(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0069470
(43) 공개일자 2025년05월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) *C12Q 1/6883* (2018.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
C12Q 1/6883 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2024-0159484
(22) 출원일자 2024년11월11일
심사청구일자 2024년11월11일
(30) 우선권주장
1020230155260 2023년11월10일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
성혜
서울특별시 종로구 사직로1나길 13, 2층 201호 (행촌동, 행촌동 다세대 주택)
송준영
서울특별시 양천구 목동남로4길 80, 106동 1201호 (신정동, 목동파크자이)
김재영
대전광역시 유성구 죽동로 72 (죽동)
(74) 대리인
특허법인 무한

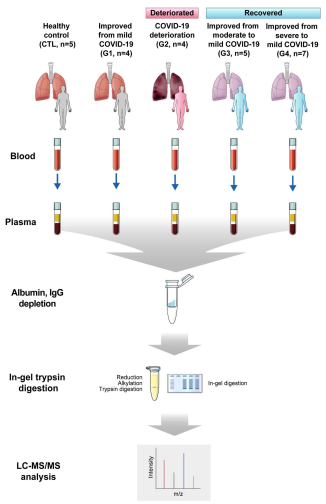
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **단백질체 바이오마커를 통해 코로나바이러스 감염증의 예후를 예측하기 위한 정보제공방법**

(57) 요 약

본 발명은 코로나바이러스 감염증의 예후를 예측하기 위한 정보제공방법 및 좋은 예후를 나타내는 바이오마커를 포함하는 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 코로나바이러스 감염 후 단백질체 프로파일링을 통해 개선되거나 악화된 예후와 관련있는 단백질 바이오마커들을 확인하여 이를 코로나바이러스 감염증의 예후 예측을 위한 조성물 등으로 완성한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12Q 2600/118 (2013.01)
G01N 2333/165 (2013.01)
G01N 2800/52 (2021.08)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345351121
과제번호 2021R1I1A1A01050391
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 이공학학술연구기반구축
연구과제명 코로나바이러스-19 백신을 투여받은 사람의 면역원성에 영향을 미치는 마이크로바이옴 요소 규명
과제수행기관명 고려대학교 산학협력단
연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711159300
과제번호 2021M3E5D1A01015187
부처명 다부처
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 혁신형의사과학자공동연구(과기정통부,복지부)
연구과제명 코로나바이러스-19환자의 치료 경과 개선을 위한 핵심 마이크로바이옴 요소 규명과 이를 활용한 프로바이오틱스 개발
과제수행기관명 고려대학교 산학협력단
연구기간 2022.01.01 ~ 2022.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711197749
과제번호 00248021
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)
연구과제명 프로테오믹스를 활용한 MASTL의 위암 조절 기전 연구
과제수행기관명 충남대학교산학협력단
연구기간 2023.06.01 ~ 2024.05.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커를 검출하는 단계를 포함하는, 코로나바이러스 감염증 환자의 예후 예측 정보를 제공하는 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 단계 이후에, 대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003) 및 TTHY(Uniprot ID: P02766)로 이루어지는 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커가 검출되면, 코로나바이러스 감염증에 대한 예후가 좋은 대상체로 판정하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 단계 이후에, 대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어지는 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커가 검출되면, 코로나바이러스 감염증에 대한 예후가 나쁜 대상체로 판정하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 4

PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 바이오마커 조성물.

청구항 5

PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 PROC, A2MG, CFAH, CHLE, C4BPA, TTHY, APOA4, KLKB1, HV316, CLUS, PON1, CO2, FETUB, CO2 및 KAIN의 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고 펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 앱타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 조성물.

청구항 7

제 5항에 있어서,

상기 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 PROC, A2MG, CFAH, CHLE, C4BPA, TTHY, APOA4, KLKB1, HV316, CLUS, PON1, CO2, FETUB, CO2 및 KAIN을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 조성물.

청구항 8

제 5항 내지 제 7항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 코로나바이러스 감염증 환자의 예후를 예측하기 위한 단백질체 바이오마커를 이용한 정보제공방법 등에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 코로나바이러스 감염증 2019(COVID-19)는 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2)에 의해 유발되는 새로운 호흡기 감염 질환이다. 2019년 12월 중국 우한에서 퍼졌고 현재 범유행(pandemic)을 일으키고 있으며 전 세계적으로 심각한 건강 위기를 초래하고 있다. 2022년 3월 3일을 기준으로 전 세계적으로 4억 4200만 명 이상의 코로나19 확진자와 590만 명 이상의 사망자가 기록되었다.

[0004] COVID-19 대유행의 초기 단계에서 대부분의 COVID-19 환자는 자가 제한적인 경증 호흡기 질환을 나타내었지만 20%는 중증 질환으로 고통받았고 이 중 5%는 사망하였다. 고령 및 기저 질환은 중증 질환 및 불량한 예후의 중요한 위험 요소로 보고되고 있다. 그러나 연령 및 동반 질환에 관계없이 큰 개인차가 존재하였으며, 바이러스 독성 인자 외에도 개별 숙주 인자를 더 잘 이해하는 것이 COVID-19의 예후 예측에 필수적이다.

[0005] 환자 혈청의 단백질체 프로파일링은 질병의 중증도와 임상 결과를 예측할 수 있는 예후 마커를 발견하기 위해 수행되고 있다. 이 기술은 또한 COVID-19 감염에 대한 숙주의 생리적 반응을 이해하고 잠재적인 치료 표적을 찾아내는 데 도움을 주고 있다. SARS-CoV-2 감염 후 중증 임상 상태로 진행된 환자들 중 일부는 악화되는 반면, 일부는 경증으로 회복할 수 있지만 많은 단백질체 연구가 중증과 비중증 COVID-19 사례 간의 차이를 탐구했음에도, 이미 중증 증상을 보인 환자들의 회복에 영향을 미칠 수 있는 분자적 요인이나 바이오마커를 조사한 연구는 거의 없었다. 본 발명자들은 악화되는 COVID-19 증상을 보이는 환자들과 중등도 또는 중증 상태에서 회복된 환자들을 포함하는 독특한 환자 코호트의 혈청 샘플에 단백질체 프로파일링을 적용하여 이들 그룹 간의 차등 발현 단백질(DEPs)을 식별하고 경로 및 네트워크 분석을 수행함으로써 잠재적인 예후 마커를 발견하여 이를 발명으로 완성해 제공하고자 한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커를 검출하는 단계를 포함하는, 코로나바이러스 감염증 환자의 예후 예측 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명이 이루고자 하는 또 다른 기술적 과제는 상기 바이오마커를 검출하는 제제를 포함하는 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커를 검출하는 단계를 포함하는, 코로나바이러스 감염증 환자의 예후 예측 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0012] 일 측에 따르면, 상기 단계 이후에, 대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003) 및 TTHY(Uniprot ID: P02766)로 이루어지는 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커가 검출되면, 코로나바이러스 감염증에 대한 예후가 좋은 대상체로 판정하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0013] 일 측에 따르면, 상기 단계 이후에, 대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어지는 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커가 검출되면, 코로나바이러스 감염증에 대한 예후가 나쁜 대상체로 판정하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0014] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 바이오마커 조성물이 제공된다.

[0015] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 조성물이 제공된다.

[0016] 일 측에 따르면, 상기 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 PROC, A2MG, CFAH, CHLE, C4BPA, TTHY, APOA4, KLKB1, HV316, CLUS, PON1, CO2, FETUB, CO2 및 KAIN의 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고 펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 앱타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0017] 일 측에 따르면, 상기 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 PROC, A2MG, CFAH, CHLE, C4BPA, TTHY, APOA4, KLKB1, HV316, CLUS, PON1, CO2, FETUB, CO2 및 KAIN을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0018] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 상기 어느 하나의 조성물을 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 키트가 제공된다.

