



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0129591
(43) 공개일자 2022년09월23일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>C12Q 1/6886</i> (2018.01) <i>C12Q 1/6804</i> (2018.01)
 <i>G01N 33/543</i> (2006.01) <i>G01N 33/574</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>C12Q 1/6886</i> (2022.01)
 <i>C12Q 1/6804</i> (2018.05)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-7028296
 (22) 출원일자(국제) 2021년01월16일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2022년08월16일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2021/013776
 (87) 국제공개번호 WO 2021/146659
 국제공개일자 2021년07월22일</p> <p>(30) 우선권주장
 62/962,711 2020년01월17일 미국(US)
 63/049,063 2020년07월07일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 메르시 바이오애널리틱스, 인코포레이티드
 미국 매사추세츠주 01760 나틱 스트라트모어 로드 #260 22</p> <p>(72) 발명자
 세드락 조세프 찰스
 미국 매사추세츠주 02139 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 929 에이피티. 4취
 보르톨린 로라 테레사
 미국 매사추세츠주 02460 뉴턴빌 처칠 스트리트 53 아파트먼트 비
 세일럼 다니엘 파커
 미국 매사추세츠주 02143 소머빌 비컨 스트리트 245 유닛 2</p> <p>(74) 대리인
 장훈</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 238 항

(54) 발명의 명칭 **난소암의 검출을 위한 조성물 및 방법**

(57) 요약

본 개시내용을 일 양상에서 난소암의 검출, 예를 들어, 난소암의 초기 검출을 위한 기술을 제공한다. 또 다른 양상에서, 본 명세서에 제공된 기술은 난소암을 갖거나 난소암에 민감한 것으로 결정된 대상체에게 투여되는 치료제를 선택하고/하거나 이의 효능을 모니터링하고/하거나 평가하는 데 유용하다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 예를 들어, 치료제와 함께 종양 부담 및 종양 부담의 변화를 측정함으로써 동반 진단의 개발에 유용하다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 예를 들어, 치료 반응과 연관된 여성의 혈액 샘플에서 바이오마커를 식별함으로써, 동반 진단의 개발에 유용하다.

(52) CPC특허분류

G01N 33/54326 (2013.01)

G01N 33/57449 (2013.01)

G01N 33/57484 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

방법으로서,

(a) 대상체로부터 혈액-유래 샘플을 제공하거나 얻는 단계;

(b) 상기 혈액-유래 샘플에서, 제1 표적 바이오마커 시그니처(target biomarker signature)를 발현하는 세포외 소포(extracellular vesicle)("제1 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포외 소포")를 검출하는 단계로서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처는

적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및

표면 단백질 바이오마커, 소포내 단백질 바이오마커 및 소포내 RNA 바이오마커로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 표적 바이오마커를 포함하며,

상기 표면 단백질 바이오마커는 CLDN6, AQP5, CLDN16, CLDN3, FOLR1, EpCAM, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물로부터 선택되고;

상기 소포내 단백질 바이오마커는 CRABP2, KLK7, MIF, PRAME 및 S100A1 및 이들의 조합물로부터 선택되며;

상기 소포내 RNA 바이오마커는 CRABP2, MIF, CLDN6, PRAME, S100A1, KLK7 및 이들의 조합물로부터 선택되는, 상기 검출하는 단계;

(c) 상기 혈액-유래 샘플에서 제1 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포외 소포의 수준을 나타내는 샘플 정보를 제1 참조 역치 수준을 포함하는 참조 정보와 비교하는 단계;

(d) 상기 혈액-유래 샘플이 상기 제1 참조 역치 수준을 참조하는 분류 컷오프에 비해서 제1 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포외 소포의 증가된 수준을 나타내는 경우 상기 대상체를 난소암을 갖거나 이에 민감한 것으로 분류하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 적어도 하나의 표적 바이오마커가 상기 표면 단백질 바이오마커 중 하나 이상으로부터 선택되는 경우, 상기 선택된 표면 단백질 바이오마커(들)와 상기 적어도 하나의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 상이한, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 단계 (b) 및 단계 (c)는 적어도 제2 표적 바이오마커 시그니처에 대해서 반복되고, 상기 분류 컷오프는 상기 제1 참조 역치 수준 및 적어도 제2 표적 바이오마커 시그니처에 상응하는 적어도 제2 참조 역치 수준을 참조하는, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 CLDN3, CLDN6, AQP5, CLDN16, EpCAM, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물이거나 이들을 포함하는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 SLC34A2 폴리펩타이드, FOLR1 폴리펩타이드, MUC16 폴리펩타이드, CLDN3 폴리펩타이드, CLDN6 폴리펩타이드, ALPL 폴리펩타이드, BST2 폴리펩타이드, MSLN 폴리펩타이드, MUC1 폴리펩타이드, PTGS1 폴리펩타이드, sTn 글리

코실화된 폴리펩타이드, TACSTD2 폴리펩타이드, EpCAM 폴리펩타이드 및/또는 LRRTM1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) SCL34A2 폴리펩타이드 및/또는 CLDN6 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커; 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) SCL34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 FOLR1을 포함하는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) SCL34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 FOLR1이거나 이들을 포함하는 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 CLDN6이거나 이들을 포함하는 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) FOLR1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) FOLR1 및 CLDN6인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) FOLR1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) SLC34A2 및 CLDN3인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) SLC34A2 및 MUC16인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타

이드 바이오마커 및 (ii) SLC34A2 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) FOLR1 및 MUC16인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) CLDN3 및 MUC16인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) CLDN3 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) CLDN3 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 FOLR1을 포함하는, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) LRRTM1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) ALPL 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 FOLR1을 포함하는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) BST2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) FOLR1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MSLN을 포함하는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) FOLR1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC1을 포함하는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드를 포함하는, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 FOLR1을 포함하는, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드를 포함하는, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) PTGS1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 31

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) SLC34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 32

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 FOLR1을 포함하는, 방법.

청구항 33

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MSLN을 포함하는, 방법.

청구항 34

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩

타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함하는, 방법.

청구항 35

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) 적어도 1종의 표적 바이오마커 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드를 포함하는, 방법.

청구항 36

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 37

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 MUC1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 38

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 39

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 40

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 41

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 42

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 43

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩

타이드 바이오마커 및 (ii) MUC1 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 44

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 45

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 46

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 47

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 48

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 49

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MSLN 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 50

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 51

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 52

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타

이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 53

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC1 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 54

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MSLN 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 55

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 MUC1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 56

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 57

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 58

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC1 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 59

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC1 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 60

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MSLN 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 61

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 62

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 MUC1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 63

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 64

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 65

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 66

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC1 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 67

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) SLC34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) MUC16 및 MSLN인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 68

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) SCL34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC16인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 69

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처는 (i) SCL34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및 (ii) sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 FOLR1인 적어도 2종의 표적 바이오마커를 포함하는, 방법.

청구항 70

제1항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 참조 역치 수준 및/또는 제2 참조 역치 수준은 비-암 대상체의 집단으로부터의 대등한 샘플에서 관찰된 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포외 소포의 수준에 의해서 결정되는, 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 비-암 대상체의 집단은 하기 대상체 집단 중 하나 이상을 포함하는, 방법: 건강한 여성

대상체, 양성 종양으로 진단된 여성 대상체 및 난소 미관련(non-ovarian-related) 질환, 장애 및/또는 병태를 갖는 여성 대상체.

청구항 72

제1항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액-유래 샘플은 세포외 소포를 포함하는 관심 크기 범위를 갖는 나노입자를 (예를 들어, 상기 혈액-유래 샘플로부터 직접) 단리시키기 위해서 크기 배제 크로마토그래피가 수행된, 방법.

청구항 73

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 검출 단계는 포획 검정을 포함하는, 방법.

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 포획 검정은 혈액-유래 샘플을, 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 결합하는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제와 접촉시키는 것을 포함하는, 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 포획제는 포획제에 접합된 표적-포획 모이어티를 포함하는 고체 기질이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 76

제75항에 있어서, 상기 고체 기질은 자석 비드를 포함하는, 방법.

청구항 77

제74항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적-포획 모이어티는 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 78

제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 검출 단계는 검출 검정을 포함하는, 방법.

청구항 79

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 검출 단계는 포획 검정 및 검출 검정을 포함하고, 상기 포획 검정은 상기 검출 검정 이전에 수행되는, 방법.

청구항 80

제78항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처가 적어도 1종의 소포내 RNA 바이오마커를 포함하는 경우, 상기 검출 검정은 역전사 qPCR을 포함하는, 방법.

청구항 81

제78항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처가 적어도 1종의 소포내 단백질 바이오마커를 포함하는 경우, 상기 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포외 소포는 상기 검출 검정 이전에 고정(fixation) 및/또는 투과화(permeabilization)를 포함하는 처리에 적용되는, 방법.

청구항 82

제78항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 표적 바이오마커 시그니처 및/또는 제2 표적 바이오마커 시그니처가 적어도 1종의 표면 단백질 바이오마커 및/또는 소포내 단백질 바이오마커를 포함하는 경우, 상기 검출 검정은 면역검정(예를 들어, 면역-PCR 및/또는 근접 결합 검정(proximity ligation assay))을 포함하는, 방법.

청구항 83

제82항에 있어서, 상기 검출 검정은 근접 결찰 검정을 포함하는, 방법.

청구항 84

제83항에 있어서, 상기 근접 결찰 검정은,

(a) 상기 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커를 발현하는 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포("세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커-발현 세포의 소포")를, 각각 상기 표적 바이오마커 시그니처의 표적 바이오마커에 지향되는 검출 프로브의 세트와 접촉시키는 단계로서, 세트는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하여, 상기 세포의 소포 및 상기 검출 프로브의 세트를 포함하는 조합물이 생성되고,

상기 검출 프로브 각각은

(i) 상기 표적 바이오마커 시그니처의 표적 바이오마커에 지향되는 표적 결합 모이어티; 및

(ii) 상기 표적 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인으로서, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함하는, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고,

상기 검출 프로브의 단일-가닥 오버행 부분은 검출 프로브가 동일한 세포의 소포에 결합되는 경우 그들이 서로에 혼성화할 수 있는 것을 특징으로 하는, 상기 접촉시키는 단계,

(b) 상기 적어도 2개의 검출 프로브가 상기 표적 바이오마커 시그니처를 발현하는 동일한 세포의 소포에 결합하여 이중-가닥 복합체를 형성할 수 있도록 상기 세포의 소포 상의 각각의 표적에 대한 상기 검출 프로브의 세트의 결합을 허용하는 조건 하에서 상기 조합물을 유지시키는 단계;

(c) 상기 이중-가닥 복합체를 핵산 리가제와 접촉시켜 결찰된 주형을 생성시키는 단계;

(d) 상기 결찰된 주형을 검출하는 단계로서, 상기 결찰된 주형의 존재는 상기 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포의 상기 혈액-유래 샘플 중의 존재를 나타내는, 상기 검출하는 단계; 및

(e) 선택적으로 적어도 하나의 추가 표적 바이오마커 시그니처를 위해서 단계 a 내지 d를 반복하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 85

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 86

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1에 지향되는, 방법.

청구항 87

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MSLN에 지향되는, 방법.

청구항 88

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 ALPL에 지향되는, 방법.

청구항 89

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC1에 지향되는, 방법.

청구항 90

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드에 지향되는, 방법.

청구항 91

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 BST2에 지향되는, 방법.

청구항 92

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 PTGS1에 지향되는, 방법.

청구항 93

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2에 지향되는, 방법.

청구항 94

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 TACSTD2에 지향되는, 방법.

청구항 95

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC16 및 FOLR1에 지향되는, 방법.

청구항 96

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC16 및 CLDN6에 지향되는, 방법.

청구항 97

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1 및 CLDN6에 지향되는, 방법.

청구항 98

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2 및 CLDN3에 지향되는, 방법.

청구항 99

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2 및 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 100

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 CLDN3 및 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 101

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 CLDN3 및 FOLR1에 지향되는, 방법.

청구항 102

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 ALPL 및 FOLR1에 지향되는, 방법.

청구항 103

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 BST2 및 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 104

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1 및 MSLN에 지향되는, 방법.

청구항 105

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1 및 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 106

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MSLN 및 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 107

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MSLN 및 MUC1에 지향되는, 방법.

청구항 108

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC1에 지향되는, 방법.

청구항 109

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC1 및 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 110

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC1 및 FOLR1에 지향되는, 방법.

청구항 111

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 112

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 PTGS1 및 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 113

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2 및 FOLR1에 지향되는, 방법.

청구항 114

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 FOLR1에 지향되는, 방법.

청구항 115

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MSLN에 지향되는, 방법.

청구항 116

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 TACSTD2 및 MUC16에 지향되는, 방법.

청구항 117

제84항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 TACSTD2에 지향되는, 방법.

청구항 118

제85항 내지 제117항 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인은 상이한, 방법.

청구항 119

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 SLC34A2 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 120

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 MUC16 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 121

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 122

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 MSLN 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 123

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 124

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 MUC1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 125

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 TACSTD2 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 126

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 PTGS1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 127

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 BST2 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 128

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 ALPL 폴리펩타이드에 지

향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 129

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 LRRTM1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 130

제77항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포획 검정의 표적-포획 모이어티는 CLDN3 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 131

제1항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 상기 대상체에서 초기 난소암, 후기 난소암 또는 재발된 난소암에 대한 스크리닝을 위해서 수행되는, 방법.

청구항 132

제1항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 정상 혈청 CA-125 수준을 갖는 것으로 결정되는, 방법.

청구항 133

제1항 내지 제132항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 정상 혈청 CA-125 수준과 동일하거나 더 높은 혈청 CA-125 수준을 갖는 것으로 결정되는, 방법.

청구항 134

제1항 내지 제133항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 하기 특징 중 적어도 하나 이상을 갖는, 방법:

- (i) (예를 들어, 난소암에 대한 평균 집단 위험(즉, 유전적인 위험 없음)으로 또는 유전적인 위험을 갖는) 난소암에 민감한 무증상 암컷(예를 들어, 여성);
- (ii) 폐경 후 여성;
- (iii) 유방암 및/또는 난소암의 가족력을 갖는 암컷(예를 들어, 여성)(예를 들어, 유방암 및/또는 난소암의 이력을 갖는 1명 이상의 1촌 친척을 갖는 암컷(예를 들어, 여성));
- (iv) ATM, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, MSH2, MLH1, MSH2, EPCAM, PALB2, STK11, TP53, BARD, CHEK2, MRE11A, RAD50, RAD51C, RAD51D 및 이들의 조합물에 하나 이상의 생식세포계열 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 암컷(예를 들어, 여성);
- (v) BRCA1, BRCA2 및/또는 PALB2에 생식세포계열 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 유방암을 갖는 암컷(예를 들어, 여성);
- (vi) 예를 들어, 65세 이상의 노인 여성;
- (vii) 난소암의 하나 이상의 비특이적 증상을 갖는 암컷(예를 들어, 여성), 선택적으로 비특이적 증상 중 적어도 하나는 과민성 대장 증후군에 대한 하나 이상의 증상과 유사함;
- (viii) CA-125/질경유 초음파(transvaginal ultrasound: TVUS) 주기적 스크리닝이 권고된 암컷(예를 들어, 여성);
- (ix) 영상-확인된 부속기 덩이(adnexal mass)를 갖는 것으로 진단된 암컷(예를 들어, 여성);
- (x) 위험 감소 양측 자궁관 난소 절제술(bilateral salpingo-oophorectomy)을 시행하기 전의 유전적 위험이 있는 암컷(예를 들어, 여성);
- (xi) 양성 부인과 종양을 갖는 암컷(예를 들어, 여성);
- (xii) 난소암에 대해서 이전에 치료된 적이 있는 암컷(예를 들어, 여성); 및

(xiii) 난소암에 대한 생애 이력(life-history) 연관 위험을 갖는 암컷(예를 들어, 여성).

청구항 135

제1항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 하기 진단 검정 중 하나 이상과 조합하여 사용되는, 방법:

- (i) 대상체의 연례 신체 검사(예를 들어, 자궁경부암에 대한 HPV 및/또는 Pap 도말 스크리닝 및 유방암에 대한 유방조영상(mammogram) 스크리닝 포함);
- (ii) 혈청 CA-125 및/또는 TVUS 스크리닝 시험;
- (iii) 암과 관련된 순환 종양 DNA 및/또는 단백질 바이오마커에서의 유전자 돌연변이에 대해서 혈액 혈장을 스크리닝하기 위한 유전자 검정;
- (iv) 세포 표현형 및 마커 발현을 식별하기 위한 면역형광 염색, 그 다음 증폭 및 차세대 서열결정에 의한 분석을 포함하는 검정; 및
- (v) BRCA1 및/또는 BRCA2 생식세포계열 및 체세포 돌연변이 검정 또는 세포-유리 종양(cell-free) DNA, 액체 생검, 혈청 단백질 및 세포-유리 DNA, OVA1 및 OVERA 시험 및/또는 순환 종양 세포를 포함하는 검정.

청구항 136

제1항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 난소암은 고등급 장액성 난소암, 자궁내막모양 난소암, 투명 세포 난소암, 저등급 장액성 난소암 또는 점액성 난소암인, 방법.

청구항 137

제1항 내지 제136항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 난소암은 고등급 장액성 난소암인, 방법.

청구항 138

제137항에 있어서, 상기 고등급 장액성 난소암은 초기 병기인, 방법.

청구항 139

제1항 내지 제138항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 항-난소암 요법(예를 들어, 올라파립, 시스플라틴, 루카파립, 니라파립, 탈라조파립)의 치료에 대한 반응 및/또는 암 재발/전이에 대해서 난소암 환자를 모니터링하기 위해서 수행되는, 방법.

청구항 140

난소암의 검출을 위한 키트로서,

- (a) 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제; 및
- (b) 검출 프로브의 세트로서, 세트는 각각 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 표적 바이오마커에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하는, 상기 검출 프로브의 세트

를 포함하되, 상기 검출 프로브 각각은,

- (i) 상기 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 표적 바이오마커에 지향되는 표적 결합 모이어티; 및
- (ii) 상기 표적 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인으로서, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함하는, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고,

상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 단일-가닥 오버행 부분은, 상기 적어도 2개의 검출 프로브가 동일한 세포의 세포에 결합되는 경우 그들이 서로에 혼성화할 수 있는 것을 특징으로 하고,

상기 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처는,

적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및

표면 단백질 바이오마커, 세포내 단백질 바이오마커 및 세포내 RNA 바이오마커로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 표적 바이오마커를 포함하며,

상기 표면 단백질 바이오마커는 CLDN6, CLDN3, AQP5, CLDN16, EpCAM, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFN1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물로부터 선택되고;

상기 세포내 단백질 바이오마커는 CRABP2, KLK7, MIF, PRAME 및 S100A1 및 이들의 조합물로부터 선택되며;

상기 세포내 RNA 바이오마커는 CRABP2, MIF, CLDN6, PRAME, S100A1, KLK7 및 이들의 조합물로부터 선택되는, 키트.

청구항 141

제140항에 있어서, 상기 적어도 하나의 바이오마커가 상기 표면 단백질 바이오마커 중 하나 이상으로부터 선택되는 경우, 상기 선택된 표면 단백질 바이오마커(들)와 상기 적어도 하나의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 상이한, 키트.

청구항 142

제140항 내지 제141항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 CLDN3, CLDN6, AQP5, CLDN16, EpCAM, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFN1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물이거나 이들을 포함하는, 키트.

청구항 143

제47항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 SLC34A2 폴리펩타이드, MUC16폴리펩타이드, EpCAM 폴리펩타이드, FOLR1 폴리펩타이드, CLDN3 폴리펩타이드, CLDN6 폴리펩타이드, ALPL 폴리펩타이드, BST2 폴리펩타이드, MSLN 폴리펩타이드, MUC1 폴리펩타이드, PTGS1 폴리펩타이드, sTn 글리코실화된 폴리펩타이드, TACSTD2 폴리펩타이드 및/또는 LRRTM1폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는, 키트.

청구항 144

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 표적 결합 모이어티는 각각 상기 표적 바이오마커 시그니처의 동일한 표적 바이오마커에 지향되는, 키트.

청구항 145

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 MUC16이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 146

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 FOLR1이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 147

[누락]

청구항 148

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 MSLN이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 149

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 ALPL이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 150

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 MUC1이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 151

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 152

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 BST2이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 153

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 PTGS1이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 154

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 SLC34A2이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 155

제144항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 TACSTD2이거나 이를 포함하는, 키트.

청구항 156

제140항 내지 제155항 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인은 상이한, 키트.

청구항 157

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 표적 결합 모이어티는 각각 상기 표적 바이오마커 시그니처의 구별되는 표적 바이오마커에 지향되는, 키트.

청구항 158

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC16 및 FOLR1에 지향되는, 키트.

청구항 159

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC16 및 CLDN6에 지향되는, 키트.

청구항 160

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1 및 CLDN6에 지향되는, 키트.

청구항 161

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2 및 CLDN3에 지향되는, 키트.

청구항 162

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2 및 MUC16에 지향되는, 키트.

청구항 163

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 CLDN3 및 MUC16에 지향되는, 키트.

청구항 164

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 CLDN3 및 FOLR1에 지향되는, 키트.

청구항 165

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 ALPL 및 FOLR1에 지향되는, 키트.

청구항 166

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 BST2 및 MUC16에 지향되는, 키트.

청구항 167

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1 및 MSLN에 지향되는, 키트.

청구항 168

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1 및 MUC16에 지향되는, 키트.

청구항 169

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MSLN 및 MUC16에 지향되는, 키트.

청구항 170

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MSLN 및 MUC1에 지향되는, 키트.

청구항 171

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC1에 지향되는, 키트.

청구항 172

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC1 및 MUC16에 지향되는, 키트.

청구항 173

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC1 및 FOLR1에 지향되는, 키트.

