CellArea		0.4	24 hour
330	NRCM	AngII	CellArea		1	24 hour
331	WT(wild type mouse)		CK2		0.45	24 hour
332	WT(wild type mouse)	AngII	CK2		0.45	24 hour
333	WT(wild type mouse)	AngII	CK2		1	24 hour
334	WT(wild type mouse)	AngII	CK2	Estrogen(+)	0.56	24 hour
335	WT(wild type mouse)	AngII	CK2	Estrogen Receptor(+)	0.65	24 hour
336	WT(wild type mouse)		HDAC2		0.33	24 hour
337	WT(wild type mouse)	AngII	HDAC2		1	24 hour
338	WT(wild type mouse)	AngII	HDAC2	Estrogen(+)	0.39	24 hour
339	WT(wild type mouse)	AngII	HDAC2	Estrogen Receptor(+)	0.44	24 hour
340	NRCM		GATA4		0.3	24 hour
341	NRCM	AngII	GATA4		1	24 hour
342	NRCM		GATA4		0.3	24 hour
343	NRCM	AngII	GATA4		1	24 hour
344	NRCM		GATA4		0.36	24 hour
345	NRCM	AngII	GATA4		1	24 hour
346	VSMC		JAK2		0.2	3 minute
347	VSMC	AngII	JAK2		0.8	3 minute
348	VSMC		JAK2		0.04	3 minute
349	VSMC	AngII	JAK2	PKC(-)	0.14	3 minute
350	VSMC		JAK2		0.2	3 minute
351	VSMC	AngII	JAK2		1	3 minute
352	VSMC		JAK2		0.16	3 minute
353	VSMC	AngII	JAK2	PKC(-)	0.24	3 minute
354	VSMC		JAK2		0.2	3 minute

355	VSMC	AngII	JAK2		1	3 minute
356	VSMC		JAK2		0.4	3 minute
357	VSMC	AngII	JAK2	PKC(-)	0.8	3 minute
358	NRVM		BNP		0.45	24 hour
359	NRVM	ET1	BNP		1	24 hour
360	NRVM		ANP		0.67	24 hour
361	NRVM	ET1	ANP		1	24 hour
362	NRVM		BNP		0.29	24 hour
363	NRVM	ET1	BNP		1	24 hour
364	NRVM	ET1	BNP	ET1R(-)	0.32	24 hour
365	NRVM	ET1	BNP	ET1R(-)	0.41	24 hour
366	NRVM		GATA4		0.48	3 hour
367	NRVM	PE	GATA4		1	3 hour
368	NRVM		BNP		0.06	24 hour
369	NRVM		BNP	GATA4(+)	0.25	24 hour
370	NRVM		BNP	GATA6(+)	0.24	24 hour
371	NRVM	PE	BNP		0.25	24 hour
372	NRVM	PE	BNP	GATA4(+)	1	24 hour
373	NRVM	PE	BNP	GATA6(+)	0.63	24 hour
374	NRVM		CellArea		0.36	48 hour
375	NRVM	GATA4	CellArea		0.98	48 hour
376	NRVM	GATA6	CellArea		1	48 hour
377	NRVM		Protein synthesis		0.77	48 hour
378	NRVM	GATA4	Protein synthesis		0.98	48 hour
379	NRVM	GATA6	Protein synthesis		1	48 hour
380	NRVM		CellArea		0.44	24 hour
381	NRVM	PE	CellArea		1	24 hour
382	NRVM		Protein synthesis		0.83	24 hour
383	NRVM	PE	Protein synthesis		1	24 hour
384	NRVM		ANP		0.25	24 hour
385	NRVM	PE	ANP		1	24 hour
386	NRVM		ANP		0.25	24 hour
387	NRVM	PE	ANP		1	24 hour
388	NRVM		bMHC		0.4	24 hour
389	NRVM	PE	bMHC		1	24 hour
390	myocardial cell		p38		0.08	48 hour
391	myocardial cell		p38	Ras(+)	0.05	48 hour
392	myocardial cell		p38	Rac1(+)	0.07	48 hour
393	myocardial cell		p38	Raf1(+)	0.08	48 hour
394	myocardial cell		p38	MEK12(+)	0.3	48 hour
395	myocardial cell		p38	MEK36(+)	1	48 hour
396	myocardial cell		JNK		0.1	48 hour
397	myocardial cell		JNK	Ras(+)	0.1	48 hour
398	myocardial cell		JNK	Rac1(+)	0.75	48 hour
399	myocardial cell		JNK	Raf1(+)	0.05	48 hour
400	myocardial cell		JNK	MEK12(+)	1	48 hour
401	myocardial cell		JNK	MEK36(+)	0.08	48 hour
402	myocardial cell		ERK12		0.04	48 hour
403	myocardial cell		ERK12	Ras(+)	0.38	48 hour
404	myocardial cell		ERK12	Rac1(+)	0.02	48 hour
405	myocardial cell		ERK12	Raf1(+)	0.28	48 hour
406	myocardial cell		ERK12	MEK12(+)	1	48 hour
407	myocardial cell		ERK12	MEK36(+)	0.01	48 hour
408	myocardial cell		ANP		0.01	48 hour
409	myocardial cell		ANP	Ras(+)	0.18	48 hour
410	myocardial cell		ANP	Rac1(+)	0.08	48 hour
411	myocardial cell		ANP	Raf1(+)	0.05	48 hour
412	myocardial cell		ANP	MEK12(+)	0.16	48 hour
413	myocardial cell		ANP	MEK36(+)	1	48 hour
414	myocardial cell		BNP		0.01	48 hour
415	myocardial cell		BNP	Ras(+)	1	48 hour
416	myocardial cell		BNP	Rac1(+)	0.2	48 hour
417	myocardial cell		BNP	Raf1(+)	0.1	48 hour
418	myocardial cell		BNP	MEK12(+)	0.22	48 hour
419	myocardial cell		BNP	MEK36(+)	0.8	48 hour
420	myocardial cell		sACT		0.01	48 hour
421	myocardial cell		sACT	Ras(+)	1	48 hour
422	myocardial cell		sACT	Rac1(+)	0.3	48 hour

423	myocardial cell		sACT	Raf1(+)	0.2	48 hour
424	myocardial cell		sACT	MEK12(+)	0.2	48 hour
425	myocardial cell		sACT	MEK36(+)	0.9	48 hour
426	myocardial cell		CellArea		0.26	48 hour
427	myocardial cell	PE	CellArea		0.78	48 hour
428	myocardial cell		CellArea	Raf1(+)	0.43	48 hour
429	myocardial cell		CellArea	MEK12(+)	0.74	48 hour
430	myocardial cell		CellArea	MEK36(+)	1	48 hour
431	myocardial cell		ANP		0.11	48 hour
432	myocardial cell		ANP	p38(-)	0.1	48 hour
433	myocardial cell	PE	ANP		0.63	48 hour
434	myocardial cell		ANP	MEK36(+)	1	48 hour
435	myocardial cell		ANP	p38(-), MEK36(+)	0.28	48 hour
436	myocardial cell		BNP		0.3	48 hour
437	myocardial cell		BNP	p38(-)	0.18	48 hour
438	myocardial cell	PE	BNP		1	48 hour
439	myocardial cell		BNP	MKK6(+)	0.65	48 hour
440	myocardial cell		BNP	p38(-), MEK36(+)	0.3	48 hour
441	myocardial cell		ATF2		0.38	48 hour
442	myocardial cell		ATF2	p38(-)	0.1	48 hour
443	myocardial cell	PE	ATF2		1	48 hour
444	myocardial cell		ATF2	MEK36(+)	0.8	48 hour
445	myocardial cell		ATF2	p38(-), MEK36(+)	0.25	48 hour
446	myocardial cell		CellArea		0.44	48 hour
447	myocardial cell		CellArea	p38(-)	0.4	48 hour
448	myocardial cell	PE	CellArea		0.72	48 hour
449	myocardial cell	PE	CellArea	p38(-)	0.48	48 hour
450	myocardial cell	MEK36	CellArea		1	48 hour
451	myocardial cell	MEK36	CellArea	p38(-)	0.36	48 hour
452	myocardial cell		MEF2	MEF2(+)	0.5	24 hour
453	myocardial cell	PE	MEF2	MEF2(+)	1	24 hour
454	myocardial cell		MEF2	MEF2(+)	0.1	24 hour
455	myocardial cell	MEK36	MEF2	MEF2(+)	1	24 hour
456	cardiomyocyte		ANP		0.1	48 hour
457	cardiomyocyte	CaN	ANP		0.22	48 hour
458	cardiomyocyte	CAMK	ANP		0.4	48 hour
459	cardiomyocyte	CAMK	ANP	CaN(-)	0.11	48 hour
460	cardiomyocyte	CAMK, CaN	ANP		0.8	48 hour
461	cardiomyocyte	CAMK	ANP		0.32	48 hour
462	cardiomyocyte	CAMK	ANP	CaN(-)	0.25	48 hour
463	cardiomyocyte	CAMK, CaN	ANP		1	48 hour
464	cardiomyocyte	CAMK	ANP		0.3	48 hour
465	cardiomyocyte		sACT		0.03	48 hour
466	cardiomyocyte	CaN	sACT		0.47	48 hour
467	cardiomyocyte	CAMK	sACT		0.56	48 hour
468	cardiomyocyte	CAMK	sACT	CaN(-)	0.25	48 hour
469	cardiomyocyte	CAMK, CaN	sACT		1	48 hour
470	cardiomyocyte	CAMK	sACT		0.34	48 hour
471	cardiomyocyte	CAMK	sACT	CaN(-)	0.16	48 hour
472	cardiomyocyte	CAMK, CaN	sACT		0.72	48 hour
473	cardiomyocyte	CAMK	sACT		0.28	48 hour
474	NRVM		BNP		0.01	48 hour
475	NRVM	CaN	BNP		0.03	48 hour
476	NRVM	NFAT	BNP		0.03	48 hour
477	NRVM	CaN, NFAT	BNP		0.06	48 hour
478	NRVM	GATA4	BNP		0.13	48 hour
479	NRVM	CaN, GATA4	BNP		0.14	48 hour
480	NRVM	NFAT, GATA4	BNP		1	48 hour
481	NRVM	CaN, GATA4	BNP	BNP(+)	0.08	48 hour

482	NRVM		NFAT		0.06	48 hour
483	NRVM	PE	NFAT		1	48 hour
484	NRVM	PE	NFAT	CaN(-)	0.13	48 hour
485	NRVM	AngII	NFAT		0.44	48 hour
486	NRVM	AngII	NFAT	CaN(-)	0.06	48 hour
487	myocyte		MAPK		0.19	5 minute
488	myocyte		MAPK	STAT(+)	0.22	5 minute
489	myocyte		MAPK	STAT(-)	0.19	5 minute
490	myocyte	LIF	MAPK		0.94	5 minute
491	myocyte	LIF	MAPK	STAT(+)	1	5 minute
492	myocyte	LIF	MAPK	STAT(-)	0.97	5 minute
493	myocyte	LIF	MAPK	MAPK(-)	0.06	5 minute
494	myocyte	LIF	MAPK	STAT(-), MAPK(-)	0.03	5 minute
495	myocyte		cFos		0	30 minute
496	myocyte		cFos	STAT(+)	0	30 minute
497	myocyte		cFos	STAT(-)	0	30 minute
498	myocyte	LIF	cFos		0.29	30 minute
499	myocyte	LIF	cFos	STAT(+)	1	30 minute
500	myocyte	LIF	cFos	STAT(-)	0.21	30 minute
501	myocyte	LIF	cFos	MAPK(-)	0.07	30 minute
502	myocyte	LIF	cFos	STAT(+), MAPK(-)	0.14	30 minute
503	myocyte	LIF	cFos	STAT(-), MAPK(-)	0.07	30 minute
504	myocyte		ANP		0.24	24 hour
505	myocyte		ANP	STAT(+)	0.47	24 hour
506	myocyte		ANP	STAT(-)	0.13	24 hour
507	myocyte	LIF	ANP		0.44	24 hour
508	myocyte	LIF	ANP	STAT(+)	1	24 hour
509	myocyte	LIF	ANP	STAT(-)	0.23	24 hour
510	myocyte	LIF	ANP	MAPK(-)	0.07	24 hour
511	myocyte	LIF	ANP	STAT(+), MAPK(-)	0.24	24 hour
512	myocyte	LIF	ANP	STAT(-), MAPK(-)	0.03	24 hour
513	myocyte		Protein synthesis		0.78	24 hour
514	myocyte		Protein synthesis	STAT(+)	0.81	24 hour
515	myocyte		Protein synthesis	STAT(-)	0.75	24 hour
516	myocyte	LIF	Protein synthesis		0.9	24 hour
517	myocyte	LIF	Protein synthesis	STAT(+)	1	24 hour
518	myocyte	LIF	Protein synthesis	STAT(-)	0.88	24 hour
519	myocyte	LIF	Protein synthesis	MAPK(-)	0.6	24 hour
520	myocyte	LIF	Protein synthesis	STAT(+), MAPK(-)	0.69	24 hour
521	myocyte	LIF	Protein synthesis	STAT(-), MAPK(-)	0.5	24 hour
522	NRVM		CellArea	SHP2(+)	1	
523	NRVM		CellArea	SHP2(+), FAK(-)	0.56	
524	NRVM		bMHC		0.91	
525	NRVM		bMHC	FAK(-)	1	
526	NRVM		CellArea	SHP2(+)	0.78	
527	NRVM		CellArea	SHP2(+), mTor(-)	0.42	
528	NRCM		HDAC2		0.34	12 hour
529	NRCM	AngII	HDAC2		1	12 hour
530	NRCM	AngII	HDAC2	HDAC2(-)	0.66	12 hour
531	NRCM		bMHC		0.44	12 hour
532	NRCM	AngII	bMHC		1	12 hour
533	NRCM	AngII	bMHC	HDAC2(-)	0.67	12 hour
534	NRCM		CellArea		0.36	12 hour
535	NRCM	AngII	CellArea		1	12 hour
536	NRCM	AngII	CellArea	HDAC2(-)	0.77	12 hour
537	NRCM		HDAC2		0.57	12 hour
538	NRCM	AngII	HDAC2		1	12 hour
539	NRCM	AngII	HDAC2	HDAC2(-)	0.73	12 hour

540	NRCM		cFos		0.5	12 hour
541	NRCM	AngII	cFos		1	12 hour
542	NRCM	AngII	cFos	HDAC2(-)	0.67	12 hour
543	C2C12 myoblast	AngII	ANP		1	12 hour
544	C2C12 myoblast	AngII	ANP	JAK2(-)	0.2	12 hour
545	C2C12 myoblast	AngII	ANP	PKC(-)	0.4	12 hour
546	NRVM		foxo		0.33	10 minute
547	NRVM	IGF1	foxo		0.67	10 minute
548	NRVM	IGF1	foxo		1	10 minute
549	NRVM	IGF1	foxo		0.5	10 minute
550	NRVM	IGF1	Akt		0.67	10 minute
551	NRVM	Insulin	foxo	PI3K(-)	1	10 minute
552	NRVM	Insulin	foxo	PI3K(-)	1	10 minute
553	NRVM	Insulin	foxo	PI3K(-)	1	10 minute
554	NRVM	Insulin	Akt	PI3K(-)	0.75	10 minute
555	NRVM		Akt		0.5	12 hour
556	NRVM+TM-FOXO3a		Akt	foxo(+)	1	12 hour
557	NRVM+WT-FOXO3a		Akt	foxo(+)	1	12 hour
558	NRVM	IGF1	CellArea		1	48 hour
559	NRVM+WT-FOXO3a	IGF1	CellArea	foxo(+)	0.93	48 hour
560	NRVM+TM-FOXO3a	IGF1	CellArea	foxo(+)	0.61	48 hour
561	NRVM	Stretch	CellArea		0.93	48 hour
562	NRVM+WT-FOXO3a	Stretch	CellArea	foxo(+)	0.82	48 hour
563	NRVM+TM-FOXO3a	Stretch	CellArea	foxo(+)	0.64	48 hour
564	NRVM		ERK12		0.08	
565	NRVM		ERK12	Calcium(-)	0.08	24 hour
566	NRVM		ERK12	Calcium(-)	0.08	30 minute
567	NRVM		ERK12	Calcium(-)	0.08	10 minute
568	NRVM	ISO	ERK12		0.77	
569	NRVM	ISO	ERK12	Calcium(-)	0.38	24 hour
570	NRVM	ISO	ERK12	Calcium(-)	0.15	30 minute
571	NRVM	ISO	ERK12	Calcium(-)	0.15	10 minute
572	NRVM		ERK12		0.08	8 minute
573	NRVM	ISO	ERK12		0.77	8 minute
574	NRVM	ISO	ERK12	CaMK(-)	1	8 minute
575	NRVM	ISO	ERK12	CaM(-)	0.31	8 minute
576	NRVM	ISO	ERK12	CaN(-)	0.31	8 minute
577	NRVM		ERK12		0.05	8 minute
578	NRVM	AngII	ERK12		0.05	8 minute
579	NRVM	Phe	ERK12		1	8 minute
580	NRVM		ERK12	CaN(-)	0.07	8 minute
581	NRVM	AngII	ERK12	CaN(-)	0.27	8 minute
582	NRVM	Phe	ERK12	CaN(-)	1	8 minute
583	NRVM		MEF2		0.33	48 hour
584	NRVM		MEF2	ePac(+)	1	48 hour
585	NRVM		HDAC5	ePac(+)	0.7	
586	NRVM		HDAC5	ePac(+),CaMK(-)	1	
587	NRVM		TUNEL		0.19	48 hour
588	NRVM	ISO	TUNEL		0.29	48 hour
589	NRVM	ISO	TUNEL		0.48	48 hour
590	NRVM	ISO	TUNEL		0.71	48 hour
591	NRVM	ISO	TUNEL		1	48 hour
592	NRVM	Ionomy cin	TUNEL		0.86	48 hour
593	NRVM		TUNEL		0.28	48 hour
594	NRVM	ISO	TUNEL		1	48 hour
595	NRVM	ISO	TUNEL	CaN(-)	0.28	48 hour
596	NRVM	ISO	TUNEL	CaN(-)	0.28	48 hour
597	NRVM	ISO	TUNEL	LTCC(-)	0.5	48 hour
598	Adult cardiomyocyte(Rat)		CAMK		0.53	15 minute
599	Adult cardiomyocyte(Rat)	Phe	CAMK		0.68	15 minute
600	Adult cardiomyocyte(Rat)	Phe	CAMK		0.89	15 minute
601	Adult cardiomyocyte(Rat)	Phe	CAMK		1	15 minute
602	Adult cardiomyocyte(Rat)	Phe	CAMK		0.97	15 minute
603	Adult cardiomyocyte(Rat)		CAMK		0.53	15 minute
604	Adult cardiomyocyte(Rat)		CAMK	aAR(-)	0.53	15 minute
605	Adult cardiomyocyte(Rat)	Phe	CAMK	aAR(-)	0.55	15 minute
606	Adult cardiomyocyte(Rat)		CAMK		0.53	15 minute
607	Adult cardiomyocyte(Rat)		CAMK	CaMK(-)	0.37	15 minute