발명의 효과

[0020] 상기 정보제공방법에 따르면 코로나바이러스 감염증 초기의 대상체의 검체로부터 단백질 바이오마커의 구성을 파악하여 대상체의 질환의 예후를 예측할 수 있다. 이를 통해 대상체 맞춤형 치료전략을 수립할 수 있어 부작용을 최소화하고, 적절한 의료자원 배분이 이루어질 수 있다.

[0021] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 본 발명의 실험과정 개략도를 나타낸다.

도 2는 단백질체 분석을 통해 총 181개의 단백질을 식별하고 정량화한 결과를 나타낸다.

도 3은 COVID-19 감염시 차등 발현 단백질을 나타낸 것이다.

도 4는 COVID-19 감염시 차등 발현 단백질을 STRING 데이터베이스의 상호작용 네트워크로 나타낸 것이다.

도 5는 COVID-19 환자 중 악화된 환자와 회복된 환자 간의 차등 단백질체 분석결과를 그룹 2와 3을 비교하여 나타낸 것이다.

도 6은 COVID-19 환자 중 악화된 환자와 회복된 환자 간의 차등 단백질체 분석결과를 그룹 2와 4를 비교하여 나타낸 것이다.

도 7은 실시예 4의 두 그룹간 비교에서 14개의 DEPs를 분석한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 본 발명자들은 코로나바이러스 감염증 감염 직후 서로 다른 임상 결과를 보이는 20명의 COVID-19 환자와 5명의 건강한 대조군으로 구성된 코호트의 혈청 단백질체를 분석했다. 이후 감염증의 진행에 따라 예후가 좋아지거나 나빠지는 환자군별로 상이하게 발현되는 단백질을 확인하였다. 분석 결과 181개의 단백질이 확인되었으며, 그 중 14개는 상태가 악화된 환자와 회복한 환자 간의 차등 발현을 보였다. 이들 단백질에 대한 네트워크 및 경로 분석을 통해 특히 COVID-19 회복에 중심적인 보체 조절과 같은 잠재적인 생물학적 과정을 확인하였다.

[0025] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커를 검출하는 단계를 포함하는, 코로나바이러스 감염증 환자의 예후 예측 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0026] 상기 대상체는 바람직하게는 코로나바이러스 감염증에 감염된 대상체일 수 있고, 대상체로부터 분리된 생물학적 시료는 바람직하게는 대상체의 객담, 타액, 혈액, 체액, 혈청, 혈장, 소변, 비인두도말 및 분변일 수 있으나 이

에 한정되는 것은 아니다.

[0027] 본 명세서에서 사용된 용어 "바이오마커(biomarker)"란 발현 여부나 발현 정도에 따라 코로나바이러스 감염증을 가진 대상체의 예후를 예측할 수 있도록 선별된 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 의미한다.

[0028] 상기 바이오마커들은 상기 기재된 바와 같이 각 단백질 약어로 표기되는 것을 의미하며, 보다 구체적으로는 https://www.uniprot.org/ 에서 검색되는 Uniprot ID로 표시되는 것을 의미한다.

[0029] 상기 바이오마커의 검출은 당 업계에 공지된 방법을 이용해 이루어질 수 있으며, 검출하고자 하는 성분이 유전자인 경우 핵산에 상보적 결합이 가능한 프라이머, 프로브, 압타머, 또는 항체일 수 있으며, 단백질인 경우 LC-MS(liquid chromatography-mass spectrometry) 기법을 통해 또는 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)를 통해 이루어질 수 있고, 이 외의 경우에 대해서는 이들을 정량화할 수 있는 시약 또는 화학 물질을 통해 검출될 수 있다.

[0030] 본 발명에서 사용되는 용어 "예후"란 특정 질병 또는 질환에 대한 한 객체 즉 검사 대상자가질환을 차후에 가지게 될지의 여부를 판단하거나 치료에 대한 검사 대상자의 반응성을 판단하는 것을 포함한다. 보다 구체적으로는 코로나바이러스 환자의 보조산소 필요 여부, 자가호흡 가능 여부, 폐렴증세 발현 여부를 비롯한 병증 및 질병에 기인한 사망 등의 병의 경과, 그리고 완치 여부를 의미한다. 본 발명의 목적상 예후는 코로나바이러스 감염증 환자의 질병의 경과 또는 생존 예후를 의미한다. 본 발명의 상기 방법을 이용하면, 코로나바이러스 감염증에 따른 예후가 호전될 것인지 여부를 판단할 수 있어, 추가적인 치료 방법의 사용 여부를 손쉽게 결정할 수 있다.

[0031] 본 명세서에서 사용되는 용어 "예측"이란, 환자의 질환의 경과 및 결과를 미리 예측하는 행위를 의미한다. 보다 구체적으로, 예후 예측이란 질환의 치료 후 경과는 환자의 생리적 또는 환경적 상태에 따라 달라질 수 있으며, 이러한 환자의 상태를 종합적으로 고려하여 치료 후 병의 경과를 예측하는 모든 행위를 의미하는 것으로 해석될 수 있다.

[0032] 일 측에 따르면, 상기 단계 이후에, 대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003) 및 TTHY(Uniprot ID: P02766)로 이루어지는 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커가 검출되면, 코로나바이러스 감염증에 대한 예후가 좋은 대상체로 판정하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0033] 일 측에 따르면, 상기 단계 이후에, 대상체로부터 분리된 생물학적 시료에서 APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어지는 군 중 어느 하나 이상의 바이오마커가 검출되면, 코로나바이러스 감염증에 대한 예후가 나쁜 대상체로 판정하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0034] 상기 "예후가 좋은"은 상술한 본 명세서에서 사용되는 용어 "예후"가 치료학적으로 긍정적인 변화를 나타내는 모든 것을 의미하며, 바람직하게는 하기 표 1에 개시된 국립 알레르기 및 전염병 연구소-서수 척도(NIAID-OS)의 단계가 낮아지는 것을 의미한다.

[0035] 상기 "예후가 나쁜"은 상술한 본 명세서에서 사용되는 용어 "예후"가 치료학적으로 부정적인 변화를 나타내는 모든 것을 의미하며, 바람직하게는 하기 표 1에 개시된 국립 알레르기 및 전염병 연구소-서수 척도(NIAID-OS)의 단계가 높아지는 것을 의미한다.

[0036] 본 발명에 따르면 코로나바이러스 감염증 환자를 국립 알레르기 및 전염병 연구소-서수 척도(NIAID-OS) 기준, 회복된 그룹(하기 3, 4 그룹)과 악화된 그룹(하기 2 그룹)으로 나누어, 감염 초기 시기(1주차 내지 2주차)에 두 그룹간 프로테오믹스 프로파일링을 수행하고, 예후가 나타난 이후 각 군별로 프로파일링 결과를 분석하여 좋은 예후를 보인 그룹의 유의미한 바이오마커와 나쁜 예후를 보인 그룹의 유의미한 바이오마커를 확인하였다.

[0038] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자를 포함

하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 바이오마커 조성물이 제공된다.