청구항 174

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC16에 지향되는, 키트.

청구항 175

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 PTGS1 및 MUC16에 지향되는, 키트.

청구항 176

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2 및 FOLR1에 지향되는, 키트.

청구항 177

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 FOLR1에 지향되는, 키트.

청구항 178

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MSLN에 지향되는, 키트.

청구항 179

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 TACSTD2 및 MUC16에 지향되는, 키트.

청구항 180

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 TACSTD2에 지향되는, 키트.

청구항 181

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 SLC34A2 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 182

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 MUC16 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 183

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 184

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 MSLN 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 185

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 186

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 MUC1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 187

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 TACSTD2 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 188

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 PTGS1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 189

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 BST2 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 190

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 ALPL 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 191

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 LRRTM1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 192

제140항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제는 CLDN3 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 항체 작용제를 포함하는, 방법.

청구항 193

제140항 내지 제192항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 1종의 추가 시약(예를 들어, 리가제, 고정제 및/또는 투과화제)을 더 포함하는, 키트.

청구항 194

제140항 내지 제146항 및 제157항 내지 제161항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) SLC34A2 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 제1 포획제;

(b) MUC16 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 제2 포획제;

(c) 적어도 세 세트의 검출 프로브

를 포함하되, 상기 검출 프로브 각각은,

(i) 표적 표면 단백질 바이오마커에 지향되는 표적 결합 모이어티; 및

(ii) 상기 표적 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인으로서, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함하는, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고,

상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 단일-가닥 오버행 부분은, 상기 적어도 2개의 검출 프로브가 동일한 세포외 소포에 결합되는 경우 그들이 서로에 혼성화할 수 있는 것을 특징으로 하고,

제1 세트의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 MUC16 표적 표면 단백질에 지향되고;

제2 세트의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 FOLR1 표적 표면 단백질에 지향되고;

제3 세트의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 MUC16 폴리펩타이드 및 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는, 키트.

청구항 195

제140항 내지 제193항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) 표적-포획 모이어티를 포함하는 제1 포획제;

(b) 표적-포획 모이어티를 포함하는 제2 포획제;

(c) 적어도 두 세트의 검출 프로브

를 포함하되, 상기 검출 프로브 각각은,

(i) 표적 표면 단백질 바이오마커에 지향되는 표적 결합 모이어티; 및

(ii) 상기 표적 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인으로서, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함하는, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고,

상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 단일-가닥 오버행 부분은, 상기 적어도 2개의 검출 프로브가 동일한 세포의 소포에 결합되는 경우 그들이 서로에 혼성화할 수 있는 것을 특징으로 하는, 키트.

청구항 196

제140항 내지 제193항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) 표적-포획 모이어티를 포함하는 제1 포획제;

(b) 표적-포획 모이어티를 포함하는 제2 포획제;

(c) 표적-포획 모이어티를 포함하는 제3 포획제;

(d) 적어도 세 세트의 검출 프로브

를 포함하되, 상기 검출 프로브 각각은,

(i) 표적 표면 단백질 바이오마커에 지향되는 표적 결합 모이어티; 및

(ii) 상기 표적 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인으로서, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함하는, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고,

상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 단일-가닥 오버행 부분은, 상기 적어도 2개의 검출 프로브가 동일한 세포의 소포에 결합되는 경우 그들이 서로에 혼성화할 수 있는 것을 특징으로 하는, 키트.

청구항 197

복합체로서,

(a) 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처를 발현하는 세포의 소포로서,

적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커 및

표면 단백질 바이오마커, 소포내 단백질 바이오마커 및 소포내 RNA 바이오마커로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 표적 바이오마커를 포함하며,

상기 표면 단백질 바이오마커는 CLDN3, CLDN6, AQP5, CLDN16, EpCAM, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFN1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물로부터 선택되고;

상기 소포내 단백질 바이오마커는 CRABP2, KLK7, MIF, PRAME 및 S100A1 및 이들의 조합물로부터 선택되며;

상기 소포내 RNA 바이오마커는 CRABP2, MIF, CLDN6, PRAME, S100A1, KLK7 및 이들의 조합물로부터 선택되고;

상기 세포의 소포는 상기 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 고체 기질 상에 고정되는, 상기 세포의 소포;

(b) 각각 상기 세포의 소포에 결합된 제1 검출 프로브 및 제2 검출 프로브로서, 각각의 검출 프로브는,

(i) 상기 종양 표적 바이오마커 시그니처의 표적 바이오마커 중 하나에 지향되는 표적 결합 모이어티; 및

(ii) 상기 표적 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인으로서, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함하는, 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고,

상기 제1 검출 프로브 및 상기 제2 검출 프로브의 상기 단일-가닥 오버행 부분은 서로에 혼성화되는, 상기 제1 검출 프로브 및 상기 제2 검출 프로브

를 포함하는, 복합체.

청구항 198

제197항에 있어서, 상기 적어도 하나의 바이오마커가 상기 표면 단백질 바이오마커 중 하나 이상으로부터 선택되는 경우, 상기 선택된 표면 단백질 바이오마커(들)와 상기 적어도 하나의 세포의 소포-연관된 막-결합된 단백질 바이오마커는 상이한, 복합체.

청구항 199

제196항 또는 제197항에 있어서, 상기 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 CLDN3, CLDN6, AQP5, CLDN16, EpCAM, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물이거나 이들을 포함하는, 복합체.

청구항 200

제197항 내지 제199항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 SLC34A2 폴리펩타이드, FOLR1 폴리펩타이드, MUC16폴리펩타이드, EpCAM 폴리펩타이드, CLDN3 폴리펩타이드, CLDN6 폴리펩타이드, ALPL 폴리펩타이드, BST2 폴리펩타이드, MSLN 폴리펩타이드, MUC1 폴리펩타이드, PTGS1 폴리펩타이드, sTn 글리코실화된 폴리펩타이드, TACSTD2 폴리펩타이드 및/또는 LRRTM1폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는, 복합체.

청구항 201

제197항 내지 제200항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 표적 결합 모이어티는 각각 상기 표적 바이오마커 시그니처의 동일한 표적 바이오마커에 지향되는, 복합체.

청구항 202

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 MUC16이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 203

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 FOLR1이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 204

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 MSLN이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 205

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 ALPL이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 206

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 MUC1이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 207

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 208

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 BST2이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 209

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 PTGS1이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 210

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 SLC34A2이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 211

제201항에 있어서, 상기 동일한 표적 바이오마커는 TACSTD2이거나 이를 포함하는, 복합체.

청구항 212

제201항 내지 제211항 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 올리고뉴클레오타이드 도메인은 상이한, 복합체.

청구항 213

제197항 내지 제200항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 상기 표적 결합 모이어티는 각각 상기 표적 바이오마커 시그니처의 구별되는 표적 바이오마커에 지향되는, 복합체.

청구항 214

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC16 및 FOLR1에 지향되는, 복합체.

청구항 215

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC16 및 CLDN6에 지향되는, 복합체.

청구항 216

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1 및 CLDN6에 지향되는, 복합체.

청구항 217

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2 및 CLDN3에 지향되는, 복합체.

청구항 218

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2 및 MUC16에 지향되는, 복합체.

청구항 219

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 CLDN3 및 MUC16에 지향되는, 복합체.

청구항 220

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 CLDN3 및 FOLR1에 지향되는, 복합체.

청구항 221

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 ALPL 및 FOLR1에 지향되는, 복합체.

청구항 222

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 BST2 및 MUC16에 지향되는, 복합체.

청구항 223

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1 및 MSLN에 지향되는, 복합체.

청구항 224

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 FOLR1 및 MUC16에 지향되는, 복합체.

청구항 225

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MSLN 및 MUC16에 지향되는, 복합체.

청구항 226

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MSLN 및 MUC1에 지향되는, 복합체.

청구항 227

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC1에 지향되는, 복합체.

청구항 228

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC1 및 MUC16에 지향되는, 복합체.

청구항 229

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 MUC1 및 FOLR1에 지향되는, 복합체.

청구항 230

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MUC16에 지향되는, 복합체.

청구항 231

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 PTGS1 및 MUC16에 지향되는, 복합체.

청구항 232

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 SLC34A2 및 FOLR1에 지향되는, 복합체.

청구항 233

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 FOLR1에 지향되는, 복합체.

청구항 234

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 MSLN에 지향되는, 복합체.

청구항 235

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 TACSTD2 및 MUC16에 지향되는, 복합체.

청구항 236

제213항에 있어서, 상기 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드 및 TACSTD2에 지향되는, 복합체.

청구항 237

제197항 내지 제236항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고체 기질은 자석 비드를 포함하는, 복합체.

청구항 238

제197항 내지 제236항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적-포획 모이어티는 항체 작용제이거나 이를 포함하는, 복합체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은 미국 가출원 제62/962,711호(출원일: 2020년 1월 17일) 및 미국 가출원 제63/049,063호(출원일: 2020년 7월 7일)의 이익을 주장하며, 이들 각각의 내용은 그 전문이 본 명세서에 인용된다.

배경 기술

[0003] 암의 초기 검출은 성공적인 치료 기회를 상당히 증가시킨다. 그러나, 난소암을 비롯한 많은 암은 여전히 효과적인 스크리닝 권장 사항이 없다. 암-스크리닝 시험의 전형적인 도전은 제한된 감도 및 특이성을 포함한다. 높은 비율의 위양성 결과는 특히 문제가 될 수 있는데, 그 이유는 위양성 결과가 잠재적으로 바람직하지 않은 부작용이 있을 수 있는 항암 요법을 불필요하게 투여하지(또는 제공받지) 않으려는 임상의 및 환자에게 어려운 관리 결정을 초래할 수 있기 때문이다. 이에 반해서, 높은 비율의 위음성 결과는 스크리닝 시험의 목적을 충족하지 못하는데 그 이유는 요법이 필요한 환자가 누락되어, 치료가 지연되고, 그 결과 성공 가능성이 감소하기 때문이다.

발명의 내용

[0004] 본 개시내용은, 다른 것 중에서, 효과적인 난소암 스크리닝을 달성하기 위한 통찰력 및 기술을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 초기 난소암의 검출에 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 (예를 들어, 충분히 높은 감도 및/또는 낮은 비율의 위양성 및/또는 위음성 결과로 인해서) 무증상 개체를 포함하거나 이것으로 이루어진 집단에 적용되는 경우에도 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 난소암 발병의 유전적인 위험이 없는 개체(예를 들어, 무증상 개체)를 포함하거나 이것으로 이루어진 집단에 적용되는 경우에 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 유증상 개체(예를 들어, 난소암의 하나 이상의 증상을 앓고 있는

개체)를 포함하거나 이것으로 이루어진 집단에 적용되는 경우에 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 난소암에 대한 위험이 있는 개체(예를 들어, 난소암에 대한 유전적 및/또는 생애 이력(life-history) 연관 위험 인자를 갖는 개체)를 포함하거나 이것으로 이루어진 집단에 적용되는 경우에 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은, 본 명세서에 제공된 본 개시내용을 읽는 당업자에게 자명할 바와 같이, 1종 이상의 조성물(예를 들어, 분자 엔티티 또는 복합체, 시스템, 세포, 수집물, 조합물, 키트 등) 및/또는 방법(예를 들어, 제조 방법, 사용 방법, 평가 방법 등)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0005] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 예를 들어, 난소암의 검출 및 진단에 대한 특정 종래의 접근법을 포함하는 특정 선행 기술의 문제의 원인을 식별한다. 예를 들어, 본 개시내용은 예를 들어, 세포-유리 핵산, 혈청 단백질(예를 들어, CA-125, 이것은 MUC16 폴리펩타이드의 일부임) 및/또는 세포의 소포(extracellular vesicle)의 벌크 분석을 기반으로 하는 많은 종래의 진단 검정이 시간 소모적이고/이거나 고비용이고/이거나 신뢰할 수 있고 포괄적인 진단 평가를 제공하기에 충분한 감도 및/또는 특이성이 부족할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 표면 단백질 바이오마커, 내부 단백질 바이오마커 및 RNA 바이오마커로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 표적 바이오마커를 포함하는 개별 세포의 소포에서 난소암의 표적 바이오마커 시그니처(target biomarker signature)의 공동 국지화를 검출함으로써, 다른 것 중에서 이러한 문제를 해결하는 기술(시스템, 조성물 및 방법 포함)을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 다른 것 중에서, 개별 세포의 소포에서 적어도 2종 이상의 표적 엔티티(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처)의 상호작용 및/또는 공동 국지화를 기반으로 하는 본 출원인에 의해서 개발되고 미국 출원 제16/805,637호 및 국제 출원 제PCT/US2020/020529호(둘 다 2020년 2월 28일자 출원, 발명의 명칭 "Systems, Compositions, and Methods for Target Entity Detection")에 기재된 표적 엔티티 검출 접근법(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)을 사용하여 난소암의 이러한 표적 바이오마커 시그니처를 검출함으로써, 이러한 문제를 해결하는 기술(시스템, 조성물 및 방법 포함)을 제공한다.

[0006] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 다른 것 중에서, 무증상 개체의 스크리닝, 예를 들어, 발병된 증상(들) 이전 또는 달리는 발병된 증상(들)의 부재 하에서 정기적인 스크리닝이 이로울 수 있고, 심지어는 난소암의 효과적인 관리(예를 들어, 성공적인 치료)에 중요할 수 있다는 통찰력을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 일부 실시형태에서 무증상 개체(예를 들어, 난소암의 유전적인 위험이 없음)에서, 초기 난소암을 비롯한 암을 검출하기 위해 구현될 수 있는 난소암 스크리닝 시스템을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 무증상 개체(예를 들어, 난소암의 유전적인 위험이 없음)의 정기적인 스크리닝을 달성하기 위해 구현된다. 본 개시내용은, 예를 들어, 조성물(예를 들어, 시약, 키트, 성분 등), 및 1명 이상의 개체(예를 들어, 무증상 개체)의 정기적인 시험을 포함하는 전략을 포함하여, 이들을 제공하는 방법 및/또는 사용하는 방법을 제공한다. 본 개시내용은 이러한 시스템의 유용성을 정의하고, 이를 구현하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

[0007] 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 제공된 기술을 1회 및/또는 정기적인(예를 들어, 주기적인) 평가에 유용하게 적용할 수 있도록 적절한 감도 및/또는 특이성(예를 들어, 위양성 및/또는 위음성 결과의 비율)을 갖는 난소암의 하나 이상의 특징(예를 들어, 발병률, 진행, 요법에 대한 반응성, 재발 등)의 검출(예를 들어, 무증상 개체(들) 및/또는 집단(들)에서 조기 검출)을 달성한다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 여성의 주기적인 신체 검사, 예컨대, 유방조영상, HPV 및/또는 Pap 도말 스크리닝과 함께 유용하다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 치료 요법(들)과 함께 유용하며; 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 이러한 치료 요법(들)의 하나 이상의 특징(예를 들어, 허용되는 파라미터에 따른 성공률)을 개선할 수 있다.

[0008] 일부 양상에서, 대상체(예를 들어, 무증상 대상체)를 난소암을 갖거나 암에 민감한 것으로서 분류하는 데 사용하기 위한 기술이 제공된다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체(예를 들어, 무증상 대상체)를 암을 갖거나 난소암에 민감한 것으로서 분류하기 위한 방법 또는 검정을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제공된 방법 또는 검정은 (a) 검출을 필요로 하는 대상체로부터의 혈액-유래 샘플에서, 난소암의 표적 바이오마커 시그니처를 발현하는 세포의 소포를 검출하는 단계로서, 표적 바이오마커 시그니처는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 표면 단백질 바이오마커, 소포내 단백질 바이오마커, 및 소포내 RNA 바이오마커로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 표적 바이오마커를 포함하고, 표면 단백질 바이오마커는 AQP5, CDH6, CHODL, CLDN3, CLDN6, CLDN16, EpCAM, FOLR1, HTR3A, LEMD1, LRRTM1, MUC16, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFN1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물로부터 선택되고; 소포내 단백질 바이오마커는 CRABP2, KLK7, MIF, PRAME 및 S100A1 및 이들의 조합물로부터 선택되며; 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커는 CLDN6, CRABP2, KLK7, MIF, PRAME, S100A1 및 이들의 조합물로부터 선택되는, 단계; (b) 혈액-유래 샘플에서 표적 바이오마커

시그니처-발현 세포의 소포의 수준을 나타내는 샘플 정보를 참조 역치 수준을 포함하는 참조 정보와 비교하는 단계; 및 (c) 혈액-유래 샘플이 상기 참조 역치 수준을 참조하는 분류 컷오프에 비해서 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포의 증가된 수준을 나타내는 경우 상기 대상체를 난소암을 갖거나 이에 민감한 것으로 분류하는 단계를 포함한다.

[0009] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법 또는 검정은 하나 이상의 추가적인 표적 바이오마커 시그니처에 대해서 수행될 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 분류 컷오프는 추가적인 표적 바이오마커 시그니처에 상응하는 추가적인 참조 역치 수준(들)을 참조할 수 있다.

[0010] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 사용되고/되거나 기재된 난소암의 표적 바이오마커 시그니처에 사용하기 위한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 종양-특이적 바이오마커 및/또는 조직-특이적 바이오마커(예를 들어, 난소 조직-특이적 바이오마커)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 비-특이적 마커일 수 있거나 이를 포함할 수 있고, 예를 들어, 그것은 하나 이상의 비-표적 종양 및/또는 하나 이상의 비-표적 조직에 존재한다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 AQP5, CDH6, CHODL, CLDN3, CLDN6, CLDN16, EpCAM, FOLR1, HTR3A, LEMD1, LRRTM1, MUC16, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 SLC34A2 중 하나 이상이거나 이들 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0011] 일부 실시형태에서, 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 SLC34A2 폴리펩타이드, AQP5 폴리펩타이드, MUC16 폴리펩타이드, CLDN3 폴리펩타이드, CLDN6 폴리펩타이드, FOLR1 폴리펩타이드, ALPL 폴리펩타이드, BST2 폴리펩타이드, CD24 폴리펩타이드, MSLN 폴리펩타이드, MUC1 폴리펩타이드, PTGS1 폴리펩타이드, sTn 폴리펩타이드 글리코실화, TACSTD2 폴리펩타이드 및/또는 LRRTM1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 SLC34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 LRRTM1 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 CD24 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 PTGS1 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 sTn 폴리펩타이드 글리코실화이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 ALPL 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 BST2 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 CLDN3 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다.

[0012] 일부 실시형태에서, 난소암의 표적 바이오마커 시그니처는 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것), 및 일부 실시형태에서, AQP5, CDH6, CHODL, CLDN3, CLDN6, CLDN16, EpCAM, FOLR1, HTR3A, LEMD1, LRRTM1, MUC16, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및/또는 이들의 임의의 조합물이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 1종의 추가적인 표적 표면 단백질 바이오마커를 포함할 수 있다.

[0013] 일부 실시형태에서, 난소암의 표적 바이오마커 시그니처는 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것), 및 일부 실시형태에서, CLDN6, CRABP2, KLK7, MIF, PRAME, S100A1 및 이들의 조합물이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 1종의 표적 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커를 포함할 수 있다.

[0014] 일부 실시형태에서, 난소암의 표적 바이오마커 시그니처는 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것), 및 일부 실시형태에서, CRABP2, KLK7, MIF, PRAME 및 S100A1 및 이들의 조합물이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 1종의 추가적인 표적 소포내 단백질 바이오마커를 포함할 수 있다.

[0015] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 SCL34A2 폴리펩타이드 및/또는 CLDN6 폴리펩타이드이거나 이들

을 포함하는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함한다.