608	Adult cardiomyocyte(Rat)	Phe	CAMK	CaMK(-)	0.39	15 minute
609	Adult cardiomyocyte(Rat)		CAMK		0.53	15 minute
610	Adult cardiomyocyte(Rat)		CAMK	PKC(-)	0.45	15 minute
611	Adult cardiomyocyte(Rat)	Phe	CAMK	PKC(-)	0.52	15 minute
612	Rat myocardium		ePac		0.63	5 day
613	Rat myocardium		ePac		1	5 day
614	ARVM		CellArea		0.71	24 hour
615	ARVM		CellArea	ePac(+)	0.79	24 hour
616	ARVM		CellArea		0.79	24 hour
617	ARVM		CellArea	ePac(+)	1	24 hour
618	ARVM		CellArea		0.71	36 hour
619	ARVM		CellArea	ePac(+)	0.82	36 hour
620	ARVM		CellArea		0.75	36 hour
621	ARVM		CellArea	ePac(+)	0.93	36 hour
622	ARVM		Ras		0.1	5 minute
623	ARVM		Ras	ePac(+)	0.7	5 minute
624	ARVM		Ras		0.3	5 minute
625	ARVM		Ras	ePac(+)	1	5 minute
626	ARVM		Protein synthesis		0.83	1 day
627	ARVM		Protein synthesis	Ras(-)	0.88	1 day
628	ARVM		Protein synthesis		1	1 day
629	ARVM		Protein synthesis	ePac(+)	0.71	1 day
630	ARVM		CaN		0.45	30 minute
631	ARVM		CaN	Ras(-)	0.68	30 minute
632	ARVM		CaN		1	30 minute
633	ARVM		CaN	ePac(+)	0.59	30 minute
634	ARVM		CaMK		0.33	30 minute
635	ARVM		CaMK		0.4	30 minute
636	ARVM		CaMK	ePac(+)	1	30 minute
637	ARVM		CaMK	ePac(+), CaMK(-)	0.4	30 minute
638	ARVM		Protein synthesis		0.67	24 hour
639	ARVM		Protein synthesis	CaN(-)	0.63	24 hour
640	ARVM		Protein synthesis	CaMK(-)	0.64	24 hour
641	ARVM		Protein synthesis	ePac(+)	1	24 hour
642	ARVM		Protein synthesis	ePac(+), CaN(-)	0.77	24 hour
643	ARVM		Protein synthesis	ePac(+), CaMK(-)	0.65	24 hour
644	NRVM		CellArea		0.67	48 hour
645	NRVM	ISO	CellArea		1	48 hour
646	NRVM		CellArea	ePac(+)	0.69	48 hour
647	NRVM	ISO	CellArea	ePac(+)	0.87	48 hour
648	NRVM		ANP		0.11	48 hour
649	NRVM	ISO	ANP		1	48 hour
650	NRVM		ANP	ePac(+)	0.27	48 hour
651	NRVM	ISO	ANP	ePac(+)	0.62	48 hour
652	ARVM		Protein synthesis		0.73	24 hour
653	ARVM		Protein synthesis	PKA(-)	0.63	24 hour
654	ARVM	ISO	Protein synthesis		1	24 hour
655	ARVM	ISO	Protein synthesis	PKA(-)	0.93	24 hour
656	ARVM		PKA		0.44	10 minute
657	ARVM		PKA	PKA(-)	0.39	10 minute
658	ARVM	ISO	PKA		1	10 minute
659	ARVM	ISO	PKA	PKA(-)	0.5	10 minute

660	ARVM		Protein synthesis		0.74	24 hour
661	ARVM	ISO	Protein synthesis		1	24 hour
662	ARVM		Protein synthesis	cAMP(-)	0.85	24 hour
663	ARVM	ISO	Protein synthesis	cAMP(-)	0.85	24 hour
664	ARCM	CaMK	TUNEL		0.24	24 hour
665	ARCM	CaMK	TUNEL		0.35	24 hour
666	ARCM	CaMK	TUNEL		0.82	24 hour
667	ARCM	CaMK	TUNEL		0.94	24 hour
668	ARCM	CaMK	TUNEL		1	24 hour
669	HEK293		MAPK		0.13	5 minute
670	HEK293	ISO	MAPK	BAR(-)	0.13	5 minute
671	HEK293	ISO	MAPK		0.81	5 minute
672	HEK293	ISO	MAPK	GBG(+)	0.38	5 minute
673	HEK293	ISO	MAPK		0.21	5 minute
674	HEK293	ISO	MAPK	Src(-)	0.38	5 minute
675	HEK293	ISO	MAPK	Sos(-)	0.33	5 minute
676	HEK293	ISO	MAPK		0.88	5 minute
677	HEK293	ISO	MAPK	Gi-coupled receptor(-)	0.19	5 minute
678	HEK293	ISO	MAPK		1	5 minute
679	HEK293	ISO	MAPK		1	5 minute
680	HEK293	ISO	MAPK		0.63	5 minute
681	HEK293	ISO	MAPK		0.88	5 minute
682	HEK293	ISO	MAPK	PKA(-)	0.38	5 minute
683	HEK293		Apoptosis	Bad(+)	1	30 hour
684	HEK293		Apoptosis	Bad(+), Raf1(-)	0.96	30 hour
685	HEK293		Apoptosis	Bad(+), Raf1(+)	0.4	30 hour
686	HEK293		Apoptosis	Raf1(+)	0.32	30 hour
687	HEK293		PDE34		0.1	
688	HEK293	ISO	PDE34		0.1	90 second
689	HEK293		PDE34	PKC(+)	1	15 minute
690	HEK293		PDE34		0.1	
691	HEK293	ISO	PDE34		1	90 second
692	HEK293		PDE34	PKC(+)	0.1	15 minute
693	HEK293		PDE34		0.69	
694	HEK293		PDE34	PKC(+)	0.83	15 minute
695	HEK293		PDE34		0.86	1 hour
696	HEK293		PDE34		0.69	
697	HEK293	ISO	PDE34		0.69	90 second
698	HEK293		PDE34	PKC(+)	0.69	15 minute
699	HEK293		PDE34		1	1 hour
700	NRVM		foxo		0.33	24 hour
701	NRVM	EGF	foxo		0.33	24 hour
702	NRVM	PE	foxo	BAR(-)	1	24 hour
703	cardiomyocyte		ANP		0.43	
704	cardiomyocyte	EGF	ANP		1	1 hour
705	cardiomyocyte		BNP		0.42	48 hour
706	cardiomyocyte	CT1	BNP		0.88	48 hour
707	cardiomyocyte	ET1	BNP		1	48 hour
708	cardiomyocyte		BNP	MEK12(-)	0.48	
709	cardiomyocyte	CT1	BNP	MEK12(-)	1	
710	cardiomyocyte	ET1	BNP	MEK12(-)	0.62	
711	cardiomyocyte		BNP	MEK5(-)	0.48	
712	cardiomyocyte	CT1	BNP	MEK5(-)	0.52	
713	cardiomyocyte	ET1	BNP	MEK5(-)	1	
714	cardiomyocyte		BNP	SOCS(+)	0.43	48 hour
715	cardiomyocyte	CT1	BNP	SOCS(+)	0.57	48 hour
716	cardiomyocyte	ET1	BNP	SOCS(+)	1	48 hour
717	cardiomyocyte		BNP	STAT(+)	0.48	48 hour
718	cardiomyocyte	CT1	BNP	STAT(+)	0.81	48 hour
719	cardiomyocyte	ET1	BNP	STAT(+)	1	48 hour
720	cardiomyocyte		CellArea		0.3	48 hour
721	cardiomyocyte	CT1	CellArea		0.94	48 hour
722	cardiomyocyte	ET1	CellArea		1	48 hour

723	cardiomyocyte		CellArea	MEK12(-)	0.34	
724	cardiomyocyte	CT1	CellArea	MEK12(-)	1	
725	cardiomyocyte	ET1	CellArea	MEK12(-)	0.62	
726	cardiomyocyte		CellArea	MEK5(-)	0.31	
727	cardiomyocyte	CT1	CellArea	MEK5(-)	0.44	
728	cardiomyocyte	ET1	CellArea	MEK5(-)	1	
729	cardiomyocyte		CellArea	SOCS(+)	0.32	48 hour
730	cardiomyocyte	CT1	CellArea	SOCS(+)	0.42	48 hour
731	cardiomyocyte	ET1	CellArea	SOCS(+)	1	48 hour
732	cardiomyocyte		CellArea	STAT(+)	0.31	48 hour
733	cardiomyocyte	CT1	CellArea	STAT(+)	0.94	48 hour
734	cardiomyocyte	ET1	CellArea	STAT(+)	1	48 hour
735	cardiomyocyte		ERK12		0.1	
736	cardiomyocyte	CT1	ERK12		1	
737	cardiomyocyte	CT1	ERK12	SOCS(+)	0.2	
738	cardiomyocyte	CT1	ERK12	STAT(+)	1	
739	cardiomyocyte		ERK5		0.13	
740	cardiomyocyte	CT1	ERK5		1	
741	cardiomyocyte	CT1	ERK5	SOCS(+)	0.25	
742	cardiomyocyte	CT1	ERK5	STAT(+)	1	
743	cardiomyocyte		eIF2B		0.71	
744	cardiomyocyte	ISO	eIF2B		0.36	
745	cardiomyocyte		eIF2B	GSK3B(+)	1	
746	cardiomyocyte		eIF2B	GSK3B(-)	0.29	
747	cardiomyocyte	ISO	eIF2B	BAR(-)	0.57	
748	cardiomyocyte	ISO	eIF2B	aAR(-)	0.14	
749	cardiomyocyte		CellArea		0.5	48 hour
750	cardiomyocyte	ISO	CellArea		1	48 hour
751	cardiomyocyte		CellArea	GSK3B(+)	0.4	48 hour
752	cardiomyocyte	ISO	CellArea	GSK3B(+)	0.5	48 hour
753	cardiomyocyte	ISO	CellArea	BAR(-)	0.5	48 hour
754	cardiomyocyte	ISO	CellArea	aAR(-)	0.9	48 hour
755	cardiomyocyte		CellArea	GSK3B(-)	0.75	48 hour
756	cardiomyocyte		CellArea		0.43	48 hour
757	cardiomyocyte		CellArea	eIF2B(+)	0.52	48 hour
758	cardiomyocyte	ISO	CellArea	eIF2B(+)	1	48 hour
759	cardiomyocyte		CellArea	eIF2B(-)	0.26	48 hour
760	cardiomyocyte	ISO	CellArea	eIF2B(-)	0.48	48 hour
761	cardiomyocyte		NFAT	MEKK1(+)	0	15 minute
762	cardiomyocyte	LIF	NFAT	MEKK1(+)	0.01	15 minute
763	cardiomyocyte	LIF	NFAT	MEKK1(+)	0.03	15 minute
764	cardiomyocyte		NFAT	MEKK1(+),CaN(-)	0.01	15 minute
765	cardiomyocyte		NFAT	Calcium(+)	1	15 minute
766	cardiomyocyte		CaMK		0.59	15 minute
767	cardiomyocyte	LIF	CaMK		1	15 minute
768	cardiomyocyte	LIF	CaMK	Calcium(-)	0.59	15 minute
769	cardiomyocyte		CaN		0.56	15 minute
770	cardiomyocyte	LIF	CaN		1	15 minute
771	cardiomyocyte	LIF	CaN	Calcium(-)	0.56	15 minute
772	cardiomyocyte		CellArea		0.67	24 hour
773	cardiomyocyte		CellArea	CaN(-)	0.67	24 hour
774	cardiomyocyte	ISO	CellArea		1	24 hour
775	cardiomyocyte	ISO	CellArea	CaN(-)	0.87	24 hour
776	NRVM		CellArea		0.6	24 hour
777	NRVM	ISO	CellArea		0.8	24 hour
778	NRVM	ET1	CellArea	RGS2(+)	1	24 hour
779	NRVM		CellArea	RGS2(+)	0.57	24 hour
780	NRVM	ISO	CellArea	RGS2(+)	0.43	24 hour
781	NRVM	ET1	CellArea	RGS2(+)	0.43	24 hour
782	Endothelium		NOS		0.4	6 week
783	Endothelium	IGF1	NOS		1	6 week
784	Endothelium	IGF1	NOS	RGS(+)	0.88	6 week
785	NRCM		CellArea		0.43	24 hour
786	NRCM	IGF1	CellArea		0.42	24 hour
787	NRCM	AngII	CellArea		1	24 hour
788	C2C12 myoblast	AngII	ANP		1	24 hour
789	C2C12 myoblast	AngII	ANP	STAT(-)	0.48	24 hour
790	C2C12 myoblast	AngII	ANP		1	12 hour
791	C2C12 myoblast	AngII	ANP	PKC(-)	0.2	12 hour

표 17. 핵심 심근세포 신호전달네트워크 수확모형을 구성하는 37개의 파라미터들이 가지는 주변분포의 특성

		심근세포사멸	심근세포비대
Coherent and non-uniform	음의 상관관계	pm1, pm9 ^a , pm11 ^a , pm12 ^{a,b,c} , pm23 ^c , pm28 ^{b,c} , pm30	pm9 ^a , pm16 ^{a,b,c} , pm17 ^{a,b,c} , pm29 ^a
	양의 상관관계	pm7 ^{a,b,c} , pm10 ^{a,b,c} , pm27 ^a , pm29 ^a , pm31 ^a	pm1, pm7 ^{a,b,c} , pm8, pm10 ^{a,b,c} , pm13 ^a , pm14 ^a , pm15 ^{a,b} , pm27 ^a , pm28 ^{b,c} , pm30, pm31 ^a
Incoherent or near-uniform		pm2, pm3, pm4, pm5, pm6, pm8, pm13, pm14, pm15, pm16, pm17, pm18, pm19, pm20, pm21 ^b , pm22, pm24, pm25, pm26, pm32, pm34, pm35, pm36, pm37	pm2, pm3, pm4, pm5, pm6, pm11, pm12, pm18, pm19, pm20, pm21 ^b , pm22, pm23, pm24, pm25, pm26, pm32, pm33, pm34, pm35 ^c , pm36, pm37

“Coherent”는 4가지 형태의 표준화 미분방정식 모델 간 일관된 경향성의 주변분포를 지닌 파라미터를 의미하는 반면, “incoherent”는 표준화 미분방정식 모델 간 일관되지 않은 경향성의 주변분포를 지닌 파라미터를 의미함.

“Non-uniform”은 심부전이행 주변분포가 균등분포와 유의한 차이를 보이는 파라미터(심부전이행에 영향을 끼치는)를, “near-uniform”은 심부전이행 주변분포가 균등분포와 유사한 파라미터(심부전이행 조절 과정에 개입되지 않는)를 의미함.

“양의 상관관계”는 특정 파라미터의 심부전이행 주변분포를 관찰하였을 때 높은 값을 갖는 빈도수가 높은 경우를, “음의 상관관계”는 낮은 값을 갖는 빈도가 높은 경우를 의미함.

^a주변분포가 non-inverse association 특성을 가지는 파라미터

^b주변분포가 inducing relationship association 특성을 가지는 파라미터

^c주변분포가 suppressing relationship association 특성을 가지는 파라미터

표 18. 대규모 컴퓨터 시뮬레이션 분석에 기반한 심근세포 자극원 별 최적 심부전 치료전략 제안

자극원	세포사멸	세포비대	최적치료 타겟
ISO, NE	증가	증가	AC, cAMP, PKA, ICER, NFAT
CT1, FGF, IL6, stretch, TGF- β , LIF TNF- α ,	영향없음	증가	Akt, PI3K, NFAT
AngII, EGF, ET1, IGF1, NRG1, PE	영향없음	증가	DAG, G α q, G $\beta\gamma$, IP3, PKC, PLC β , Akt, PI3K, NFAT

표 19. 심근세포 신호전달네트워크를 이루고 있는 289개 링크.

Link index	Source	Interaction	Target	Reference (PMID)
1	TNF α	+	TNFR	1313418
2	TNFR	+	TRAF	10795740
3	TGFR	+	TRAF	19339207, 18922473
4	TRAF	+	FADD	22458338
5	TRAF	+	ETK	23628802
6	TRAF	+	ASK1	15864310
7	CNA	+	ASK1	16648474
8	Akt	-	ASK1	11154276
9	RAC1	+	MLK3	11713255
10	TRAF	+	MLK3	19918265
11	TAK1	+	MKK3/6	8663074
12	MLK3	+	MKK3/6	12024021
13	ASK1	+	MKK3/6	15598880
14	MEKK1	+	MKK4	9405400
15	MEKK2/3	+	MKK4	14734742
16	ASK1	+	MKK4	15598880
17	MLK3	+	MKK4	17064355
18	Akt	-	MKK4	11707464
19	MEKK2/3	+	MKK7	10347227
20	MLK3	+	MKK7	10849438
21	ASK1	+	MKK7	15598880
22	MEKK1	+	MKK7	15866172
23	MKK7	+	JNK	11062067
24	MKK4	+	JNK	11062067, 8622669
25	MKK4	+	p38	7839144
26	MKK3/6	+	p38	8622669
27	p38	+	MAPKAPK	10988297, 9687510
28	JNK	+	ATF2	8654373
29	PKC	+	ATF2	22304920
30	p38	+	ATF2	9688607, 8622669
31	JNK	+	ELK1	8654373
32	ERK1/2	+	ELK1	17082637
33	p38	+	ELK1	9584192, 8622669
34	PKC	+	TAK1	16125722
35	TRAF	+	TAK1	22860133
36	TAK1	+	NIK	10094049
37	NIK	+	IKK	9520446
38	Akt	+	IKK	10485710
39	IKK	-	I κ B	9891086
40	I κ B	-	NF κ B	1493333
41	CREB	+	COX-2	18030357
42	NF κ B	+	COX-2	18286508
43	NE	+	β 1AR	9751683
44	β -arrestin	-	β 1AR	2163110
45	NE	+	β 2AR	9751683
46	β -arrestin	-	β 2AR	2163110
47	β 1AR	+	Gsa	12106601
48	EP4	+	Gsa	16204467
49	β 2AR	+	Gsa	12106601, 9363896
50	Gsa	+	AC	9417641, 9363896
51	Gia	-	AC	8327893
52	AC	+	cAMP	9417641, 20530128
53	PDE3/4	-	cAMP	20530128
54	cAMP	+	PKA	9363896, 20530128
55	MAPKAPK	+	CREB	12171911

56	MSK1	+	CREB	15522277
57	PKA	+	CREB	18205034
58	Akt	+	CREB	10753867, 9829964
59	GSK3 β	-	CREB	11579131
60	CREB	+	Bcl2	8816467
61	NF κ B	+	Bcl2	12032828
62	GATA	+	Bcl2	16469847
63	ICER	-	Bcl2	25517116
64	BAD	-	Bcl2	10931827
65	JNK	+	BAD	12189144
66	CNA	+	BAD	10195903
67	p38	+	BAD	15972258
68	p90RSK	-	BAD	10574959
69	p70S6K	-	BAD	11493700
70	PKA	-	BAD	10230394
71	Raf	-	BAD	19667065, 10597268
72	Akt	-	BAD	9346240
73	cAMP	+	Epac	15550931
74	β 2AR	+	Gia	9363896
75	PKA	+	Gia	9363896
76	NE	+	α AR	8945889
77	PE	+	α AR	18390926
78	β -arrestin	-	α AR	8553074
79	α AR	+	Gaq/11	10189964
80	ET1R	+	Gaq/11	10189964
81	AT1R	+	Gaq/11	10189964
82	RGS	-	Gaq/11	16843638
83	Gaq/11	+	G $\beta\gamma$	16339447
84	Gia	+	G $\beta\gamma$	9363896, 10819326
85	Gaq/11	+	PLC β	19564249, 21873996
86	PLC γ	+	DAG	1848725
87	PLC β	+	DAG	11753430
88	Epac	+	DAG	22056318
89	Ca	+	PKC	9814702, 10788473
90	DAG	+	PKC	9814702, 10788473
91	PKC	+	PKD	15367659
92	PLC γ	+	IP3	1848725
93	PLC β	+	IP3	21873996
94	Epac	+	IP3	22056318
95	IP3	+	IP3R	2174351
96	TGFR	+	Ca	19339207, 9295299
97	IP3R	+	Ca	2174351, 2174351
98	PKA	+	Ca	9247274, 15539636
99	Ca	+	CAM	12485993
100	CAM	+	CAMKII	18957419
101	PKC	-	HDACII	15367659
102	PKD	-	HDACII	15367659
103	CAMKII	-	HDACII	10737771, 22042619
104	p38	+	MEF2	10531040, 10330143, 10737771
105	ERK5	+	MEF2	10849446, 9384584
106	HDACII	-	MEF2	10737771, 22042619, 12202037
107	CAM	+	CNA	11435346
108	Atrogin1	-	CNA	16952979
109	ERK1/2	+	PLA2	11279537
110	Ca	+	PLA2	23076158
111	JNK	+	Bax	16709574
112	p38	+	Bax	16709574
113	Bcl2	-	Bax	11279112
114	Bax	+	Cyto-C	9763433
115	Ca	+	Cyto-C	18064042