[0039] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, PROC(Uniprot ID: P04070), A2MG(Uniprot ID: P01023), CFAH(Uniprot ID: P08603), CHLE(Uniprot ID: P06276), C4BPA(Uniprot ID: P04003), TTHY(Uniprot ID: P02766), APOA4(Uniprot ID: P06727), KLKB1(Uniprot ID: P03952), HV316(Uniprot ID: A0A0C4DH30), CLUS(Uniprot ID: P10909), PON1(Uniprot ID: P27169), CO2(Uniprot ID: P06681), FETUB(Uniprot ID: Q9UGM5), CO2(Uniprot ID: P06681) 및 KAIN(Uniprot ID: P29622)로 이루어진 군 중 어느 하나 이상의 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정하는 제제를 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 조성물이 제공된다.

[0040] 본 명세서에서의 용어 "발현 수준을 측정"은 특정 단백질(펩타이드) 또는 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 존재 여부, 발현 여부 또는 발현 정도를 측정하는 것으로서, 구체적으로 상기 기재된 단백질 또는 이를 암호화하는 mRNA 또는 유전자의 발현 수준을 측정하는 것일 수 있다.

[0041] 일 측에 따르면, 상기 단백질의 발현 수준을 측정할 수 있는 제제는 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 또는 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 압타머일 수 있다.

[0042] 본 명세서에서의 용어 "항체 (antibody)"는 당해 기술분야에 공지된 용어로서 항원성 부위에 대하여 지시되는 특이적인 면역 글로불린을 의미한다. 예를 들어 상기 항체는 상기 열거된 단백질 또는 이의 단편에 대해 특이적으로 결합할 수 있다. 상기 단편은 상기 단백질에 대한 항체에 의해 인식될 수 있는 하나 이상의 에피토프(epitope)를 가지고 있는 단백질 단편을 의미하며, 예를 들어 면역원성 단편일 수 있다. 상기 항체의 형태는 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체, 또는 재조합 항체를 포함하며, 모든 면역글로불린 항체가 포함된다. 또한, 상기 항체는 인간화 항체 등의 특수 항체도 포함된다.

[0043] 이러한 항체들을 이용하여 당해 기술분야에 공지된 효소 면역측정법 (enzyme linked immunosorbent assay; ELISA), 방사선면역 측정법 (radioimmunoassay; RIA), 샌드위치 측정법 (sandwich assay), 폴리아크릴 겔상의 웨스턴 블롯팅 또는 면역 블롯팅 등의 방법에 의해 생물학적 샘플 중에 상기 단백질이 발현되었는지를 확인할 수 있다.

[0044] 본 명세서에서의 용어 "항체 단편"은 온전한 항체, 펩티드 또는 단백질의 구조를 갖지는 않지만, 항원성 부위에 대해 지시되는 특이적인 항원결합부위 또는 결합 도메인을 갖는 폴리펩티드를 의미한다. 상기 단편은 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄를 갖는 완전한 형태의 항체가 아닌 항체 분자의 기능적 단편을 포함한다. 항체 분자의 기능적 단편이란 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 의미하며, Fab, F(ab'), F(ab')2 또는 Fv일 수 있다. 상기 결합 단편은 최소한 7개 이상의 아미노산, 예를 들면 9 개 이상의 아미노산, 12개 이상의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0045] 상기 단백질을 검출하기 위한 분석 방법으로는 웨스턴 블랏, 엘라이자(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역확산법, 로케트(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역분석(Immunoassay), 면역화학염색분석(Immunohistochemistry Assay), 면역침전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체고정 분석법(Complement Fixation Assay), 유세포분석(Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS), 단백질칩(protein chip) 등이 있으나 이로 제한되는 것은 아니다.

[0046] 일 측에 따르면, 상기 유전자의 발현 수준을 측정할 수 있는 제제는 상기 유전자의 핵산 분자에 특이적으로 결합하는 프라이머 또는 프로브일 수 있다. 분석방법으로는 예를 들어, 역전사 중합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사 중합효소반응(Competitive RT-PCR), 실시간 역전사 중합효소반응(Realtime RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블랏팅(Northern blotting) 및 DNA 칩으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 이용한 방식이 사용될 수 있다.

[0047] 본 명세서에서의 용어 "프라이머(primer)"는 자유 3-말단 수산화기 (free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 특정 염기 서열에 대해 상보적인 주형 (template)과 염기쌍을 형성할 수 있고 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로서 작용하는 핵산 서열을 말한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응을 위한 시약(즉, DNA 폴리머라제 또는 역전사효소) 및 상이한 4가지의 뉴클레오시드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성을 개시할 수 있다. 예를 들어 상기 열거된 단백질을 암호화하는 유전자 또는 mRNA에 대한 특이적인 프라이머로서 7개 내지 50개의 뉴클레오티드 서열을 가진 센스 및 안티센스 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 실시하여 원하는 생성물의 생성량의 측정을 통해 개체의 코로나바이러스 감염증의 예후를 예측할 수 있다. PCR 조건, 센스 및 안티센스 프라이머의 길이는 당업계에 공지된 기술에 따라 적절히 선택될 수 있다. 상기 프라이머는 10 내지

100, 15 내지 100, 10 내지 80, 10 내지 50, 10 내지 30, 10 내지 20, 15 내지 80, 15 내지 50, 15 내지 30, 15 내지 20, 20 내지 100, 20 내지 80, 20 내지 50, 또는 20 내지 30 nt를 갖는 것일 수 있다.

[0048] 본 명세서에서의 용어 "프로브(probe)"는 표적 핵산 예를 들면, mRNA와 특이적으로 결합을 이룰 수 있는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하며 특정 mRNA의 존재 유무, 함량 및 발현량을 확인할 수 있도록 라벨링(labeling)되어 있을 수 있다. 프로브는 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide) 프로브, 단일가닥 DNA (single strand DNA) 프로브, 이중가닥 DNA(double strand DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 예를 들어 상기 열거된 단백질을 암호화하는 유전자 또는 mRNA와 상보적인 핵산 서열을 갖는 프로브를 이용하여 혼성화를 실시하여, 혼성화 정도를 통해 mRNA의 발현량을 측정함으로써 개체의 코로나바이러스 감염증의 예후를 예측할 수 있다. 적절한 프로브의 선택 및 혼성화 조건은 당해 기술분야에 공지된 기술에 따라 적절히 선택할 수 있다. 상기 프로브는 10 내지 100, 15 내지 100, 10 내지 80, 10 내지 50, 10 내지 30, 10 내지 20, 15 내지 80, 15 내지 50, 15 내지 30, 15 내지 20, 20 내지 100, 20 내지 80, 20 내지 50, 또는 20 내지 30 nt를 갖는 것일 수 있다.

[0049] 상기 프라이머 또는 프로브는 포스포아미다이트 (phosphoramidite) 고체 지지체 합성법이나 기타 널리 공지된 방법을 이용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 또한 이러한 핵산 서열은 당해 기술분야에 공지된 다양한 방법을 통해 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 예는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오티드 하나 이상의 동족체로의 치환, 또는 뉴클레오티드 간의 변형, 예를 들면 하전되지 않은 연결체(예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체 (예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)로의 변형을 포함할 수 있다. 또한 프라이머 또는 프로브는 검출 가능한 신호를 직접적으로 또는 간접적으로 제공할 수 있는 표지를 이용하여 변형될 수 있다. 상기 표지의 예는 방사성 동위원소, 형광성 분자, 또는 바이오틴을 포함할 수 있다.