- [illegible]

- [0036] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 2종의 표적 바이오마커 SLC34A2 및 MUC16을 포함한다.
- [0037] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 2종의 표적 바이오마커 FOLR1 및 CLDN3을 포함한다.
- [0038] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 2종의 표적 바이오마커 FOLR1 및 AQP5를 포함한다.
- [0039] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 LRRTM1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 2종의 표적 바이오마커 MUC16 및 MUC16을 포함한다.
- [0040] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 CLDN3 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 1종의 표적 바이오마커 FOLR1을 포함한다.
- [0041] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 CLDN3 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 1종의 표적 바이오마커 MUC16을 포함한다.
- [0042] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 CLDN3 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 2종의 표적 바이오마커 SLC34A2 및 MUC16을 포함한다.
- [0043] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 CLDN3 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 2종의 표적 바이오마커 MUC16 및 FOLR1을 포함한다.
- [0044] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 CLDN3 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 2종의 표적 바이오마커 MUC16 및 CLDN3을 포함한다.
- [0045] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 CLDN3 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드; 및 적어도 2종의 표적 바이오마커 MUC16 및 CLDN6을 포함한다.
- [0046] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 제공된 방법 또는 검정에 사용하기 위한 참조 역치 수준은 비-난소암 대상체의 집단으로부터의 대등한 샘플에서 관찰된 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포의 수준에 의해서 결정된다.
- [0047] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처에 포함된 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 항체-기반 작용제를 사용하여 검출될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 항체-기반 작용제를 포함하는 포획 검정을 사용하여 검출될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 세포 외 소포에서 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드의 존재를 검출하기 위한 포획 검정은 세포 외 소포를 포함하는 혈액-유래 샘플을 이러한 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 포획제와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 포획제는 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)에 지향되는 결합 모이어티를 포함할 수 있는데, 이것은 선택적으로 고체 기질에 접합될 수 있다. 제한 없이, 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드를 위한 예시적인 포획제는 고체 기질(예를 들어, 자성 비드) 및 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 결합 모이어티(예를 들어, 항체 작용제)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.
- [0048] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처에 포함된 표적 바이오마커는 당업계에 공지된 적절한 방법을 사용하여 검출될 수 있는데, 이것은 검출될 분석물(예를 들어, 표면 단백질, 소포내 단백질, 소포내 RNA(예를 들어, mRNA))의 유형에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용을 읽는 당업자는, 일부 실시형태에서 표면 단백질 바이오마커 및/또는 소포내 단백질 바이오마커가 항체-기반 작용제를 사용하여 검출될 수 있는 반면, 일부 실시형태에서, 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커는 핵산-기반 작용제, 예를 들어, 정량적 역전사 PCR을 사용하여 검출될 수 있다는 것을 인식할 것이다.
- [0049] 예를 들어, 표적 바이오마커가 표면 단백질 바이오마커 및/또는 소포내 단백질 마커이거나 이를 포함하는 일부 실시형태에서, 이러한 표적 바이오마커는 세포 외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에서 사용되고/되거나 기재된 것)를 발현하는 세포 외 소포를 포획하기 위해서, 예를 들어, 포획 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)에 따른 근접 결합 검정을 포함하는 방법에 의해서 검출될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 근접 결합 검정은 세포 외 소포를 포함하는 혈액-유래 샘플을, 각각 표적 바이오마커에 지향되는 검출 프로브의 세트와 접촉시키는 단계를 포함하며, 이러한 세트는 적어도 2개의 구별되는 검출 프로브를 포함하여, 세

포의 소포 및 검출 프로브의 세트를 포함하는 조합물이 생성되고, 여기서 2개의 검출 프로브는 각각 (i) 표면 단백질 바이오마커 및/또는 소포내 단백질 바이오마커에 지향되는 결합 모이어티; 및 (ii) 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하며, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함할 수 있다. 검출 프로브의 이러한 단일-가닥 오버행 부분은, 검출 프로브가 동일한 세포의 소포에 결합되는 경우 그들이 서로에 혼성화할 수 있는 것을 특징으로 한다. 이어서, 세포의 소포 및 검출 프로브의 세트를 포함하는 조합물은 검출 프로브가 동일한 세포의 소포에 결합하여 이중-가닥 복합체를 형성할 수 있도록 세포의 소포 상의 각각의 표적에 대한 검출 프로브의 세트의 결합을 허용하는 조건 하에서 유지된다. 이러한 이중-가닥 복합체는 이중-가닥 복합체를 핵산 리가제와 접촉시켜 결합된 주형을 생성시키는 단계; 및 결합된 주형을 검출하는 단계에 의해서 검출될 수 있다. 이러한 결합된 주형의 존재는 난소암의 표적 바이오마커 시그니처에 대해 양성인 세포의 소포의 존재를 나타낸다. 이러한 근접 결합 검정이 예를 들어, 다른 기존의 근접 결합 검정보다 더 높은 특이성 및/또는 감도로 더 양호하게 수행될 수 있지만, 본 개시내용을 읽는 당업자는 당업계에 공지된 다른 형태의 근접 결합 검정이 대신에 사용될 수 있다는 것을 인식할 것이다.

[0050] 표적 바이오마커가 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 마커이거나 이를 포함하는 일부 실시형태에서, 이러한 표적 바이오마커는 핵산 검출 검정을 포함하여 검출될 수 있다. 일부 실시형태에서, 예시적인 핵산 검출 검정은 역전사 PCR일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0051] 표적 바이오마커가 소포내 바이오마커(예를 들어, 소포내 단백질 바이오마커 및/또는 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커)이거나 이를 포함하는 일부 실시형태에서, 이러한 표적 바이오마커는 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 근접 결합 검정) 이전에, 후속 검출을 위해서 소포내 바이오마커(들)를 노출시키기 위한 샘플 처리(예를 들어, 고정(fixation) 및/또는 투과화(permeabilization))를 포함하여 검출될 수 있다.

[0052] 본 개시내용은, 다른 것 중에서, 단일 세포의 소포의 분해능이 아닌, 벌크 샘플(예를 들어, 세포의 소포의 벌크 샘플)에 기반한 단일 난소암-연관된 혈청 단백질 또는 복수의 난소암-연관된 바이오마커의 검출이 전형적으로 샘플이 얻어진 대상체가 난소암을 앓고 있거나 난소암에 민감할 가능성이 있는지를 결정하는 데 있어서 충분한 특이성 및/또는 감도를 제공하지 않는다는 것을 인식할 것이다. 본 개시내용은, 다른 것 중에서, 예를 들어, 검출을 위한 개별 세포의 소포가 적어도 1종 또는 그 초과인 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 적어도 1종 또는 그 초과인 표적 바이오마커의 조합물을 포함하는 표적 바이오마커 시그니처의 존재를 특징으로 하도록 구체적으로 요구하는 것을 포함하여, 이러한 문제를 해결하는 시스템, 조성물 및/또는 방법을 포함하는 기술을 제공한다. 특별한 실시형태에서, 본 개시내용은 이러한 개별 세포의 소포가 이러한 난소암의 표적 바이오마커 시그니처의 존재(예를 들어, 발현)를 특징으로 하는 반면, 표적 바이오마커 시그니처를 포함하지 않는 세포의 소포가 검출 가능한 신호(예를 들어, 참조 수준을 예를 들어, 적어도 10% 이상만큼 초과하는 수준, 여기서 일부 실시형태에서, 참조 수준은 음성 대조군 샘플, 예컨대, 이러한 표적 바이오마커 시그니처를 포함하는 개별 세포의 소포가 존재하지 않는 샘플에서 관찰되는 수준일 수 있음)를 생성시키지 않을 것을 요구하는 기술을 교시한다.

[0053] 따라서, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 대상체에서 그리고/또는 대상체의 집단에 걸쳐서 난소암의 발생 또는 재발의 검출에 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 난소암의 검출을 위해서 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 예를 들어, 고등급 장액성 난소암, 자궁내막모양 난소암, 투명 세포 난소암, 저등급 장액성 난소암 및/또는 점액성 난소암을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 난소암의 특정 카테고리의 검출을 위해서 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 인간 대상체 또는 인간 대상체의 집단을 초기 난소암 또는 난소암 재발에 대해서 스크리닝하기 위해서 주기적으로(예를 들어, 매년) 사용될 수 있다.

[0054] 일부 실시형태에서, 난소암의 발생 또는 재발의 검출을 위해서 본 명세서에 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체는 무증상 인간 대상체 및/또는 무증상 집단일 수 있다. 이러한 무증상 대상체는 난소암의 가족력을 갖고/갖거나 난소암에 대한 증가된 위험에 놓이게 하는 생애 이력을 갖고/갖거나 폐경 후이고/이거나 난소암에 대해서 이전에 치료된 적이 있고/있거나 암 치료 후에 난소암 재발의 위험이 있고/있거나 난소암 치료 후에 관해 중이고/있거나 적어도 1종의 난소암 바이오마커, 예를 들어, 비제한적으로 CA-125 혈청 단백질의 존재에 대해서 이전에 또는 주기적으로 스크리닝된 적이 있는 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 무증상 대상체는 정상 혈청 CA-125 수준(예를 들어, 35U/ml 미만의 혈청 CA-125 수준)을 갖는 것으로 결정된 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 무증상 대상체는 정상 혈청 CA-125 수준과 동일하거나 이보다 더 높은 혈청 CA-125 수준을 갖는 것으로 결정된 대상체일 수 있다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, 무증상 대상체는 난소암에 대해서

이전에 스크리닝된 적이 없고/없거나 난소암에 대해서 진단된 적이 없고/없거나 이전에 난소암 요법을 제공받은 적이 없는 대상체일 수 있다.

[0055] 일부 실시형태에서, 대상체 또는 대상체의 집단은 하나 이상의 특징, 예컨대, 연령, 인종, 유전력, 개인 이력 및/또는 병력(예를 들어, 흡연, 알코올, 약물, 발암 물질, 식이, 비만, 당뇨병, 신체 활동, 태양 노출, 방사선 노출, 회음부 탈크 사용(perineal talc use), 호르몬 대체 요법(hormone replacement therapy: HRT), 바이러스와 같은 감염원에 대한 노출 및/또는 직업상 위험)에 기초하여 선택될 수 있다.

[0056] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 난소암을 앓고 있거나 난소암에 민감한 대상체를 위해서 요법을 선택하는 데 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 난소암 요법 및/또는 부가 요법은 본 명세서에 제공된 기술에 기초한 소견에 비추어 선택될 수 있다.

[0057] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 대상체(예를 들어, 난소암 대상체)에게 투여되는 요법의 효능을 모니터링 및/또는 평가하는 데 유용할 수 있다.

[0058] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 예를 들어, 1명 이상의 개별 대상체에 대해서 그리고/또는 대상체의 집단에 걸쳐서 환자 케어를 관리하기 위한 기술을 제공한다. 몇 가지 예를 들자면, 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 스크리닝(예를 들어, 일시적으로 또는 우발적으로 동기부여된 스크리닝 및/또는 비-일시적으로 또는 우발적으로 동기부여된 스크리닝, 예를 들어, 주기적인 스크리닝, 예컨대, 매년, 반년, 격년 또는 일부 다른 빈도)에 이용될 수 있는 기술을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 일시적으로 동기부여된 스크리닝에서 사용하기 위한 제공된 기술은 특정 연령보다 더 나이가 많은(예를 들어, 50, 55, 60, 65, 70세 또는 그 초과 연령)을 갖는 1명 이상의 개별 대상체 또는 대상체(예를 들어, 무증상 대상체)의 집단을 스크리닝하는 데 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 우발적으로 동기부여된 스크리닝에 사용하기 위한 제공된 기술은 본 명세서에 기재된 바와 같은 난소암에 대해서 스크리닝을 동기부여하는 사건 또는 이벤트를 경험할 수 있는 개별 대상체를 스크리닝하는 데 유용할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 암의 하나 이상의 지표 또는 이에 대한 감수성의 결정과 관련된 부수적인 동기부여는 예를 들어, 가족력에 기초한 사건(예를 들어, 혈연 관계 친척과 같은 가까운 친척이 이전에 난소암으로 진단되었음), 난소암과 연관된 하나 이상의 위험 요소(예를 들어, 흡연, 알코올, 식이, 비만, 직업 위험 등을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 생애 이력 위험 인자)의 식별 및/또는 유전자 시험(예를 들어, 계놈 서열결정) 및/또는 영상 진단 시험(예를 들어, 초음파, 컴퓨터 단층촬영(CT) 및/또는 자기 공명 영상(MRI) 스캔)으로부터의 사전 부수적인 소견, 난소암의 특징적인 하나 이상의 징후 또는 증상의 발생(예를 들어, 잠재적으로 난소암을 나타내는 여성의 월경 기간 사이의 비정상적인 출혈 등)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0059] 일부 실시형태에서, 환자 케어를 관리하기 위한 제공된 기술은 치료 및/또는 지불(예를 들어, 치료에 대한 지원) 결정 및/또는 조치를 알릴 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 개별 대상체가 난소암의 발생 또는 재발의 하나 이상의 지표를 갖고 있는지의 여부에 대한 결정을 제공할 수 있으며, 이에 따라 이러한 소견에 비추어 요법을 시작해야 하는 시기를 의사 및/또는 환자에게 알릴 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 예를 들어, 특정 반응성 바이오마커(예를 들어, 난소암 반응성 바이오마커)의 소견에 기초하여 치료 선택을 의사 및/또는 환자에게 알릴 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 예를 들어, 난소암과 연관된 분자 표적의 하나 이상의 수준에서의 변화의 소견에 기초하여, 개별 대상체가 현재 치료에 반응하는지의 여부에 대한 결정을 제공할 수 있으며, 이에 의해서 의사 및/또는 환자에게 이러한 요법의 효능 및/또는 이러한 소견에 비추어 요법을 유지하거나 변경하도록 하는 결정을 알릴 수 있다.

[0060] 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 건강 보험 제공자가 예를 들어, (1) 자체적으로 스크리닝(예를 들어, 주기적인/정기적인 스크리닝에 대해서만 이용 가능하거나 일시적 및/또는 우발적으로 동기부여된 스크리닝에 대해서만 이용 가능한 지원)하고/하거나; (2) 제공된 기술에 의한 소견에 비추어 치료를 시작하고/하거나, 유지하고/하거나 변경하는 것에 대해서 지원할 것인 지(지원하지 않을 것은 지)에 관련하여 결정하도록 할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 (a) 본 명세서에 기재된 바와 같은 스크리닝의 결과를 제공받고, 또한 스크리닝 및/또는 특정 치료 요법의 지원에 대한 요청을 제공받는 것; (b) 적절한 일정 또는 관련 사건에 대한 반응에 따라 대상체에 대해 수행된 경우 스크리닝의 지원을 승인하고/하거나 제공받은 스크리닝 결과에 비추어 적절한 치료를 나타내는 경우 치료 요법의 지원을 승인하는 것; 및 선택적으로 (c) 지원을 구현하거나 지원이 거부되었다는 통지를 제공하는 것에 관련된 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제공받은 스크리닝 결과가 관련 치료 요법에 대해 승인된 바이오마커를 나타내는 바이오마커를 검출하는 경우(예를 들어, 처방 정보 라벨에 그리고/또는 승인된 동반 진단을 통해서 주목될 수 있는 바와 같음) 제공받은 스크리닝 결과에 비추어 치료 요

법이 적절하다. 대안적으로 또는 추가로, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 바와 같은 스크리닝 결과 및/또는 지원 결정의 보고 및/또는 처리를 허용하거나 촉진하는 보고 시스템(예를 들어, 적절한 전자 장치(들) 및/또는 통신 시스템(들)을 통해 구현됨)을 고려한다.

[0061] 본 명세서에 제공된 일부 양상은 제공된 기술에서 사용하기 위한 시스템 및 키트에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 시스템 또는 키트는 난소암의 중앙 바이오마커 시그니처에 대한 검출제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 시스템 또는 키트는 난소암과 연관된 세포의 소포에 존재하는 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드를 위한 포획제(예를 들어, 본 명세서에서 사용되고/되거나 기재된 것); 및 (b) 추가적인 표면 단백질 바이오마커(들)(예를 들어, 본 명세서에서 사용되고/되거나 기재된 것), 소포내 단백질 바이오마커(들)(예를 들어, 본 명세서에서 사용되고/되거나 기재된 것) 및/또는 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커(들)(예를 들어, 본 명세서에서 사용되고/되거나 기재된 것)이거나 이들을 포함할 수 있는 난소암의 표적 바이오마커 시그니처의 1종 이상의 표적 바이오마커에 지향되는 적어도 1종 또는 그 초과 검출제를 포함할 수 있다.

[0062] 일부 실시형태에서, 시스템 및/또는 키트에 포함된 포획제는 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 결합 모이어티(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 결합 모이어티는 고체 기질에 접합될 수 있고, 이것은 일부 실시형태에서 고체 기질일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 고체 기질은 자성 비드일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트에 포함된 예시적인 포획제는 고체 기질(예를 들어, 자성 비드) 및 이에 접합된 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 항체 작용제일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0063] 표적 바이오마커가 표면 단백질 바이오마커 및/또는 소포내 단백질 바이오마커를 포함하는 일부 실시형태에서, 시스템 및/또는 키트는 근접 결합 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)을 수행하기 위한 검출제를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 근접 결합 검정을 수행하기 위한 이러한 검출제는 각각 표적 바이오마커 시그니처의 표적 바이오마커에 지향되는 검출 프로브의 세트를 포함할 수 있는데, 이러한 세트는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하고, 여기서 2개의 검출 프로브는 각각 (i) 표적 바이오마커에 지향되는 폴리펩타이드-결합 모이어티; 및 (ii) 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하며, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함하고, 검출 프로브의 단일-가닥 오버행 부분은, 검출 프로브가 동일한 세포의 소포에 결합되는 경우, 그들이 서로에 혼성화할 수 있다는 것을 특징으로 한다.

[0064] 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 복수(예를 들어, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과)의 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있는데, 이들 각각의 세트는 2개 이상(예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 그 초과)의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 적어도 하나의 세트는 난소암에 대한 검출에 관한 것일 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 난소암의 검출을 위한 검출 프로브에 대한 적어도 하나의 세트 및 상이한 암(예를 들어, 췌장암)의 검출을 위한 검출 프로브의 적어도 하나의 세트를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 2개 이상의 검출 프로브는 난소암, 예를 들어, 고등급 장액성 난소암, 자궁내막모양 난소암, 투명 세포 난소암, 저등급 장액성 난소암 또는 점액성 난소암의 상이한 카테고리에 관한 것일 수 있다. 일부 실시형태에서, 2개 이상의 세트는 상이한 병기의 난소암의 검출에 관한 것일 수 있다. 일부 실시형태에서, 2개 이상의 세트는 동일한 병기의 난소암의 검출에 관한 것일 수 있다.

[0065] 일부 실시형태에서, 제공된 키트 내의 검출 프로브는 용기 내의 단일 혼합물로 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 다중 세트가 별도의 용기에 개별 혼합물로 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 각각의 검출 프로브는 별도의 용기에 개별적으로 제공된다.

[0066] 표적 바이오마커가 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커를 포함하는 일부 실시형태에서, 이러한 시스템 및/또는 키트는 핵산 검출 검정을 수행하기 위한 검출제를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 시스템 및/또는 키트는 예를 들어, 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 표적(들)에 지향되는 프라이머를 포함할 수 있는 정량적 역전사 PCR을 수행하기 위한 검출제를 포함할 수 있다.

[0067] 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 예를 들어, 샘플 및/또는 그 중의 세포의 소포를 처리하기 위한 적어도 1종의 화학 시약을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 샘플 중의 세포의 소포를 처리하기 위한, 예를 들어, 비제한적으로 고정제, 투과화제 및/또는 차단제를 포함하는 적어도 1종의 화학 시약을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 핵산 리가제 및/또는 핵

산 중합효소를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 1종 이상의 프라이머 및/또는 프로브를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 예를 들어, PCR, 예를 들어, 정량적 PCR(qPCR) 반응을 위한 하나 이상의 쌍의 프라이머를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 하나 이상의 프로브, 예컨대, 예를 들어, 가수분해 프로브를 포함할 수 있는데, 이것은 일부 실시형태에서 qPCR(예를 들어, TaqMan 프로브)의 특이성을 증가시키도록 설계될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 예를 들어 동시 또는 병렬 qPCR 반응이 사용되는 경우(예를 들어, 판독을 용이하게 하거나 개선시키기 위해) 유용할 수 있는 바와 같이 하나 이상의 멀티플렉싱 프로브를 포함할 수 있다.

[0068] 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 난소암의 검출(예를 들어, 초기 검출)을 위해서 개체(예를 들어, 무증상 또는 증상이 있는 대상체)를 스크리닝(예를 들어, 정기적인 스크리닝)하고/하거나 다른 평가를 수행하기 위해서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 난소암에 민감한 개체(예를 들어, 알려진 유전적, 환경적 또는 경험적 위험 등을 갖는 개체)의 스크리닝 및/또는 기타 평가를 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 이전에 치료되었던 대상체에서 난소암의 재발을 모니터링하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 난소암을 앓고 있는 대상체에 대한 요법과 조합하여 동반 진단으로서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 질환 또는 난소암을 앓고 있는 대상체에게 투여된 요법의 효능을 모니터링하거나 평가하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 난소암을 앓고 있는 대상체를 위한 요법을 선택하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 시스템 및/또는 키트는 난소암과 연관된 하나 이상의 증상(예를 들어, 비-특이적 증상)을 갖는 대상체에 대한 요법을 결정하고/하거나 선택하기 위해 사용될 수 있다.

[0069] 본 명세서에 기재된 방법을 수행하고/하거나 본 명세서에 기재된 시스템 및/또는 키트를 사용하여 형성된 복합체가 또한 본 개시내용의 범주 내에 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 복합체는 (a) 표적 바이오마커 시그니처를 발현하는 세포의 소포를 포함하는데, 표적 바이오마커 시그니처 중 적어도 2개는 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드와, 표면 단백질 바이오마커, 소포내 단백질 바이오마커 및 소포내 RNA 바이오마커로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 표적 바이오마커를 포함하며, 표면 단백질 바이오마커는 AQP5, CDH6, CHODL, CLDN3, CLDN6, CLDN16, EpCAM, FOLR1, HTR3A, LEMD1, LRRTM1, MUC16, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물로부터 선택되고; 소포내 단백질 바이오마커는 CRABP2, KLK7, MIF, PRAME 및 S100A1 및 이들의 조합물로부터 선택되고; 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커는 CLDN6, CRABP2, KLK7, MIF, PRAME, S100A1 및 이들의 조합물로부터 선택되고, 세포의 소포는 그러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 결합 모이어티를 포함하는 고체 기질 상에 고정되어 있다. 이러한 복합체는 세포의 소포에 존재하는 표적 바이오마커 시그니처의 적어도 1종의 표적 바이오마커에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 추가로 포함하고, 여기서 각각의 검출 프로브는 이러한 표적 바이오마커에 결합되고, 각각은 (i) 표적 바이오마커에 지향되는 결합; 및 (ii) 결합 모이어티에 커플링되는 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하는데, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함하고, 여기서 검출 프로브의 단일-가닥 오버행 부분은 서로에 혼성화된다.

[0070] 일부 실시형태에서, 복합체를 형성하는 세포의 소포에 존재하는 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커는 AQP5, CDH6, CHODL, CLDN3, CLDN6, CLDN16, EpCAM, FOLR1, HTR3A, LEMD1, LRRTM1, MUC16, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 SLC34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 CLDN6 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 LRRTM1 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 sTn 폴리펩타이드 글리코실화되거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 ALPL 폴리펩타이드

이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 BST2 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 CLDN3 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다.

[0071] 본 개시내용에 포함되는 이들 및 다른 양상은 하기 및 청구범위에서 보다 상세하게 설명된다.