116	Bax	+	Smac	12670894
117	Casp9	-	Xiap	19077196
118	Smac	-	Xiap	19077196
119	FADD	+	Casp8	22675671
120	Cyto-C	+	Casp9	10940292
121	Xiap	-	Casp9	11242052
122	PLA2	+	Casp3	16564042
123	Casp9	+	Casp3	19077196
124	Casp8	+	Casp3	19528949
125	Xiap	-	Casp3	19077196
126	PGE2	+	EP4	16204467
127	β -arrestin	-	EP4	8553074
128	ET1	+	ET1R	9075635
129	β -arrestin	-	ET1R	8553074
130	AngII	+	AT1R	9468195
131	β -arrestin	-	AT1R	8553074
132	AT1R	+	β -arrestin	12949261
133	β 2AR	+	β -arrestin	16280323
134	EP4	+	β -arrestin	16432186
135	α AR	+	β -arrestin	16605244
136	β 1AR	+	β -arrestin	20421423
137	ET1R	+	β -arrestin	22480514
138	IGF1	+	IGF1R	1320025
139	IGF1R	+	IRS1	11557037
140	JAK	+	IRS1	17620314
141	p70S6K	-	IRS1	18952604
142	SHP2	-	IRS1	15272025
143	G β γ	+	PI3K	12507995
144	ETK	+	PI3K	14532277
145	GAB1	+	PI3K	16687399
146	Ras	+	PI3K	18059341
147	FAK	+	PI3K	18854312
148	IRS1	+	PI3K	20018868
149	SHP2	-	PI3K	12024020
150	PI3K	+	PDK1	12167717
151	PDK1	+	Akt	18718528
152	Akt	+	mTOR	11715023
153	mTOR	+	p70S6K	12604610, 11715023
154	mTOR	-	4EBP1	10364159
155	4EBP1	-	eIF4E	26824022
156	Akt	-	FOXO	15781459
157	FOXO	+	Atrogin1	16952979
158	Akt	+	NOS	10376603
159	NOS	+	sGC	10376603, 2567995
160	PI3K	+	RAC1	20518848
161	DOCK	+	RAC1	21613211
162	Akt	-	RAC1	10617634
163	RAC1	+	MEKK2/3	25012295, 21471448
164	MEKK2/3	+	MEK5	11073940
165	SHP2	+	MEK5	22020294
166	MEK5	+	ERK5	11387209
167	PKA	+	ICER	16186489
168	CREB	+	ICER	25517116
169	ERK1/2	-	ICER	25517116
170	ERK5	-	ICER	17272811
171	PKA	+	PDE3/4	24248367, 16642035
172	ICER	-	PDE3/4	24007532
173	PKC	-	GSK3 β	1324914
174	PKA	-	GSK3 β	16934435
175	Akt	-	GSK3 β	11715022, 11382772

176	GSK3 β	-	eIF2B	11756553
177	JNK	+	cJun	8654373
178	ERK1/2	+	cJun	12881422
179	GSK3 β	-	cJun	24027432
180	EGF	+	EGFR	8526802, 14732694
181	Src	+	EGFR	10075741
182	NRG1	+	ERBB	16554459
183	CT1	+	gp130/LIFR	8621626
184	LIF	+	gp130/LIFR	8921810
185	HGF	+	Met	23994610
186	VEGF	+	VEGFR	20019242
187	JAK	+	GAB1	9632795
188	gp130/LIFR	+	GAB1	12855672
189	ERBB	+	GAB1	14668796
190	FGFR	+	GAB1	15199124
191	EGFR	+	GAB1	15550174
192	VEGFR	+	GAB1	15665327
193	Met	+	GAB1	21293003
194	ERK1/2	-	GAB1	16687399
195	IRS1	+	G/S	7862167
196	G β γ	+	G/S	8576109
197	FAK	+	G/S	10373445
198	FRS2	+	G/S	15199124
199	GAB1	+	G/S	16687399
200	ERK1/2	-	G/S	8626428
201	PKC	+	Ras	9525855
202	G/S	+	Ras	9363896, 8479536
203	RasGAP	-	Ras	16687399
204	Ras	+	Raf	8332195, 9525855
205	PKC	+	Raf	8798560, 7935389, 16172266
206	PKA	-	Raf	7935389
207	Akt	-	Raf	10576742
208	MEKK1	+	MEK1/2	7624324
209	Raf	+	MEK1/2	11948406
210	MEKK2/3	+	MEK1/2	27339033, 9006902
211	MEK1/2	+	ERK1/2	8557975, 8622669
212	ERK1/2	+	MSK1	9687510
213	p38	+	MSK1	9687510
214	ERK1/2	+	p90RSK	17664275
215	Ras	+	MEKK1	7744823
216	ERK1/2	+	NFAT	15657416
217	CNA	+	NFAT	15657416, 12202037, 12177418
218	GSK3 β	-	NFAT	9072970
219	PKA	-	NFAT	19460777
220	p38	-	NFAT	10652349, 12750397
221	JNK	-	NFAT	10652349, 14517246
222	GAB1	+	SHP2	16687399
223	EGFR	+	RasGAP	14560030
224	GAB1	+	RasGAP	16687399
225	SHP2	-	RasGAP	16687399
226	ERK1/2	+	GATA	11585926
227	p38	+	GATA	11641276
228	GSK3 β	-	GATA	18830417, 11382772
229	GAB1	+	PLC γ	10734310
230	Src	+	PLC γ	12845332
231	PI3K	+	PLC γ	20011604
232	TGF β	+	TGFR	19339207
233	NF κ B	+	SMAD	22641218
234	TGFR	+	SMAD	23275155
235	IL	+	ILR	7539136

236	ILR	+	JAK	9794795
237	gp130/LIFR	+	JAK	7537214, 8921810
238	SOCS	-	JAK	11326271
239	ERK1/2	+	STAT	8537333
240	JAK	+	STAT	9815665, 10347087
241	STAT	+	SOCS	11714737
242	FGF	+	FGFR	9223382
243	FGFR	+	FRS2	15199124
244	ECM	+	Integrins	10988244
245	Ras	+	RhoA	12429740
246	Integrins	+	RhoA	24040310
247	SHP2	-	RhoA	20226789
248	RhoA	+	SRF	20226789, 11259397
249	ELK1	+	cFos	10900171
250	SRF	+	cFos	24788515
251	Integrins	+	FAK	17583725
252	SHP2	-	FAK	18757826
253	Gβγ	+	Src	8702633
254	FAK	+	Src	9148935
255	CNA	+	Src	11435346
256	β-arrestin	+	Src	11566877
257	SHP2	+	Src	23178938
258	Src	+	Cas	11604500
259	Cas	+	Crk	22251701
260	Crk	+	DOCK	8657152
261	sGC	+	cGMP	11172039
262	PDE5	-	cGMP	20847310, 10385692
263	cGMP	+	PKG1	12177418
264	PKG1	+	PDE5	20847310, 11723116
265	PKG1	+	RGS	18443239
266	STAT	+	ANP	10618415
267	cJun	+	ANP	11799083
268	GATA	+	ANP	14627981
269	CREB	+	ANP	15522277
270	cFos	+	ANP	15795322
271	ATF2	+	ANP	16125722
272	NFAT	+	ANP	19560554
273	MEF2	+	ANP	10531040, 12202037
274	NFAT	+	BNP	9568714
275	GATA	+	BNP	9568714
276	MEF2	+	BNP	10790371
277	cJun	+	BNP	11799083
278	ELK1	+	BNP	12446726
279	cFos	+	BNP	15795322
280	MEF2	+	αMHC	8366095
281	cFos	-	αMHC	15795322
282	cJun	-	αMHC	15795322
283	GATA	+	βMHC	10212268
284	STAT	+	βMHC	10618415
285	cFos	+	βMHC	15795322
286	cJun	+	βMHC	15795322
287	ATF2	+	βMHC	16125722
288	MEF2	+	βMHC	17111365
289	NFAT	+	βMHC	17111365

표 20. 심근세포 신호전달네트워크 수학적모델에서 심근세포의 사멸과 비대를 결정하는데 사용되는 출력 노드.

Output	Phenotype	Reference
Casp3	Apoptosis	26566650
α MHC	Hypertrophy	17111039
β MHC	Hypertrophy	2156896
NFAT	Hypertrophy	12663489
ATF2	Hypertrophy	20029425
COX-2	Hypertrophy	24291639
CREB	Hypertrophy	25869400
MEF2	Hypertrophy	19074824
eIF4E	Hypertrophy	18752467
cJun	Hypertrophy	16690042
ANP	Hypertrophy	12805233
BNP	Hypertrophy	12805233
GATA	Hypertrophy	18752467
eIF2B	Hypertrophy	15276475
cFos	Hypertrophy	16690042

표 21. 불리언 네트워크 수확모델의 진리표.

Node index	Logic table					Remarks	
1	TNF α		TNFR			TNF α induces TNFR activation.	
	0		0				
2	TNFR		TGFR		TRAF	TNFR recruits and activates TRAF. TGF β promotes TRAF activation through TGFR.	
	0		0		0		
	0		1		1		
	1		0		1		
3	TRAF		FADD			TRAF activates FADD and mediates signals.	
	0		0				
4	TRAF		ETK			TRAF activates ETK.	
	0		0				
5	Akt	TRAF	CNA	ASK1		Akt phosphorylates and negatively regulates ASK1 activity. TRAF activates ASK1. CNA directly dephosphorylates and activates ASK1.	
	0	0	0		0		
	0	0	1		1		
	0	1	0		1		
	0	1	1		1		
	1	0	0		0		
	1	0	1		0		
	1	1	0		0		
6	TRAF		RAC1		MLK3	TRAF is essential for MLK3 activation. RAC1 activates MLK3.	
	0		0		0		
	0		1		1		
	1		0		1		
	1		1		1		
7	ASK1	MLK3	TAK1	MKK3/6		ASK1 directly phosphorylates and activates MKK3/6. MLK3 stimulates the activity of MKK3/6. TAK1 strongly activates MKK3/6.	
	0	0	0		0		
	0	0	1		1		
	0	1	0		1		
	0	1	1		1		
	1	0	0		1		
	1	0	1		1		
	1	1	0		1		
8	Akt	ASK1	MLK3	MEKK1	MEKK2/3	MKK4	Akt negatively regulates MKK4. ASK1 directly phosphorylates and activates MKK4. MLK3 activates MKK4. MEKK1 activates MKK4. MEKK2/3 induces MKK4 phosphorylation and activation.
	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	1	0	
	0	0	0	1	0	0	
	0	0	0	1	1	0	
	0	0	1	0	0	0	
	0	0	1	0	1	0	
	0	0	1	1	0	0	
	0	0	1	1	1	1	
	0	1	0	0	0	1	
0	1	0	0	1	1		

0	1	0	1	0	1
0	1	0	1	1	1
0	1	1	0	0	1
0	1	1	0	1	1
0	1	1	1	0	1
0	1	1	1	1	1
1	0	0	0	0	0
1	0	0	0	1	0
1	0	0	1	0	0
1	0	0	1	1	0
1	0	1	0	0	0
1	0	1	0	1	0
1	0	1	1	0	0
1	0	1	1	1	0
1	1	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0
1	1	0	1	0	0
1	1	0	1	1	0
1	1	1	0	0	0
1	1	1	0	1	0
1	1	1	1	0	0
1	1	1	1	1	0
<hr/>					
	ASK1	MLK3	MEKK1	MEKK2/3	MKK7
	0	0	0	0	0
	0	0	0	1	0
	0	0	1	0	0
	0	0	1	1	1
	0	1	0	0	1
	0	1	0	1	1
9	0	1	1	0	1
	0	1	1	1	1
	1	0	0	0	1
	1	0	0	1	1
	1	0	1	0	1
	1	0	1	1	1
	1	1	0	0	1
	1	1	0	1	1
	1	1	1	0	1
	1	1	1	1	1
<hr/>					
	MKK4	MKK7	JNK		
	0	0	0		
10	0	1	1		
	1	0	1		
	1	1	1		
<hr/>					
	MKK4	MKK3/6	p38		
	0	0	0		
11	0	1	1		
	1	0	1		
	1	1	1		
<hr/>					
	p38	MAPKAPK			
	0	0			
12	1	1			

ASK1 directly phosphorylates and activates MKK7. MLK3 activates MKK7. MEKK1 activates MKK7. MEKK2/3 induces MKK7 phosphorylation and activation.

MKK4 or MKK7 activates JNK.

MKK4 phosphorylates and activates p38. Activated MKK3/6 causes an increase in p38 activity.

MAPKAPK is activated by p38.

13	JNK	PKC	p38	ATF2	JNK phosphorylates ATF2 and increases ATF2 transcriptional activity. PKC promotes the function of ATF2 in the nucleus. p38 phosphorylates and activates ATF2.
	0	0	0	0	
	0	0	1	1	
	0	1	0	1	
	0	1	1	1	
	1	0	0	1	
	1	0	1	1	
	1	1	0	1	
14	JNK	ERK1/2	p38	ELK1	JNK phosphorylates ELK1 and increases ELK1 transcriptional activity. ERK1/2 plays key roles in ELK1 activation. p38 phosphorylates and activates ELK1.
	0	0	0	0	
	0	0	1	1	
	0	1	0	1	
	0	1	1	1	
	1	0	0	1	
	1	0	1	1	
	1	1	0	1	
15	TRAF	PKC	TAK1	TRAF is required for TAK1 activation. Inhibition of PKC blocks TAK1 activity.	
	0	0	0		
	0	1	1		
	1	0	1		
	1	1	1		
16	TAK1	NIK	TAK1 activates NIK.		
	0	0			
	1	1			
17	NIK	Akt	IKK	NIK activates IKK by phosphorylation. Akt mediates IKK phosphorylation and activation.	
	0	0	0		
	0	1	1		
	1	0	1		
	1	1	1		
18	IKK	IκB	IKK phosphorylates and inhibits IκB.		
	0	1			
	1	0			
19	IκB	NFκB	IκB inhibits the nuclear localization of NFκB.		
	0	1			
	1	0			
20	CREB	NFκB	COX-2	CREB mediates the activation of COX-2. NFκB stimulates the activation of COX-2.	
	0	0	0		
	0	1	0		
	1	0	0		
	1	1	1		
21	β-arrestin	NE	β1AR	β-arrestin effects desensitization of β1AR. NE stimulates apoptosis by the activation of β1AR in myocytes.	
	0	0	0		
	0	1	1		
	1	0	0		
	1	1	0		
22	β-arrestin	NE	β2AR	β-arrestin effects desensitization of β2AR. NE activates β2AR in myocytes.	
	0	0	0		
	0	1	1		
	1	0	0		

	1	1	0			
	β 1AR	β 2AR	EP4	Gsa		
23	0	0	0	0	β 1AR or β 2AR activates Gsa. EP4 stimulates the activation of Gsa.	
	0	0	1	1		
	0	1	0	1		
	0	1	1	1		
	1	0	0	1		
	1	0	1	1		
	1	1	0	1		
	1	1	1	1		
	Gia	Gsa	AC			
24	0	0	0		Giainhibits AC. Gsastimulates the active form of AC.	
	0	1	1			
	1	0	0			
	1	1	0			
	PDE3/4	AC	cAMP			
25	0	0	0		PDE3/4 inhibits cAMP accumulation. AC converts adenosine triphosphate (ATP) to cAMP.	
	0	1	1			
	1	0	0			
	1	1	0			
	cAMP	PKA				
26	0	0		PKA is activated by cAMP.		
	1	1				
	GSK3 β	PKA	Akt	MAPKAPK	MSK1	CREB
27	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1	1
	0	0	0	1	0	1
	0	0	0	1	1	1
	0	0	1	0	0	1
	0	0	1	0	1	1
	0	0	1	1	0	1
	0	0	1	1	1	1
	0	1	0	0	0	1
	0	1	0	0	1	1
	0	1	0	1	0	1
	0	1	1	0	0	1
	0	1	1	1	0	1
	1	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	1	0
	1	0	0	1	0	0
	1	0	1	0	0	0
	1	0	1	1	0	0
	1	0	1	1	1	0
	1	1	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0	
1	1	0	1	0	0	
1	1	0	1	1	0	

	1	1	1	0	0	0			
	1	1	1	0	1	0			
	1	1	1	1	0	0			
	1	1	1	1	1	0			
	ICER	BAD	GATA	CREB	NFkB		Bcl2		
	0	0	0	0	0		1		
	0	0	0	0	1		1		
	0	0	0	1	0		1		
	0	0	0	1	1		1		
	0	0	1	0	0		1		
	0	0	1	0	1		1		
	0	0	1	1	0		1		
	0	0	1	1	1		1		
	0	1	0	0	0		0	Inhibition of ICER	
	0	1	0	0	1		0	increases the Bcl2	
	0	1	0	1	0		0	expression.	
	0	1	0	1	1		1	BAD promotes cell death	
	0	1	1	0	0		0	by inhibiting Bcl2	
	0	1	1	0	1		0	functions.	
	0	1	1	1	0		0	GATA upregulates the	
28	1	0	0	0	0		0	Bcl2 gene expression in	
	1	0	0	0	1		0	the heart.	
	1	0	0	1	0		0	CREB induces the Bcl2	
	1	0	0	1	1		1	expression.	
	1	0	1	0	0		0	NFkB activates the Bcl2	
	1	0	1	0	1		0	expression.	
	1	0	1	1	0		0		
	1	0	1	1	1		1		
	1	1	0	0	0		0		
	1	1	0	0	1		0		
	1	1	0	1	0		0		
	1	1	0	1	1		0		
	1	1	1	0	0		0		
	1	1	1	0	1		0		
	1	1	1	1	0		0		
	1	1	1	1	1		1		
	Akt	PKA	p70S6K	p90RSK	Raf	CNA	p38	JNK	BAD
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	0	0	0	0	0	1	0	0	1
29	0	0	0	0	0	1	1	0	1
	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	0	0	0	0	1	0	1	0	0
	0	0	0	0	1	0	1	1	1
	0	0	0	0	1	1	0	0	1
	0	0	0	0	1	1	0	1	1
	0	0	0	0	1	1	0	1	1

0	0	0	0	1	1	1	0	1
0	0	0	0	1	1	1	1	1
0	0	0	1	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	1	0
0	0	0	1	0	0	1	0	0
0	0	0	1	0	0	1	1	1
0	0	0	1	0	1	0	0	1
0	0	0	1	0	1	0	1	1
0	0	0	1	0	1	1	0	1
0	0	0	1	0	1	1	1	1
0	0	0	1	1	0	0	0	0
0	0	0	1	1	0	0	1	0
0	0	0	1	1	0	1	0	0
0	0	0	1	1	0	1	1	0
0	0	0	1	1	1	0	0	0
0	0	0	1	1	1	0	1	1
0	0	0	1	1	1	1	0	1
0	0	0	1	1	1	1	1	1
0	0	1	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0	1	0
0	0	1	0	0	0	1	0	0
0	0	1	0	0	0	1	1	1
0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	0	1	0	0	1	0	1	1
0	0	1	0	0	1	1	0	1
0	0	1	0	0	1	1	1	1
0	0	1	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	1	0	0	1	0
0	0	1	0	1	0	1	0	0
0	0	1	0	1	0	1	1	0
0	0	1	0	1	1	0	0	0
0	0	1	0	1	1	1	0	1
0	0	1	0	1	1	1	1	1
0	0	1	1	0	0	0	0	0
0	0	1	1	0	0	0	1	0
0	0	1	1	0	0	1	1	0
0	0	1	1	0	1	0	0	0
0	0	1	1	0	1	0	1	1
0	0	1	1	0	1	1	0	1
0	0	1	1	0	1	1	1	1
0	0	1	1	1	0	0	0	0
0	0	1	1	1	0	0	1	0
0	0	1	1	1	0	1	0	0
0	0	1	1	1	0	1	1	0
0	0	1	1	1	1	0	0	0
0	0	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	1
0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0	1	0
0	1	0	0	0	0	1	0	0
0	1	0	0	0	0	1	1	1

and activates BAD.
p38 activates BAD.
JNK activates BAD.