[0053] 일 측에 따르면, 상기 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 PROC, A2MG, CFAH, CHLE, C4BPA, TTHY, APOA4, KLKB1, HV316, CLUS, PON1, CO2, FETUB, CO2 및 KAIN의 단백질에 특이적으로 결합하는 항체, 올리고 펩타이드, 리간드, PNA(peptide nucleic acid) 및 앱타머(aptamer)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0054] 일 측에 따르면, 상기 발현 수준을 측정하는 제제는 상기 PROC, A2MG, CFAH, CHLE, C4BPA, TTHY, APOA4, KLKB1, HV316, CLUS, PON1, CO2, FETUB, CO2 및 KAIN을 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합하는 프라이머, 프로브 및 안티센스 뉴클레오티드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0055] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 상기 어느 하나의 조성물을 포함하는, 코로나바이러스 감염증 예후 예측용 키트가 제공된다.

[0056] 상기 키트는 검출용 제제를 필수 구성요소로 포함할 수 있다. 비 제한적인 일 예로서 ELISA 키트의 경우, 캡쳐 항체, 검출항체, 완충액, 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액, 멸균수 등을 포함할 수 있다. 상기 키트에는 이외에 기능적 바이오마커의 측정을 용이하게 하는 당업계에 공지된 여러 도구, 시약, 예를 들어 적합한 담체, 검출 가능한 신호를 생성할 수 있는 표지 물질, 안정화제 등이 포함될 수 있다.

[0058] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.

[0059] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안 된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0061] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0063] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0065] 실시예 1. 실험 방법

[0066] 실시예 1-1: 실험 개요 및 참가군

[0067] 2021년 1월 8일부터 9월 9일까지 대한민국의 두 개의 3차 병원인 고려대학교 구로병원과 충북대학교 병원에서 전향적 코호트 연구가 수행되었다. 총 25명이 등록되었으며, 이 중 20명은 COVID-19 환자, 5명은 건강한 대조군이었다. COVID-19 진단은 비인두 검체의 실시간(RT) 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 통해 확인되었다. 증상 발현 전 4주 이내에 프로바이오틱스를 복용한 환자는 연구에서 제외되었다. 건강한 대조군은 연구 시작 전 4주 동안 항생제, 프로바이오틱스, 완하제, 장운동 관련 약물 등을 복용하지 않았음을 확인한 후 선정되었는데, 이러한 약물은 미생물 군집에 영향을 줄 수 있기 때문이다. 모든 대조군은 비인두 RT-PCR 및 혈청학적 검사를 통해 SARS-CoV-2 음성 판정을 받았다. 인구통계학적 정보, 약물 사용, 방사선 검사 결과, 실험실 검사 결과, 식이 기록 등 세부 환자 데이터는 훈련된 두 명의 의사가 수집했다. 분석의 정밀도를 높이기 위해 환자들은 미국 알레르기 및 전염병 연구소의 오디널 척도(NIAID-OS; 하기 표 1)를 기준으로 네 가지 범주로 분류되었다:

[0068] G1: 병원 내 입원 기간 동안 NIAID-OS 4(0일)를 유지하며 경증 COVID-19에서 회복한 환자.

[0069] G2: NIAID-OS 4 또는 5(0일)에서 7 또는 8로 악화된 환자.

[0070] G3: 중등도에서 경증 COVID-19로 호전되어 NIAID-OS 5(0일)에서 4로 변환된 환자.

[0071] G4: 중증에서 경증 COVID-19로 호전되어 NIAID-OS 6(0일)에서 4로 변환된 환자. COVID-19 환자의 진행을 예측할 수 있는 조기 예후 마커를 식별하기 위해 0일 샘플의 단백질을 분석했다.

표 1

[0072]

환자군	NIAID-OS	단계
등록 인구집단	1	입원하지 않음, 활동에 제한 없음(Not hospitalized, no limitations on activities)
	2	입원, 활동 제한 없음 및/또는 가정용 산소 필요 없음(Not hospitalized, no limitations on activities and/or requiring home oxygen)
	3	입원, 보조 산소가 필요하지 않음 - 더 이상 지속적인 치료가 필요하지 않음(Hospitalized, not requiring supplemental oxygen- no longer requires ongoing medical care)
	4	입원, 보조 산소가 필요하지 않음 - 지속적인 치료가 필요함 (Hospitalized, nor requiring supplemental oxygen- requiring ongoing medical care)
	5	입원, 보조 산소 필요(Hospitalized, requiring supplemental oxygen)
	6	입원, 비침습적 환기 또는 고유량 산소 장치 사용 (Hospitalized, on non-invasive ventilation or high flow oxygen devices)
	7	입원, 기계적 환기 또는 ECMO (Hospitalized, on mechanical ventilation or ECMO)
	8	사망(Death)

[0074] 실시예 1-2. 샘플 수집

[0075] 참가자들의 혈액 샘플은 0일(등록), 7일, 14일, 28일에 걸쳐 연속적으로 수집되었다. 샘플 수집을 위해 정맥 천자를 사용했다. 채혈한 혈액은 혈청 분리 튜브에 담아 2500 rpm으로 -4° C에서 10분간 원심분리한 후, 혈청이 포함된 상층액을 깨끗한 플라스틱 스크류캡 바이알에 옮겨 -80° C에 보관하여 추후 분석에 사용했다.

[0077] 실시예 1-3. 임상 데이터의 통계 분석

[0078] 연속형 변수는 중앙값±사분위 범위로 나타냈고, 범주형 변수는 숫자(백분율)로 표시했다. 네 개의 예후 그룹 간의 차이를 위해 크루스칼-왈리스 검정을 시행했으며, 다중 비교를 위해 보니페로니 보정을 적용했다. 모든 통계 분석은 R 버전 4.1.2로 수행되었으며, 다중 검정에 대해 p-값을 조정했다. p-값 기준은 0.05 미만일 때 통계적 유의성을 나타냈다.

[0080] 실시예 1-4. 단백질체 분석

[0081] 저농도 단백질의 식별을 강화하기 위해, 혈청 샘플은 제조사의 지침에 따라 High-Select HSA/면역글로불린 제거 수지를 사용해 고농도 단백질을 제거했다. 이후 각 샘플에서 15 μg의 단백질에 해당하는 시료를 Lee, S.J., et al., Identification of Nucleolin as a Novel AEG-1-Interacting Protein in Breast Cancer via Interactome Profiling. Cancers (Basel), 2021. 13(11).에 설명된 대로 인-겔(in-gel) 다이제스쳔 했다. 생성된 트립신 소화 펩타이드는 LC-MS(Korea Basic Science Institute, Ochang, Republic of Korea)로 분석되었으며, MS 및 MS/MS 스펙트럼은 Lee, S.Y., et al., Serum proteomics of severe fever with thrombocytopenia syndrome patients. Clin Proteomics, 2022. 19(1): p. 32. 및 Choi, K.M., et al., Postmortem proteomics to discover biomarkers for forensic PMI estimation. Int J Legal Med, 2019. 133(3): p. 899-908.에서 설명된 대로 MaxQuant 소프트웨어(ver. 1.5.3.8)로 분석했다.