도면의 간단한 설명

[0072] 도 1은 개별 세포의 소포(EV)를 프로파일링하는 예시적인 작업흐름을 예시하는 개략도. 도면은 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 및 특정 막-결합된 단백질 마커를 표시하는 EV의 면역친화성 포획을 사용하여 혈장으로부터 EV를 정제하는 것을 도시하고(패널 A); 본 명세서에 기재된 일부 실시형태에 따른 표적 엔티티 검출 검정을 사용하여 포획된 EV 상의 공동 국지화된 표적 마커(예를 들어, 소포내 단백질 또는 표면 단백질)의 검출을 도시한다(패널 B).

도 2는 본 명세서에 기재된 일부 실시형태에 따른 표적 엔티티 검출 검정을 예시하는 개략도. 일부 실시형태에서, 표적 엔티티 검출 검정은 조합물이 암의 검출에 특이적인 검출 프로브의 조합물을 사용한다. 일부 실시형태에서, 표적 단백질 1(예를 들어, 암 마커 1)에 대한 제1 검출 프로브 및 표적 단백질 2(예를 들어, 암 마커 2)에 대한 제2 검출 프로브를 포함하는 듀플렉스 시스템을 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 소포)를 포함하는 샘플에 첨가된다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브는 각각 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 도메인에 커플링된 표적 결합 모이어티(예를 들어, 표적 단백질에 대한 항체 작용제)를 포함한다. 제1 검출 프로브 및 제2 검출 프로브의 구별되는 표적 결합 모이어티(예를 들어, 각각 표적 단백질 1 및 표적 단백질 2에 대한 항체 작용제)가, 상응하는 단일-가닥 오버행이 서로 혼성하여 이의 올리고뉴클레오타이드 도메인의 결합이 일어날 수 있도록 가깝게 근접하게 동일한 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 소포)에 국지화되는 경우 검출 신호가 생성된다. 예를 들어, 대조군 엔티티(예를 들어, 건강한 피험자 샘플의 생물학적 엔티티)는 표적 단백질 1(예를 들어, 암 마커 1) 및 표적 단백질 2(예를 들어, 암 마커 2) 중 하나 또는 둘 다를 발현하지 않으므로, 신호의 검출이 생성될 수 없다. 그러나, 암 샘플(예를 들어, 난소암)로부터의 생물학적 엔티티가 표적 단백질 1 및 표적 단백질 2를 발현하고, 표적 단백질이 동일한 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 소포)에서 서로 충분히 짧은 거리 내에 존재하는 경우, 검출 신호가 생성된다.

도 3은 상이한 세포주-유래 세포의 소포 샘플에서, 예를 들어, 도 1 또는 도 2에 예시된 검정을 사용하여 결합된 샘플의 qPCR 검출로부터의 실험 데이터. 일부 실시형태에서, 표적 엔티티 검출 검정은 SLC34A2 마커(SLC34A2 포획) 및 예시적인 듀플렉스 시스템을 기반으로 하는 세포의 소포를 포획하기 위한 작용제를 포함하는데, 예시적인 듀플렉스 시스템은 예를 들어, 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인("MUC16+MUC16 항체 프로브")의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행을 포함하는, 구별되는 올리고뉴클레오타이드 도메인에 커플링된 MUC16-결합 모이어티(예를 들어, 항-MUC16 항체)를 각각 포함하는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다. 패널 A는 비난소암 세포주 EV(음성 세포주)에 비해 난소암 세포주 EV(양성 세포주)의 검출을 비교하는 qPCR 데이터의 그래프를 도시한다. 패널 B는 음성 대조군 세포주(예를 들어, 비난소암 세포주)를 기준으로 사용한 상응하는 평균 델타 Ct 값을 나타낸다.

도 4는 난소 낭선암종(OC) 환자 혈장 샘플 연구에 포함된 환자의 인구통계학을 나타낸 그래프 세트. (패널 A) 예시적인 검정에 의해서 평가된 여성 환자 코호트에 대한 연령 및 코호트 크기의 개략도. (패널 B) 양성 종괴를 갖는 환자로부터의 여성 혈장 샘플에 대한 연령 및 코호트 크기의 개략도.

도 5는 난소암 환자(패널 A) 및 양성 종괴를 갖는 환자(패널 B)로부터의 샘플에서 CA-125 수준과 환자 연령의 상관관계를 나타낸 그래프 세트.

도 6은 주요 난소 암종 하위유형에 의한 난소암 유병률을 나타낸 파이형 차트. "Others"는 단일 하위 유형으로 분류할 수 없는 혼합 또는 이행 암종을 지칭한다. 예를 들어, 각각 본 명세서에 기재된 목적 및 추가 정보를 위해서 전문가 참조에 의해 본 명세서에 포함된 문헌[Gilks *et al.*, 2008], 문헌[Seidman *et al.*, 2003, 2004] 참조.

도 7은 MUC16+MUC16 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 포획에 기초한 듀플렉스 시스템(예를 들어, 도 1 또는 도 2에 기재된 바와 같음)을 포함하는 난소암의 검출을 위한 예시적인 검정의 성능을 나타낸 그래프 세트. 패널 A는 다양한 난소암 하위유형으로부터의 통합 데이터를 지칭한다. 패널 B는 2개의 상이한 컷오프에서 가장 일반적인 난소암 하위유형인 고등급 장액성 난소암의 우수한 검출을 나타낸다. 컷오프 1은 99.8% 특이성과 관련이 있고,

컷오프 2는 98% 특이성과 관련이 있다. 기재된 난소암 병기에 대한 상응하는 감도를 지정된 컷오프에 대해서 나타낸다.

도 8은 MUC16+MUC16 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 포획에 기초한 듀플렉스 시스템(예를 들어, 도 1 또는 도 2에 기재된 바와 같음)을 포함하는 자궁내막모양 난소암의 검출을 위한 예시적인 검정의 성능을 나타낸 그래프. 그것은 2개의 상이한 컷오프에서 두 번째로 가장 일반적인 난소암 하위유형인 자궁내막모양 난소암의 우수한 검출을 나타낸다. 컷오프 1은 99.8% 특이성과 관련이 있고, 컷오프 2는 98% 특이성과 관련이 있다.

도 9는 2개의 상이한 컷오프에서 MUC16+MUC16 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 포획에 기초한 듀플렉스 시스템(예를 들어, 도 1에 기재된 바와 같음)을 포함하는 저등급 장액성 난소암의 검출을 위한 예시적인 검정의 성능을 나타낸 그래프. 컷오프 1은 99.8% 특이성과 관련이 있고, 컷오프 2는 98% 특이성과 관련이 있다.

도 10은 2개의 상이한 컷오프에서 MUC16+MUC16 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 포획에 기초한 듀플렉스 시스템(예를 들어, 도 1 또는 도 2에 기재된 바와 같음)을 포함하는 투명 세포 난소암의 검출을 위한 예시적인 검정의 성능을 나타낸 그래프. 컷오프 1은 99.8% 특이성과 관련이 있고, 컷오프 2는 98% 특이성과 관련이 있다.

도 11 2개의 상이한 컷오프에서 MUC16+MUC16 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 포획에 기초한 듀플렉스 시스템(예를 들어, 도 1 또는 도 2에 기재된 바와 같음)을 포함하는 점액성 난소암의 검출을 위한 예시적인 검정의 성능을 나타낸 그래프. 컷오프 1은 99.8% 특이성과 관련이 있고, 컷오프 2는 98% 특이성과 관련이 있다.

도 12는 혈청 CA-125 수준과 비교하여, MUC16+MUC16 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 포획에 기초한 듀플렉스 시스템(예를 들어, 도 1 또는 도 2에 기재된 바와 같음)을 포함하는 난소암 하위유형의 검출을 위한 예시적인 검정의 판독을 나타낸 도면. **패널 A**는 검정 신호와 혈청 CA-125 수준 사이에 상관관계가 관찰되지 않음을 나타낸다. 컷오프 1은 건강한 대조군 환자의 집단에 대한 Ct 값(예시적인 검정에 의해 얻어짐)에 로그-정규 분포를 피팅하고, 그 분포의 평균과 2.879 표준 편차를 취함으로써 도출되었으며, 이에 대해 전체 건강한 환자의 99.8% Ct 값이 위에 존재할 것이다. **패널 B**는 패널 A에 도시된 혈청 CA-125 값에 대해서 패널 A에 도시된 예시적인 검정으로부터 결정된 Ct 값을 사용하여 양성 부인과 종양을 갖는 환자(도 4A에 기재된 환자 코호트)와 난소암을 갖는 환자를 구별하기 위한 ROC(Receiver Operating Characteristic) 곡선이다. 양성 부인과 종양은 예를 들어, 자궁내막모양 낭종, 여포 낭종, 점액성 낭선종, 성숙한 기형종, 평활근종 및 장액성 낭선종을 포함한다. 추가로, 고등급 장액성, 저등급 장액성, 점액성, 자궁내막모양, 및 투명 세포를 포함하는 몇몇 난소암의 하위유형을 평가하였다.

도 13은 현재 치료 기준인 혈청 CA-125 및 질경유 초음파(TVUS)와 비교한 병기 I 및 병기 II 고등급 장액성 난소암(HGSOC)의 검출을 위한 예시적인 검정의 성능을 나타낸 데이터 세트. 특이성(**패널 A 및 패널 D**), 감도(**패널 B 및 패널 E**) 및 양성 예측값(**패널 C 및 패널 F**)을 유전적인 위험이 있는 스크리닝 여성(**패널 A, 패널 B 및 패널 C**) 및 HGSOC에 대한 평균 위험(**패널 D, 패널 E 및 패널 F**)에 대해서 비교하였다. 일부 예에서, 유전-위험 여성 및 평균-위험 여성에 대한 유병률은 각각 1% 및 0.057%이다. 혈청 CA-125 및 TVUS의 성능 파라미터는 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Buys *et al.*, 2011]로부터 얻었다.

도 14는 난소암 세포주 대 음성 대조군 세포주로부터의 EV에서 표적 MIF mRNA의 검출을 도시한 그래프의 세트. (**패널 A**) RT-qPCR을 사용한 벌크 EV에서 MIF mRNA의 검출. (**패널 B**) 벌크의 EV와 비교하여 항-EpCAM 작용화된 비드를 사용하여 포획된 EV에서 MIF mRNA의 검출.

도 15는 본 명세서에 기재된 일부 실시형태에 따른 표적 엔티티 검출 검정을 예시하는 개략도. 도면은 예시적인 트라이플렉스 표적 엔티티 검출 시스템을 나타내며, 여기서 일부 실시형태에서 각각 표적 단백질에 대해서 3개 이상의 검출 프로브가 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포외 소포)를 포함하는 샘플에 첨가될 수 있다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브는 각각 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 도메인에 커플링된 표적 결합 모이어티(예를 들어, 표적 단백질에 대한 항체 작용제)를 포함한다. 3개 이상의 모든 검출 프로브의 상응하는 단일-가닥 오버행이 서로 혼성화하여 선형 이중-가닥 복합체를 형성하고, 이중-가닥 복합체의 적어도 한 가닥의 결찰이 발생하여, 검출 신호가 생성되고, 이에 따라서 생성된 결찰된 산물이 검출될 수 있다.

도 16는 각각의 단일-가닥 오버행의 혼성화를 통해 선형 배열로 서로 연결된 4개의 검출 프로브를 포함하는 이중-가닥 복합체의 비제한적 예이다.

도 17은 본 명세서에 기재된 예시적인 실시형태의 표적 엔티티 검출 검정을 예시하는 개략도. 일부 실시형태에서, 각각 구별되는 표적에 대한 복수의 검출 프로브가 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포외 소포)를 포함하는 샘플

플에 첨가된다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브는 각각 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 도메인에 커플링된 표적 결합 모이어티(예를 들어, 항체 작용제)를 포함한다. 상응하는 단일-가닥 오버행이 혼성화하여 선형 이중-가닥 복합체를 형성하고, 생성된 선형 이중-가닥 복합체의 적어도 하나의 가닥의 결합이 발생하도록 모든 검출 프로브가 동일한 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 세포 또는 분석물)에 가깝게 근접하게 국지화되는 경우 검출 신호가 생성되고, 이에 의해서 결합된 산물이 검출될 수 있다.

도 18은 (**패널 A**) SLC34A2, (**패널 B**) MUC16, (**패널 C**) FOLR1 및 (**패널 D**) CLDN6을 포함하는 4개의 예시적인 표면 단백질 바이오마커에 대해서 17,382개의 건강한 조직 샘플 모두와 비교한 442개의 난소암 샘플(병기 I/II 및 병기 III/IV)에서의 전사체 발현을 도시한 도면.

도 19는 2개의 예시적인 오쏘고널 바이오마커 조합물의 성능을 도시한 도면. **도 18**에서 주목된 전사체 발현 컷오프를 (**패널 A**) SLC34A2 + MUC16 및 (**패널 B**) FOLR1 + CLDN6에 적용하였는데, 이것은 건강한 조직 샘플의 99.9% 초과로부터 난소암 샘플의 71% 및 75%를 각각 구별하였다. (**패널 C**) 암 환자 샘플을 특징구명하기 위해 **패널 A** 및 **패널 B**에 나타난 바와 같은 두 바이오마커 조합물 사용하는 경우 컷오프(91%)를 초과하는 것으로 식별된 난소암 환자의 백분율을 나타낸 벤다이어그램. 2개 이상의 바이오마커 조합물을 사용하여 난소암 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)의 감도를 증가시킬 수 있다는 것을 나타낸다.

도 20은 예비 바이오마커 조합물 결과를 도시한다. (**패널 A**) 풀링된 건강한 혈장 샘플 및 풀링된 난소암 혈장 샘플에서 예비 바이오마커 조합물 스크리닝(스크리닝된 112개의 조합물)으로부터의 결과를 도시한다. 각각의 데이터 포인트는 고유한 바이오마커 조합물을 나타내고, 적색 데이터 포인트를 **패널 B**에 나타낸다. (**패널 B**) 7개의 예시적인 바이오마커 조합물에 대한 풀링된 건강한 혈장과 풀링된 난소암 혈장 간의 검정 신호의 차이.

도 21은 검정 감도에서 다중 오쏘고널 바이오마커 조합물의 사용 및 관련된 개선을 도시한다. 조합물 1(SLC34A2 포획, MUC16 + MUC16 pliq-PCR 검출 프로브 관독물) 및 조합물 2(SLC34A2 포획, FOLR1 + FOLR1 pliq-PCR 검출 프로브 관독물)은 건강한 대조군 및 양성 종양 코호트로부터 난소암 집단을 개별적으로 구별할 수 있다. 두 컷오프 모두는 99.5% 특이성을 달성하도록 설정된다.

도 22는 대조군 대상체(예를 들어, 건강한 여성 대상체 및/또는 양성 부인과 종양 및/또는 예를 들어, 크론병, 궤양성 대장염, 자궁내막증 등을 비롯한 염증성 병태를 갖는 대상체)와 난소암 환자를 구별하기 위한 개별 예시적인 바이오마커 조합물을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한 도면. 예시적인 바이오마커 조합물은 하기를 포함한다:

포획 프로브의 표적	검출 프로브 1의 표적	검출 프로브 2의 표적
SLC34A2	MUC16	MUC16
SLC34A2	FOLR1	FOLR1
SLC34A2	MUC16	FOLR1
MUC16	MUC16	MUC16
MUC16	MUC16	FOLR1
MUC16	MUC16	CLDN3
MUC16	FOLR1	CLDN3
MUC16	MUC16	CLDN6
MUC16	FOLR1	FOLR1
LRRTM1	MUC16	MUC16

도 23은 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, SLC34A2에 지향되는 포획제 및 각각 MUC16에 지향되는 적어도 2개의 세트의 검출 프로브)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한 도면. (i) 건강한 대조군 대상체 및 염증성 병태를 갖는 대상체(예를 들어, 분포에서 건강한 대상체의 99.83%를 제외하기 위해서)의 평균으로부터의 2.93 표준 편차 또는 (ii) 건강한 대조군 대상체로부터의 최대 검정 신호 중 덜 제한적인 것을 선택함으로써 컷오프 값을 결정하였다. 일부 실시형태에서, 양성 난소 종양 샘플은 건강한 대조군 대상체 및/또는 염증성 병태(예를 들어, 크론병, 궤양성 대장염, 자궁내막증 등)를 갖는 대상체보다 표적의 신호에 대한 우려가 적을 수 있다. 따라서, 일부 이러한 실시형태에서, 양성 난소 종양 샘플은 컷오프 값을 결정하기 위해서 포함되지 않을 수 있다.

도 24는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, SLC34A2에 지향되는 포획제 및 FOLR1에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한다. 도 23에 기재된 바와 같이 컷오프 값을 결정하였다.

도 25는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, SLC34A2에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한다. 도 23에 기재된 바와 같이 컷오프 값을 결정하였다.

도 26는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, MUC16에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 MUC16에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한다. 도 23에 기재된 바와 같이 컷오프 값을 결정하였다.

도 27는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, MUC16에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한다. 도 23에 기재된 바와 같이 컷오프 값을 결정하였다.

도 28는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, MUC16에 지향되는 포획제 및 FOLR1에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한다. 도 23에 기재된 바와 같이 컷오프 값을 결정하였다.

도 29는 예시적인 바이오마커 조합물을 각각 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한 도면. (**패널 A**) SLC34A2에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 MUC16에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트; (**패널 B**) SLC34A2에 지향되는 포획제 및 FOLR1에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트; 및 (**패널 C**) MUC16에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트.

도 30는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, MUC16에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 예시적인 검정이 정상 혈청 CA-125(예를 들어, 35 U/ml 미만)를 갖는 난소암 환자를 검출할 수 있고, 증가된 혈청 CA-125을 갖는 다수의 비난소암 환자(예를 들어, 양성 부인과 종양을 갖는 환자)와 난소암 환자를 구별할 수 있다는 것을 도시한 도면.

도 31는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, SLC34A2에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 MUC16에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 예시적인 검정이 정상 혈청 CA-125(예를 들어, 35 U/ml 미만)를 갖는 난소암 환자를 검출할 수 있고, 증가된 혈청 CA-125을 갖는 다수의 비난소암 환자(예를 들어, 양성 부인과 종양을 갖는 환자)와 난소암 환자를 구별할 수 있다는 것을 도시한 도면.

도 32는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, SLC34A2에 지향되는 포획제 및 FOLR1에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 예시적인 검정이 정상 혈청 CA-125(예를 들어, 35 U/ml 미만)를 갖는 난소암 환자를 검출할 수 있고, 증가된 혈청 CA-125을 갖는 다수의 비난소암 환자(예를 들어, 양성 부인과 종양을 갖는 환자)와 난소암 환자를 구별할 수 있다는 것을 도시한 도면.

도 33는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, MUC16에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 CLDN3에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한다. 도 23에 기재된 바와 같이 컷오프 값을 결정하였다.

도 34는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, MUC16에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 CLDN6에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한다. 도 23에 기재된 바와 같이 컷오프 값을 결정하였다.

도 35는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, MUC16에 지향되는 포획제 및 FOLR1에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 CLDN3에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한다. 도 23에 기재된 바와 같이 컷오프 값을 결정하였다.

도 36는 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, LRRTM1에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 MUC16에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트)을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 도시한 도면. 도 23에 기재된 바와 같이 컷오프 값을 결정하였다.

도 37는 병기 I-IV 난소암을 갖는 환자와 건강한 환자를 구별하기 위한 일련의 ROC(Receiver Operating

Characteristic)를 도시한 도면. 도 23 내지 도 28 및 도 33 내지 도 36에 도시된 예시적인 검정으로부터 결정된 Ct 값을 사용하여 곡선을 생성시켰다. (패널 A)는 SLC34A2 포획 프로브 및 MUC16 + MUC16 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.92의 곡선 하 면적(AUC)을 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시하고, (패널 B)는 SLC34A2 포획 프로브 및 FOLR1 + FOLR1 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.87의 AUC를 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시하고, (패널 C)는 SLC34A2 포획 프로브 및 MUC16 + FOLR1 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.90의 AUC를 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시하고, (패널 D)는 MUC16 포획 프로브 및 MUC16 + MUC16 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.91의 AUC를 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시하고, (패널 E)는 MUC16 포획 프로브 및 MUC16 + FOLR1 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.91의 AUC를 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시하고, (패널 F)는 MUC16 포획 프로브 및 MUC16 + CLDN3 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.84의 AUC를 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시하고, (패널 G)는 MUC16 포획 프로브 및 MUC16 + CLDN6 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.90의 AUC를 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시하고, (패널 H)는 MUC16 포획 프로브 및 FOLR1 + FOLR1 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.90의 AUC를 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시하고, (패널 I)는 MUC16 포획 프로브 및 FOLR1 + CLDN3 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.67의 AUC를 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시하고, (패널 J)는 LRRTM1 포획 프로브 및 MUC16 + MUC16 pliq-PCR 검출 프로브를 활용할 때 0.78의 AUC를 갖는 예시적인 ROC 곡선을 도시한다.

도 38은 검정 감도에서 다중 오쏘고널 바이오마커 시그니처 조합물의 사용 및 관련된 개선을 도시한다. 조합물 1(SLC34A2 포획 프로브 및 MUC16 + MUC16 pliq-PCR 검출 프로브) 및 조합물 2(MUC16 포획 프로브, 및 MUC16 + FOLR1 pliq-PCR 검출 프로브)는 건강한 대조군 및 양성 종양 코호트로부터 난소암 집단을 개별적으로 구별할 수 있다. 두 컷오프 모두는 99.5% 특이성을 달성하도록 설정된다.