0	1	0	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	1	0	1	1
0	1	0	0	0	1	1	0	1
0	1	0	0	0	1	1	1	1
0	1	0	0	1	0	0	0	0
0	1	0	0	1	0	0	1	0
0	1	0	0	1	0	1	0	0
0	1	0	0	1	0	1	1	0
0	1	0	0	1	1	0	0	0
0	1	0	0	1	1	0	1	1
0	1	0	0	1	1	1	0	1
0	1	0	0	1	1	1	1	1
0	1	0	1	0	0	0	0	0
0	1	0	1	0	0	0	1	0
0	1	0	1	0	0	1	0	0
0	1	0	1	0	0	1	1	0
0	1	0	1	0	1	0	0	0
0	1	0	1	0	1	0	1	1
0	1	0	1	0	1	1	0	1
0	1	0	1	0	1	1	1	1
0	1	0	1	1	0	0	0	0
0	1	0	1	1	0	0	1	0
0	1	0	1	1	0	0	1	0
0	1	0	1	1	0	1	0	0
0	1	0	1	1	0	1	1	0
0	1	0	1	1	1	0	0	0
0	1	0	1	1	1	1	1	1
0	1	1	0	0	0	0	0	0
0	1	1	0	0	0	0	1	0
0	1	1	0	0	0	1	0	0
0	1	1	0	0	0	1	1	0
0	1	1	0	0	1	0	0	0
0	1	1	0	0	1	1	0	1
0	1	1	0	0	1	1	1	1
0	1	1	0	1	0	0	0	0
0	1	1	0	1	0	0	1	0
0	1	1	0	1	0	1	0	0
0	1	1	0	1	1	0	0	0
0	1	1	0	1	1	0	1	0
0	1	1	0	1	1	1	0	0
0	1	1	0	1	1	1	1	1
0	1	1	1	0	0	0	0	0
0	1	1	1	0	0	0	1	0
0	1	1	1	0	0	1	0	0
0	1	1	1	0	0	1	1	0
0	1	1	1	0	1	0	0	0
0	1	1	1	0	1	0	0	0
0	1	1	1	0	1	1	0	0
0	1	1	1	0	1	1	1	1
0	1	1	1	1	0	0	0	0
0	1	1	1	1	0	0	0	0
0	1	1	1	1	0	0	1	0
0	1	1	1	1	0	1	0	0
0	1	1	1	1	0	1	1	0
0	1	1	1	1	0	1	1	1
0	1	1	1	1	1	0	0	0
0	1	1	1	1	1	0	0	1

0	1	1	1	1	0	1	0	0
0	1	1	1	1	0	1	1	0
0	1	1	1	1	1	0	0	0
0	1	1	1	1	1	0	1	0
0	1	1	1	1	1	1	1	0
0	1	1	1	1	1	1	1	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	1	0
1	0	0	0	0	0	1	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	1
1	0	0	0	0	1	0	0	1
1	0	0	0	0	1	0	1	1
1	0	0	0	0	1	1	0	1
1	0	0	0	0	1	1	1	1
1	0	0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	0	1	0	0	1	0
1	0	0	0	1	0	1	1	0
1	0	0	0	1	1	0	0	0
1	0	0	0	1	1	0	1	1
1	0	0	0	1	1	1	1	1
1	0	0	0	1	1	1	1	1
1	0	0	1	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	0	1	0
1	0	0	1	0	0	1	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1	0
1	0	0	1	0	1	0	0	0
1	0	0	1	0	1	0	1	1
1	0	0	1	0	1	1	0	1
1	0	0	1	0	1	1	1	1
1	0	0	1	1	0	0	0	0
1	0	0	1	1	0	0	1	0
1	0	0	1	1	0	1	1	0
1	0	0	1	1	1	0	0	0
1	0	0	1	1	1	1	1	1
1	0	1	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	0
1	0	1	0	0	0	1	0	0
1	0	1	0	0	0	1	1	0
1	0	1	0	0	1	0	0	0
1	0	1	0	0	1	0	1	1
1	0	1	0	0	1	1	0	1
1	0	1	0	0	1	1	1	1
1	0	1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	1	0	0	1	0
1	0	1	0	1	0	1	0	0
1	0	1	0	1	0	1	1	0
1	0	1	0	1	1	0	0	0
1	0	1	0	1	1	0	1	0
1	0	1	0	1	1	1	0	0
1	0	1	0	1	1	1	1	1

1	0	1	1	0	0	0	0	0
1	0	1	1	0	0	0	1	0
1	0	1	1	0	0	1	0	0
1	0	1	1	0	0	1	1	0
1	0	1	1	0	1	0	0	0
1	0	1	1	0	1	0	1	0
1	0	1	1	0	1	1	0	0
1	0	1	1	0	1	1	1	1
1	0	1	1	1	0	0	0	0
1	0	1	1	1	0	0	1	0
1	0	1	1	1	0	1	0	0
1	0	1	1	1	0	1	1	0
1	0	1	1	1	1	0	0	0
1	0	1	1	1	1	0	0	0
1	0	1	1	1	1	1	0	0
1	0	1	1	1	1	1	1	0
1	1	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	0	1	0
1	1	0	0	0	0	1	0	0
1	1	0	0	0	0	1	1	0
1	1	0	0	0	1	0	0	0
1	1	0	0	0	1	0	1	1
1	1	0	0	0	1	1	0	1
1	1	0	0	0	1	1	1	1
1	1	0	0	1	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0	1	1	0
1	1	0	0	1	1	0	0	0
1	1	0	0	1	1	1	1	1
1	1	0	1	0	0	0	0	0
1	1	0	1	0	0	0	1	0
1	1	0	1	0	0	1	0	0
1	1	0	1	0	0	1	1	0
1	1	0	1	0	1	0	0	0
1	1	0	1	0	1	1	0	0
1	1	0	1	0	1	1	1	1
1	1	0	1	1	0	0	0	0
1	1	0	1	1	0	0	1	0
1	1	0	1	1	0	1	0	0
1	1	0	1	1	1	0	1	0
1	1	0	1	1	1	1	1	0
1	1	1	0	0	0	0	0	0
1	1	1	0	0	0	0	1	0
1	1	1	0	0	0	1	0	0
1	1	1	0	0	0	1	1	0
1	1	1	0	0	1	0	0	0
1	1	1	0	0	1	0	1	0
1	1	1	0	0	1	0	1	0

	1	0	0	1	0	
	1	0	1	0	0	
	1	0	1	1	0	
	1	1	0	0	0	cardiomyocytes.
	1	1	0	1	0	
	1	1	1	0	0	
	1	1	1	1	0	
	Gia		Gaq/11		Gβγ	
34	0	0	0	0	0	Gia activates Gβγ.
	0	1	1	1	1	Gaq/11 activates Gβγ.
	1	0	0	1	1	
	1	1	1	1	1	
35	Gaq/11		PLCβ			
	0	0	0	0	0	Gaq/11 mediates the
	1	1	1	1	1	activation of PLCβ.
36	Epac	PLCγ	PLCβ	DAG		
	0	0	0	0	0	
	0	0	1	0	0	Activated Epac produces
	0	1	0	0	0	DAG.
	0	1	1	1	1	PLCγproduces DAG.
	1	0	0	0	1	PLCβproduces DAG.
	1	0	1	1	1	
	1	1	0	0	1	
	1	1	1	1	1	
37	Ca		DAG		PKC	
	0	0	0	0	0	
	0	1	1	0	0	PKC is activated by Ca
	1	0	0	0	0	and DAG signals.
	1	1	1	1	1	
38	PKC		PKD			
	0	0	0	0	0	PKC affects PKD
	1	1	1	1	1	activation.
39	Epac	PLCγ	PLCβ	IP3		
	0	0	0	0	0	
	0	0	1	0	0	Activated Epac produces
	0	1	0	0	0	IP3.
	0	1	1	1	1	PLCγproduces IP3.
	1	0	0	0	1	PLCβproduces IP3.
	1	0	1	1	1	
	1	1	0	0	1	
	1	1	1	1	1	
40	IP3		IP3R			
	0	0	0	0	0	IP3 induces IP3R
	1	1	1	1	1	activation.
41	PKA	IP3R	TGFR	Ca		
	0	0	0	0	0	PKA increases cardiac Ca
	0	0	1	1	1	channel currents.
	0	1	0	1	1	IP3 binds to IP3R and
						releases Ca from the

	0	1	1	1	
	1	0	0	1	endoplasmic reticulum.
	1	0	1	1	TGF β binds to TGF β R and
	1	1	0	1	stimulates Ca influx.
	1	1	1	1	
42	Ca		CAM		
	0		0		Ca loading activates CAM.
	1		1		
43	CAM		CAMKII		
	0		0		CAM activates CAMKII.
	1		1		
44	PKC	PKD	CAMKII	HDACII	
	0	0	0	1	PKC drives nuclear
	0	0	1	0	export of HDACII in
	0	1	0	0	cardiomyocytes.
	0	1	1	0	PKD directly
	1	0	0	0	phosphorylates HDACII
	1	0	1	0	and stimulates its nuclear
	1	1	0	0	export.
	1	1	1	0	CAMKII dissociates
				0	HDACII from the
					DNA-binding domain.
45	HDACII	ERK5	p38	MEF2	
	0	0	0	0	Inhibited HDACII
	0	0	1	1	stimulates MEF2 activity.
	0	1	0	1	ERK5 positively regulates
	0	1	1	1	MEF2.
	1	0	0	0	p38 activates MEF2 in
	1	0	1	0	cardiomyocytes.
	1	1	0	0	
	1	1	1	0	
46	Atrogin1	CAM		CNA	
	0	0	0	0	Atrogin1 promotes CNA
	0	1	1	1	proteolysis.
	1	0	0	0	CAM increases the
	1	1	1	0	activity of CNA.
47	Ca	ERK1/2		PLA2	
	0	0	0	0	PLA2 is activated by Ca.
	0	1	1	1	ERK1/2 activates PLA2.
	1	0	0	1	
	1	1	1	1	
48	Bcl2	p38	JNK	Bax	
	0	0	0	0	Bcl2 prevents Bax
	0	0	1	1	oligomerization.
	0	1	0	1	p38 or JNK mediated
	0	1	1	1	phosphorylation of Bax
	1	0	0	0	leads to its activation.
	1	0	1	0	
	1	1	0	0	

	1	1	1	0		
49	Bax		Ca	Cyto-C	Bax induces Cyto-C release from mitochondria. Ca induces Cyto-C release from mitochondria in the adult mouse heart.	
	0	0	0	0		
	0	1	0	0		
	1	0	0	0		
	1	1	1	1		
50	Bax		Smac		Absence of Bax blocks Smac activity.	
	0		0			
	1		1			
51	Casp9		Smac	Xiap	Casp9 binds to and inhibits Xiap. Smac negatively regulates Xiap.	
	0	0	0	1		
	0	1	0	0		
	1	0	0	0		
	1	1	1	0		
52	FADD		Casp8		FADD activates Casp8.	
	0		0			
	1		1			
53	Xiap	Cyto-C		Casp9	Xiap inhibits active Casp9. Cyto-C promotes Casp9 activation.	
	0	0	0	0		
	0	1	1	1		
	1	0	0	0		
	1	1	1	1		
54	Xiap	PLA2	Casp9	Casp8	Casp3	Xiap inhibits Casp3. PLA2 induces apoptosis by activating Casp3. Casp9 catalyzes the activation of Casp3. Casp8 activates Casp3 to induce apoptosis.
	0	0	0	0	0	
	0	0	0	1	1	
	0	0	1	0	1	
	0	0	1	1	1	
	0	1	0	0	1	
	0	1	0	1	1	
	0	1	1	0	1	
	1	0	0	0	0	
	1	0	0	1	1	
	1	0	1	0	0	
	1	0	1	1	1	
	1	1	0	0	0	
	1	1	0	1	1	
	1	1	1	0	0	
	1	1	1	1	1	
55	β-arrestin		PGE2	EP4	β -arrestin binds to EP4 and contributes to the desensitization. PGE2 induces EP4 activation.	
	0	0	0	0		
	0	1	1	1		
	1	0	0	0		
	1	1	1	0		
56	β-arrestin		ET1	ET1R	β -arrestin binds to ET1R and contributes to the desensitization.	
	0	0	0	0		
	0	1	1	1		

	1	0		0	ET1 induces ET1R		
	1	1		0	activation.		
	β-arrestin	AngII		AT1R	β -arrestin binds to AT1R		
57	0	0		0	and contributes to the		
	0	1		1	desensitization.		
	1	0		0	AngII induces the		
	1	1		0	activation of AT1R.		
	αAR	β1AR	β2AR	EP4	ET1R	AT1R	β-arrestin
	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	1	1
	0	0	0	0	1	0	1
	0	0	0	0	1	1	1
	0	0	0	1	0	0	1
	0	0	0	1	0	1	1
	0	0	0	1	1	0	1
	0	0	0	1	1	1	1
	0	0	1	0	0	0	1
	0	0	1	0	0	1	1
	0	0	1	0	1	1	1
	0	0	1	1	0	0	1
	0	0	1	1	1	1	1
	0	0	1	1	1	1	1
	0	1	0	0	0	0	1
	0	1	0	0	0	1	1
	0	1	0	0	1	0	1
	0	1	0	0	1	1	1
	0	1	0	1	0	0	1
	0	1	0	1	0	1	1
58	0	1	0	1	1	0	1
	0	1	0	1	1	1	1
	0	1	1	0	0	0	1
	0	1	1	0	0	1	1
	0	1	1	0	1	1	1
	0	1	1	1	0	0	1
	0	1	1	1	0	1	1
	0	1	1	1	1	1	1
	1	0	0	0	0	0	1
	1	0	0	0	0	1	1
	1	0	0	0	1	0	1
	1	0	0	0	1	1	1
	1	0	0	1	0	0	1
	1	0	0	1	0	1	1
	1	0	0	1	1	1	1
	1	0	1	0	0	0	1
	1	0	1	0	0	1	1
	1	0	1	0	1	0	1
	1	0	1	0	1	1	1
	1	0	1	1	0	0	1

α AR recruits and activates β -arrestin.

β 1AR activates

β -arrestin.

β 2AR activates

β -arrestin.

EP4 induces β -arrestin activation.

ET1R recruits and activates β -arrestin.

Stimulation of AT1R leads to the activation of β -arrestin.

1	0	1	1	0	1	1
1	0	1	1	1	0	1
1	0	1	1	1	1	1
1	1	0	0	0	0	1
1	1	0	0	0	1	1
1	1	0	0	1	0	1
1	1	0	0	1	1	1
1	1	0	1	0	0	1
1	1	0	1	0	1	1
1	1	0	1	1	0	1
1	1	0	1	1	1	1
1	1	1	0	0	0	1
1	1	1	0	0	1	1
1	1	1	0	1	0	1
1	1	1	0	1	1	1
1	1	1	1	0	0	1
1	1	1	1	0	1	1
1	1	1	1	1	0	1
1	1	1	1	1	1	1

59	IGF1		IGF1R		IGF1 stimulates and activates IGF1R.
	0		0		
	1		1		

60	p70S6K	SHP2	IGF1R	JAK	IRS1	p70S6K inhibits IRS1 and promotes insulin resistance. Activated SHP2 blocks IRS1. IGF1R induces IRS1 activation. IRS1 is activated by JAK.
	0	0	0	0	0	
	0	0	0	1	1	
	0	0	1	0	0	
	0	1	0	1	0	
	0	1	1	0	0	
	1	0	0	0	0	
	1	0	0	1	0	
	1	0	1	1	0	
	1	1	0	0	0	
	1	1	0	1	0	
	1	1	1	0	0	
	1	1	1	1	0	
	1	1	1	1	0	

61	SHP2	Gβγ	IRS1	GAB1	Ras	FAK	ETK	PI3K	Inhibition of SHP2 activates PI3K. Direct stimulation of Gβγ activates PI3K. Phosphorylated IRS1 activates PI3K. GAB1 enhances PI3K activation. Ras activates PI3K. Stimulation of FAK leads to the activation of PI3K
	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	1	
	0	0	0	0	0	1	1	1	
	0	0	0	0	1	0	0	1	
	0	0	0	0	1	0	1	1	
	0	0	0	0	1	1	1	1	
	0	0	0	0	1	1	1	1	
	0	0	0	0	1	1	1	1	
	0	0	0	1	0	0	0	1	
	0	0	0	1	0	0	1	1	
	0	0	0	1	0	1	0	1	

0	0	0	1	1	0	0	1
0	0	0	1	1	0	1	1
0	0	0	1	1	1	0	1
0	0	0	1	1	1	1	1
0	0	1	0	0	0	0	1
0	0	1	0	0	0	1	1
0	0	1	0	0	1	0	1
0	0	1	0	0	1	1	1
0	0	1	0	1	0	0	1
0	0	1	0	1	0	1	1
0	0	1	0	1	1	1	1
0	0	1	1	0	0	0	1
0	0	1	1	0	0	1	1
0	0	1	1	0	1	0	1
0	0	1	1	0	1	1	1
0	0	1	1	1	0	0	1
0	0	1	1	1	1	0	1
0	0	1	1	1	1	1	1
0	1	0	0	0	0	0	1
0	1	0	0	0	0	1	1
0	1	0	0	0	1	0	1
0	1	0	0	0	1	1	1
0	1	0	0	1	0	1	1
0	1	0	0	1	1	0	1
0	1	0	0	1	1	1	1
0	1	0	1	0	0	0	1
0	1	0	1	0	1	0	1
0	1	0	1	0	1	1	1
0	1	0	1	1	0	0	1
0	1	0	1	1	0	1	1
0	1	0	1	1	1	0	1
0	1	0	1	1	1	1	1
0	1	1	0	0	0	0	1
0	1	1	0	0	0	1	1
0	1	1	0	0	1	1	1
0	1	1	0	1	0	0	1
0	1	1	0	1	0	1	1
0	1	1	0	1	1	0	1
0	1	1	0	1	1	1	1
0	1	1	1	0	0	0	1
0	1	1	1	0	0	1	1
0	1	1	1	0	1	0	1
0	1	1	1	0	1	1	1
0	1	1	1	1	0	0	1
0	1	1	1	1	1	0	1
0	1	1	1	1	1	1	1
1	0	0	0	0	0	0	1
1	0	0	0	0	0	1	1

in cardiomyocytes.
ETK directly mediates the
activation of PI3K.