[0083] 실시예 1-5. 단백질체 데이터의 통계 및 생정보학 분석

[0084] 샘플 전반의 단백질 강도는 Normalyzer 도구(http://quantitativeproteomics.org/normalyzer;)를 사용해 정규화했다. 각 샘플은 두 번의 기술적 LC-MS 분석을 거쳤다. 기술적 복제본 중 하나에서 데이터가 누락된 경우, 남은 복제본의 값을 사용했다. 두 기술적 복제본에서 모두 탐지되지 않은 단백질은 '탐지되지 않음'으로 간주했다. 평균 값 및 p-값은 Excel(Microsoft)로 계산했으며, 화산도 및 상자 그림은 Prism(GraphPad)으로 생성했다. 차등 발현 단백질(DEPs)은 평균 폴드 변화가 2배 이상이고 p-값이 0.05 미만인 것으로 정의했다. 이러한 DEPs의 상호작용 네트워크는 STRING 데이터베이스(https://string-db.org)를 통해 탐색하고, Cytoscape 프로그램(http://cytoscape.org)으로 시각화했다. 경로 강화 분석은 STRING 데이터베이스와 DAVID 기능 주석 도구(https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp)를 사용해 수행했다. 계층적 클러스터링은 위 Choi, K.M., et al.,에 설명된 대로 유클리드 거리 함수를 사용한 비지도 계층적 방법(R 스크립트)으로 클러스터링했다.

[0086] 실시예 2. COVID-19 환자들의 차등 회복 반응에 대한 단백질체 특성화

[0087] 단백질체 분석은 20명의 COVID-19 환자와 5명의 건강한 대조군으로 구성된 코호트의 혈청을 사용해 수행되었다. COVID-19 환자들은 서로 다른 예후 그룹으로 분류되었다: 경증 COVID-19에서 회복한 환자(그룹 1), COVID-19 악화 환자(그룹 2), 중등도에서 경증으로 호전된 환자(그룹 3), 중증에서 경증으로 호전된 환자(그룹 4). COVID-19 환자와 건강한 대조군의 기본 특성은 하기 표 2에, 각 그룹의 실험실 검사 결과 비교는 하기 표 3에 제시되었다. 연구 설계는 도 1에 나타내었다. 단백질체 분석을 통해 총 181개의 단백질을 식별하고 정량화했으며, 이는 도 2에 나타내었다.

표 2

[0088]

특성	COVID-19 환자군 (*n* = 20)				*P* value	건강한 대조군 (*n* = 5)
	Group 1 (*n* = 4)	Group 2 (*n* = 4)	Group 3 (*n* = 5)	Group 4 (*n* = 7)		

나이(만)	57.5±31.0	59.0±35.0	67.0±21.0	68.0±22.0	0.698	45.0±31.0
남성 비율 (%)	1 (25.0)	3 (75.0)	3 (60.0)	4 (57.1)	0.642	2 (40.0)
BMI (kg/m^2)	20.5±13.3	25.5±8.6	24.0±5.5	24.1±5.2	0.677	25.9±8.3
증상 발현부터 등록까지의 기간(일)	3.5±7	4.5±4	10.0±5	6.0±8	0.071	-
1주일 이내 ATB 사용(%)	1 (25.0)	2 (50.0)	3 (60.0)	5 (71.4)	0.542	-
총 ATB 사용 기간(일)	$7.5±17^{ab}$	$24.0±17^{a}$	$9.0±13^{b}$	$10.0±7^{ab}$	0.021	-
덱사메타손 사용(%)	0 (0.0)	4 (100.0)	5 (100.0)	7 (100.0)	<0.001	-
렘데시비르 사용(%)	0 (0.0)	3 (75.0)	3 (60.0)	7 (100.0)	0.006	-
폐렴(%)	2 (50.0)	4 (100.0)	5 (100.0)	7 (100.0)	0.063	-
Ct 값, RdRp 유전자	20.23±17.5	21.55±7.72	30.12±6.55	25.73±7.22	0.113	-
Charlson 동반이환 지수	4.7±3.5	2.0±5.0	2.7±2.6	4.0±4.4	0.814	0.5±2.4
기저 질환						
고혈압	3 (75.0)	2 (50.0)	1 (20.0)	3 (42.9)	0.482	-
심근경색증	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (14.3)	>0.999	-
뇌혈관발작	0 (0.0)	1 (25.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.400	-
치매	1 (25.0)	1 (25.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.200	-
진성당뇨병	2 (50.0)	2 (50.0)	1 (20.0)	3 (42.9)	0.807	-
편마비	0 (0.0)	1 (25.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.400	-
말기신장질환	2 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.063	-

표 3

[0089]

특성	COVID-19 환자군(n = 20)				*P* value	건강한 대조군 (n = 5)
	Group 1 (n = 4)	Group 2 (n = 4)	Group 3 (n = 5)	Group 4 (n = 7)		
WBC (10^3cells/uL)	5.74±10.88	6.95±4.95	4.45±3.30	6.30±5.64	0.563	4.60±2.85
호중구(cells/uL)	3926.96 ±8107.89	6002.80 ±4475.68	3524.40 ±3145.90	4794.30 ±7026.50	0.712	2196.40 ±2004.60
림프구(cells/uL)	1195.72 ±2408.66	336.50 ±360.43	449.45 ±422.45	648.90 ±813.90	0.136	1378.80 ±1127.7
단핵구(cells/uL)	559.44 ±800.26	266.50 ±485.37	231.00 ±369.15	435.00 ±668.50	0.397	439.20±235.5
헤모글로빈(g/dL)	12.5±1.8	13.1±5.0	14.2±1.6	12.2±3.0	0.441	12.8±3.1
MCV (fL)	93.9±11.0	94.1±5.1	90.7±3.2	92.1±6.6	0.530	95.0±7.3
MCH (pg)	30.5±2.7	31.7±2.9	30.2±1.4	31.1±2.8	0.616	31.0±3.1
MCHC (g/dL)	32.5±0.9	33.5±1.5	33.9±1.0	33.7±1.2	0.092	33.3±1.4
혈소판 수 (10^3/uL)	154.5±185.0	165.0±75.0	205.0±165.0	189.0±124.0	0.604	252.0±122.0
BUN (mg/dL)	47.5±43.0	17.5±10.7	18.2±13.2	16.6±2.7	0.498	15.5±4.8
크레아티닌(mg/dL)	3.89±8.31	0.62±0.26	0.65±0.31	0.75±0.41	0.357	0.69±0.35
총 단백질(g/dL)	6.1±0.8	6.7±1.6	6.4±1.5	6.6±0.7	0.590	7.4±0.0
알부민(g/dL)	3.5±1.1	3.4±0.7	3.5±0.5	3.5±0.7	0.470	4.1±0.4
AST (IU/L)	21.0±58.0	38.0±15.0	45.0±65.0	54.0±24.0	0.233	24.0±17.0
ALT (IU/L)	18.5±21.0	30.0±41.0	33.0±44.0	43.0±27.0	0.197	26.0±20.0
총 빌리루빈(mg/dL)	0.30±0.18	0.39±0.29	0.55±0.21	0.52±0.20	0.071	-
HDL 콜레스테롤(mg/dL)	45.5±30.0	44.5±24.0	34.0±24.0	42.0±16.0	0.795	-
LDL 콜레스테롤(mg/dL)	58.5±71.0	101.0±91.0	71.0±44.0	67.0±50.0	0.413	-
트리글리세리드(mg/dL)	123.0±170.0	146.0±135.0	81.0±92.0	81.0±149.0	0.978	-
ESR (mm/hr)	59.5±45.0	42.0±53.0	67.0±23.0	57.0±47.0	0.678	-
CRP (mg/L)	11.24±58.48	46.69±56.72	132.39 ±135.49	18.8±91.81	0.103	-
프로칼시토닌(ng/mL)	0.32±0.73	0.09±0.09	0.16±0.16	0.07±0.04	0.068	-