도 39는 검정 감도에서 다중 오쏘고널 바이오마커 시그니처 조합물의 사용 및 관련된 개선을 도시한다. 조합물 1(SLC34A2 포획 프로브 및 FOLR1 + FOLR1 pliq-PCR 검출 프로브) 및 조합물 2(MUC16 포획 프로브, 및 MUC16 + FOLR1 pliq-PCR 검출 프로브)는 건강한 대조군 및 양성 종양 코호트로부터 난소암 집단을 개별적으로 구별할 수 있다. 두 컷오프 모두는 99.5% 특이성을 달성하도록 설정된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

특정 정의

투여: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "투여하는" 또는 "투여"는 전형적으로 표적 부위 또는 치료될 부위에 조성물이거나 이에 포함된 작용제의 전달을 달성하기 위해 대상체에게 조성물을 투여하는 것을 지칭한다. 당업자는 적절한 상황에서 대상체, 예를 들어, 인간에게 투여하기 위해 사용될 수 있는 다양한 경로를 알고 있을 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 투여는 비경구일 수 있다. 일부 실시형태에서, 투여는 경구일 수 있다. 일부 실시형태에서, 투여는 단일 용량만을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 투여는 고정된 수의 용량의 적용을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 투여는 간헐적(예를 들어, 시간상 분리된 복수의 용량) 및/또는 주기적(예를 들어, 공통 기간만큼 분리된 개별 용량) 투여인 투여를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 투여는 적어도 선택된 기간 동안의 연속적인 투여(예를 들어, 관류)를 포함할 수 있다.

증폭: 용어 "증폭" 및 "증폭시키다"는 초기 양 및/또는 수준에 비해 핵산 분자의 양 및/또는 수준이 증가하는 주형-의존적 과정을 지칭한다. 주형-의존적 과정은 일반적으로 프라이머 분자의 주형-의존적 확장을 포함하는 과정이며, 여기서 새로 합성된 핵산 가닥의 서열은 널리 공지된 상보적인 염기쌍 규칙에 의해 결정된다(예를 들어, 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Watson, J. D. et al., In: *Molecular Biology of the Gene*, 4th Ed., W. A. Benjamin, Inc., Menlo Park, Calif. (1987)] 참고).

항체 작용제: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체 작용제"는 특정 항원에 특이적으로 결합하는 작용제를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 이 용어는 특이적 결합을 부여하기에 충분한 면역글로불린 구조 요소를 포함하는 임의의 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 복합체를 포함한다. 예시적인 항체 작용제는 단클론성 항체 또는 다클론성 항체를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 항체 작용제는 마우스, 토끼, 영장류, 또는 인간 항체의 특징인 하나 이상의 불변 영역 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체 작용제는 당업계에 공지된 바와 같이 인간화, 영장류화, 키메라 등의 하나 이상의 서열 요소를 포함할 수 있다. 다수의 실시형태에서, 용어 "항체 작용제"는 대안적인 제식에서 항체 구조 및 기능 특징을 이용하기 위한 당업계에 공지되거나 개발된 작제물 또는 포맷 중 하나 이상을 지칭하기 위해 사용된다. 예를 들어, 실시형태에서, 본 발명에 따라서 이용되는 항체 작용제는 비제한적으로 온전한 IgA, IgG, IgE 또는 IgM 항체; 이중- 또는 다중-특이적 항체(예를 들어, Zybodies® 등); 항체 단편, 예컨대, Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, Fd' 단편, Fd 단편 및 이의 단리된 상보성 결정 영역(CDR) 또는 세트; 단일쇄 Fv; 폴리펩타이드-Fc 융합체; 단일 도메인 항

체(예를 들어, 샤프 단일 도메인 항체, 예컨대, IgNAR 또는 이의 단편); 카멜로이드 항체; 차폐된 항체(예를 들어, Probodies®); Small Modular ImmunoPharmaceuticals ("SMIPsTM"); 단일 쇠 또는 탠덤 다이아바디(TandAb®); VHHs; Anticalins®; Nanobodies® 미니바디; BiTE®s; 안키린 반복 단백질 또는 DARPINs®; Avimers®; DARTs; TCR-유사 항체; Adnectins®; Affilins®; Trans-bodies®; Affibodies®; TrimerX®; MicroProteins; Fynomers®, Centyrins®, KALBITOR®s 및 Affimer®s로부터 선택된 포맷으로 존재한다. 일부 실시형태에서, 항체는 자연적으로 생성되는 경우 가질 공유 변형(예를 들어, 글리칸의 부착)이 결여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항체는 공유 변형(예를 들어, 글리칸의 부착, 페이로드[예를 들어, 검출 가능한 모이어티, 치료 모이어티, 촉매 모이어티 등] 또는 다른 펜던트기[예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 등]을 함유할 수 있다. 다수의 실시형태에서, 항체 작용제는 아미노산 서열이 상보성 결정 영역(CDR)으로서 당업자에 의해서 인식되는 하나 이상의 구조 요소를 포함하는 폴리펩타이드이거나 이를 포함하고; 일부 실시형태에서 항체 작용제는 아미노산 서열이 참조 항체에서 발견되는 것과 실질적으로 동일한 적어도 하나의 CDR(예를 들어, 적어도 하나의 중쇄 CDR 및/또는 적어도 하나의 경쇄 CDR)을 포함하는 폴리펩타이드이거나 이를 포함한다. CDR은 서열이 동일하거나, 참조 CDR과 비교할 때 1 내지 5개의 아미노산 치환을 함유한다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 실시형태에서 포함된 CDR은 그것이 참조 CDR과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 나타낸다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 실시형태에서 포함된 CDR은 그것이 참조 CDR과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 나타낸다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 실시형태에서, 포함된 CDR은 포함된 CDR 내의 적어도 하나의 아미노산이 참조 CDR과 비교할 때 결실, 부가 또는 치환되지만, 포함된 CDR이 참조 CDR의 것과 다른 것은 동일한 아미노산 서열을 갖는다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 실시형태에서, 포함된 CDR은 포함된 CDR 내의 적어도 1 내지 5개의 아미노산이 참조 CDR과 비교할 때 결실, 부가 또는 치환되지만, 포함된 CDR이 참조 CDR과 다른 것은 동일한 아미노산 서열을 갖는다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 실시형태에서, 포함된 CDR은 포함된 CDR 내의 적어도 1 내지 5개의 아미노산이 참조 CDR과 비교할 때 결실, 부가 또는 치환되지만, 포함된 CDR이 참조 CDR의 것과 다른 것은 동일한 아미노산 서열을 갖는다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 실시형태에서, 포함된 CDR은 포함된 CDR 내의 적어도 1 내지 5개의 아미노산이 참조 CDR과 비교할 때 결실, 부가 또는 치환되지만, 포함된 CDR이 참조 CDR과 다른 것은 동일한 아미노산 서열을 갖는다는 점에서 참조 CDR과 실질적으로 동일하다. 일부 실시형태에서, 항체 작용제는 아미노산 서열이 면역글로불린 가변 도메인으로서 당업자에 의해 인식되는 구조 요소를 포함하는 폴리펩타이드이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 작용제는 면역글로불린-결합 도메인과 상동성 또는 대체로 상동성인 결합 도메인을 갖는 폴리펩타이드 단백질이다.

[0077] 항체 작용제는 당업계에 공지된 방법 및 상업적으로 입수 가능한 서비스 및 키트를 사용하여 당업자에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 단클론성 항체의 제조 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며 하이브리도마 기술 및 파지 디스플레이 기술을 포함한다. 본 개시내용에서 사용하기에 적합한 추가 항체는 예를 들어, 하기 간행물에 기재되어 있다: 문헌[*Antibodies A Laboratory Manual*, Second edition. Edward A. Greenfield. Cold Spring Harbor Laboratory Press (September 30, 2013)]; 문헌[*Making and Using Antibodies: A Practical Handbook*, Second Edition. Eds. Gary C. Howard and Matthew R. Kaser. CRC Press (July 29, 2013)]; 문헌[*Antibody Engineering: Methods and Protocols*, Second Edition (Methods in Molecular Biology). Patrick Chames. Humana Press (August 21, 2012)]; 문헌[*Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols* (Methods in Molecular Biology). Eds. Vincent Ossipow and Nicolas Fischer. Humana Press (February 12, 2014)]; 및 문헌[*Human Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols* (Methods in Molecular Biology). Michael Steinitz. Humana Press (September 30, 2013)]].

[0078] 항체는 표준 기술, 예를 들어, 적절한 폴리펩타이드 또는 이의 부분(들)을 사용한 면역화 또는 파지 디스플레이 라이브러리를 사용하여 생산될 수 있다. 다클론성 항체가 필요한 경우, 선택된 숙주 동물(예를 들어, 마우스, 토끼, 염소, 말, 닭 등)은 원하는 에피토프(들)를 보유하는 면역원성 폴리펩타이드로 면역화되고, 선택적으로 또 다른 폴리펩타이드로 합텐화된다. 숙주 종에 따라, 면역 반응을 증가시키기 위해 다양한 아드ju반트가 사용될 수 있다. 이러한 보조제는 프로인트, 미네랄 겔, 예컨대, 수산화알루미늄 및 표면 활성 물질, 예컨대, 리소레시틴, 플루로닉 폴리올, 다중음이온, 펩타이드, 오일 에멀션, 키폴 립펫 헤모시아닌 및 다이아이트로페놀을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 면역화된 동물로부터의 혈청을 수집하고, 공지된 절차에 따라 처리한다. 원하는 에피토프에 대한 다클론성 항체를 함유하는 혈청이 다른 항원에 대한 항체를 함유하는 경우, 다클론성 항체는 면역침화성 크로마토그래피 또는 당업계에 공지된 임의의 다른 방법에 의해 정제될 수 있다. 다클론성 항체

청을 생산하고 처리하는 기술은 당업계에 널리 공지되어 있다.

[0079] **대략 또는 약**: 본 명세서에 사용된 바와 같이, 하나 이상의 관심 값에 적용되는 용어 "대략" 또는 "약"은 명시된 참조 값과 유사한 값을 지칭한다. 일반적으로, 문맥 내에서 친숙한 당업자는 그 문맥에서 "약" 또는 "대략"에 의해 포함되는 적절한 변동 정도를 이해할 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 용어 "대략" 또는 "약"은 언급된 값의 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 또는 그 보다 더 작은 값 내의 값의 범위를 포함할 수 있다.

[0080] **압타머**: 본 명세서에 사용된 용어 "압타머"는 전형적으로 특정 표적 분자(예를 들어, 에피토프)에 결합하는 핵산 분자 또는 펩타이드 분자를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 핵산 압타머는 뉴클레오타이드 서열에 의해 기재될 수 있고 전형적으로 약 15 내지 60개 뉴클레오타이드 길이이다. 핵산 압타머는 단일 가닥 및/또는 이중-가닥 구조이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 핵산 압타머는 DNA일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 핵산 압타머는 RNA일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 임의의 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 압타머의 뉴클레오타이드 쇄는 분자를 복잡한 3차원 형태로 접는 분자내 상호작용을 형성하고, 이러한 3차원 형상은 압타머가 이의 표적 분자의 표면에 단단히 결합하도록 한다고 고려된다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 압타머는 단백질 스캐폴드에 의해 표시되는 가변 서열의 하나 이상의 펩타이드 루프를 갖는 것으로 설명될 수 있다. 펩타이드 압타머는 조합 라이브러리로부터 단리될 수 있고, 종종 후속적으로 지향 돌연변이 또는 가변 영역 돌연변이유발 및 선택의 라운드에 의해 개선될 수 있다. 가능한 모든 뉴클레오타이드 및/또는 펩타이드 서열에 광범위하게 존재하는 분자 형상의 놀라운 다양성을 고려할 때, 압타머는 단백질 및 소분자를 포함하는 다양한 분자 표적에 대해 얻어질 수 있다. 높은 특이성 외에도, 압타머는 전형적으로 표적에 대해 매우 높은 친화도를 갖는다(예를 들어, 단백질 또는 폴리펩타이드에 대한 피코몰에서 낮은 나노몰 범위의 친화도). 압타머는 전형적으로 합성 분자이기 때문에, 압타머는 다양한 변형이 가능할 수 있고, 이것은 특정 적용에 대해서 이의 기능을 최적화할 수 있다.

[0081] **와 연관된**: 하나의 존재, 수준 및/또는 형태가 다른 것의 존재, 수준 및/또는 형태와 상관관계가 있는 경우, 2개의 사건 또는 엔티티는 그 용어가 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 서로 "연관"된다. 예를 들어, 특정 생물학적 현상(예를 들어, 특정 바이오마커의 발현)은 이의 존재가 (예를 들어, 관련 집단에 걸쳐서) 난소암의 발생률 및/또는 민감성과 상관관계가 있는 경우, 난소암(예를 들어, 난소암의 특정 유형 및/또는 난소암의 병기)와 연관된다고 간주된다.

[0082] **생물학적 엔티티**: 적절한 상황에서, 당업자에게 문맥 상 명백할 바와 같이, 용어 "생물학적 엔티티"는 예를 들어, 일부 실시형태에서 대상체로부터 유래되거나 대상체로부터 얻은 생물학적 샘플에 존재하는 엔티티 또는 성분을 지칭하기 위해 이용될 수 있는데, 이것은 일부 실시형태에서, 세포 또는 유기체, 예컨대, 동물 또는 인간일 수 있거나 이것을 포함할 수 있거나, 일부 실시형태에서 생물학적 조직 또는 유체일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티는 세포 또는 미생물, 또는 이의 분획, 추출물 또는 성분(예를 들어, 세포 또는 미생물에 의해 분비되는 세포내 성분 및/또는 분자 포함)이거나 이를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티는 세포이거나 세포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티는 세포외 소포이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티는 생물학적 분석물(예를 들어, 대사산물, 탄수화물, 단백질 또는 폴리펩타이드, 효소, 지질, 세포소기관, 사이토카인, 수용체, 리간드, 및 이들의 임의의 조합물)이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플에 존재하는 생물학적 엔티티는 천연 상태로 존재한다(예를 들어, 단백질 또는 폴리펩타이드는 자연 발생하는 입체배와 구조로 유지된다). 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티는 예를 들어, 샘플로부터 단리시키거나 자연 발생 생물학적 엔티티로부터 유래함으로써 처리된다. 예를 들어, 생물학적 엔티티는 본 명세서에 제공된 기술을 이용하여 검출하는 것이 더 바람직하도록 1정 이상의 화학작용제로 처리될 수 있다. 단지 예로서, 생물학적 엔티티는 고정제(비제한적으로, 메탄올 및/또는 폼알데하이드)와 접촉되어 세포 또는 세포외 소포에 존재하는 단백질 및/또는 펩타이드가 가교를 형성하게 하는 세포 또는 세포외 소포일 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티는 단리된 또는 순수한 형태(예를 들어, 체액 샘플, 예를 들어, 혈액, 혈청 또는 혈장 샘플 등으로부터 단리됨)이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티는 복합 매트릭스(예를 들어, 체액 샘플, 예를 들어, 혈액, 혈청 또는 혈장 샘플 등)에 존재할 수 있다.

[0083] **바이오마커**: 용어 "바이오마커"는 전형적으로 존재, 수준, 정도, 유형 및/또는 형태가 특정 생물학적 사건 또는 관심 상태와 상관관계가 있어서, 그 사건 또는 상태의 "마커"인 것으로 간주되는 엔티티, 사건 또는 특징을 지칭한다. 몇 가지 예를 들자면, 일부 실시형태에서 바이오마커는 특정 질환 상태에 대한 또는 특정 질환, 장애 또는 병태가 발병, 발생 또는 재발할 가능성에 대한 마커이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커는 특정 질환 또는 치료 결과 또는 이의 가능성에 대한 마커이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태

에서, 바이오마커는 특정 조직(예를 들어, 비제한적으로 뇌, 유방, 결장, 난소 및/또는 여성 생식기계와 연관된 다른 조직, 췌장, 전립선 및/또는 남성 생식기계와 연관된 다른 조직, 간, 폐 및 피부)에 대한 마커이거나 이를 포함할 수 있다. 특정 조직에 대한 이러한 마커는 일부 실시형태에서 건강한 조직에 대해 특이적일 수 있거나, 병에 걸린 조직에 대해 특이적일 수 있거나, 일부 실시형태에서 정상적인 건강한 조직 및 병에 걸린 조직(예를 들어, 종양)에 존재할 수 있고; 본 개시내용을 읽는 당업자는 각각의 이러한 유형의 바이오마커에 대한 적절한 맥락을 인식할 것이다. 일부 실시형태에서, 바이오마커는 암-특이적 마커(예를 들어, 특정 암에 특이적인 마커)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커는 비-특이적 암 마커(예를 들어, 적어도 2종 이상의 암에 존재하는 마커)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 비-특이적 암 마커는 일부 실시형태에서 암에 대한 일반 마커(예를 들어, 조직 유형에 관계없이 암에 전형적으로 존재하는 마커)이거나, 또는 일부 실시형태에서 특정 조직(예를 들어, 비제한적으로 뇌, 유방, 결장, 난소 및/또는 여성 생식기계와 연관된 다른 조직, 췌장, 전립선 및/또는 남성 생식기계와 연관된 다른 조직, 간, 폐 및 피부)의 암에 대한 마커일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 바이오마커는 예측적이며; 일부 실시형태에서, 바이오마커는 예후적이며; 일부 실시형태에서, 바이오마커는 관련된 생물학적 사건 또는 관심 상태의 진단적이다. 바이오마커는 임의의 화학적 부류의 엔티티일 수 있거나 이를 포함할 수 있고, 엔티티의 조합물일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 바이오마커는 핵산, 폴리펩타이드, 지질, 탄수화물, 소분자, 무기 작용제(예를 들어, 금속 또는 이온) 또는 이들의 조합물일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커는 특정 분자, 복합체 또는 구조의 일부이거나 이를 포함하고; 예를 들어, 일부 실시형태에서, 바이오마커는 에피토프일 수 있거나 에피토프를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커는 난소암과 연관된 세포외 소포의 표면 마커(예를 들어, 표면 단백질 마커)이다. 일부 실시형태에서, 바이오마커는 소포내이다(예를 들어, 세포외 소포 내에 존재하는 단백질 또는 RNA 마커). 일부 실시형태에서, 바이오마커는 유전적 또는 후성적 시그니처일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커는 유전자 발현 시그니처일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 따라 사용하기에 적절한 "바이오마커"는 표적 마커에 존재하는 분자 엔티티(예를 들어, 에피토프)의 존재, 수준 및/또는 형태를 지칭할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 분자 엔티티(예를 들어, 에피토프)로서 2개 이상의 "바이오마커"가 동일한 표적 마커(예를 들어, 세포외 소포에 존재하는 표면 단백질과 같은 마커 단백질) 상에 존재할 수 있다.

[0084] **혈액-유래 샘플:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "혈액-유래 샘플"은 이를 필요로 하는 대상체의 혈액 샘플(즉, 전혈 샘플)로부터 유래된 샘플을 지칭한다. 혈액-유래 샘플의 예는 혈장(예를 들어, 신선한 냉동 혈장 포함), 혈청, 혈액 분획, 혈장 분획, 혈청 분획, 적혈구(RBC), 혈소판, 백혈구 등을 포함하는 혈액 분획, 및 이들의 분획을 포함하는 세포 용해물(예를 들어, 세포, 예컨대, 적혈구, 백혈구 등을 수거하고, 이를 용해시켜 세포 용해물을 얻을 수 있음)을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및/또는 키트와 함께 사용되는 혈액-유래 샘플은 혈장 샘플이다.

[0085] **암:** 용어 "암"은 일반적으로 관심 조직의 세포가 상대적으로 비정상적이고/이거나, 통제되지 않고/않거나 자율적인 성장을 나타내어, 이들이 세포 증식의 통제의 상당한 손실을 특징으로 하는 비정상적인 성장 표현형을 나타내는 질환 또는 병태를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 일부 실시형태에서, 암은 전암성(예를 들어, 양성), 악성, 전-전이성, 전이성 및/또는 비전이성인 세포를 포함할 수 있다. 본 개시내용은 난소암의 검출을 위한 기술을 제공한다.

[0086] **분류 컷오프:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "분류 컷오프"는 예를 들어, 집단의 2개 이상의 하위 세트(예를 들어, 정상의 건강한 대상체 및 염증성 병태를 갖는 대상체 대 폐암 대상체) 중에서 2개 이상의 분류 라인을 정의함으로써, 질환 또는 병태(예를 들어, 폐암)에 대한 대상체의 위험을 예측하는 데 사용되는 수준, 값 또는 점수, 또는 값의 세트 또는 지시자를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 분류 컷오프는 선택적으로 다른 적절한 변수, 예를 들어, 대상체의 연령, 생애 이력-연관 위험 인자, 유전 인자, 물리적 및/또는 의학적 상태와 조합하여, 본 명세서에 기재된 표적 바이오마커 시그니처에 대한 적어도 하나의 참조 역치 수준(예를 들어, 참조 컷오프)을 참고하여 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서 분류가 단일 표적 바이오마커 시그니처(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에 기초하는 경우, 분류 컷오프는 단일 표적 바이오마커 시그니처에 대해서 미리 결정된 참조 역치(예를 들어, 컷오프)와 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서 분류가 1개 이상의 표적 바이오마커 시그니처에 기초하는 경우, 분류 컷오프는 각각 상응하는 표적 바이오마커 시그니처에 대해서 미리 결정된 2개 이상의 참조 역치(예를 들어, 컷오프)를 참조하고, 선택적으로 하나 이상의 적절한 변수, 예를 들어, 대상체의 연령, 생애 이력-연관 위험 인자, 유전 인자, 물리적 및/또는 의학적 상태를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 분류 컷오프는 선택적으로 다른 적절한 변수, 예를 들어, 대상체의 연령, 생애 이력-연관 위험 인자, 유전 인자, 물리적 및/또는 의학적 상태와 조합하여, 본 명세서에 기재된 표적 바이오마커 시그니처에 대한 적어

도 하나의 참조 역치 수준(예를 들어, 참조 컷오프)을 참조하는 컴퓨터 알고리즘 매개 분석을 통해서 결정될 수 있다.