1	0	0	0	0	1	0	1
1	0	0	0	0	1	1	1
1	0	0	0	1	0	0	1
1	0	0	0	1	0	1	1
1	0	0	0	1	1	0	1
1	0	0	0	1	1	1	1
1	0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1
1	0	0	1	0	1	0	1
1	0	0	1	0	1	1	1
1	0	0	1	1	0	0	1
1	0	0	1	1	0	1	1
1	0	0	1	1	1	0	1
1	0	0	1	1	1	1	1
1	0	1	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	1	1
1	0	1	0	0	1	0	1
1	0	1	0	0	1	1	1
1	0	1	0	1	0	0	1
1	0	1	0	1	0	1	1
1	0	1	0	1	1	0	1
1	0	1	0	1	1	1	1
1	0	1	0	1	1	1	1
1	0	1	1	0	0	0	0
1	0	1	1	0	0	1	1
1	0	1	1	0	1	0	1
1	0	1	1	0	1	1	1
1	0	1	1	1	0	0	1
1	0	1	1	1	0	1	1
1	0	1	1	1	1	0	1
1	0	1	1	1	1	1	1
1	1	0	0	0	0	0	1
1	1	0	0	0	0	1	1
1	1	0	0	0	1	0	1
1	1	0	0	0	1	1	1
1	1	0	0	1	0	0	1
1	1	0	0	1	0	1	1
1	1	0	0	1	1	0	1
1	1	0	0	1	1	1	1
1	1	0	0	1	1	1	1
1	1	0	1	0	0	0	1
1	1	0	1	0	0	1	1
1	1	0	1	0	1	0	1
1	1	0	1	0	1	1	1
1	1	0	1	1	0	0	1
1	1	0	1	1	1	0	1
1	1	0	1	1	1	1	1
1	1	1	0	0	0	0	1
1	1	1	0	0	0	1	1
1	1	1	0	0	1	0	1
1	1	1	0	0	1	1	1
1	1	1	0	1	0	0	1
1	1	1	0	1	0	1	1
1	1	1	0	1	1	0	1
1	1	1	0	1	1	1	1
1	1	1	0	0	0	0	1
1	1	1	0	0	0	1	1
1	1	1	0	0	1	0	1
1	1	1	0	0	1	1	1
1	1	1	0	1	0	0	1
1	1	1	0	1	0	1	1
1	1	1	0	1	1	0	1
1	1	1	0	1	1	1	1
1	1	1	0	1	1	1	1

	1	1	1	1	0	0	0	1
	1	1	1	1	0	0	1	1
	1	1	1	1	0	1	0	1
	1	1	1	1	0	1	1	1
	1	1	1	1	1	0	0	1
	1	1	1	1	1	0	1	1
	1	1	1	1	1	1	0	1
	1	1	1	1	1	1	1	1
62	PI3K		PDK1		PI3K promotes the activation of PDK1.			
	0		0					
	1		1					
63	PDK1		Akt		PDK1 is required for Akt activation.			
	0		0					
	1		1					
64	Akt		mTOR		Akt activates mTOR and regulates muscle hypertrophy.			
	0		0					
	1		1					
65	mTOR		p70S6K		mTOR binds to and activates p70S6K.			
	0		0					
	1		1					
66	mTOR		4EBP1		mTOR phosphorylates and inhibits 4EBP1 directly.			
	0		1					
	1		0					
67	4EBP1		eIF4E		4EBP1 inhibits eIF4E by repressing phosphorylation.			
	0		1					
	1		0					
68	Akt		FOXO		FOXO is inactivated by Akt.			
	0		1					
	1		0					
69	FOXO		Atrogin1		FOXO elevates the level of Atrogin1 in cardiomyocytes.			
	0		0					
	1		1					
70	Akt		NOS		NOS is activated by Akt.			
	0		0					
	1		1					
71	NOS		sGC		NOS stimulates and activates sGC.			
	0		0					
	1		1					
72	Akt inhibits and							

	Akt	PI3K	DOCK	RAC1	
	0	0	0	0	phosphorylates RAC1.
	0	0	1	1	PI3K mediates RAC1
	0	1	0	1	activation in
	0	1	1	1	cardiomyocytes.
	1	0	0	0	RAC1 activation is
	1	0	1	0	mediated by DOCK.
	1	1	0	0	
	1	1	1	0	
73	RAC1		MEKK2/3		
	0		0		RAC1 stimulates and
	1		1		activates MEKK2/3.
74	MEKK2/3	SHP2		MEK5	
	0	0		0	MEKK2/3 activates MEK5.
	0	1		1	SHP2 activates MEK5 in
	1	0		1	cardiomyocytes.
	1	1		1	
75	MEK5		ERK5		
	0		0		MEK5 activates ERK5.
	1		1		
76	ERK5	ERK1/2	CREB	PKA	ICER
	0	0	0	0	0
	0	0	0	1	1
	0	0	1	0	1
	0	0	1	1	1
	0	1	0	0	0
	0	1	0	1	0
	0	1	1	0	0
	0	1	1	1	1
	1	0	0	0	0
	1	0	0	1	0
	1	0	1	0	0
	1	0	1	1	1
	1	1	0	0	0
	1	1	0	1	0
	1	1	1	0	0
	1	1	1	1	0
77	ICER		PKA		PDE3/4
	0		0		0
	0		1		1
	1		0		0
	1		1		0
78	Akt	PKA	PKC		GSK3β
	0	0	0		1
	0	0	1		0
	0	1	0		0
	0	1	1		0
	1	0	0		0
	1	0	1		0

	1	1	0	0						
	1	1	1	0						
79	GSK3β		eIF2B							GSK3β phosphorylates and inhibits eIF2B.
	0		1							
	1		0							
80	GSK3β	ERK1/2	JNK	cJun						GSK3β promotes cJun degradation. ERK1/2 phosphorylates and activates cJun. JNK phosphorylates and activates cJun.
	0	0	0	0						
	0	0	1	1						
	0	1	0	1						
	0	1	1	1						
	1	0	0	0						
	1	0	1	0						
	1	1	0	0						
	1	1	1	0						
81	EGF		Src		EGFR					EGF induces EGFR dimerization and its activation. Src phosphorylates EGFR and promotes the receptor function.
	0		0		0					
	0		1		1					
	1		0		1					
	1		1		1					
82	NRG1		ERBB							NRG1 induces ERBB activation.
	0		0							
	1		1							
83	CT1		LIF		gp130/LIFR					CT1 flows signals by activating gp130/LIFR in cardiomyocytes. gp130/LIFR is activated in the heart after LIF treatment.
	0		0		0					
	0		1		1					
	1		0		1					
	1		1		1					
84	HGF		Met							HGF induces Met activation.
	0		0							
	1		1							
85	VEGF		VEGFR							VEGFR is activated by VEGF in cardiomyocytes.
	0		0							
	1		1							
86	ERK1/2	FGFR	EGFR	ERBB	gp130/LIFR	Met	VEGFR	JAK	GAB1	ERK1/2 inhibits GAB1. FGFR phosphorylates and activates GAB1. EGFR activates GAB1. ERBB mediates the activation of GAB1. gp130/LIFR phosphorylates and activates GAB1 which induces cardiac
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
	0	0	0	0	0	0	1	1	1	
	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
	0	0	0	0	0	1	0	1	1	
	0	0	0	0	0	1	1	1	1	
	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
	0	0	0	0	1	0	0	1	1	

0	0	0	0	1	0	1	0	1
0	0	0	0	1	0	1	1	1
0	0	0	0	1	1	0	0	1
0	0	0	0	1	1	0	1	1
0	0	0	0	1	1	1	0	1
0	0	0	0	1	1	1	1	1
0	0	0	1	0	0	0	0	1
0	0	0	1	0	0	0	1	1
0	0	0	1	0	0	1	0	1
0	0	0	1	0	0	1	1	1
0	0	0	1	0	1	0	0	1
0	0	0	1	0	1	0	1	1
0	0	0	1	0	1	1	0	1
0	0	0	1	0	1	1	1	1
0	0	0	1	1	0	0	0	1
0	0	0	1	1	0	0	1	1
0	0	0	1	1	1	0	0	1
0	0	0	1	1	1	1	0	1
0	0	0	1	1	1	1	1	1
0	0	1	0	0	0	0	0	1
0	0	1	0	0	0	0	1	1
0	0	1	0	0	0	1	0	1
0	0	1	0	0	0	1	1	1
0	0	1	0	0	1	1	1	1
0	0	1	0	0	1	1	1	1
0	0	1	0	1	0	0	0	1
0	0	1	0	1	0	0	1	1
0	0	1	0	1	0	1	1	1
0	0	1	0	1	1	0	0	1
0	0	1	0	1	1	1	0	1
0	0	1	0	1	1	1	1	1
0	0	1	1	0	0	0	0	1
0	0	1	1	0	0	0	1	1
0	0	1	1	0	0	1	0	1
0	0	1	1	0	0	1	1	1
0	0	1	1	0	1	0	0	1
0	0	1	1	0	1	1	0	1
0	0	1	1	0	1	1	1	1
0	0	1	1	1	0	0	0	1
0	0	1	1	1	0	0	1	1
0	0	1	1	1	0	1	0	1
0	0	1	1	1	1	0	0	1
0	0	1	1	1	1	1	0	1
0	0	1	1	1	1	1	1	1
0	0	1	1	1	1	1	0	1
0	0	1	1	1	1	1	1	1
0	0	1	1	1	1	1	1	1

hypertrophy.

Met enhances GAB1
activation.VEGFR mediates the
activation of GAB1.JAK phosphorylates and
activates GAB1.

0	1	1	1	0	1	1	0	1
0	1	1	1	0	1	1	1	1
0	1	1	1	1	0	0	0	1
0	1	1	1	1	0	0	1	1
0	1	1	1	1	0	1	0	1
0	1	1	1	1	0	1	1	1
0	1	1	1	1	1	0	0	1
0	1	1	1	1	1	1	0	1
0	1	1	1	1	1	1	1	1
1	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	1	0
1	0	0	0	0	0	1	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	0
1	0	0	0	0	1	0	0	0
1	0	0	0	0	1	0	1	0
1	0	0	0	0	1	1	1	0
1	0	0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	0	1	0	0	1	0
1	0	0	0	1	0	1	0	0
1	0	0	0	1	0	1	1	0
1	0	0	0	1	1	0	0	0
1	0	0	0	1	1	1	1	0
1	0	0	1	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	0	1	0
1	0	0	1	0	0	1	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1	0
1	0	0	1	0	1	0	1	0
1	0	0	1	0	1	1	0	0
1	0	0	1	0	1	1	1	0
1	0	0	1	0	1	1	1	0
1	0	0	1	0	1	1	1	0
1	0	0	1	0	1	1	1	0
1	0	0	1	0	1	1	1	0
1	0	1	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	0
1	0	1	0	0	0	1	0	0
1	0	1	0	0	0	1	1	0
1	0	1	0	0	1	0	0	0
1	0	1	0	0	1	0	1	0
1	0	1	0	0	1	1	0	0
1	0	1	0	0	1	1	1	0
1	0	1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	1	0	0	1	0
1	0	1	0	1	0	1	0	0
1	0	1	0	1	0	1	1	0
1	0	1	0	1	0	1	1	0

1	0	1	0	1	1	0	0	0
1	0	1	0	1	1	0	1	0
1	0	1	0	1	1	1	0	0
1	0	1	0	1	1	1	1	0
1	0	1	1	0	0	0	0	0
1	0	1	1	0	0	0	1	0
1	0	1	1	0	0	1	0	0
1	0	1	1	0	0	1	1	0
1	0	1	1	0	1	0	0	0
1	0	1	1	0	1	0	1	0
1	0	1	1	0	1	1	1	0
1	0	1	1	1	0	0	0	0
1	0	1	1	1	0	0	1	0
1	0	1	1	1	0	1	0	0
1	0	1	1	1	0	1	1	0
1	0	1	1	1	1	0	0	0
1	0	1	1	1	1	1	0	0
1	0	1	1	1	1	1	1	0
1	1	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	0	1	0
1	1	0	0	0	0	1	0	0
1	1	0	0	0	0	1	0	1
1	1	0	0	0	1	1	0	0
1	1	0	0	0	1	1	1	0
1	1	0	0	1	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0	0	1	0
1	1	0	0	1	0	1	1	0
1	1	0	0	1	1	0	0	0
1	1	0	0	1	1	0	1	0
1	1	0	0	1	1	1	0	0
1	1	0	0	1	1	1	1	0
1	1	0	1	0	0	0	0	0
1	1	0	1	0	0	1	0	0
1	1	0	1	0	0	1	1	0
1	1	0	1	0	1	0	0	0
1	1	0	1	0	1	0	1	0
1	1	0	1	0	1	1	0	0
1	1	0	1	0	1	1	1	0
1	1	0	1	1	0	0	0	0
1	1	0	1	1	0	0	1	0
1	1	0	1	1	0	1	0	0
1	1	0	1	1	0	1	1	0
1	1	0	1	1	1	0	0	0
1	1	0	1	1	1	1	1	0
1	1	1	0	0	0	0	0	0
1	1	1	0	0	0	0	1	0

1	1	1	0	0	0	1	0	0
1	1	1	0	0	0	1	1	0
1	1	1	0	0	1	0	0	0
1	1	1	0	0	1	0	1	0
1	1	1	0	0	1	1	0	0
1	1	1	0	0	1	1	1	0
1	1	1	0	1	0	0	0	0
1	1	1	0	1	0	0	1	0
1	1	1	0	1	0	1	0	0
1	1	1	0	1	1	0	1	0
1	1	1	0	1	1	1	0	0
1	1	1	0	1	1	1	1	0
1	1	1	1	0	0	0	0	0
1	1	1	1	0	0	0	1	0
1	1	1	1	0	0	1	1	0
1	1	1	1	0	1	0	0	0
1	1	1	1	0	1	0	1	0
1	1	1	1	0	1	1	0	0
1	1	1	1	0	1	1	1	0
1	1	1	1	1	0	0	0	0
1	1	1	1	0	0	1	0	0
1	1	1	1	0	1	0	0	0
1	1	1	1	0	1	1	0	0
1	1	1	1	0	1	1	1	0
1	1	1	1	1	0	0	0	0
1	1	1	1	1	0	1	0	0
1	1	1	1	1	0	1	1	0
1	1	1	1	1	1	0	0	0
1	1	1	1	1	1	0	1	0
1	1	1	1	1	1	1	0	0
1	1	1	1	1	1	1	1	0
1	1	1	1	1	1	1	1	0

	ERK1/2	Gβγ	GAB1	FRS2	FAK	IRS1	G/S	
	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	1	1	
	0	0	0	0	1	0	1	
	0	0	0	0	1	1	1	
	0	0	0	1	0	0	1	ERK1/2 disassociates the G/S complex.
	0	0	0	1	0	1	1	Gβγ promotes the association of G/S complex.
	0	0	0	1	1	1	1	GAB1 induces the recruitment of the G/S complex.
	0	0	1	0	0	0	1	FRS2 activates G/S.
	0	0	1	0	0	1	1	FAK induces G/S signal flows.
	0	0	1	1	1	1	1	IRS1 binds to and activates G/S.
	0	0	1	1	1	0	1	
	0	0	1	1	1	1	1	
	0	1	0	0	0	0	1	
	0	1	0	0	0	1	1	
	0	1	0	0	1	0	1	
	0	1	0	0	1	1	1	
	0	1	0	1	0	0	1	
	0	1	0	1	0	1	1	
	0	1	0	1	1	0	1	

87

0	1	0	1	1	1	1
0	1	1	0	0	0	1
0	1	1	0	0	1	1
0	1	1	0	1	0	1
0	1	1	0	1	1	1
0	1	1	1	0	0	1
0	1	1	1	0	1	1
0	1	1	1	1	0	1
0	1	1	1	1	1	1
1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	1	0
1	0	0	0	1	0	0
1	0	0	0	1	1	0
1	0	0	1	0	0	0
1	0	0	1	0	1	0
1	0	0	1	1	0	0
1	0	0	1	1	1	0
1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	1	0
1	0	1	0	1	0	0
1	0	1	0	1	1	0
1	0	1	1	0	0	0
1	0	1	1	0	1	0
1	0	1	1	1	0	0
1	0	1	1	1	1	0
1	1	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	1	0
1	1	0	0	1	0	0
1	1	0	0	1	1	0
1	1	0	1	0	0	0
1	1	0	1	0	1	0
1	1	0	1	1	0	0
1	1	0	1	1	1	0
1	1	1	0	0	0	0
1	1	1	0	0	1	0
1	1	1	0	1	0	0
1	1	1	0	1	1	0
1	1	1	1	0	0	0
1	1	1	1	0	1	0
1	1	1	1	1	0	0
1	1	1	1	1	1	0

	RasGAP	G/S	PKC	Ras	
	0	0	0	0	
	0	0	1	1	
	0	1	0	1	
88	0	1	1	1	
	1	0	0	0	
	1	0	1	0	
	1	1	0	0	
	1	1	1	0	

RasGAP mediates the inhibition of Ras.
G/S activates Ras.
PKC activates Ras.

	PKA	Akt	Ras	PKC	Raf	
89	0	0	0	0	0	
	0	0	0	1	1	

PKA inhibits Raf.
Akt inhibits the activation of Raf.

0	0	1	0	1
0	0	1	1	1
0	1	0	0	0
0	1	0	1	0
0	1	1	0	0
0	1	1	1	1
1	0	0	0	0
1	0	0	1	0
1	0	1	1	1
1	1	0	0	0
1	1	0	1	0
1	1	1	0	0
1	1	1	1	0

Raf	MEKK1	MEKK2/3	MEK1/2
0	0	0	0
0	0	1	0
0	1	0	0
0	1	1	1
1	0	0	1
1	0	1	1
1	1	0	1
1	1	1	1

MEK1/2	ERK1/2
0	0
1	1

ERK1/2	p38	MSK1
0	0	0
0	1	0
1	0	0
1	1	1

ERK1/2	p90RSK
0	0
1	1

Ras	MEKK1
0	0
1	1

GSK3 β	PKA	p38	JNK	CNA	ERK1/2	NFAT
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	1	1
0	0	0	0	1	0	1
0	0	0	0	1	1	1
0	0	0	1	0	0	0
0	0	0	1	0	1	1
0	0	0	1	1	0	1
0	0	0	1	1	1	1
0	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	1	1
0	0	1	0	1	0	1

0	0	1	0	1	1	1
0	0	1	1	0	0	0
0	0	1	1	0	1	1
0	0	1	1	1	0	1
0	0	1	1	1	1	1
0	1	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	1	1
0	1	0	0	1	0	1
0	1	0	0	1	1	1
0	1	0	1	0	0	0
0	1	0	1	0	1	1
0	1	0	1	1	0	1
0	1	0	1	1	1	1
0	1	1	0	0	0	0
0	1	1	0	0	1	1
0	1	1	0	1	0	1
0	1	1	0	1	1	1
0	1	1	1	0	0	0
0	1	1	1	0	1	1
0	1	1	1	1	0	1
0	1	1	1	1	1	1
1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	1	1
1	0	0	0	1	0	1
1	0	0	0	1	1	1
1	0	0	1	0	0	0
1	0	0	1	0	1	1
1	0	0	1	1	0	1
1	0	0	1	1	1	1
1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	1	1
1	0	1	0	1	0	1
1	0	1	0	1	1	1
1	0	1	1	0	0	0
1	0	1	1	0	1	1
1	0	1	1	1	0	1
1	0	1	1	1	1	1
1	1	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	1	1
1	1	0	0	1	0	1
1	1	0	1	0	0	0
1	1	0	1	0	1	1
1	1	0	1	1	0	1
1	1	0	1	1	1	1
1	1	1	0	0	0	0
1	1	1	0	0	1	1
1	1	1	0	1	0	1
1	1	1	0	1	1	1
1	1	1	1	0	0	0
1	1	1	1	0	1	0
1	1	1	1	1	0	0
1	1	1	1	1	1	0

myocytes.

ERK1/2 increases the
DNA binding activity of
NFAT.