LDH (IU/L)	559.5±100.0[a]	818.5±441.0[ab]	915.0±305.0[ab]	911.0±247.0[b]	0.046	-
페리틴(ng/mL)	401.95 ±326.40	1236.50 ±1980.15	608.30 ±1233.05	702.10 ±520.80	0.677	-
사이토카인(pg/mL)						
IFN-γ	3.11±8.93	0.00±11.13	0.00±13.42	0.43±10.02	0.831	0.00±0.00
IL-10	2.55±10.42[ab]	6.60±4.66[a]	2.19±1.54[ab]	0.85±1.08[b]	0.011	0.12±0.56
IL-2	0.00±0.00	0.00±6.72	0.00±4.61	0.00±0.33	0.620	0.00±0.00
IL-6	16.11±18.16	9.40±64.35	2.10±5.69	6.67±21.06	0.107	0.00±0.00
TNF-α	8.21±11.53	1.84±2.40	3.72±1.53	5.63±10.39	0.062	1.19±3.88
항-SARS-CoV-2 S IgG (U/mL)	0.40±153.45[a]	0.40±0.10[a]	3.16±13.31[a]	4.31±34.27[a]	0.045	-

[0090] 실시예 3. COVID-19 감염의 기초 단백질체 변화

[0091] 평균 변화가 2배 이상이고 p-값이 0.05 미만인 기준을 기반으로 차등 발현 단백질(DEPs)을 식별했다. 먼저 건강한 대조군과 그룹 1 환자 간의 단백질체 차이를 평가했다. 그 결과 그룹 1에서 대조군에 비해 20개는 발현이 증가하고 9개는 감소한 총 29개의 DEPs가 확인되었다(하기 표 4). 이러한 결과의 시각적 표현은 도 3에 나타내었다. STRING 데이터베이스의 상호작용 네트워크는 주로 보체 활성화 및 급성 염증 반응과 관련된 상호작용을 강조했다(도 4).

표 4

[0092]

Uniprot ID	*단백질*	*Uniprot description*	*$-log_{10}$ p value*	*log_2 Fold change*	*생물학적 기능 및 과정*
P00746	CFAD	Complement factor D	2.752	4.14	Innate immunity
P02750	A2GL	Leucine-rich alpha-2-glycoprotein	3.557	3.57	Response to bacterium
P02763	A1AG1	Alpha-1-acid glycoprotein 1	4.455	3.41	Acute phase, Transport
A0A0C4DH30	HV316	Probable non-functional immunoglobulin heavy variable 3-16	3.533	3.22	Immunity
P00739	HPTR	Haptoglobin-related protein	2.961	2.52	Acute inflammatory response
Q9NZP8	C1RL	Complement C1r subcomponent-like protein	1.302	2.44	Innate immunity
P22792	CPN2	Carboxypeptidase N subunit 2	2.945	2.41	Protein stabilization
P43251	BTD	Biotinidase	1.761	1.99	Hydrolase
P01011	AACT	Alpha-1-antichymotrypsin	4.189	1.94	Acute phase
P04275	VWF	von Willebrand factor	1.386	1.72	Blood coagulation
P19652	A1AG2	Alpha-1-acid glycoprotein 2	1.623	1.70	Acute phase, Transport
P00736	C1R	Complement C1r subcomponent	4.483	1.67	Complement pathway

Q9Y577	TRI17	E3 ubiquitin-protein ligase TRIM17	2.412	1.54	Ubl conjugation pathway
P00738	HPT	Haptoglobin	1.935	1.47	Acute phase, Immunity
P02746	C1QB	Complement C1q subcomponent subunit B	1.809	1.47	Complement pathway
P06681	CO2	Complement C2	3.336	1.44	Complement pathway
P10909	CLUS	Clusterin	1.833	1.36	Apoptosis, Complement pathway
P22352	GPX3	Glutathione peroxidase 3	1.904	1.23	Hydrogen peroxide catabolic process
P01009	A1AT	Alpha-1-antitrypsin	3.127	1.22	Acute phase, Blood coagulation
P25311	ZA2G	Zinc-alpha-2-glycoprotein	2.197	1.20	Immune response

Decreased proteins in the mild COVID-19 groups

Uniprot ID	*Protein*	*Uniprot description*	$-log_{10}$ *p value*	log_2 *Fold change*	*Biological function & process*
P02751	FINC	Fibronectin	3.188	-3.62	Heparin-binding
P27918	PROP	Properdin	2.486	-2.04	Complement pathway
P04070	PROC	Vitamin K-dependent protein C	1.868	-1.95	Serine protease
P00748	FA12	Coagulation factor XII	3.148	-1.89	Serine protease
P02766	TTHY	Transthyretin	2.740	-1.70	Thyroid hormone
O95445	APOM	Apolipoprotein M	1.912	-1.61	Lipid transport
P08603	CFAH	Complement factor H	3.027	-1.24	Complement pathway, Host-virus interaction
P02745	C1QA	Complement C1q subcomponent subunit A	1.756	-1.21	Complement pathway, Host virus interaction
P01023	A2MG	Alpha-2-macroglobulin	2.100	-1.04	Serine protease inhibitor

[0093] 실시예 4. 악화된 COVID-19 환자와 회복된 환자 간의 차등 단백질체 분석

[0094] 그룹 2, 3, 4의 모든 환자들은 동일한 치료 요법을 받았다. 그룹 2의 환자는 악화된 반면, 그룹 3과 4의 환자들은 경증으로 호전되었다. 주요 목표는 이 반응 카테고리를 구별하는 혈청 단백질 마커를 발견하여 질병 진행에 대한 통찰을 제공하고 예후 바이오마커를 제시하는 것이었다. 그룹 2(악화된 환자)와 그룹 3(중등도에서 경증으로 호전된 환자)의 비교는 볼케이노 플롯(도 5의 A)에 나타나 있다. 회복된 그룹에서 PROC, A2MG, CFHA의 발현이 증가한 것으로 나타났다. 반면, CLUS, APOA4, KLKB1, CO2, HV316, PON1의 발현은 회복된 그룹에서 낮았다(도 5의 B 및 C). 그룹 2와 그룹 4를 비교한 결과, 그룹 4에서 C4BPA, CHLE, TTHY의 발현이 증가하고 FETUB, CO2, KAIN의 발현이 감소한 것으로 확인되었다(도 6의 A 내지 C). 특히 CO2(보체 C2)는 두 회복 그룹 모두에서 일관되게 낮은 수준을 보였다. 보체 시스템에서의 역할과 중증 COVID-19 결과와 관련된 보체 조절의 이전 연구를 고려할 때, 높은 기초 CO2 수치는 불리한 환자 결과와 연관될 수 있었다.

[0096] 실시예 5. COVID-19 회복 예후에서 보체 경로의 의미

[0097] 상기 실시예 4의 두 비교에서 14개의 DEPs(회복 그룹에서 6개는 증가, 8개는 감소)를 종합하여 하기 표 5에 요약했다. STRING 데이터베이스는 이러한 단백질을 매핑하여 FETUB를 제외한 광범위한 상호 관계를 보여주었다(도 7의 A). 이는 공유된 생물학적 경로 또는 과정에의 관여를 시사한다. 특히 이 DEPs에 대한 기능적 주석은 보체 활성화 경로와 강한 연관성을 나타냈다(도 7의 B). DAVID 기능 주석 도구를 사용한 추가 분석에서도 비슷한 결과가 나타나 보체 경로 및 선천적 면역, 혈액 응고와 같은 관련 기능에서 지속적인 강화가 관찰되었다(도 7의 C). 마지막으로, KEGG 경로 분석은 보체 및 응고 연쇄 반응과 밀접하게 관련된 DEPs를 확인할 수 있었다(도 7의 D).