[0087] **가깝게 근접:** 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "가깝게 근접"은 (예를 들어, 각각의 올리고뉴클레오타이드 도메인을 통한) 검출 프로브 간의 상호작용이 발생할 가능성이 예상될 정도로 충분히 가까운 2개의 검출 프로브 (예를 들어, 한 쌍의 2개의 검출 프로브) 사이의 거리를 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 2개의 검출 프로브가 명시된 조건 하에서 서로 충분히 가깝게 근접하는 경우(예를 들어, 검출 프로브가 세포의 소포에서 각각의 표적에 결합되는 경우) 일정 기간에 걸쳐서 (예를 들어, 각각의 올리고뉴클레오타이드 도메인을 통해서) 이들이 서로와 상호작용할 가능성은 예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 초과를 포함하여 적어도 50% 또는 그 초과이다. 일부 실시형태에서, 2개의 검출 프로브가 서로 충분히 가깝게 근접하는 경우 이들 사이의 거리는 대략 0.1 내지 1000nm 또는 0.5 내지 500nm 또는 1 내지 250nm 범위일 수 있다. 일부 실시형태에서, 2개의 검출 프로브가 서로 충분히 가깝게 근접하는 경우 이들 사이의 거리는 대략 0.1 내지 10nm 또는 대략 0.5 내지 5nm 범위일 수 있다. 일부 실시형태에서, 2개의 검출 프로브가 서로 충분히 가깝게 근접하는 경우 이들 사이의 거리는 100nm 미만 또는 그 미만, 예를 들어 90nm 미만, 80nm 미만, 70nm 미만, 60nm 미만, 50nm 미만, 40nm 미만, 30nm 미만, 20 nm 미만, 10nm 미만, 5nm 미만, 1nm 미만, 또는 더 짧을 수 있다. 일부 실시형태에서, 2개의 검출 프로브가 서로 충분히 가깝게 근접하는 경우 이들 사이의 거리는 대략 40 내지 1000nm 또는 40 내지 500nm 범위일 수 있다.

[0088] **대등한:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대등한"은 서로 동일하지 않을 수 있지만 당업자가 관찰된 차이점 또는 유사점에 기초하여 결론이 합리적으로 도출될 수 있다는 것을 인식할 것이도록 그들 사이의 비교를 허용하기에 충분히 유사한 2종 이상의 작용제, 엔티티, 상황, 조건의 세트 등을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 조건, 상황, 개체 또는 집단의 대등한 세트는 복수의 실질적으로 동일한 특징 및 하나 또는 적은 수의 다양한 특징을 특징으로 한다. 관련 기술 분야의 통상의 기술자라면, 2 이상의 상기 작용제, 엔티티, 상황, 조건의 세트 등이 대등한 것으로 여겨지는 임의의 제시된 상황에서 어떤 정도의 동일성이 요구되는지를 이해할 것이다. 예를 들어, 당업자는 상이한 상황, 개체 또는 집단의 세트에서 또는 이들과 함께 얻어진 결과 또는 관찰되는 현상의 상이성이, 변화된 특징의 차이에 의해 유발되거나 그 차이를 나타낸다는 합리적인 결론을 보장하기에 충분한 수 및 유형의 실질적으로 동일한 특징에 의해 특징구명되는 경우, 상황, 개체 또는 집단의 세트는 서로 대등할 수 있음을 인식할 것이다.

[0089] **상보적:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "상보적"은 염기쌍 규칙에 의해 관련된 올리고뉴클레오타이드 혼성화와 관련하여 사용된다. 예를 들어, 서열 "C-A-G-T"는 서열 "G-T-C-A"와 상보적이다. 상보성은 부분적이거나 전체적일 수 있다. 따라서, 부분 상보성이 올리고뉴클레오타이드 혼성화를 허용한다면, 임의의 부분 상보성은 용어 "상보적"의 범위 내에 포함되도록 의도된다. 부분 상보성은 하나 이상의 핵산 염기가 염기쌍 규칙에 따라 일치하지 않는 경우이다. 핵산 간의 전체 또는 완전한 상보성은 각각의 모든 핵산 염기가 염기쌍 규칙에 따라 다른 염기와 일치하는 경우이다.

[0090] **검출하는:** 용어 "검출하는"은 난소암의 표적 바이오마커 시그니처를 발현하는 세포의 소포 또는 이러한 세포의 소포를 나타내는 임의의 측정 형태의 존재 또는 부재를 결정하는 적절한 수단을 포함하도록 본 명세서에서 광범위하게 사용된다. 따라서 "검출하는"은 어떤 방식으로든 표적 바이오마커 시그니처의 부분에 상응하는 관심 엔티티(예를 들어, 표면 단백질 바이오마커, 소포내 단백질 바이오마커 또는 소포내 RNA 바이오마커)의 존재 또는 부재, 수준, 양 및/또는 위치를 결정, 측정, 평가 또는 검정하는 것을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, "검출하는"은 관심 엔티티(예를 들어, 표면 단백질 바이오마커 및/또는 소포내 단백질 바이오마커를 나타내는 결합된 주형 또는 소포내 mRNA를 나타내는 PCR 증폭 산물)을 나타내는 측정 형태를 결정, 측정, 평가 또는 검정하는 것을 포함할 수 있다. 반정량적인 것을 포함한 정량적 및 정성적 결정, 측정 또는 평가가 포함된다. 이러한 결정, 측정 또는 평가는 예를 들어, 관심 엔티티(예를 들어, 표면 단백질 바이오마커, 소포내 단백질 바이오마커 또는 소포내 RNA 바이오마커) 또는 이를 나타내는 측정 형태가 대조군 참조에 대해서 상대적으로 검출되려는 경우에는 상대적일 수 있거나 또는 절대적일 수 있다. 이와 같이, 관심 엔티티(예를 들어, 표면 단백질 바이오마커, 소포내 단백질 바이오마커 또는 소포내 RNA 바이오마커) 또는 이를 나타내는 측정 형태를 정량하는 것과 관련하여 사용되는 경우 용어 "정량하는"은 절대적 정량 또는 상대적 정량을 지칭할 수 있다. 절대적 정량은 관심 엔티티(예를 들어, 표면 단백질 바이오마커, 소포내 단백질 바이오마커 또는 소포내 RNA 바이오마커)의 검출된 수준을, (예를 들어, 표준 곡선의 생성을 통해서) 공지된 대조군 표준품에 상관시킴으로써 달성될 수 있다. 대안적으로, 상대적 정량은 2개 이상의 상이한 관심 엔티티(예를 들어, 상이한 표면 단백질 바이오마커 또는 소포내 단백질 바이오마커 또는 소포내 RNA 바이오마커) 사이의 검출된 수준 또는 양의 비교에 의해 달성되어 2개

이상의 서로 다른 관심 엔티티 각각, 즉, 서로에 대해 상대적일 수 있다.

[0091] **검출 표지:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "검출 표지"는 검출 가능한 임의의 요소, 분자, 작용기, 화합물, 단편 또는 모이어티를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 검출 표지는 단독으로 제공되거나 이용된다. 일부 실시형태에서, 검출 표지는 또 다른 검출제와 회합되어(예를 들어, 결합되어) 제공 및/또는 이용된다. 검출 표지의 예는 다음을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다: 다양한 리간드, 방사성 핵종(예를 들어, ^3H , ^{14}C , ^{18}F , ^{19}F , ^{32}P , ^{35}S , ^{135}I , ^{125}I , ^{123}I , ^{64}Cu , ^{187}Re , ^{111}In , ^{90}Y , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{177}Lu , ^{89}Zr 등), 형광 염료, 화학발광제 (예컨대, 아크리디늄 에스터, 안정화된 다이옥세탄 등), 생물발광제, 분광적으로 분해 가능한 무기 형광 반도체 나노결정 (즉, 양자점), 금속 나노입자(예를 들어, 금, 은, 구리, 백금 등) 나노클러스터, 상자성 금속 이온, 효소, 비색 표지(예컨대, 염료, 콜로이드성 금 등), 바이오틴, 다이곡시게닌, 합텐 및 항혈청 또는 단클론성 항체가 이용 가능한 단백질.

[0092] **검출 프로브:** 용어 "검출 프로브"는 전형적으로 특이적 표적의 검출 및/또는 정량에 관련된 프로브를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브는 정량 프로브인데, 이것은 특정 표적의 수준을 나타내는 지시자를 제공한다. 본 개시내용에 따라서, 검출 프로브는 올리고뉴클레오타이드 도메인에 직접 또는 간접적으로 커플링된 표적 결합 엔티티를 포함하는 조성물을 지칭하며, 여기서 표적 결합 엔티티는 각각의 표적(예를 들어, 분자 표적)에 특이적으로 결합하고, 여기서 올리고뉴클레오타이드 도메인의 적어도 일부는 구별되는 표적에 대한 또 다른 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인의 일부와의 혼성화를 허용하도록 설계된다. 다수의 실시형태에서, 본 개시내용에 따라 사용하기에 적절한 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 적어도 하나의 단일 가닥 오버행을 포함한다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 이중-가닥 부분의 각각의 단부에 단일-가닥 오버행을 포함할 수 있다.

[0093] **이중-가닥:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 맥락에서 용어 "이중-가닥"은 한 쌍의 올리고뉴클레오타이드가 예를 들어, 핵산, 예컨대, DNA와 전형적으로 회합되는 수소-결합 나선 배열로 존재한다는 것이 당업자에 의해 이해된다. 이중-가닥 올리고뉴클레오타이드의 100% 상보적 형태에 더하여, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "이중-가닥"은 또한 미스매치(예를 들어, 부분적 상보성) 및/또는 돌출부, 루프 또는 헤어핀으로서 구조적 특징을 포함하는 형태를 지칭하는 것을 의미한다.

[0094] **이중-가닥 복합체:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "이중-가닥 복합체"는 전형적으로 검출 프로브의 상보적인 단일-가닥 오버행의 혼성화를 통해 선형 배열로 서로 연결되거나 결합된, 각각이 표적(동일한 표적 또는 구별되는 표적일 수 있음)에 지향되는 적어도 2개 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 초과)의 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에서 제공되고/되거나 이용됨)를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 이러한 이중-가닥 복합체는 세포의 소포를 포함할 수 있고, 여기서 검출 프로브의 각각의 표적 결합 모이어티는 세포의 소포에 동시에 결합된다.

[0095] **에피토프:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "에피토프"는 면역글로불린(예를 들어, 항체 또는 수용체) 결합 성분 또는 애타머에 의해 특이적으로 인식되는 임의의 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 에피토프는 항원 상의 복수의 화학 원자 또는 기로 구성된다. 일부 실시형태에서, 이러한 화학 원자 또는 기는 항원이 관련 3차원 입체배치를 채택할 때 표면에 노출된다. 일부 실시형태에서, 이러한 화학 원자 또는 기는 항원이 이러한 입체배치를 채택할 때 공간에서 물리적으로 서로 가깝다. 일부 실시형태에서, 이러한 화학 원자 중 적어도 일부는 항원이 대안적인 입체배치를 채택할 때(예를 들어, 선형화됨) 서로 물리적으로 분리되는 기이다.

[0096] **세포의 소포:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "세포의 소포"는 일반적으로 세포 외부, 예를 들어 세포에 의해 분비되는 소포를 지칭한다. 분비된 소포의 예는 엑소솜, 미세소포, 미세입자, 엑토솜, 오토솜 및 세포자멸체를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 이론에 얽매이지 않음은 아니지만, 엑소솜은 다낭성 엔도솜(multivesicular endosome: MVE)의 제한 막의 내향 버딩(budding)에 의해 형성될 수 있는 세포내이입 기원의 나노미터 크기의 소포(예를 들어, 40nm 내지 120nm)인 반면, 미세소포는 전형적으로 세포 표면으로부터 버딩되고, 그 크기가 50nm에서 1000nm 사이에서 달라질 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포는 엑소솜 및/또는 미세소포이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포를 포함하는 샘플은 세포자멸체가 실질적으로 없다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포를 포함하는 샘플은 하나 이상의 조직(예를 들어, 암성 조직 및/또는 비암성 또는 건강한 조직)에서 방출되거나 유래된 세포의 소포를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 샘플 내의 세포의 소포는 난소암 종양으로부터 유출되거나 유래될 수 있고; 일부 실시형태에서, 세포의 소포는 비-난소암의 종양으로부터 배출되거나 유래된다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포는 건강한 조직으로부터 유출되거나 유래된다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포는 양성 부인과 종양으로부터 유출되거나 유래된다. 일부 실시형태에서, 세포의

소포는 난소암과 연관된 증상(예를 들어, 비-특이적 증상)을 갖는 대상체의 조직으로부터 유출되거나 유래된다.

- [0097] **세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드:** 본 명세서에 사용된 바와 같이, 이러한 용어는 세포외 소포의 막에 존재하는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 이러한 폴리펩타이드는 종양-특이적일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 폴리펩타이드는 조직-특이적(예를 들어, 난소 조직-특이적)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 폴리펩타이드는 비-특이적일 수 있으며, 예를 들어, 이것은 하나 이상의 비-표적 종양 및/또는 하나 이상의 비-표적 조직에 존재한다.
- [0098] **혼성화:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "혼성화하는", "혼성화하다", "혼성화", "어닐링하는" 또는 "어닐링하다"는 핵산의 가닥이 염기 짝지움을 통해 상보적인 가닥과 결합하여 혼성화 복합체를 형성하는 임의의 과정을 사용하는 상보적인 핵산의 짝지움에 대한 언급에서 상호 교환 가능하게 사용된다. 혼성화 및 혼성화의 강도(예를 들어, 핵산 간의 회합 강도)는 예를 들어, 핵산 간의 상보성 정도, 관련된 조건의 엄격성, 형성된 혼성화 복합체의 용융 온도(T) 및 핵산 내 G:C 비율을 비롯한 다양한 요인에 의해 영향을 받는다.
- [0099] **소포내 단백질 바이오마커:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "소포내 단백질 바이오마커"는 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포 또는 세포외 소포) 내에 존재하는 폴리펩타이드의 상태(예를 들어, 존재, 수준 및/또는 활성)를 나타내는 마커를 지칭한다. 다수의 실시형태에서, 소포내 단백질 바이오마커는 세포외 소포와 회합되거나 세포외 소포 내에 존재한다.
- [0100] **소포내 RNA 바이오마커:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "소포내 RNA 바이오마커"는 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포 또는 세포외 소포) 내에 존재하는 RNA(예를 들어, mRNA)의 상태(예를 들어, 존재 및/또는 수준)를 나타내는 마커를 지칭한다. 다수의 실시형태에서, 소포내 RNA 바이오마커는 세포외 소포와 회합되거나 세포외 소포 내에 존재한다.
- [0101] **리가제:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "리가제" 또는 "핵산 리가제"는 핵산을 결합시키는 데 사용하기 위한 효소를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 리가제는 폴리뉴클레오타이드의 3'-단부를 폴리뉴클레오타이드의 5'-단부에 결합시키는 데 사용하기 위한 효소이다. 일부 실시형태에서, 리가제는 점착성-단부 결합을 수행하는 데 사용하기 위한 효소이다. 일부 실시형태에서, 리가제는 뮌헨-단부 결합을 수행하는 데 사용하기 위한 효소이다. 일부 실시형태에서, 리가제는 DNA 리가제이거나 이를 포함한다.
- [0102] **생애 이력-연관 위험 인자:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "생애 이력 위험 인자"는 개인의 행동, 경험, 병력 및/또는 삶에서의 노출을 지칭하며, 이것은 이러한 행동, 경험, 병력 및/또는 삶에서의 노출이 없는 개체에 비해서, 병태, 예를 들어, 난소암에 대한 이러한 개체의 위험을 간접적으로 또는 직접적으로 증가시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 생애 이력-연관 위험 인자의 비제한적인 예는 흡연, 알코올, 약물, 발암 물질, 식이, 비만, 당뇨병, 다낭성난소증후군(PCOS), 자궁내막증, 골반 염증성 질환(PID), 난산/불임, 경구피임약 사용의 이력 없음/단기 이력, 신체 활동, 태양 노출, 방사선 노출, 회음부 탭크 사용, 호르몬 대체 요법(HRT), 바이러스와 같은 감염원에 대한 노출 및/또는 직업상 위험)을 포함한다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Reid *et al.*, 2017] 참조). 당업자는 암(예를 들어, 난소암) 감수성에 기여하는 생애 이력-연관 위험 인자의 상기 목록이 완전하지 않고 지속적으로 진화하고 있음을 인식한다.
- [0103] **결찰:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "결찰시키다", "결찰시키는" 또는 "결찰"은 2개의 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드를 연결하기 위한 당업계에 공지된 방법 또는 조성물을 지칭한다. 결찰은 점착성-단부 결찰 또는 뮌헨-단부 결찰일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술에 관련된 결찰은 점착성-단부 결찰이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 결찰은 폴리뉴클레오타이드의 3' 단부를 폴리뉴클레오타이드의 5' 단부에 연결하는 것을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 결찰은 핵산 리가제의 사용에 의해 촉진된다.
- [0104] **비-암 대상체:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "비-암 대상체"는 일반적으로 비-양성 난소암을 갖지 않는 여성 대상체를 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 비암 대상체는 건강한 암컷 대상체(예를 들어, 건강한 여성 대상체)이다. 일부 실시형태에서, 비암 대상체는 55세 미만의 건강한 암컷 대상체(예를 들어, 건강한 여성 대상체)이다. 일부 실시형태에서, 비암 대상체는 55세 이상의 건강한 암컷 대상체(예를 들어, 건강한 여성 대상체)이다. 일부 실시형태에서, 비암 대상체는 난소 관련되지 않은 건강의 질환, 장애 또는 병태를 갖는 암컷 대상체(예를 들어, 여성 대상체)이다. 일부 실시형태에서, 비암 대상체는 양성 난소 종양(예를 들어, 나팔관 및/또는 난소에서 발견되는 양성 종괴)을 갖는 암컷 대상체(예를 들어, 여성 대상체)이다.
- [0105] **핵산/올리고뉴클레오타이드:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "핵산"은 적어도 10개 이상의 뉴클레오타

이드의 중합체를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 DNA이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 RNA이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 펩타이드 핵산(PNA)이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산 단일 가닥 핵산이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산 이중-가닥 핵산이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 단일 가닥 부분 및 이중-가닥 부분 둘 다를 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 하나 이상의 포스포다이에스터 결합을 포함하는 골격을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 포스포다이에스터 및 비-포스포다이에스터 결합 둘 다를 포함하는 골격을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 핵산은 예를 들어 "펩타이드 핵산"에서와 같이, 하나 이상의 포스포로티오에이트 또는 5'-N-포스포르아미다이트 링키지 및/또는 하나 이상의 펩타이드 결합을 포함하는 골격을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 핵산은 하나 이상의 또는 모든 자연 잔기(예를 들어, 아데닌, 사이토신, 데옥시아데노신, 데옥시사이티딘, 데옥시구아노신, 데옥시티미딘, 구아닌, 티민, 우라실)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 비-자연 잔기의 하나 이상, 또는 전부를 포함한다. 일부 실시형태에서, 비-자연 잔기는 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 2-아미노아데노신, 2-티오티미딘, 이노신, 피콜로-피리미딘, 3-메틸 아데노신, 5-메틸사이티딘, C-5 프로핀일-사이티딘, C-5 프로핀일-우리딘, 2-아미노아데노신, C5-브로모우리딘, C5-플루오로우리딘, C5-아이오도우리딘, C5-프로핀일-우리딘, C5-프로핀일-사이티딘, C5-메틸사이티딘, 2-아미노아데노신, 7-데아자아데노신, 7-데아자구아노신, 8-옥소아데노신, 8-옥소구아노신, 6-O-메틸구아닌, 2-티오사이티딘, 메틸화 염기, 삽입(intercalated) 염기 및 이들의 조합물)를 포함한다. 일부 실시형태에서 비-자연 잔기는 자연 잔기 내의 것에 비해 하나 이상의 변형된 당(예를 들어, 2'-플루오로리보스, 리보스, 2'-데옥시리보스, 아라비노스 및 핵소스)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 RNA 또는 단백질과 같은 기능성 유전자 산물을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 핵산은 하나 이상의 인트론을 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 핵산은 자연 공급원으로부터의 분리, 효소 합성(예를 들어, 상보적 주형에 기초한 중합, 예를 들어, 생체내 또는 시험관내), 재조합 세포 또는 시스템에서의 변식, 또는 화학적 합성에 의해 제조될 수 있다. 일부 실시형태에서, 핵산은 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10,000, 10,500, 11,000, 11,500, 12,000, 12,500, 13,000, 13,500, 14,000, 14,500, 15,000, 15,500, 16,000, 16,500, 17,000, 17,500, 18,000, 18,500, 19,000, 19,500 또는 20,000개 또는 그 초과 잔기 또는 뉴클레오타이드 길이이다.

[0106] **뉴클레오타이드:** 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "뉴클레오타이드"는 당업계에서 인식하는 의미를 지칭한다. 다수의 뉴클레오타이드가 예를 들어 올리고뉴클레오타이드의 크기 표시로서 사용되는 경우, 특정 수의 뉴클레오타이드는 예를 들어 올리고뉴클레오타이드의 단일 가닥 상의 뉴클레오타이드의 수를 지칭한다.

[0107] **환자:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "환자"는 질환 또는 장애 또는 병태를 앓고 있거나 이의 위험이 있는 임의의 유기체를 지칭한다. 전형적인 환자는 동물(예를 들어, 마우스, 래트, 토끼, 인간이 아닌 영장류 및/또는 인간과 같은 포유동물)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 환자는 인간이다. 일부 실시형태에서, 환자는 하나 이상의 질환 또는 장애 또는 병태를 앓고 있거나 이에 민감하다. 일부 실시형태에서, 환자는 질환 또는 장애 또는 병태의 하나 이상의 증상을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 환자는 하나 이상의 질환 또는 장애 또는 병태로 진단되었다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술을 적용할 수 있는 질환 또는 장애 또는 병태는 암 또는 하나 이상의 종양의 존재이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 환자는 질환, 장애 또는 병태를 진단 및/또는 치료하기 위해 특정 요법을 받고 있거나 받은 적이 있다.