	GAB1		SHP2		
	0		0		activation of SHP2.
	1		1		
	SHP2	EGFR	GAB1	RasGAP	
97	0	0	0	0	SHP2 negatively regulates RasGAP signalings. RasGAP is directly activated by EGFR. GAB1 activates RasGAP.
	0	0	1	1	
	0	1	0	1	
	0	1	1	1	
	1	0	0	0	
	1	0	1	0	
	1	1	0	0	
	1	1	1	0	
	GSK3β	ERK1/2	p38	GATA	
98	0	0	0	0	GSK3 β negatively regulates GATA in cardiac myocytes. ERK1/2 activates GATA in cardiomyocytes. p38 phosphorylates and activates GATA.
	0	0	1	1	
	0	1	0	1	
	0	1	1	1	
	1	0	0	0	
	1	0	1	0	
	1	1	0	0	
	1	1	1	0	
	PI3K	GAB1	Src	PLCγ	
99	0	0	0	0	PI3K activity is required for PLC γ activation. GAB1 induces the activation of PLC γ . PLC γ is activated by Src.
	0	0	1	1	
	0	1	0	1	
	0	1	1	1	
	1	0	0	1	
	1	0	1	1	
	1	1	0	1	
	1	1	1	1	
	TGFβ		TGFR		
100	0		0		TGF β induces TGFR activation.
	1		1		
	TGFR	NFκB		SMAD	
101	0	0		0	Decreased TGFR affects SMAD negatively. NF κ B mediates SMAD activation.
	0	1		1	
	1	0		1	
	1	1		1	
	IL		ILR		
102	0		0		IL induces ILR activation.
	1		1		
	SOCS	gp130/LIFR	ILR	JAK	
103	0	0	0	0	SOCS negatively regulates JAK. gp130/LIFR activates JAK in cardiac myocytes. IL activates JAK through ILR.
	0	0	1	1	
	0	1	0	1	
	0	1	1	1	
	1	0	0	0	
	1	0	1	0	
	1	1	0	0	

	1	1	1	0					
104	JAK		ERK1/2		STAT	JAK activates STAT. STAT activity is enhanced by ERK1/2.			
	0	0	0	0					
	0	1	1	1					
	1	0	1	1					
105	STAT		SOCS			SOCS is activated by STAT.			
	0	0	0	0					
106	FGF		FGFR			FGF induces FGFR activation.			
	0	0	0	0					
107	FGFR		FRS2			FGFR promotes FRS2 signaling functions.			
	0	0	0	0					
108	ECM		Integrins			ECM induces Integrins activation in cardiac myocytes.			
	0	0	0	0					
109	SHP2		Ras		Integrins		RhoA	SHP2 negatively regulates RhoA. Stimulation of Ras leads to the activation of RhoA. Integrins directly induce the activation of RhoA.	
	0	0	0	0	0	0			
	0	0	1	1	1	1			
	0	1	0	0	0	1			
	1	0	0	0	0	0			
	1	0	1	1	1	0			
	1	1	0	0	0	0			
	1	1	1	1	1	0			
110	RhoA		SRF			RhoA activates SRF.			
	0	0	0	0					
111	ELK1		SRF		cFos	ELK1 activates cFos gene during cardiac myocyte hypertrophy. SRF binds to the transcription start site of cFos and promotes its expression.			
	0	0	0	0	0				
	0	1	1	1	1				
	1	0	0	0	1				
112	SHP2		Integrins		FAK	SHP2 negatively regulates FAK in cardiomyocytes. Integrins phosphorylate and activate FAK.			
	0	0	0	0	0				
	0	1	1	1	1				
	1	0	0	0	0				
113	β -arrestin		FAK		SHP2	CNA	G β γ	Src	β -arrestin recruits and activates Src.
	0	0	0	0	0	0	0	0	

0	0	0	0	1	1
0	0	0	1	0	1
0	0	0	1	1	1
0	0	1	0	0	0
0	0	1	0	1	1
0	0	1	1	0	1
0	0	1	1	1	1
0	1	0	0	0	1
0	1	0	0	1	1
0	1	0	1	0	1
0	1	0	1	1	1
0	1	1	0	0	1
0	1	1	0	1	1
0	1	1	1	0	1
0	1	1	1	1	1
1	0	0	0	0	0
1	0	0	0	1	1
1	0	0	1	0	1
1	0	0	1	1	1
1	0	1	0	0	0
1	0	1	0	1	1
1	0	1	1	0	1
1	0	1	1	1	1
1	1	0	0	0	1
1	1	0	0	1	1
1	1	0	1	0	1
1	1	0	1	1	1
1	1	1	0	0	1
1	1	1	0	1	1
1	1	1	1	0	1
1	1	1	1	0	1
1	1	1	1	1	1

FAK activates Src.
 SHP2 induces Src activation by dephosphorylation.
 CNA activates Src.
 Gβγ promotes Src activation.

114	Src	Cas		Src phosphorylates and activates Cas.
	0	0		
	1	1		
115	Cas	Crk		Cas promotes Crk signalings.
	0	0		
	1	1		
116	Crk	DOCK		Crk activates DOCK and transduces signals.
	0	0		
	1	1		
117	PDE5	sGC	cGMP	Activated PDE5 decreases cGMP signalings. sGC synthesizes cGMP in rat cardiac myocytes.
	0	0	0	
	0	1	1	
	1	0	0	
	1	1	0	
118	cGMP	PKG1		PKG1 is activated by cGMP.
	0	0		
	1	1		

119	PKG1		PDE5		Activated PKG1 in adult cardiomyocytes stimulates PDE5 activation.					
	0		0							
	1		1							
120	PKG1		RGS		PKG1 phosphorylates and activates RGS.					
	0		0							
	1		1							
121	ATF2	cFos	cJun	CREB	MEF2	NFAT	GATA	STAT	ANP	<p>ATF2 increases the ANP promoter activity.</p> <p>cFos activates the transcription of the ANP promoter.</p> <p>cJun positively regulates the ANP expression.</p> <p>CREB activates the ANP expression.</p> <p>MEF2 increases the ANP expression.</p> <p>NFAT activates the transcription of ANP.</p> <p>GATA activates the transcription of the ANP promoter.</p> <p>STAT increases the ANP expression in the heart.</p>
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	0	0	0	0	0	1	0	1	0	
	0	0	0	0	0	1	1	0	0	
	0	0	0	0	0	1	1	1	0	
	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	0	0	0	0	1	0	0	1	0	
	0	0	0	0	1	0	1	1	0	
	0	0	0	0	1	1	1	0	0	
	0	0	0	0	1	1	1	1	0	
	0	0	0	0	1	1	1	1	0	
	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	0	0	0	1	0	0	0	1	0	
	0	0	0	1	0	0	1	1	0	
	0	0	0	1	0	1	0	0	0	
	0	0	0	1	0	1	1	0	0	
	0	0	0	1	0	1	1	1	0	
	0	0	0	1	1	1	1	1	0	
	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	0	0	1	0	0	0	0	1	0	
	0	0	1	0	0	0	1	1	0	
	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
	0	0	1	0	0	1	1	1	0	
	0	0	1	0	1	0	0	0	0	
	0	0	1	0	1	0	0	1	0	
	0	0	1	0	1	0	1	1	0	
	0	0	1	0	1	0	1	1	0	

0	0	1	0	1	1	0	0	0
0	0	1	0	1	1	0	1	0
0	0	1	0	1	1	1	0	0
0	0	1	0	1	1	1	1	0
0	0	1	1	0	0	0	0	0
0	0	1	1	0	0	0	1	0
0	0	1	1	0	0	1	0	0
0	0	1	1	0	0	1	1	0
0	0	1	1	0	1	0	0	0
0	0	1	1	0	1	0	1	0
0	0	1	1	0	1	1	0	0
0	0	1	1	0	1	1	1	0
0	0	1	1	1	0	0	0	0
0	0	1	1	1	0	0	1	0
0	0	1	1	1	0	1	0	0
0	0	1	1	1	0	1	1	0
0	0	1	1	1	1	0	0	0
0	0	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	0
0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0	1	0
0	1	0	0	0	0	1	0	0
0	1	0	0	0	0	1	1	0
0	1	0	0	0	1	0	0	0
0	1	0	0	0	1	1	0	0
0	1	0	0	0	1	1	1	0
0	1	0	0	1	0	0	0	0
0	1	0	0	1	0	0	1	0
0	1	0	0	1	0	1	1	0
0	1	0	0	1	1	0	0	0
0	1	0	0	1	1	0	1	0
0	1	0	0	1	1	1	0	0
0	1	0	0	1	1	1	1	0
0	1	0	0	1	1	1	1	0
0	1	0	1	0	0	0	0	0
0	1	0	1	0	0	0	1	0
0	1	0	1	0	0	1	1	0
0	1	0	1	0	1	0	0	0
0	1	0	1	0	1	0	1	0
0	1	0	1	0	1	1	0	0
0	1	0	1	0	1	1	1	0
0	1	0	1	1	0	0	0	0
0	1	0	1	1	0	0	1	0
0	1	0	1	1	0	1	1	0
0	1	0	1	1	1	0	0	0
0	1	0	1	1	1	1	1	0
0	1	1	0	0	0	0	0	0
0	1	1	0	0	0	0	1	0

0	1	1	0	0	0	1	0	0
0	1	1	0	0	0	1	1	0
0	1	1	0	0	1	0	0	0
0	1	1	0	0	1	0	1	0
0	1	1	0	0	1	1	0	0
0	1	1	0	0	1	1	1	0
0	1	1	0	1	0	0	0	0
0	1	1	0	1	0	0	1	0
0	1	1	0	1	0	1	0	0
0	1	1	0	1	0	1	1	0
0	1	1	0	1	1	0	0	0
0	1	1	0	1	1	0	1	0
0	1	1	0	1	1	1	0	0
0	1	1	0	1	1	1	1	0
0	1	1	1	0	0	0	0	0
0	1	1	1	0	0	0	1	0
0	1	1	1	0	0	1	1	0
0	1	1	1	0	1	0	0	0
0	1	1	1	0	1	0	1	0
0	1	1	1	0	1	1	0	0
0	1	1	1	0	1	1	1	0
0	1	1	1	0	1	1	1	0
0	1	1	1	1	0	0	0	0
0	1	1	1	1	0	0	1	0
0	1	1	1	1	0	1	1	0
0	1	1	1	1	1	0	0	0
0	1	1	1	1	1	1	0	0
0	1	1	1	1	1	1	1	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	1	0
1	0	0	0	0	0	1	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	0
1	0	0	0	0	1	0	0	0
1	0	0	0	0	1	1	1	0
1	0	0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	0	1	0	0	1	0
1	0	0	0	1	0	1	1	0
1	0	0	0	1	1	1	0	0
1	0	0	0	1	1	1	1	0
1	0	0	1	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	0	1	0
1	0	0	1	0	0	1	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1	0
1	0	0	1	0	1	0	0	0
1	0	0	1	0	1	0	1	0
1	0	0	1	0	1	1	0	0
1	0	0	1	0	1	1	1	0

1	0	0	1	1	0	0	0	0
1	0	0	1	1	0	0	1	0
1	0	0	1	1	0	1	0	0
1	0	0	1	1	0	1	1	0
1	0	0	1	1	1	0	0	0
1	0	0	1	1	1	0	1	0
1	0	0	1	1	1	1	0	0
1	0	0	1	1	1	1	1	0
1	0	1	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	0
1	0	1	0	0	0	1	0	0
1	0	1	0	0	0	1	1	0
1	0	1	0	0	1	0	0	0
1	0	1	0	0	1	0	1	0
1	0	1	0	0	1	1	0	0
1	0	1	0	0	1	1	1	0
1	0	1	0	0	1	1	1	0
1	0	1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	1	0	1	0	0
1	0	1	0	1	0	1	1	0
1	0	1	0	1	1	0	0	0
1	0	1	0	1	1	0	1	0
1	0	1	0	1	1	0	1	0
1	0	1	0	1	1	0	1	0
1	0	1	0	1	1	1	0	0
1	0	1	0	1	1	1	1	0
1	0	1	1	0	0	0	0	0
1	0	1	1	0	0	1	0	0
1	0	1	1	0	0	1	1	0
1	0	1	1	0	1	0	0	0
1	0	1	1	0	1	0	1	0
1	0	1	1	0	1	1	0	0
1	0	1	1	0	1	1	1	0
1	0	1	1	1	0	0	0	0
1	0	1	1	1	0	0	1	0
1	0	1	1	1	0	1	0	0
1	0	1	1	1	0	1	1	0
1	0	1	1	1	1	0	0	0
1	0	1	1	1	1	1	1	0
1	1	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	0	1	0
1	1	0	0	0	0	1	0	0
1	1	0	0	0	0	1	1	0
1	1	0	0	0	1	0	0	0
1	1	0	0	0	1	1	0	0
1	1	0	0	0	1	1	1	0
1	1	0	0	1	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0	0	1	0
1	1	0	0	1	0	1	0	0
1	1	0	0	1	0	1	1	0
1	1	0	0	1	1	0	0	0
1	1	0	0	1	1	0	1	0

1	1	0	0	1	1	1	0	0
1	1	0	0	1	1	1	1	0
1	1	0	1	0	0	0	0	0
1	1	0	1	0	0	0	1	0
1	1	0	1	0	0	1	0	0
1	1	0	1	0	0	1	1	0
1	1	0	1	0	1	0	0	0
1	1	0	1	0	1	0	1	0
1	1	0	1	0	1	1	0	0
1	1	0	1	0	1	1	1	0
1	1	0	1	1	0	0	0	0
1	1	0	1	1	0	0	1	0
1	1	0	1	1	0	1	0	0
1	1	0	1	1	0	1	1	0
1	1	0	1	1	1	0	0	0
1	1	0	1	1	1	0	1	0
1	1	0	1	1	1	1	1	0
1	1	1	0	0	0	0	0	1
1	1	1	0	0	0	0	1	1
1	1	1	0	0	0	1	0	1
1	1	1	0	0	0	1	1	1
1	1	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	0	0	1	1	0	1
1	1	1	0	0	1	1	1	1
1	1	1	0	1	0	0	0	1
1	1	1	0	1	0	0	1	1
1	1	1	0	1	0	1	0	1
1	1	1	0	1	0	1	1	1
1	1	1	0	1	1	1	1	1
1	1	1	1	0	0	0	0	1
1	1	1	1	0	0	0	1	1
1	1	1	1	0	0	1	0	1
1	1	1	1	0	0	1	1	1
1	1	1	1	0	1	1	1	1
1	1	1	1	0	1	1	1	1
1	1	1	1	0	1	0	0	1
1	1	1	1	0	1	0	1	1
1	1	1	1	0	1	1	0	1
1	1	1	1	0	1	1	1	1
1	1	1	1	1	0	0	0	1
1	1	1	1	1	0	1	0	1
1	1	1	1	1	0	1	1	1
1	1	1	1	1	1	0	0	1
1	1	1	1	1	1	0	1	1
1	1	1	1	1	1	1	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1
122	cFos	cJun	ELK1	MEF2	NFAT	GATA	BNP	
	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	1	0	
	0	0	0	0	1	0	0	

cFos positively upregulates the BNP expression.

0	0	0	0	1	1	0
0	0	0	1	0	0	0
0	0	0	1	0	1	0
0	0	0	1	1	0	0
0	0	0	1	1	1	0
0	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	1	0
0	0	1	0	1	0	0
0	0	1	0	1	1	0
0	0	1	1	0	0	0
0	0	1	1	0	1	0
0	0	1	1	1	0	0
0	0	1	1	1	1	0
0	1	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	1	0
0	1	0	0	1	0	0
0	1	0	0	1	1	0
0	1	0	1	0	0	0
0	1	0	1	0	1	0
0	1	0	1	1	0	0
0	1	0	1	1	1	0
0	1	1	0	0	0	0
0	1	1	0	0	1	0
0	1	1	0	1	1	0
0	1	1	1	0	0	0
0	1	1	1	0	1	0
0	1	1	1	1	0	0
0	1	1	1	1	1	0
1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	1	0
1	0	0	0	1	0	0
1	0	0	0	1	1	0
1	0	0	1	0	0	0
1	0	0	1	0	1	0
1	0	0	1	1	0	0
1	0	0	1	1	1	0
1	0	0	1	1	1	0
1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	1	0
1	0	1	0	1	0	0
1	0	1	0	1	1	0
1	0	1	1	0	0	0
1	0	1	1	0	1	0
1	0	1	1	1	0	0
1	0	1	1	1	1	0
1	1	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	1	0
1	1	0	0	1	0	0
1	1	0	0	1	1	0
1	1	0	1	0	0	0
1	1	0	1	0	1	0
1	1	0	1	1	0	0
1	1	0	1	1	1	0
1	1	1	0	0	0	0
1	1	1	0	0	1	0
1	1	1	0	0	1	0
1	1	1	0	1	0	0
1	1	1	0	1	1	0
1	1	1	0	1	1	0
1	1	1	0	0	0	1

cJun increases the BNP expression.

ELK1 binds on the BNP promoter and activates its transcription.

MEF2 activates the BNP promoter.

NFAT activates the BNP promoter.

GATA activates the BNP promoter.

1	1	1	0	0	1	1			
1	1	1	0	1	0	1			
1	1	1	0	1	1	1			
1	1	1	1	0	0	1			
1	1	1	1	0	1	1			
1	1	1	1	1	0	1			
1	1	1	1	1	1	1			
<hr/>									
123	cJun	cFos	MEF2			αMHC	The αMHC promoter activity is repressed by cJun. cFos downregulates αMHC. MEF2 positively regulates the αMHC promoter in cardiomyocytes.		
	0	0	0			0			
	0	0	1			1			
	0	1	0			0			
	0	1	1			0			
	1	0	0			0			
	1	0	1			0			
	1	1	0			0			
1	1	1			0				
<hr/>									
124	ATF2	cFos	cJun	GATA	MEF2	NFAT	STAT	βMHC	ATF2 promotes the βMHC gene induction. cFos upregulates the βMHC expression. cJun upregulates the βMHC expression. GATA increases the activity of βMHC promoter and stimulates hypertrophic responsiveness. MEF2 activates the βMHC promoter. NFAT activates the βMHC promoter. STAT increases the βMHC expression and causes myocardial hypertrophy.
	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	1	0	
	0	0	0	0	0	1	0	0	
	0	0	0	0	0	1	1	0	
	0	0	0	0	1	0	0	0	
	0	0	0	0	1	0	1	0	
	0	0	0	0	1	1	0	0	
	0	0	0	0	1	1	1	0	
	0	0	0	1	0	0	0	0	
	0	0	0	1	0	0	1	0	
	0	0	0	1	0	1	1	0	
	0	0	0	1	1	0	0	0	
	0	0	0	1	1	1	0	0	
	0	0	0	1	1	1	1	0	
	0	0	1	0	0	0	0	0	
	0	0	1	0	0	1	1	0	
	0	0	1	0	1	0	0	0	
	0	0	1	0	1	1	0	0	
	0	0	1	1	0	0	0	0	
	0	0	1	1	0	1	0	0	
	0	0	1	1	1	0	0	0	
	0	0	1	1	1	1	1	0	
	0	0	1	1	1	1	1	0	
	0	1	0	0	0	0	0	0	
	0	1	0	0	0	1	0	0	
	0	1	0	0	0	1	1	0	
	0	1	0	0	1	0	0	0	

0	1	0	0	1	0	1	0
0	1	0	0	1	1	0	0
0	1	0	0	1	1	1	0
0	1	0	1	0	0	0	0
0	1	0	1	0	0	1	0
0	1	0	1	0	1	0	0
0	1	0	1	0	1	1	0
0	1	0	1	1	0	0	0
0	1	0	1	1	0	1	0
0	1	0	1	1	1	0	0
0	1	0	1	1	1	1	0
0	1	1	0	0	0	0	0
0	1	1	0	0	0	1	0
0	1	1	0	0	1	0	0
0	1	1	0	0	1	1	0
0	1	1	0	1	0	0	0
0	1	1	0	1	1	0	0
0	1	1	0	1	1	1	0
0	1	1	1	0	0	0	0
0	1	1	1	0	0	1	0
0	1	1	1	0	1	0	0
0	1	1	1	0	1	1	0
0	1	1	1	1	0	0	0
0	1	1	1	1	0	1	0
0	1	1	1	1	1	0	0
0	1	1	1	1	1	1	0
1	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	1	0
1	0	0	0	0	1	0	0
1	0	0	0	0	1	1	0
1	0	0	0	1	0	0	0
1	0	0	0	1	0	1	0
1	0	0	0	1	1	0	0
1	0	0	0	1	1	1	0
1	0	0	0	1	1	1	0
1	0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	1	0
1	0	0	1	0	1	1	0
1	0	0	1	1	0	0	0
1	0	0	1	1	0	1	0
1	0	0	1	1	1	0	0
1	0	0	1	1	1	1	0
1	0	1	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	1	0
1	0	1	0	0	1	0	0
1	0	1	0	0	1	1	0
1	0	1	0	1	0	0	0
1	0	1	0	1	0	1	0
1	0	1	0	1	1	0	0
1	0	1	0	1	1	1	0
1	0	1	1	0	0	0	0
1	0	1	1	0	0	1	0
1	0	1	1	0	1	0	0

1	0	1	1	0	1	1	0
1	0	1	1	1	0	0	0
1	0	1	1	1	0	1	0
1	0	1	1	1	1	0	0
1	0	1	1	1	1	1	0
1	1	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	1	0
1	1	0	0	0	1	0	0
1	1	0	0	0	1	1	0
1	1	0	0	1	0	0	0
1	1	0	0	1	0	1	0
1	1	0	0	1	1	0	0
1	1	0	0	1	1	1	0
1	1	0	1	0	0	0	0
1	1	0	1	0	0	1	0
1	1	0	1	0	1	0	0
1	1	0	1	0	1	1	0
1	1	0	1	1	0	0	0
1	1	0	1	1	0	1	0
1	1	0	1	1	1	0	0
1	1	0	1	1	1	1	0
1	1	1	0	0	0	0	1
1	1	1	0	0	0	1	1
1	1	1	0	0	1	0	1
1	1	1	0	0	1	1	1
1	1	1	0	1	0	0	1
1	1	1	0	1	0	1	1
1	1	1	0	1	1	0	1
1	1	1	0	1	1	1	1
1	1	1	1	0	0	0	1
1	1	1	1	0	0	1	1
1	1	1	1	0	1	0	1
1	1	1	1	0	1	1	1
1	1	1	1	1	0	0	1
1	1	1	1	1	0	1	1
1	1	1	1	1	1	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1

표 22. 심근세포 신호전달네트워크 수학적모델에서 심근세포의 정상생리 상태를 나타내는 최적 입력 노드 조건.