표 5

[0098]

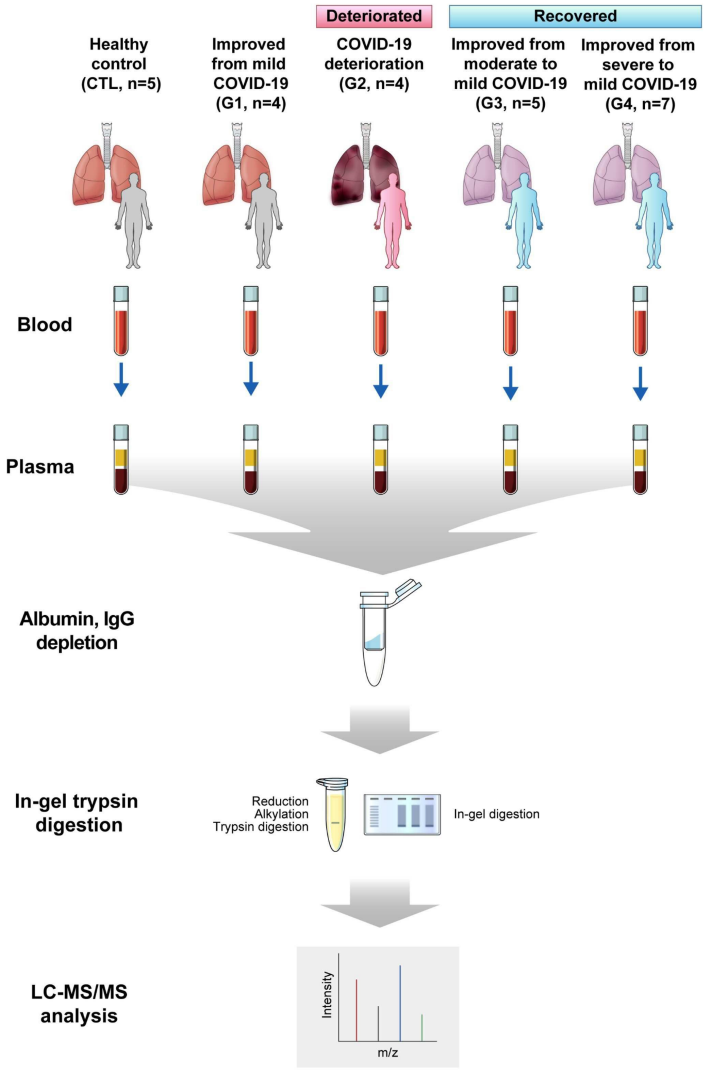
회복된 그룹에서 증가한 단백질						
Uniprot ID	*단백질*	*Uniprot description*	*$-log_{10}$ p value*	*log_2 Fold change*	*생물학적 기능 및 과정*	*환자 그룹*
P04070	PROC	Vitamin K-dependent protein C	3.242	1.52	Serine protease	G2 vs. G3
P01023	A2MG	Alpha-2-macroglobulin	1.834	1.12	Serine protease inhibitor	G2 vs. G3
P08603	CFAH	Complement factor H	1.705	1.11	Complement pathway	G2 vs. G3
P06276	CHLE	Cholinesterase	1.359	1.51	Serine esterase	G2 vs. G4
P04003	C4BPA	C4b-binding protein alpha	1.788	1.09	Complement pathway	G2 vs. G4
P02766	TTHY	Transthyretin	1.308	1.04	Transport	G2 vs. G4
회복된 그룹에서 감소한 단백질						
Uniprot ID	*Protein*	*Uniprot description*	*$-log_{10}$ p value*	*log_2 Fold change*	*생물학적 기능 및 과정*	환자 그룹
P06727	APOA4	Apolipoprotein A-IV	1.636	-3.40	Lipid transport	G2 vs. G3
P03952	KLKB1	Plasma kallikrein	1.534	-2.36	Fibrinolysis	G2 vs. G3
A0A0C4DH30	HV316	Probable non-functional immunoglobulin heavy variable 3-16	1.439	-1.92	Immunity	G2 vs. G3
P10909	CLUS	Clusterin	3.098	-1.67	Complement pathway	G2 vs. G3
P27169	PON1	Serum paraoxonase/arylesterase 1	1.301	-1.33	Hydrolase	G2 vs. G3
P06681	CO2	Complement C2	1.329	-1.22	Complement pathway	G2 vs. G3
Q9UGM5	FETUB	Fetuin-B	3.104	-2.54	Fertilization	G2 vs. G4
P06681	CO2	Complement C2	1.680	-1.33	Complement pathway	G2 vs. G4
P29622	KAIN	Kallistatin	1.619	-1.22	Serine protease inhibitor	G2 vs. G4

[0099] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

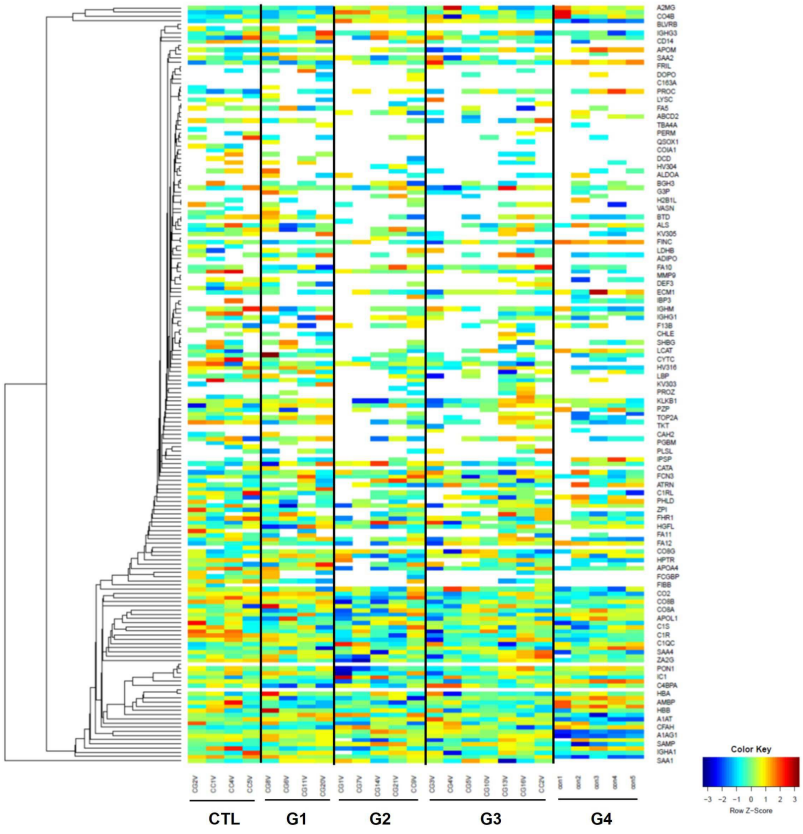
[0100] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