[0108] **폴리펩타이드:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "폴리펩타이드"는 일반적으로 적어도 3개 이상의 아미노산의 중합체의 당업계에서 인식되는 의미를 갖는다. 당업자는 용어 "폴리펩타이드"가 본 명세서에 인용된 완전한 서열을 갖는 폴리펩타이드뿐만 아니라 이러한 완전한 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 기능적, 생물학적 활성 또는 특징적인 부분 또는 도메인(예를 들어, 적어도 하나의 활성을 보유하는 단편, 부분 또는 도메인)을 나타내는 폴리펩타이드를 포함하도록 충분히 일반적으로 의도됨을 이해할 것이다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 L-아미노산, D-아미노산, 또는 둘 다를 함유할 수 있고/있거나 당업계에 공지된 임의의 다양한 아미노산 변형 또는 유사체를 함유할 수 있다. 유용한 변형은 예를 들어 말단 아세틸화, 아마이드화, 메틸화 등을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 자연 아미노산, 비-자연 아미노산, 합성 아미노산, 및 이들의 조합물을 포함할 수 있다(예를 들어, 펩타이드모방체일 수 있거나 이를 포함할 수 있음).

[0109] **예방하다 또는 예방:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "예방하다" 또는 "예방"은 질환, 장애 및/또는 병태의 발생과 관련하여 사용될 때, 질환, 장애 및/또는 병태의 발병 위험을 감소시키고/시키거나 질환, 장애 또는 병

태의 하나 이상의 특성 또는 증상의 발병을 지연시키는 것을 지칭한다. 질환, 장애 또는 병태의 발병이 미리 정의된 기간 동안 지연되면 예방이 완료된 것으로 간주될 수 있다.

[0110] **프라이머:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "프라이머"는 핵산 가닥에 상보적인 프라이머 연장 산물의 합성이 유도되는 조건(예를 들어, 뉴클레오타이드 및 DNA 중합효소와 같은 유도제의 존재 및 적절한 온도 및 pH에서) 하에 존재하는 경우 합성의 개시점으로서 작용할 수 있는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다. 프라이머는 증폭 효율을 최대화하기 위해 단일 가닥인 것이 바람직하다. 프라이머는 유도제의 존재 하에서 연장 산물의 합성을 프라이밍하기에 충분히 길어야 한다. 프라이머의 정확한 길이는 온도와 같은 많은 요인에 따라 달라질 수 있다.

[0111] **참조:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "참조"는 비교가 수행되는 표준품 또는 대조군을 설명한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 관심 작용제, 동물, 개체, 집단, 샘플, 서열 또는 값은 참조 또는 대조군 작용제, 동물, 개체, 집단, 샘플, 서열 또는 값과 비교된다. 일부 실시형태에서, 참조 또는 대조군은 관심의 시험 또는 결정과 실질적으로 동시에 시험 및/또는 결정된다. 일부 실시형태에서, 참조 또는 대조군은 선택적으로 실존하는 매체에서 구체화된 역사적 참조 또는 대조군이다. 일부 실시형태에서, 표적의 참조 수준과 관련하여 참조 또는 대조군은 정상적인 건강한 대상체 또는 정상 건강한 대상체의 집단에서 표적의 수준을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 표적의 참조 수준과 관련하여 참조 또는 대조군은 치료 전 대상체의 표적 수준을 지칭한다. 전형적으로, 당업자가 이해하는 바와 같이, 참조 또는 대조군은 평가 중인 것들과 대등한 조건 또는 상황에서 결정되거나 특징규명된다. 당업자는 특별한 가능한 참조 또는 대조군에 대한 의존 및/또는 비교를 정당화하기에 충분한 유사성이 존재하는 경우를 이해할 것이다.

[0112] **위험:** 문맥으로부터 이해될 바와 같이, 질환, 장애 및/또는 병태의 "위험"은 특정 개체가 질환, 장애 및/또는 병태를 발달시킬 가능성을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 위험은 백분율로 표현된다. 일부 실시형태에서, 위험은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 내지 100%이다. 일부 실시형태에서, 위험은 참조 샘플 또는 참조 샘플 군과 연관된 위험에 대한 위험으로 표현된다. 일부 실시형태에서, 참조 샘플 또는 참조 샘플의 군은 질환, 장애, 병태 및/또는 사건의 알려진 위험을 갖는다. 일부 실시형태에서, 참조 샘플 또는 참조 샘플의 군은 특정 개체에 대등한 개인으로부터 유래한다. 일부 실시형태에서, 상대 위험은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 초과이다.

[0113] **샘플:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "샘플"은 전형적으로 관심 공급원으로부터 얻거나 유래된 물질의 분취물을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 관심 생물학적 공급원(예를 들어, 조직 또는 유기체 또는 세포 배양물)으로부터 얻어지거나 유래된다. 일부 실시형태에서, 관심 공급원은 동물 또는 인간과 같은 유기체 또는 세포이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 관심 공급원은 생물학적 조직 또는 유체이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 생물학적 조직 또는 유체는 양수, 방수, 복수, 담즙, 골수, 혈액, 모유, 뇌척수액, 귀지, 유미, 차임, 사정액, 내림프, 삼출물, 대변, 위산, 위액, 림프액, 점액, 심낭액, 외림프액, 복막액, 흉수, 고름, 류머티즘, 타액, 피지, 정액, 혈청, 태지, 가래, 활액, 땀, 눈물, 소변, 질분비물, 유리체액, 구토 및/또는 이들의 조합물 또는 성분이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 유체는 세포내 유체, 세포외 유체, 세포외 유체(혈장), 간질 유체, 림프액 및/또는 체강액(transcellular fluid)이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 조직 또는 샘플은 예를 들어 흡인물, 생검(예를 들어, 가는 바늘 또는 조직 생검), 면봉(예를 들어, 구강, 비강, 피부 또는 질 면봉), 긁기, 수술, 세정 또는 세척(예를 들어, 기관지, 관, 비강, 안구, 구강, 자궁, 질, 또는 기타 세정 또는 세척)에 의해 얻을 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 액체 생검이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 개체로부터 얻은 세포이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 임의의 적절한 수단에 의해 관심 공급원으로부터 직접 얻은 "1차 샘플"이다. 일부 실시형태에서, 문맥으로부터 명백할 바와 같이, 용어 "샘플"은 1차 샘플을 처리함으로써(예를 들어, 1차 샘플의 1종 이상의 성분을 제거하고/하거나 1종 이상의 작용제를 이에 추가함으로써) 얻어지는 제제를 지칭한다. 예를 들어, 샘플은 반투성막 또는 항체-기반 방법과 같은 친화도-기반 방법을 사용하여 처리하여 관심 생물학적 엔티티를 다른 비-표적 엔티티로부터 분리하는 제제이다. 이러한 "처리된 샘플"은 예를 들어, 일부 실시형태에서 세포외 소포를 포함할 수 있는 반면, 일부 실시형태에서는 샘플로부터 추출된 핵산 및/또는 단백질 등을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 처리된 샘플은 1차 샘플에 핵산의 증폭 또는 역전사, 특정 성분의 단리 및/또는 정제 등과 같은 하나 이상의 기술을 적용하여 얻을 수 있다.

[0114] **선택적 또는 특이적:** 활성을 갖는 작용제와 관련하여 본 명세서에서 사용되는 경우 용어 "선택적" 또는 "특이적"은 작용제가 잠재적인 표적 엔티티, 상태 또는 세포를 구별함을 의미하는 것으로 당업자에 의해 이해된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 작용제는 하나 이상의 경쟁적인 대체 표적의 존재 하에서 표적과 우선적으로

로 결합하는 경우 표적에 "특이적으로" 결합한다고 한다. 다수의 실시형태에서, 특이적 상호작용은 표적 엔티티의 특정 구조적 특징(예를 들어, 에피토프, 틈, 결합 부위)의 존재에 의존한다. 특이성은 절대적일 필요는 없음을 이해해야 한다. 일부 실시형태에서, 특이성은 하나 이상의 다른 잠재적인 표적 엔티티(예를 들어, 경쟁자)에 대한 표적-결합 모이어티의 특이성에 대해 평가될 수 있다. 일부 실시형태에서, 특이성은 참조 특이적 결합 모이어티의 특이성에 대해 평가된다. 일부 실시형태에서, 특이성은 참조 비-특이적 결합 모이어티의 특이성에 대해 평가된다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 이의 표적 엔티티에 대한 결합 조건 하에서 경쟁적인 대체 표적에 검출 가능하게 결합하지 않는다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 경쟁적인 대체 표적(들)과 비교할 때 이의 표적 엔티티에 대해 더 높은 온-레이트, 더 낮은 오프-레이트, 증가된 친화도, 감소된 해리 및/또는 증가된 안정성으로 결합한다.

[0115] **소분자:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "소분자"는 저분자량 유기 및/또는 무기 화합물을 의미한다. 일반적으로 "소분자"는 크기가 약 5 킬로달톤(kD) 미만인 분자이다. 일부 실시형태에서, 소분자는 약 4 kD, 3 kD, 약 2 kD, 또는 약 1 kD 미만이다. 일부 실시형태에서, 소분자는 약 800달톤(D), 약 600 D, 약 500D, 약 400D, 약 300D, 약 200D, 또는 약 100D 미만이다. 일부 실시형태에서, 소분자는 약 2000g/mol 미만, 약 1500g/mol 미만, 약 1000g/mol 미만, 약 800g/mol 미만, 또는 약 500g/mol 미만이다. 일부 실시형태에서, 소분자는 중합체가 아니다. 일부 실시형태에서, 소분자는 중합체 모이어티를 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 소분자는 단백질 또는 폴리펩타이드가 아니다(예를 들어, 올리고펩타이드 또는 펩타이드가 아니다). 일부 실시형태에서, 소분자는 폴리뉴클레오타이드가 아니다(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드가 아니다). 일부 실시형태에서, 소분자는 다당류가 아니다. 일부 실시형태에서, 소분자는 다당류를 포함하지 않는다(예를 들어, 당단백질, 프로테오글리칸, 당지질 등이 아니다). 일부 실시형태에서, 소분자는 지질이 아니다. 일부 실시형태에서, 소분자는 생물학적으로 활성이다. 일부 실시형태에서, 적합한 소분자는 화합물의 큰 라이브러리를 스크리닝하는 것과 같은 방법(문헌[Beck- Sickinger & Weber (2001) *Combinational Strategies in Biology and Chemistry* (John Wiley & Sons, Chichester, Sussex)]; 핵 자기 공명에 의한 구조-활성도 관계(문헌[Shuker *et al.* (1996) "Discovering high-affinity ligands for proteins: SAR by NMR." *Science* 274: 1531-1534]), 암호화된 자가-조립 화학 라이브러리(문헌[Melkko *et al.* (2004) "Encoded self-assembling chemical libraries." *Nature Biotechnol.* 22: 568-574]), DNA-주형 화학(문헌[Gartner *et al.* (2004) "DNA-templated organic synthesis and selection of a library of macrocycles." *Science* 305: 1601-1605]), 동적 조합 화학(문헌[Ramstrom & Lehn (2002) "Drug discovery by dynamic combinatorial libraries." *Nature Rev. Drug Discov.* 1: 26-36]), 테더링(문헌[Arkin & Wells (2004) "Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions: progressing towards the dream." *Nature Rev. Drug Discov.* 3: 301-317]); 및 스피드 스크린(문헌[Muckenschnabel *et al.* (2004) "SpeedScreen: label-free liquid chromatography-mass spectrometry-based high-throughput screening for the discovery of orphan protein ligands." *Anal. Biochem.* 324: 241-249]에 의해서 식별될 수 있다. 일부 실시형태에서, 소분자는 나노몰 범위의 표적에 대한 해리 상수를 가질 수 있다.

[0116] **특이적 결합:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "특이적 결합"은 결합이 일어나야 하는 환경에서 가능한 결합 파트너를 구별하는 능력을 지칭한다. 다른 잠재적인 표적이 존재할 때 하나의 특정 표적과 상호작용하는 표적-결합 모이어티는 그것이 상호작용하는 표적에 "특이적으로 결합"한다고 한다. 일부 실시형태에서, 특이적 결합은 표적-결합 모이어티와 이의 파트너 사이의 회합 정도를 검출하거나 결정함으로써 평가되고; 일부 실시형태에서, 특이적 결합은 표적-결합 모이어티-파트너 복합체의 해리 정도를 검출하거나 결정함으로써 평가되고; 일부 실시형태에서, 특이적 결합은 이의 파트너와 다른 엔티티 사이의 대안적인 상호작용을 경쟁하는 표적-결합 모이어티의 능력을 검출하거나 결정함으로써 평가된다. 일부 실시형태에서, 특이적 결합은 일정 농도 범위에 걸쳐 이러한 검출 또는 결정을 수행함으로써 평가된다.

[0117] **암의 병기:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "암의 병기"는 암(예를 들어, 난소암)의 진행 수준에 대한 정성적 또는 정량적 평가를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 암의 병기를 결정하기 위해 사용된 기준은 암이 신체 내 위치하는 장소, 종양 크기, 암이 림프절로 퍼졌는지의 여부, 암이 신체의 하나 이상의 상이한 부분으로 퍼졌는지의 여부 등 중 하나 이상을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 암은 AJCC 병기 결정 시스템을 사용하여 병기결정될 수 있다. AJCC 병기결정 시스템은 암 환자의 질환 진행 정도를 설명하기 위해 미국 암 합동 위원회(American Joint Committee on Cancer)에서 개발한 분류 시스템이며, 이것은 TNM 점수 시스템(종양 크기, 영향을 받는 림프절, 전이(Tumor size, Lymph Nodes affected, Metastases))을 부분적으로 활용한다. 일부 실시형태에서, 암은 부분적으로 TNM 점수 시스템을 포함하는 분류 시스템을 사용하여 병기결정될 수 있으며, 이에 따라 T는 일반적으로 원발성 종양으로 지칭되는 주요 종양의 크기 및 범위를 나타내고; N은

암을 갖는 주변 림프절의 수를 지칭하고; M은 암이 전이되었는지 여부를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 암은 0기(비정상 세포가 존재하지만 주변 조직으로 퍼지지 않았으며, 동소(*in situ*) 암종 또는 CIS라고도 함; CIS는 암이 아니지만 암이 될 수 있음), 1기 내지 III기(암이 존재; 숫자가 높을수록 종양이 더 크고 주변 조직으로 더 많이 퍼짐) 또는 IV기(암이 신체의 먼 부분으로 퍼짐)로서 지칭될 수 있다. 일부 실시형태에서, 암은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 병기에 할당될 수 있다: 동소(비정상 세포가 존재하지만 주변 조직으로 퍼지지 않음); 국소화됨(암은 퍼졌다는 징후 없이, 시작된 장소에 제한됨); 지역(암이 가까운 림프절, 조직 또는 장기로 퍼짐); 원거리(암이 신체의 먼 부분으로 퍼짐); 및 알 수 없음(병기를 파악하기 위한 정보가 충분하지 않음).

[0118]

대상체: 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대상체"는 예를 들어 실험, 진단, 예방 및/또는 치료 목적을 위해 샘플이 얻어지는 유기체를 지칭한다. 전형적인 대상체는 동물(예를 들어, 포유동물, 예컨대, 마우스, 래트, 토끼, 인간이 아닌 영장류, 애완 동물 등) 및 인간을 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체는 인간 암컷 대상체, 예를 들어, 인간 여성 대상체이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 난소암을 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 난소암에 민감하다. 일부 실시형태에서, 대상체는 난소암의 하나 이상의 증상 또는 특징을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 난소암의 하나 이상이 비특이적 증상을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 난소암의 임의의 증상 또는 특징을 나타내지 않는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 난소암에 대한 민감성 또는 위험에 대한 특징적인 하나 이상의 특징을 갖는 사람이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 환자이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 진단 및/또는 요법이 투여되고/되거나 투여된 개체이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 부속기 덩이를 갖는다고 결정된 암컷 대상체(예를 들어, 여성 대상체)이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 무증상 대상체이다. 이러한 증상이 있는 대상체는 평균 집단 위험 또는 유전적 위험을 갖는 암컷 대상체(예를 들어, 여성 대상체)일 수 있다. 예를 들어, 이러한 무증상 대상체는 암의 가족력을 갖고/갖거나 암에 대해서 이전에 치료된 적이 있고/있거나 암 치료 후에 암 재발의 위험이 있고/있거나 암 치료 후에 관해 중이고/이거나 적어도 1종의 암 바이오마커의 존재에 대해서 이전에 또는 주기적으로 스크리닝된 적이 있는 대상체일 수 있다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, 무증상 대상체는 암에 대해서 이전에 스크리닝된 적이 없고/없거나 암에 대해서 진단된 적이 없고/없거나 이전에 암 요법을 제공받은 적이 없는 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체는 하나 이상의 특징, 예컨대, 연령, 인종, 유전력, 병력, 개인 이력(예를 들어, 흡연, 알코올, 약물, 발암 물질, 식이, 비만, 신체 활동, 태양 노출, 방사선 노출, 바이러스와 같은 감염원에 대한 노출 및/또는 직업상 위험)에 기초하여 선택된 개체이다.

[0119]

를 앓고 있는: 질환, 장애 및/또는 병태를 "앓고 있는" 개체는 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상으로 진단되었고/되었거나 이를 나타낸다.

[0120]

표면 폴리펩타이드 또는 표면 단백질: 본 명세서에서 상호 교환 가능하게 사용되는 바와 같이, 용어 "표면 폴리펩타이드", "표면 단백질" 및 "막-결합된 폴리펩타이드"는 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포, 세포외 소포 등)의 막의 표면 내에 그리고/또는 표면 상에 존재하는 하나 이상의 도메인 또는 영역을 갖는 폴리펩타이드 또는 단백질을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 표면 단백질은 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포, 세포외 소포 등)의 원형질막에 걸쳐 있고/있거나 이와 회합된 하나 이상의 도메인 또는 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표면 단백질은 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포, 세포외 소포 등)의 원형질막에 걸쳐 있고/있거나 이와 회합되고, 또한 세포내 및/또는 소포내 공간으로 도출된 하나 이상의 도메인 또는 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표면 단백질은 예를 들어, 하나 이상의 비-펩타이드 링키지를 통해서 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포, 세포외 소포 등)의 원형질막과 회합된 하나 이상의 도메인 또는 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표면 단백질은 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포, 세포외 소포 등)의 원형질막의 하나의 측면에 고정된 하나 이상의 도메인 또는 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표면 단백질은 세포외 소포와 회합되거나 세포외 소포 내에 존재한다. 일부 실시형태에서, 표면 폴리펩타이드 또는 막-결합된 폴리펩타이드는 난소암-연관된 세포외 소포(예를 들어, 난소암을 앓고 있거나 이에 민감한 혈액 또는 혈액-유래 샘플로부터 얻어지거나 유래된 세포외 소포) 내에 존재하거나 이와 회합될 수 있다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 세포외 소포 상의/내의 표면 폴리펩타이드 또는 표면 단백질의 적어도 일부의 존재의 검출은 대상체로부터의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액 또는 혈액 유래 샘플)로부터의 난소암-연관된 세포외 소포의 분리 및/또는 단리를 용이하게 할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표면 폴리펩타이드 또는 표면 단백질의 존재의 검출은 이러한 표면 폴리펩타이드 또는 표면 단백질의 소포내 부분(예를 들어, 소포내 에피토프)의 검출이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표면 폴리펩타이드 또는 표면 단백질의 존재의 검출은 이러한 표면 폴리펩타이드 또는 표면 단백질의 막-스패닝 부분의 검출이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표면 폴리펩타이드 또는 표면 단백질의 존재의 검출은 이러한 표면 폴리펩타이드 또는 표면 단백질의 소포의 부분의 검출이거나 이를 포함할 수 있다.

수 있다.

[0121] **표면 단백질 바이오마커:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "표면 단백질 바이오마커"는 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포 또는 세포외 소포)의 표면 단백질(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)의 상태(예를 들어, 존재, 수준 및/또는 활성)를 나타내는 마커를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 표면 단백질은 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포 또는 세포외 소포)의 막의 표면 내에 또는 표면 상에 위치한 하나 이상의 도메인 또는 영역을 갖는 폴리펩타이드 또는 단백질을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 표면 단백질 바이오마커는 막의 내부 측면(소포내) 또는 외부 측면(소포외)에 존재하는 에피토프이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표면 단백질 바이오마커는 세포외 소포와 회합되거나 세포외 소포 내에 존재한다.

[0122] **에 민감한:** 질환, 장애 및/또는 병태에 "민감한" 개체는 일반 대중의 구성원보다 질환, 장애 및/또는 병태가 발생할 위험이 더 높은 사람이다. 일부 실시형태에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 민감한 개체는 질환, 장애 및/또는 병태로 진단되지 않았을 수 있다. 일부 실시형태에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 민감한 개체는 질환, 장애 및/또는 병태의 증상을 나타낼 수 있다. 일부 실시형태에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 민감한 개체는 질환, 장애 및/또는 병태의 증상을 나타내지 않을 수 있다. 일부 실시형태에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 민감한 개체는 질환, 장애 및/또는 병태가 발병할 것이다. 일부 실시형태에서, 질환, 장애 및/또는 병태에 민감한 개체는 질환, 장애 및/또는 병태가 발병하지 않을 것이다.