Input	PGE2	ET1	AngII	NE	PE	CT1	LIF	EGF	NRG1
Basal intensity (%)	0.6	1	1.1	1	0.7	0.7	0.4	0.6	1
Input	HGF	VEGF	IGF1	FGF	TGFβ	ECM	IL	TNFα	
Basal intensity (%)	0.8	0.5	1	0.7	0.8	0.9	1	1.2	

표 23. 불리언 네트워크 수학적모델에서의 입력 노드-출력 노드의 관계.

Input of interest	TNFα	Steady state activity(%)											Ref.
		0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	Casp8	1.2	13.8	21.6	28.6	43.2	51.6	57.4	67.4	80	92.8	100	24802330
	PI3K	51	58.8	58.2	69.2	73.8	76.6	83.4	85.6	91.4	97.4	100	20007453
	p38	31.2	39.6	43.6	48	57.8	62.6	66	72	84	93.6	100	14656985
	JNK	28.4	37.4	41.8	45.8	55.8	61.4	64.6	71.2	82.8	93	100	14656985
	Akt	51.2	60	59	69	73.4	76	84.2	85.6	91.6	97.2	100	12409315
	NFκB	52.8	67	70.4	79.6	85.6	87.6	93.2	97.4	98.8	99.8	100	12409315
	COX-2	21.6	31.8	33.8	45.6	54.2	58.8	69.6	74	86.8	95.8	100	16043646
	NOS	51	60.4	59	69.2	73.2	76	84.2	85.6	91.6	97.2	100	10728381
	ANP	9.4	12.4	13.8	19.8	29.8	35	39.8	47.8	66.4	86.4	100	12409315
	cJun	20.6	27	25.2	33.6	44	49.6	57	60.4	77.2	91	100	12409315
	CREB	39.6	45.6	44.2	56	60.6	63.8	74	75.2	87.4	96	100	19339243
	ATF2	34.4	41.6	44.6	49.6	60.4	63.4	68.2	73.2	84	94.2	100	12665585
	Casp3	14.6	27.6	37.2	43.8	56.8	62.6	64.2	73.6	83.8	93.6	100	17616742
	TRAF	1.2	13.8	21.6	28.4	44	51	58.6	67	80.2	93	100	15743827
	ETK	1.2	13.6	21.6	28.4	43.4	50.8	57.8	67	80	93.2	100	19788501
IKK	53	66.8	70.4	79.6	85.6	87.8	92.8	97.4	98.8	99.8	100	19181934	
IκB	47.2	33	29.6	20.2	14.4	12.4	7	2.6	1.2	0.2	0	25712896	
Input of interest	NE	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	Ca	8.4	21.2	33.6	37.8	47	44.4	52.6	53	60.4	58.8	62.6	24777478
	IP3	5.2	15.6	24.8	28.2	36	34	42.2	40	47.6	48	49.4	11867373
	CNA	4.2	13.4	21.6	25	34	33	39.8	39.8	47	47.4	55.8	24777478
	Casp9	11.8	26.4	42.8	48.6	56.8	51.6	59.4	63.4	70	66.4	66	10861165
	NFAT	13.6	25	36	39	47.6	46.8	57	55.2	62	61.4	60.2	21474694
	CREB	34.4	57.6	62.8	66.2	75	73.4	79	77.4	82.4	81.4	95.2	8565052
	MEF2	7.2	18.2	33	35.4	44.4	43.8	50.4	50.8	57.4	57	62.8	22042619
	Casp3	12	25.6	42.8	49.8	55.2	53.4	61.6	65.2	72	71.4	65	15158148
	PLCy	60.4	78.4	79.2	81.4	88.6	88	90.6	91.4	95.4	93.4	97.4	19538471
	PKC	2.6	8	15.8	18.6	23.6	22	28.8	28.8	34	33.4	37.4	12623998
Input of interest	PGE2	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	cAMP	1.4	8.6	13.8	19	21.4	27	30	32.2	35.6	36.6	41.8	22493261
	p38	31	42.2	43.8	48.6	55.4	58.2	60.2	63.2	63.6	65.6	69.6	18030065
	PKA	1.4	8.6	13.8	19	21.8	26.4	30	32.4	35.6	36.2	41.6	22493261
	BNP	9.6	16.4	18.8	23.6	28.4	28.6	33	36.6	36.6	41.4	46.8	16428339
	ANP	8.6	15	17.8	23	28.2	28	32.6	36.6	36.4	41.4	46.8	7945244
Input of interest	AngII	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	Src	13.4	17.8	18.8	27.2	30.8	33.8	36.8	40.8	45.6	47.8	46.4	24699426
	PLCy	62.8	72	71.2	80	82.8	84.6	86.2	89.6	91.4	91.2	92.4	7541047
	COX-2	22.4	28.4	29.4	33.4	37.2	38.4	44.2	51.6	49.2	48	50.6	12388637
	CREB	40	44.6	45.6	51.6	55.4	55	61.8	66.8	65	63.4	66.4	21376054
	β-arrestin	9.6	15.8	20.6	27.2	30.8	35.8	38.4	41.6	46	47.4	50	20460106
	EGFR	14.2	19.4	20	30.4	32.4	35.4	37.6	42	46.6	48.6	46.8	26762600

Input of interest	EGF	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	Ras	15.2	19	19.8	25.2	30.2	32.8	38.4	37.8	43.8	48.4	51	19015044
	GAB1	25.2	34.2	37.6	46.8	51.8	54.4	62	63	66	69.4	72.2	11323411
	SHP2	25.4	34	38	46.6	51.6	54.2	62	62.8	65.6	69.4	71.8	11323411
	MEKK1	15	19.2	19.8	24.6	30	32.8	38.4	37.6	43.4	48.2	50.6	15371522
Input of interest	NRG1	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	GAB1	23.2	34.4	40.8	43.2	50.6	55.6	62	62.2	64	69.6	72.8	17571162
	SHP2	23.6	33.8	40.8	43.8	50.2	55.4	62.6	62.6	63.6	69.6	72.4	17571162
Input of interest	CT1	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	STAT	12.6	20.4	26.8	35.2	39.8	43.2	46.6	51.2	52.2	56.6	58.2	17157282
	Ras	13.8	20	23.4	32.4	36.2	38.4	41	45.8	45.8	51.2	51.8	18246092
	JAK	3.6	11	15.6	22	27.4	31.6	34	37.6	37.8	41	42	18246092
Input of interest	LIF	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	GAB1	25.4	39.4	45.2	47.4	54.2	58.6	60	63.4	67.8	69.4	72.8	12855672
	SHP2	25.6	38.8	45.4	47.2	54	58.2	60.2	63.6	68	69.2	72.4	12855672
	STAT	16.4	24	31.2	34	39.4	42.2	47.2	47.8	52.6	55.8	58.2	17157282
	Ras	15.4	22.4	26.6	31	37.4	38.4	39.6	43.4	46.6	48.2	51.8	18246092
	JAK	6.2	14.2	20	21.2	27	29.8	32.8	36.4	37.2	39.4	42	9351438
Input of interest	HGF	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	Ras	15.4	17.8	20.2	23.6	32	32.6	39.6	44.2	44.8	48.4	51.8	23044624
	GAB1	24	32.4	37.4	45.8	51.2	53.2	60.6	64.2	65.4	69.6	72.8	25528308
	SHP2	24.2	32.4	37.8	45.6	51.4	53.2	60.8	64.4	65.4	69.6	72.4	25528308
Input of interest	VEGF	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	Ras	15.2	20.4	19.2	21	30.2	33.6	39.8	40.6	44.2	50.6	51.8	18391074
	GAB1	24	33.2	38.2	41.4	50.2	56.2	59.8	63.6	66.8	69	72.8	25528308
	SHP2	24	33	38.4	41.6	50.6	56	60	63.8	66.8	69.2	72.4	25528308
Input of interest	TGFβ	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	PI3K	50.8	59.8	56.2	69.8	76.8	82.2	87.6	91.6	93.8	97.4	100	22174951
	Ras	16	18.4	17.6	20.8	30	31.4	43	50.2	56.2	69	78.2	10843986
	p38	30	45	47.6	54.6	63.6	63.6	69.6	76.8	83.2	90.6	100	16183734
	JNK	26.8	42.4	45.8	52	60.4	61.2	68	75.4	82	89.2	100	18922473
	Akt	50.8	60.2	57	69.4	76.4	82	87.2	91.4	94	97.6	100	23416528
	NFκB	52	67	66.8	80.6	88	92.4	95.4	97.2	98.6	99.8	100	22174951
	NOS	50.6	60.6	57.2	69.4	76	82.2	87.2	91.4	94.2	97.6	100	11514268
	BNP	10.6	18.8	16.6	27.2	31.8	40	45.2	57	68.6	79.4	100	15367659
	ANP	9.8	17.6	15.6	27	31.2	38.4	45	56.6	68.4	79.4	100	15367659
	FOXO	49.4	39.4	42.8	30.6	24	17.8	12.8	8.6	5.8	2.4	0	23393573
	SMAD	52.2	70.8	71.8	85.2	92.2	96.4	98.8	98.8	99.6	100	100	23416528
	TRAF	1.8	13.4	17.4	28	43.4	48.8	61	72	80.8	88	100	21537080
TAK1	5.4	16.4	20	31.2	47.4	51.6	63.4	73	82.2	89.8	100	16183734	
Input of interest	FGF	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Regulatory node	Ras	15.4	18.8	22.6	30.4	35.8	36.2	41.6	45.2	50.8	58.4	66.2	24349409
	PI3K	50.2	58.2	61.8	65.4	68.2	68.4	68.4	69.4	74.8	79.8	83.2	26899709
	Akt	50.4	59.2	62.4	65.2	68.4	68.4	68.8	69	75.4	80	83	26899709
	mTOR	50	59.2	62.2	64.8	68.6	68	68.8	69.2	75.2	79.6	83	25787015
	FOXO	50	40.8	37.8	35.2	31.4	32	31.2	30.8	24.8	20.4	17	26899709
	CREB	37	44.6	48	51.2	55.2	54.2	53.6	57	61.2	66.6	70.4	8887554
	FRS2	0	9	22.4	32	42.2	50.4	55	70.8	79	90.6	100	22207710
	GAB1	24.4	33.2	41.4	46.2	53.6	53.2	57.6	62.6	67.6	72	75.6	17145761
	SHP2	24.6	33.2	41.6	46.4	53.2	53.4	57.8	62.8	67.2	72.2	76	9632781
	G/S	28.8	36	43	49	54.2	54.6	58.6	61.6	67.8	71.4	75.6	9632781

표 24. 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서 활성도가 증가/감소되는 노드.

Type	Node	Classification	Regulation	Reference (PMID)
Ischemic HF	AngII	Input	Up	24830442
	CT1	Input	Up	14674704
	ET1	Input	Up	2050938
	FGF	Input	Up	12504809
	HGF	Input	Up	8619866, 15550692
	IGF1	Input	Up	10588817
	IL	Input	Up	22261166
	NE	Input	Up	24830442
	NRG1	Input	Down	25996292
	TNF α	Input	Up	25323011
	Ca	Internal regulatory node	Up	12193215
	Casp8	Internal regulatory node	Up	25323011
	Casp9	Internal regulatory node	Up	25323011
	ERK1/2	Internal regulatory node	Up	20186881, 18955663
	gp130/LIFR	Internal regulatory node	Up	11013126
	JNK	Internal regulatory node	Up	9618295
	mTOR	Internal regulatory node	Up	24628978
	p38	Internal regulatory node	Up	20186881
	PKC	Internal regulatory node	Up	20874717
	TAK1	Internal regulatory node	Up	16183734
	ANP	Output	Up	23429874
	BNP	Output	Up	23429874
	Casp3	Output	Up	25323011
	cFos	Output	Up	23054911
	COX-2	Output	Up	12710523
	GATA	Output	Up	20200331
Pressure overload-induced HF	AngII	Input	Up	23909633
	ECM	Input	Up	27550917
	ET1	Input	Up	7771559
	IGF1	Input	Up	19933931
	IL	Input	Up	25755743
	NE	Input	Up	20083574
	NRG1	Input	Up	10421602, 17709650
	TGF β	Input	Up	24827470
	TNF α	Input	Up	21993001
	VEGF	Input	Up	24887083
	Akt	Internal regulatory node	Up	24887083
	Bcl2	Internal regulatory node	Up	22825686
	CAMKII	Internal regulatory node	Up	19381018
	EGFR	Internal regulatory node	Up	21369867
	ERK1/2	Internal regulatory node	Up	20926779
	JNK	Internal regulatory node	Up	11527648
	mTOR	Internal regulatory node	Up	20861467
	NF κ B	Internal regulatory node	Up	24827470
	NOS	Internal regulatory node	Up	24887083
	p38	Internal regulatory node	Up	11527648
	PI3K	Internal regulatory node	Up	24887083
	PKC	Internal regulatory node	Up	21364651
	SMAD	Internal regulatory node	Up	19030868
	Src	Internal regulatory node	Up	20110410
	STAT	Internal regulatory node	Up	22825686
	ANP	Output	Up	22825686, 24586871
BNP	Output	Up	24586871	
Casp3	Output	Up	15572667	
GATA	Output	Up	20705924	
β MHC	Output	Up	23493786	

표 25. 끌개수렴공간에 따른 끌개의 분포.

A. 정상생리 상태에서 끌개수렴공간에 따른 끌개의 분포.

1 million initial states		10 million initial states		100 million initial states	
Basin size	Proportion	Basin size	Proportion	Basin size	Proportion
> 90%	0.0145	> 90%	0.0062	> 90%	0.0043
> 75%	•	> 75%	•	> 75%	•
> 50%	•	> 50%	•	> 50%	•
> 25%	•	> 25%	•	> 25%	•
> 10%	•	> 10%	•	> 10%	•
> 5%	•	> 5%	•	> 5%	•
> 1%	•	> 1%	•	> 1%	•
< 1%	0.9855	< 1%	0.9938	< 1%	0.9957

B. 허혈성 심부전 상황에서 끌개수렴공간에 따른 끌개의 분포.

1 million initial states		10 million initial states		100 million initial states	
Basin size	Proportion	Basin size	Proportion	Basin size	Proportion
> 90%	•	> 90%	•	> 90%	•
> 75%	•	> 75%	•	> 75%	•
> 50%	•	> 50%	•	> 50%	•
> 25%	•	> 25%	•	> 25%	•
> 10%	•	> 10%	•	> 10%	•
> 5%	•	> 5%	•	> 5%	•
> 1%	0.0146	> 1%	0.0063	> 1%	0.0045
< 1%	0.9854	< 1%	0.9937	< 1%	0.9955

C. 비허혈성 심부전 상황에서 끌개수렴공간에 따른 끌개의 분포.

1 million initial states		10 million initial states		100 million initial states	
Basin size	Proportion	Basin size	Proportion	Basin size	Proportion
> 90%	•	> 90%	•	> 90%	•
> 75%	•	> 75%	•	> 75%	•
> 50%	•	> 50%	•	> 50%	•
> 25%	•	> 25%	•	> 25%	•
> 10%	•	> 10%	•	> 10%	•
> 5%	•	> 5%	•	> 5%	•
> 1%	0.0047	> 1%	0.0024	> 1%	0.0017
< 1%	0.9953	< 1%	0.9976	< 1%	0.9983

표 26. 정상생리 상태에서 심근세포 신호전달네트워크 수학모델의 끌개 모양.

Nodes	Fixed attractor-1	Basin size: 0.91709
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-2	Basin size: 0.00502
cFos	■	
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B	■	
GATA		
cJun		
eIF4E	■	
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2	■	
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-3	Basin size: 0.00474
cFos	■	
COX-2	■	
BNP	■	
ANP	■	
α MHC		
β MHC	■	
eIF2B	■	
GATA	■	
cJun	■	
eIF4E	■	
NFAT	■	
CREB	■	
MEF2		
ATF2	■	
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-4	Basin size: 0.00464
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		
Nodes	Cyclic attractor-5	Basin size: 0.00443
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		
Nodes	Cyclic attractor-6	Basin size: 0.00442
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-7	Basin size: 0.0044
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		
Nodes	Cyclic attractor-8	
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		
Nodes	Cyclic attractor-9	
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		
Nodes	Cyclic attractor-10	
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

표 27. 허혈성 심부전 상황에서 심근세포 신호전달네트워크 수학모델의 끌개모양.

Nodes	Cyclic attractor-1	Basin size: 0.04235
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-2	Basin size: 0.04135
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-3	Basin size: 0.04111
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-4	Basin size: 0.03725
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		
Nodes	Fixed attractor-5	
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-6	Basin size: 0.0341
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-7	Basin size: 0.02983
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-8	Basin size: 0.02858
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-9	Basin size: 0.02704
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-10	Basin size: 0.02076
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

표 28. 비허혈성 심부전 상황에서 심근세포 신호전달네트워크 수학모델의 끌개모양.