도면1



도면2

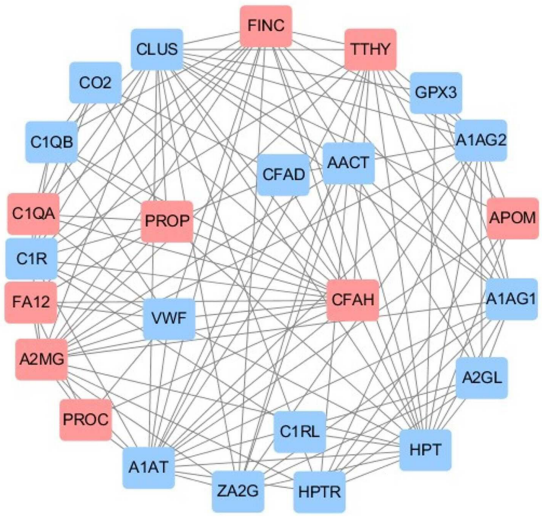

Color Key
Row Z-Score
CTL
G1
G2
G3
G4

도면3


A.
G1 vs. Control
Log2 FC
B.
C.
FINC
PROP
PROC
FA12
TTHY
APOM
CFAH
C1QA
A2MG

도면4

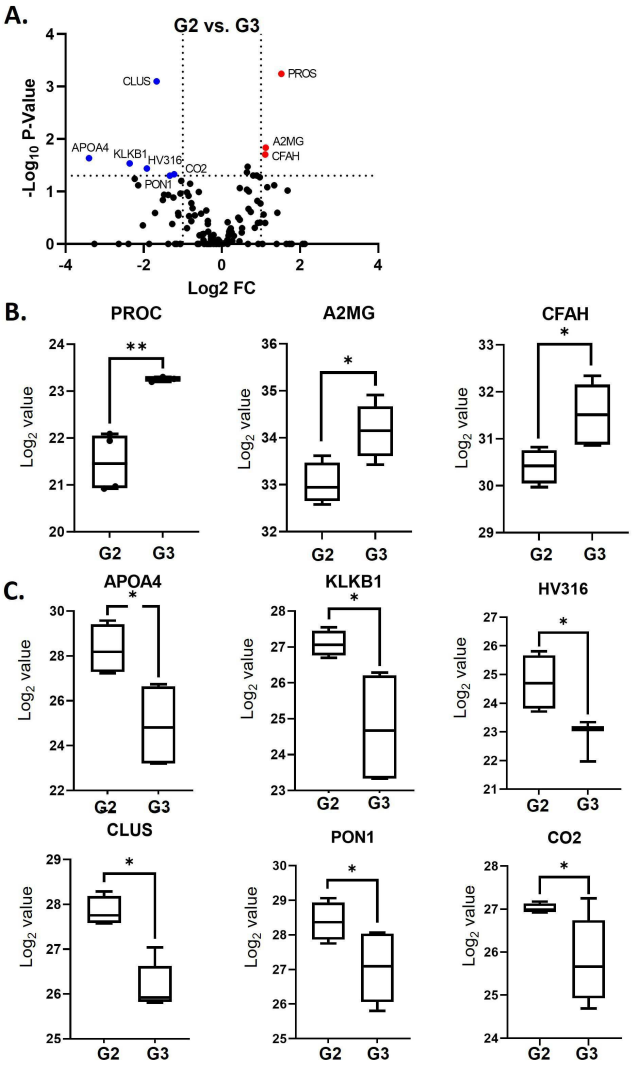
A.



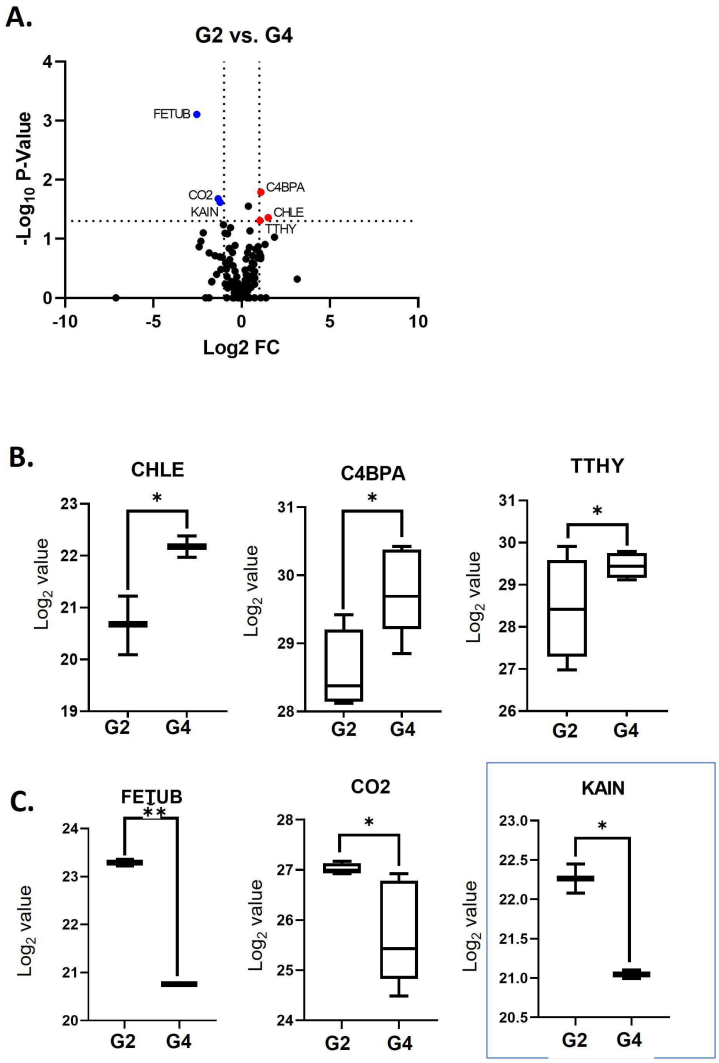
B.

GO-term	Description	Count in network	Strength	FDR
GO:0006957	Complement activation, alternative pathway	3 of 16	2.11	0.0013
GO:0006958	Complement activation, classical pathway	7 of 40	2.08	1.28E-09
GO:0006956	Complement activation	10 of 60	2.05	4.82E-14
GO:0006953	Acute-phase response	7 of 42	2.05	1.46E-09
GO:0002526	Acute inflammatory response	9 of 80	1.88	2.48E-11

도면5

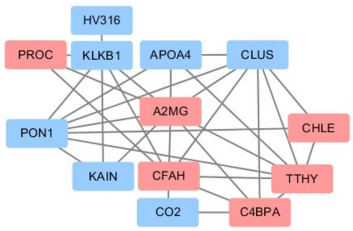

A.
G2 vs. G3
-Log10 P-Value
Log2 FC
CLUS
PROS
APOA4
KLKB1
HV316
CO2
PON1
A2MG
CFAH
B.
PROC
A2MG
CFAH
Log2 value
G2
G3
C.
APOA4
KLKB1
HV316
CLUS
PON1
CO2

도면6


A.
G2 vs. G4
-Log10 P-Value
Log2 FC
FETUB
CO2
KAIN
C4BPA
CHLE
TTHY
B.
CHLE
C4BPA
TTHY
Log2 value
G2
G4
C.
FETUB
CO2
KAIN

도면7

A.



B.

GO-term	Description	Count in network	Strength	FDR
GO:0045916	Negative regulation of complement activation	2 of 14	2.3	0.0417
GO:0030449	Regulation of complement activation	3 of 22	2.28	0.0023
GO:0006958	Complement activation, classical pathway	4 of 40	2.15	0.00017
GO:0006956	Complement activation	5 of 60	2.07	1.02E-05
GO:0045087	Innate immune response	6 of 754	1.05	0.0078

C.

GO Term	p value	Number of proteins	Protein list
Complement pathway	3.10E-04	3	CLUS, CO2, C4BPA
Innate immunity	3.50E-03	4	CLUS, CO2, C4BPA, CFAH
Immunity	4.00E-03	5	CLUS, CO2, C4BPA, CFAH, HV316
Hemostasis	3.80E-02	2	KLKB1, PROC
Blood coagulation	3.80E-02	2	KLKB1, PROC

D.

KEGG pathway