Nodes	Fixed attractor-1	Basin size: 0.04765
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		
Nodes	Cyclic attractor-2	
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		
Nodes	Cyclic attractor-3	
cFos		
COX-2		
BNP		
ANP		
α MHC		
β MHC		
eIF2B		
GATA		
cJun		
eIF4E		
NFAT		
CREB		
MEF2		
ATF2		
Casp3		

Nodes	Cyclic attractor-7	Basin size: 0.0163
cFos	■	
COX-2	■	
BNP	■	
ANP	■	
α MHC	■	
β MHC	■	
eIF2B	■	
GATA	■	
cJun	■	
eIF4E	■	
NFAT	■	
CREB	■	
MEF2	■	
ATF2	■	
Casp3	■	

Nodes	Cyclic attractor-8	Basin size: 0.01615
cFos	■	
COX-2	■	
BNP	■	
ANP	■	
α MHC	■	
β MHC	■	
eIF2B	■	
GATA	■	
cJun	■	
eIF4E	■	
NFAT	■	
CREB	■	
MEF2	■	
ATF2	■	
Casp3	■	

Nodes	Cyclic attractor-9	Basin size: 0.01185
cFos	■	
COX-2	■	
BNP	■	
ANP	■	
α MHC	■	
β MHC	■	
eIF2B	■	
GATA	■	
cJun	■	
eIF4E	■	
NFAT	■	
CREB	■	
MEF2	■	
ATF2	■	
Casp3	■	

Nodes	Cyclic attractor-10	Basin size: 0.0118
cFos	■	
COX-2	■	
BNP	■	
ANP	■	
α MHC	■	
β MHC	■	
eIF2B	■	
GATA	■	
cJun	■	
eIF4E	■	
NFAT	■	
CREB	■	
MEF2	■	
ATF2	■	
Casp3	■	

표 29. 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서 심근세포의 사멸과 비대를 효과적으로 제어하는 질병조절자.

Ischemic HF condition		Pressure overload-induced HF condition	
Control nodes	Control direction	Control nodes	Control direction
Gaq/11	Inhibition	TGFR	Inhibition
TRAF	Inhibition	Integrins	Inhibition
PI3K	Inhibition	PI3K	Inhibition
AC	Inhibition	Gaq/11	Inhibition
G/S	Inhibition	TRAF	Inhibition
•	•	Ras	Inhibition
•	•	Gsa	Inhibition

표 30. 약물표적의 목록.

Drug target	Classification	Reference
AT1R	Approved	24203711
ET1R	Approved	24203711
α AR	Approved	24203711
β 1AR	Approved	24203711
β 2AR	Approved	24203711
AC	Under research	23281408
Akt	Under research	12563301, 23281408
ASK1	Under research	27713345, 12563301
CAMKII	Under research	27713345
DAG	Under research	27713345
ERK1/2	Under research	27713345, 12563301
ERK5	Under research	27713345
FAK	Under research	22383703
Gaq/11	Under research	12563301
G $\beta\gamma$	Under research	12563301
HDACII	Under research	23281408
Integrins	Under research	21637377
JNK	Under research	27713345, 12563301
MEK1/2	Under research	12563301
MEKK1	Under research	12563301
MKK3/6	Under research	12563301
MKK4	Under research	12563301
MKK7	Under research	12563301
MLK3	Under research	12563301
p38	Under research	27713345, 12563301
PDE5	Under research	23281408
PI3K	Under research	27713345, 23281408
PKA	Under research	27713345
PKC	Under research	27713345, 12563301
PKG1	Under research	23281408
Raf	Under research	12563301
Ras	Under research	12563301
RhoA	Under research	23281408
TAK1	Under research	12563301
TGFR	Under research	26431212
TRAF	Under research	24378234
β -arrestin	Under research	21074538

표 31. 질병조절자가 임상에서 사용 중인 여러 심부전 치료제의 효능에 미치는 영향

A. 임상에서 사용 중인 여러 심부전 치료제를 처치함과 더불어 질병조절자의 활성도를 동시에 제어하였을 때 심근세포의 정상표현형에 미치는 영향

	Ischemic HF condition				Pressure overload-induced HF condition			
	Number of sampled nodes	Increased average basin sizes of attractors for the normal phenotype [%]		p-value	Number of sampled nodes	Increased average basin sizes of attractors for the normal phenotype [%]		p-value
		Control nodes-drug targets	Random drug targets			Control nodes-drug targets	Random drug targets	
β -blocker	1	1.275	0.519	0.031	1	2.700	0.881	0.011
	2	3.533	2.649	0.034	2	7.847	2.128	<0.001
	3	7.025	4.232	<0.001	3	16.900	2.456	<0.001
	4	11.320	5.935	<0.001	4	32.073	3.991	<0.001
	5	•	•	•	5	56.750	5.439	<0.001
	6	•	•	•	6	96.400	7.325	<0.001
α -blocker	1	0.925	0.781	0.627	1	2.383	0.895	0.024
	2	2.667	1.698	<0.001	2	6.593	1.876	<0.001
	3	5.950	2.475	<0.001	3	13.575	2.359	<0.001
	4	11.190	3.657	<0.001	4	24.753	3.556	<0.001
	5	•	•	•	5	42.267	4.869	<0.001
	6	•	•	•	6	68.730	5.709	<0.001
AT1R-blocker	1	0.775	0.673	0.785	1	3.683	0.835	0.013
	2	2.217	2.082	0.597	2	9.080	1.753	<0.001
	3	5.250	3.302	<0.001	3	16.910	1.281	<0.001
	4	11.060	4.234	<0.001	4	28.233	2.854	<0.001
	5	•	•	•	5	44.550	3.923	<0.001
	6	•	•	•	6	67.200	4.573	<0.001
ET1R-blocker	1	0.525	0.473	0.089	1	2.683	0.786	0.010
	2	1.867	1.498	<0.001	2	7.173	1.656	<0.001
	3	4.975	2.263	<0.001	3	14.370	2.046	<0.001
	4	10.680	3.238	<0.001	4	25.573	3.276	<0.001
	5	•	•	•	5	42.667	4.385	<0.001
	6	•	•	•	6	67.800	5.079	<0.001

B. 임상에서 사용 중인 여러 심부전 치료제를 처치함과 더불어 질병조절자의 활성도를 동시에 제어하였을 때 심근세포의 사멸표현형에 미치는 영향

	Ischemic HF condition				Pressure overload-induced HF condition			
	Number of sampled nodes	Decreased average basin sizes of attractors for apoptosis [%]		p-value	Number of sampled nodes	Decreased average basin sizes of attractors for apoptosis [%]		p-value
		Control nodes-drug targets	Random drug targets			Control nodes-drug targets	Random drug targets	
β -blocker	1	13.150	3.035	0.002	1	8.550	3.714	0.055
	2	32.333	4.326	<0.001	2	17.087	3.589	<0.001
	3	58.975	6.506	<0.001	3	28.355	6.944	<0.001
	4	92.680	9.340	<0.001	4	43.113	8.620	<0.001
	5	•	•	•	5	62.050	9.901	<0.001
	6	•	•	•	6	85.300	11.712	<0.001
α -blocker	1	8.600	1.200	<0.001	1	6.517	1.246	0.003
	2	23.600	2.532	<0.001	2	12.593	2.563	<0.001
	3	50.200	3.584	<0.001	3	20.430	5.177	<0.001
	4	92.650	5.647	<0.001	4	30.480	5.691	<0.001
	5	•	•	•	5	43.100	7.345	<0.001
	6	•	•	•	6	57.530	8.778	<0.001
AT1R-blocker	1	6.375	0.354	<0.001	1	6.733	0.330	<0.001
	2	18.167	0.859	<0.001	2	11.987	0.818	<0.001
	3	41.675	0.639	<0.001	3	18.590	1.566	<0.001
	4	83.050	1.817	<0.001	4	26.793	2.122	<0.001
	5	•	•	•	5	36.683	2.929	<0.001
	6	•	•	•	6	47.300	3.722	<0.001
ET1R-blocker	1	6.575	0.908	<0.001	1	6.517	0.984	0.001
	2	19.250	1.946	<0.001	2	12.453	2.056	<0.001
	3	44.500	2.993	<0.001	3	19.975	4.513	<0.001
	4	88.200	4.584	<0.001	4	29.473	5.202	<0.001
	5	•	•	•	5	41.200	6.446	<0.001
	6	•	•	•	6	54.300	7.584	<0.001

C. 임상에서 사용 중인 여러 심부전 치료제를 처치함과 더불어 질병조절자의 활성도를 동시에 제어하였을 때 심근세포의 비대표현형에 미치는 영향

	Ischemic HF condition				Pressure overload-induced HF condition			
	Number of sampled nodes	Decreased average basin sizes of attractors for hypertrophy [%]		p-value	Number of sampled nodes	Decreased average basin sizes of attractors for hypertrophy [%]		p-value
		Control nodes-drug targets	Random drug targets			Control nodes-drug targets	Random drug targets	
β-blocker	1	1.275	0.522	0.032	1	2.700	0.881	0.011
	2	3.533	2.660	0.036	2	7.980	2.142	<0.001
	3	7.025	3.882	<0.001	3	17.450	2.714	<0.001
	4	11.390	5.743	<0.001	4	33.313	4.146	<0.001
	5	•	•	•	5	58.417	6.027	<0.001
	6	•	•	•	6	96.400	7.484	<0.001
α-blocker	1	0.925	0.889	0.907	1	2.383	0.976	0.033
	2	2.667	1.923	0.001	2	6.727	2.040	<0.001
	3	5.950	2.840	<0.001	3	14.045	2.606	<0.001
	4	11.290	4.258	<0.001	4	25.707	3.881	<0.001
	5	•	•	•	5	43.450	5.465	<0.001
	6	•	•	•	6	68.730	6.367	<0.001
AT1R-blocker	1	0.775	0.416	0.180	1	3.683	0.838	0.013
	2	2.217	2.119	0.002	2	9.280	1.781	<0.001
	3	5.250	3.382	<0.001	3	17.520	1.389	<0.001
	4	11.110	4.500	<0.001	4	29.313	3.007	<0.001
	5	•	•	•	5	45.733	4.324	<0.001
	6	•	•	•	6	67.200	4.988	<0.001
ET1R-blocker	1	0.525	0.481	0.824	1	2.683	0.789	0.010
	2	1.867	1.529	0.071	2	7.353	1.680	<0.001
	3	4.975	2.326	<0.001	3	14.920	2.137	<0.001
	4	10.830	3.435	<0.001	4	26.593	3.393	<0.001
	5	•	•	•	5	43.850	4.734	<0.001
	6	•	•	•	6	67.800	5.458	<0.001

표 32. 허혈성/비허혈성 심부전 상황에서 여러 심부전 치료제의 효능을 효과적으로 증진시키는 최적 조합의 질병조절자. 검은색 상자는 최적 조합에 해당하는 질병조절자를 나타냄.

Drugs	No. of perturbed control nodes	Optimal combinations of control nodes									
		Ischemic HF				Pressure overload-induced HF					
		Gαq/11	TRAF	PI3K	AC	RAS	Gαq/11	TGFR	PI3K	TRAF	Integrins
β-blocker	1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	2	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	4	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	5	•	•	•	•	■	■	■	■	■	■
	6	•	•	•	•	■	■	■	■	■	■
α-blocker	1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	2	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	4	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	5	•	•	•	•	■	■	■	■	■	■
	6	•	•	•	•	■	■	■	■	■	■
AT1R-blocker	1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	2	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	4	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	5	•	•	•	•	■	■	■	■	■	■
	6	•	•	•	•	■	■	■	■	■	■
ET1R-blocker	1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	2	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	4	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	5	•	•	•	•	■	■	■	■	■	■
	6	•	•	•	•	■	■	■	■	■	■

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

허혈성 및 비허혈성 심부전의 이행 단계별 전사체 분석을 통한 심혈관 질환 분자진단 및 맞춤형 치료 원천 기술 개발

3-2. 목표 달성여부

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

이행단계별 심부전 환자의 혈액은 확보하였으나 심부전 동물모델의 혈액은 확보하지 못함. 이행단계별 심부전 동물모델을 추가 구축하였으나, 동물모델에서 차세대염기서열분석법에 필요한 충분한 circulating miRNA 농도를 얻기가 어려움.

심부전 환자 혈액 확보가 계획보다 늦어져 차세대염기서열분석법을 이용하지는 못했으나, high-throughput microarray를 통하여 대규모로 circulating noncoding RNA 발현의 변화를 프로파일링하고 심부전 바이오마커 후보물질을 발굴함.

심부전환자를 대상으로 직접적인 심장조직 채취는 절차상 어려움이 있으므로, 전국 17개 인체자원단위은행이 포함된 한국인체자원은행네트워크를 통해 심부전환자의 조직을 지속적으로 확보해보고자 하였으나 충분한 개수를 만족하는데 어려움이 있었음. 향후 계속하여 심부전환자의 조직을 확보할 계획임.

4. 연구개발성과의 활용 계획 등

- 연구를 통해 생산된, 심부전 이행과정별 대용량 전사체 데이터 및 심부전 질환 특이적 유전자 네트워크는 두가지 주요 심부전 유형의 발병기전 차이를 시스템 수준에서 이해하고, 나아가 맞춤형 치료제 개발에 활용 될 수 있음
- 허혈성 및 비허혈성 심부전 이행과정의 차이를 뚜렷하게 구분 할 수 있는 다수의 신규 발굴된 바이오마커 후보물질을 바탕으로 환자를 대상으로 그 적합성을 추가 검증함으로써, 향후 심부전 분자진단 기술을 개발하고, 이를 바탕으로 특허권 확보 및 기술이전 등에 활용 될 것임
- 심부전 전사인자 동정 및 네트워크 규명 연구를 통해 확보된 심부전 관련 유전자 정보는 향후 연구에 적극적으로 활용될 계획이며, MI 모델에서 발현변이를 보이는 7종의 KRAB 전사인자 유전자를 발굴, 그 중 핵심 전사인자 Zfp189와 하위유전자 Tmed2를 발굴함. 다수의 핵심 전사인자-하위유전자의 발현변이와 이들 유전자들과 심부전의 연관 관계를 밝히는 연구에 활용할 예정임
- 심부전 AS 분석 및 네트워크 연구를 통해 확보된 심부전 관련 유전자 정보는 표적단백질의 삼차원 구조, 기능연구가 뒷받침된다면 구조정보를 기반으로 한 새로운 심혈관 관련 질병치료제 개발에 응용될 수 있음
- 제 1세부과제에서 도출한 심부전의 전사체 연구는 제2세부과제의 단백질체와 비교분석하여 보다 종합적인 이해에 활용될 것임. 또한 제 3세부과제에서 수행하는 수학적 모델링 및 동역학 연구에 활용되어 치료제의 생체 내 동역학을 예측하고 이후 개인별 맞춤 의학을 구현함에 크게 이바지할 것임
- 본 연구에서 구축하는 데이터베이스(<http://www.kcpavs.cidms.org>)와 이를 통해 제공되는 대용량 데이터 및 생물정보 분석도구는 전 세계 심혈관 질환 연구자들에게 보다 유용한 정보를 제공하는 핵심 인프라로 활용될 수 있음
- 허혈성 및 비허혈성 심부전 동물모델의 단백질체 분석을 통해 심부전의 발병과 진행 기전에 대한 시스템적 이해가 가능하리라 사료됨

합용방안



- 심부전 이행 특이 단백질 네트워크의 규명과 이를 이용한 심부전의 진단/발병/진행의 예측을 통해 의료적 선진화가 가능하리라 사료되어 기술의 중개연구를 통해 임상에의 적용을 목표로 함.
- 특히 심부전 발병기전별 특이 단백질 네트워크의 차이점을 분석함으로써, 향후의 심부전 진단/발병/치료에 대한 맞춤형 처리가 가능하리라 기대되며 추가적인 연구를 토대로 향후 특허권 확보와 이의 기술이전 등을 고려할 예정임
- 본 과제를 통해 개발될 네트워크 질병조절자에 기반한 심부전 이행의 분류법은 기존의 임상지침에 기반한 심부전 분류체계의 대안으로 임상진단에 널리 이용될 수 있다.
- 심부전 이행의 수학적모델을 바탕으로 한 시뮬레이션 분석을 통하여 심부전 치료제의 치료효과를 가상공간에서 탐구하고 이를 임상에 적용함으로써 효과적인 치료전략을 수립할 수 있다.
- 네트워크 질병조절자를 규명함으로써 맞춤형 심부전 치료제의 약물 표적을 발굴할 수 있고, 또한 신규 후보신약물질의 효능분석 및 우수한 진단용 바이오마커 개발에 활용될 수 있다.
- 본 과제를 통해 도출될 네트워크 질병조절자의 개념과 이를 활용한 분석법은 심부전이외의 여타 복잡계 질환에도 적용 가능한 원천기술이므로 향후 다른 종류의 질환 연구에도 널리 활용될 수 있다.
- 본 과제를 통해서 개발될 네트워크 질병조절자에 기반한 심부전 이행의 분류법은 시스템생물학 기술이 임상과학연구에 응용되어 미래의 부가가치를 창출하는 신산업 형성의 근간을 마련할 수 있음을 보여주는 좋은 사례가 될 것이다.
- 본 과제의 연구결과는 국내외의 실험생물학자, 임상의료진, 약학자 등 심장질환 관련 연구자와 관련 기술, 산업 분야에 확대 제공될 수 있다. 이러한 기술 확산을 통해 심부전 이행의 숨겨진 동역학 메커니즘에 대한 연구전반에 본 연구의 성과가 활용될 수 있다.
- 본 연구를 통하여 개발될 방법론은 맞춤치료를 위한 핵심 원천기술이므로 특허 및 기술이전을 통하여 고부가가치를 창출할 수 있다.
- 본 연구를 통하여 배출될 융합형 석, 박사 졸업자들은 향후 대한민국 바이오 및 임상분야의 발전에 공헌하게 될 중요한 인재들이 될 것이다

붙임. 참고문헌

- [1] Orengo JP, Chambon P, Metzger D et al., Expanded CTG repeats within the DMPK 3' UTR causes severe skeletal muscle wasting in an inducible mouse model for myotonic dystrophy. *Proc. Natl, Acad. Sci.* (2008) 105: 2646-2651.
- [2] Kalsotra A, Tran D, Ward A et al., A conserved program of regulated alternative splicing during vertebrate heart development *Proc. Natl, Acad. Sci.* (2008) 105: 20333-20338.
- [3] He A, Kong SW, Ma Q et al, Co-occupancy by multiple cardiac transcription factors identifies transcriptional enhancers active in heart *Proc. Natl, Acad. Sci.* (2011) 108: 5632-5637.
- [4] He A, Shen X, Ma Q et al., PRC2 directly methylates GATA4 and represses its transcriptional activity *Genes Dev.* (2012) 26: 37-42.
- [5] Andersson KB, Florholmen G, Winer LH et al., Regulation of neuroal type genes in congestive heart failure rats. *Acta. Physiol.* (2006) 186:17-27
- [6] Husberg C, Nygard S, Finsen AV et al., Cytokine expression profiling of the myocardium reveals a role for CXCL1 (fractalkine) in heart failure. *J. Mol. Cell Cardiol.* (2008) 45: 261-269.
- [7] Yang KC, Yamada KA, Patel AY et al., Deep RNA sequencing reveals dynamic regulation of myocardial noncoding RNAs in failing human heart and remodeling with mechanical circulatory support. *Circulation.* (2014) 129(9):1009-21
- [8] Ounzain S, Micheletti R, Beckmann T et al., Genome-wide profiling of the cardiac transcriptome after myocardial infarction identifies novel heart-specific long non-coding RNAs. *Eur Heart J.* (2015) 7;36(6):353-68a
- [9] Wang M, Luo J, Wan L et al., Screening genes associated with myocardial infarction and transverse aortic constriction using a combined analysis of miRNA and mRNA microarray. *Gene.* (2015) 25;571(2):245-8

주 의

1. 이 보고서는 과학기술정보통신부에서 시행한 바이오·의료기술개발사업 의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 과학기술정보통신부에서 시행한 바이오·의료기술 개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.