[0123] **표적-결합 모이어티:** 일반적으로, 용어 "표적-결합 모이어티" 및 "결합 모이어티"는 관심 표적(예를 들어, 관심 분자 표적, 에킨대, 바이오마커 또는 에피토프)에 결합하는 임의의 엔티티 또는 모이어티를 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호 교환 가능하게 사용된다. 다수의 실시형태에서, 관심 표적-결합 모이어티는 특정 상호작용 맥락에서 다른 잠재적인 결합 파트너로부터 이의 표적을 구별한다는 점에서 이의 표적(예를 들어, 표적 바이오마커)과 특이적으로 결합하는 것이다. 일반적으로, 표적-결합 모이어티는 임의의 화학적 부류(예를 들어, 중합체, 비중합체, 소분자, 폴리펩타이드, 탄수화물, 지질, 핵산 등)의 엔티티 또는 모이어티이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 단일 화학 엔티티이다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 비공유 상호작용에 의해 관련 조건 하에 서로 회합된 2개 이상의 별개의 화학적 엔티티의 복합체이다. 예를 들어, 당업자는 일부 실시형태에서 표적-결합 모이어티가 "일반" 결합 모이어티(예를 들어, 바이오틴/아비딘/스트렙타비딘 및/또는 클래스-특이적 항체 중 하나) 및 일반 결합 모이어티의 파트너에 연결된 "특이적" 결합 모이어티(예를 들어, 특정 분자 표적을 갖는 항체 또는 압타머)를 포함할 수 있음을 인식할 것이다. 일부 실시형태에서, 이러한 접근법은 상이한 특이적 결합 모이어티와 일반 결합 모이어티 파트너의 링키지를 통해 다중 표적 결합 모이어티의 모듈식 조립을 허용할 수 있다.

[0124] **표적 바이오마커 시그니처:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "표적 바이오마커 시그니처"는 (예를 들어, 예를 들어, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 30개 또는 그 초과를 비롯한 적어도 2개 이상)의 바이오마커의 조합물을 지칭하고, 이 조합물은 관심의 특정 생물학적 사건 또는 상태와 상관관계가 있어서, 당업자는 이것이 그 사건 또는 상태의 "시그니처"인 것으로 적절하게 간주될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 몇 가지 예를 들자면, 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 특정 질환 또는 질환 상태 및/또는 특정 질환, 장애 또는 병태가 발병, 발생 또는 재발할 가능성과 상관관계가 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 특정 질환 또는 치료 결과 또는 이의 가능성과 상관관계가 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 특정 암 및/또는 이의 병기와 상관관계가 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 난소암 및/또는 이의 병기 및/또는 이의 하위유형과 상관관계가 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 난소암 또는 이의 하위유형 및/또는 이의 병기에 함께 특이적인 (예를 들어, 예를 들어, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 30개 또는 그 초과를 비롯한 적어도 2개 이상)의 바이오마커의 조합물을 포함하지만, 이러한 조합물에서 하나 이상의 바이오마커는 난소암에 특이적이지 않은 표적(예를 들어, 표면 단백질 바이오마커, 소포내 단백질 바이오마커 및/또는 소포내 RNA)에 지향될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 난소암 또는 이의 병기 및/또는 하위유형(즉, 난소암-특이적 표적)에 특이적인 적어도 1종의 바이오마커를 포함할 수 있고, 반드시 필요한 것은 아니거나 또는 난소암에 대해 완전히 특이적인 바이오마커를 추가로 포함할 수 있다(예를 들어, 이것은 일부 또는 모든 생물학적 엔티티, 예를 들어, 세포, 세포외 소포 등에서 또한 발견될 수 있는데, 이는 암성이 아니고/아니거나 관련 암을 갖지 않고/않거나 특정 병기를 갖지 않고/않거나 관심의 하위유형을 갖지 않음) 즉,

본 명세서를 읽는 당업자에 의해 인식되는 바와 같이, 표적 바이오마커 시그니처에 이용되는 바이오마커의 조합물이 함께 관심의 관련 표적 생물학적 엔티티(예를 들어, 관심 난소암 세포 또는 암 세포에 의해서 분비되는 세포외 소포)에 특이적인 복수의 바이오마커이거나 이를 포함하는 한(즉, 검출에 관심이 없는 다른 생물학적 엔티티로부터의 검출을 위해서, 관련 표적 생물학적 엔티티(예를 들어, 관심 난소암 세포 또는 난소암 세포에 의해서 분비되는 세포외 소포)를 충분히 구별하는 한), 이러한 바이오마커의 조합물이 본 개시내용의 특정 실시형태에 따라서 유용한 표적 바이오마커 시그니처이다.

[0125] **치료제:** 본 명세서에서 상호 교환 가능하게 사용되는 바와 같이, 구 "치료제" 또는 "요법"은 대상체 또는 환자에게 투여될 때 치료 효과를 갖고/거나 목적하는 생물학적 및/또는 약리학적 효과를 유도하는 작용제 또는 개입을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 치료제 또는 요법은 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징의 완화, 개선, 경감, 저해, 예방, 발병 지연, 중증도 감소 및/또는 발병률 감소에 사용될 수 있는 임의의 물질이다. 일부 실시형태에서, 치료제 또는 요법은 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징의 완화, 경감, 저해, 제공, 발병 지연, 중증도 감소 및/또는 발병률 감소를 위해 수행될 수 있는 의학적 개입(예를 들어, 수술, 방사선, 광요법)이다.

[0126] **역치 수준(예를 들어, 컷오프):** 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "역치 수준"은 측정 결과, 예를 들어, 검정에서 달성된 측정 결과에 대한 정보를 획득하고/하거나 분류하기 위한 참조로서 사용되는 수준을 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 역치 수준(예를 들어, 컷오프)은 집단의 2개의 하위세트(예를 들어, 정상 및/또는 비-난소암 대 난소암) 사이의 구분선을 정의하는 검정에서 측정된 값을 의미한다. 따라서 역치 수준 이상인 값은 집단의 하나의 하위세트를 정의하고, 역치 수준보다 낮은 값은 집단의 다른 하위세트를 정의한다. 역치 수준은 하나 이상의 대조군 샘플에 기초하여 또는 대조군 샘플의 집단에 걸쳐 결정될 수 있다. 역치 수준은 관심 측정이 수행되기 전, 동시에 또는 후에 결정될 수 있다. 일부 실시예에서, 역치 수준은 값의 범위일 수 있다.

[0127] **치료하다:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료" 또는 "치료하는"은 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징의 부분적 또는 완전한 완화, 개선, 경감, 저해, 예방, 발병 지연, 중증도 감소 및/또는 발병률 감소에 사용되는 임의의 방법을 지칭한다. 치료는 질환, 장애 및/또는 병태의 징후를 나타내지 않는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료는 예를 들어, 질환, 장애 및/또는 병태와 연관된 병리학이 발병할 위험을 감소시킬 목적으로 질환, 장애 및/또는 병태의 초기 징후만을 나타내는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료는 질환, 장애 및/또는 병태의 후기 단계에서 대상체에게 투여될 수 있다.

[0128] 표준 기술은 재조합 DNA, 올리고뉴클레오타이드 합성, 조직 배양 및 형질전환(예를 들어, 전기천공, 리포펙션)에 사용될 수 있다. 효소 반응 및 정제 기술은 제조사의 사양에 따라 또는 당업계에서 일반적으로 달성되는 바와 같이 또는 본 명세서에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다. 상기 기술 및 절차는 일반적으로 당업계에 널리 공지된 종래의 방법에 따라 그리고 본 명세서 전체에 걸쳐 인용되고 논의되는 다양한 일반적이고 보다 구체적인 참고문헌에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))] 참조.

[0129] **특정 실시형태의 상세한 설명**

[0130] 난소암은 미국에서 2018년에 약 14,070건의 사망의 원인이었다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Torre *et al.*, 2018]). 이러한 사망의 대부분은 늦은 진단에 기인하고; 난소암은 가장 초기에 잡히면 5년 생존율이 93%로 추정되지만, 가장 늦은 단계에 잡히면 26%로 추정된다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Torre *et al.*, 2018]). 고등급 장액성 난소암(HGSOC)의 검출은 HGSOC가 모든 난소암 사망의 70% 내지 80%를 차지하는 반면, 다른 하위유형은 현재 기술을 사용할 때 더 느리게 성장하고 과잉 진단을 받기 쉽다는 점을 고려할 때 특히 중요하다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Temkin *et al.*, 2017]). 불행하게도, 모든 암 중에서 여성의 다섯 번째로 큰 사망 원인이었음에도 불구하고(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Howlander *et al.*, 2019]), 평균-위험 여성을 위한 권장되는 난소암 스크리닝 검사는 존재하지 않는다. 유전적 위험이 있는 다수의 여성 및/또는 난소암의 하나 이상의 증상(예를 들어, 복강 내 체액(복수), 일반적인 위장 기능 장애, 변비, 장 폐색, 메스꺼움, 구토, 설사, 위장 역류, 복부 크기 증가, 비뇨기 증상, 복부 팽만감, 복부 및/또는 골반 통증, 피로 및/또는 숨가쁨)을 경험할 수 있는 다수의 여성은 현재 혈청 CA-125 및/또는 질경유 초음파(TVUS)에 의해서 스크리닝되지만, 이러한 검사는 I기 및 II기 질환에 대한 민감도(약 20%)가 낮고 특

이성이 불량하기 때문에 스크리닝에 적합하지 않다. 예를 들어, 전립선, 폐, 직장결장 및 난소암 스크리닝 무작위 시험은 혈청 CA-125 및 TVUS가 불필요한 수술의 수를 증가시키고 평균 위험 여성에게 사망률 유익을 제공하지 않는다는 것을 발견하였다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Buys *et al.*, 2011]). 이러한 불량한 성능에도 불구하고, 혈청 CA-125 및 TVUS는 현재 잠재적으로 난소암을 나타낼 수 있는 비특이적 골반 통증이 있는 폐경 후 여성을 분류하기 위한 일반적인 스크리닝 도구이다.

[0131] 본 개시내용은 다른 것 중에서 예를 들어, 난소암의 검출 및 진단에 대한 특정 통상적인 접근법을 포함하는 특정 선행 기술이 갖는 문제의 원인을 식별한다. 예를 들어, 본 개시내용은 예를 들어, 세포-유리 핵산, 혈청 단백질(예를 들어, CA-125) 및/또는 세포와 소포의 벌크 분석을 기반으로 하는 많은 종래의 진단 검정이 시간 소모적이고/이거나 고비용이고/이거나 신뢰할 수 있고 포괄적인 진단 평가를 제공하기에 충분한 감도 및/또는 특이성이 부족할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 다른 것 중에서 생물정보학 분석에 기초하여 난소암에 대한 높은 감도 및 특이성을 나타낼 것으로 예측되는 바이오마커 조합물의 식별에 의해 이러한 문제를 해결하는 기술(시스템, 구성물 및 방법 포함)을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 적어도 1종의 세포와 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드, 및 난소암과 연관된 세포와 소포에서 발견되는 표면 단백질 바이오마커, 내부 단백질 바이오마커 및 RNA 바이오마커로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 표적 바이오마커를 포함하는 개별 세포와 소포에서 (예를 들어, 생물정보학 분석에 의해서 식별된) 난소암의 표적 바이오마커 시그니처의 공동 국지화를 검출함으로써, 이러한 문제를 해결하는 기술(시스템, 구성물 및 방법 포함)을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 다른 것 중에서, 개별 세포와 소포에서 표적 바이오마커 시그니처의 상호작용 및/또는 공동 국지화를 기반으로 하는, 본 출원인에 의해서 개발되고, 미국 출원 제16/805,637호 및 국제 출원 제PCT/US2020/020529호(둘 다 2020년 2월 28일자 출원, 발명의 명칭 "Systems, Compositions, and Methods for Target Entity Detection")에 기재된 표적 엔티티 검출 접근법(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)을 사용하여 난소암의 이러한 표적 바이오마커 시그니처를 검출함으로써, 이러한 문제를 해결하는 기술(시스템, 구성물 및 방법 포함)을 제공한다. 상기 언급된 각각의 개시내용의 내용은 전문이 참조에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0132] 본 개시내용은 다른 것 중에서, 예를 들어, 난소암의 조기 검출을 위해 효과적인 난소암 스크리닝을 달성하기 위한 통찰력 및 기술을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 난소암과 연관된 하나 이상의 증상을 경험할 수 있는 여성에서 난소암의 조기 검출을 위한 기술을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 난소암에 대한 유전적 위험이 있는 여성에서 난소암의 조기 검출을 위한 기술을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 유전적 위험이 있고/있거나 난소암과 연관된 하나 이상의 증상을 경험할 수 있는 폐경 후 여성에서 난소암의 조기 검출을 위한 기술을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 초기 병기 고등급 장액성 난소암(HGSOC)에 대한 유전적 또는 평균 위험이 있는 여성을 스크리닝하기 위한 기술을 제공한다. HGSOC는 난소암의 가장 흔하고 치명적인 하위유형으로, 사례의 84%가 진행된 단계에서 검출된다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Torre *et al.*, 2018]). 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 초기 난소암의 검출에 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 (예를 들어, 충분히 높은 감도 및/또는 낮은 비율의 위양성 및/또는 위음성 결과로 인해서) 무증상 또는 증상이 있는 개체를 포함하거나 이것으로 이루어진 집단에 적용되는 경우에도 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 난소암 발병의 유전적인 위험이 없는 개체(예를 들어, 무증상 또는 증상이 있는 개체)를 포함하거나 이것으로 이루어진 집단에 적용되는 경우에 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 난소암 발병의 유전적인 위험을 갖는 개체(예를 들어, 무증상 또는 증상이 있는 개체)를 포함하거나 이것으로 이루어진 집단에 적용되는 경우에 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 난소암에 민감한 개체(예를 들어, 알려진 유전적, 환경적 또는 실험적 위험 등을 갖는 개체)를 포함하거나 이들로 이루어진 집단에 적용되는 경우 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은, 본 명세서에 제공된 본 개시내용을 읽는 당업자에게 자명할 바와 같이, 1종 이상의 구성물(예를 들어, 분자 복합체, 시스템, 수집물, 조합물, 키트 등) 및/또는 방법(예를 들어, 제조 방법, 사용 방법, 평가 방법 등)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0133] 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 제공된 기술을 1회 및/또는 정기적인(예를 들어, 주기적인) 평가에 유용하게 적용할 수 있도록 적절한 감도 및/또는 특이성(예를 들어, 위양성 및/또는 위음성 결과의 비율)을 갖는 난소암의 하나 이상의 특징(예를 들어, 발병률, 진행, 요법에 대한 반응성, 재발 등)의 검출(예를 들어, 무증상 개체(들) 및/또는 집단(들)에서 조기 검출)을 달성한다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 여성의 주기적인 신체 검사, 예컨대, 유방조영상, HPV 및/또는 Pap 도말 스크리닝과 함께 유용하다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 (예를 들어, 난소암에 대한) 하나 이상의 스크리닝 방법론, 예컨대, CA-125 측정(예를 들어, CA-125 혈청 수준 측정) 및/또는 TVUS와 함께 사용하기에 유용하다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 치료 요법(들)과 함께 유용하며; 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 이러한 치료 요법(들)의 하나 이상의 특징(예를 들어, 허용되는

파라미터에 따른 성공률)을 개선할 수 있다.

[0134] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 다른 것 중에서, 무증상 개체의 스크리닝, 예를 들어, 발병된 증상(들) 이전 또는 달리는 발병된 증상(들)의 부재 하에서 정기적인 스크리닝이 이로울 수 있고, 심지어는 난소암의 효과적인 관리(예를 들어, 성공적인 치료)에 중요할 수 있다는 통찰력을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 일부 실시형태에서 무증상 개체(예를 들어, 난소암의 유전적인 위험이 없음)에서, 초기 암을 비롯한 난소암을 검출하기 위해 구현될 수 있는 난소암 스크리닝 시스템을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 무증상 개체(예를 들어, 난소암의 유전적인 위험(들)을 갖거나 갖지 않음)의 정기적인 스크리닝을 달성하기 위해 구현된다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 증상이 있는 개체(예를 들어, 난소암의 유전적인 위험(들)을 갖거나 갖지 않음)의 정기적인 스크리닝을 달성하기 위해 구현된다. 본 개시내용은, 예를 들어, 조성물(예를 들어, 시약, 키트, 성분 등), 및 1명 이상의 개체(예를 들어, 무증상 개체)의 정기적인 시험을 포함하는 전략을 포함하여, 이들을 제공하는 방법 및/또는 사용하는 방법을 제공한다. 본 개시내용은 이러한 시스템의 유용성을 정의하고, 이를 구현하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

I. 난소암 검출

[0136] 오늘날 미국에서는 평균 위험도의 무증상 여성에 대해 FDA 승인을 받은 임의의 부류의 난소암 스크리닝 검사가 존재하지 않고, 미국에서는 난소암 발병의 평균 평생 위험도가 1.3%인데, 이는 여성 78명 중 1명에 해당한다. 미국의 전체 난소암 유병률은 55세 내지 74세의 여성 10,000명당 5.7명이었다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌 [Buys *et al.*, 2011]). 2018년에, 미국에서 대략 22,240건의 새로운 난소암 진단 사례 및 14,070건의 난소암 사망이 존재하였다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Torre *et al.*, 2018]). 그 중에서도, 연령 및 폐경 상태가 난소암의 위험 인자로 식별되었으며, 초기 발병 평균 연령은 대략 68세이다.

[0137] 상피성 난소암 하위유형은 모든 난소암의 90%를 차지한다. 상피암은 장액성(52%), 자궁내막모양(10%), 점액성(6%) 또는 투명 세포(6%)로 분류된다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌 [Torre *et al.*, 2018]). 대부분의 장액성 암종은 5년 생존율이 각각 42% 및 26%인 III기(51%) 또는 IV기(29%)에서 진단되는데, 이는 조기 병기 스크리닝 검사가 필요하다는 것을 나타낸다. 생식 세포 및 성삭-기질(sex cord-stromal) 종양은 비상피암의 대부분을 구성하지만, 모든 난소암의 각각 3% 및 2%만을 차지한다. 난소암은 모든 인종의 여성에게 영향을 미친다.

[0138] 난소암의 가장 강력한 위험 인자는 유방암 또는 난소암의 가족력이다. 침습성 상피성 난소암 발병 위험은 난소암 이력이 있는 직계 가족이 있는 여성의 경우 대략 50%, 유방암이 있는 직계 가족의 경우 10%만큼 증가된다. 상피성 난소암 사례의 대략 18%, 특히 고등급 장액성 암종은 위험이 증가된 유전적 돌연변이로 인한 것으로 추정된다. BRCA1 및 BRCA2의 돌연변이는 질환의 가족력이 있는 여성에서 난소암 사례의 거의 40%를 차지한다. BRCA1 또는 BRCA2 돌연변이가 있는 여성 중에서, 80세까지 난소암 발병 위험은 각각 44% 및 17%이다. 상피성 난소암에 대한 희귀 증등도 침투 유전자 돌연변이는 예를 들어, 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Matulonis *et al.*, 2016]에 기재된 바와 같은, 판코니 빈혈/BRCA 경로와 관련된 유전자, 예컨대, PALB2, BARD1, BRIP1, RAD51C 및 RAD51D를 포함한다. 린치 증후군이 있는 가족은 DNA 불일치 복구 유전자(예를 들어, MLH1, MSH2, MSH6 또는 PMS2)의 생식선 돌연변이를 특징으로 한다. 린치 증후군이 있는 여성은 70세까지 난소암(일반적으로 장액이 아닌 상피 종양)이 발병할 위험이 약 8%인 반면, 일반 인구에서는 0.7%이다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Torre, *et al.*, 2018]). DNA 복구와 관련된 다른 유전자, 예컨대, CHEK2, MRE11A, RAD50, ATM 및 TP53에서의 유전된 돌연변이도 난소암 발병 위험을 증가시킬 수 있다. 추가의 일반적이고 낮은 침투성 대립유전자는 게놈 전체 연관 연구에서 시사한 바와 같이 상피 난소암 감수성과 연관될 수도 있다. ALE 유전자 및 유전자좌는 하기를 포함한다: WNT4, RSP01, BCL2L11, HOXD3, HAGLR, TIPARP, SYNPO2, TERT, GPX6, CHMP4C, LINC00824, COL15A1, SMC2-AS1, MLLT10, INCENP, RCCD1, ATAD5, HNF1B, PLEKHM1, SKAP1, ANKLE1, GATAD2A, Cytobands 및 SNPs 2q13 rs752590, 4q32.3 rs4691139, 9p22 rs3814113, 9q34.2 rs635634, 10p11.21 rs1192691, 및/또는 19q13.2 rs688187(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Reid *et al.*, 2017]).

[0139] 유전적 위험이 있는 것으로 식별된 젊은 여성의 수는 향후 몇 년 동안 증가할 것으로 예상된다. 책장암에 대한 NCCN 가이드라인은 ATM, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, MSH2, MLH1, MSH2, EPCAM, PALB2, STK11 및 TP53에서 생식세포 계열 돌연변이에 대해서 모든 환자에 대해서 검사하라는 권고를 포함하도록 2019년 12월에 업데이트되었다. 이러한 유전자 목록이 난소암에 대한 유전적 위험을 부여하는 유전자와 중복된다는 점을 고려할 때, 더 많은 책장

환자의 딸이 체장암 및 난소암 둘 다에 대한 자신의 유전적 위험을 인식하여, 일반적인 위험 범주에서 유전 위험 범주로 이동할 가능성이 있다. 또한, 유방암 환자에서의 최근 비용 효율성 연구는 미국 및 영국의 모든 유방암 환자를 BRCA1 및/또는 BRCA2 및 PALB2의 생식세포계열 돌연변이에 대해서 스크리닝하는 것이 비용 효율적이라는 결론을 내렸다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Sun, *et al.*, 2019]). 유방암이 있는 모든 여성에 대한 생식세포계열 유전자 검사를 실행 지침으로 구현하면 딸도 유방암 및 난소암에 대해서 유전적 위험이 있는 추가 위험 돌연변이 보균자를 식별할 수 있을 것이다. 현재, (예를 들어, 유전적 위험이 없는) 여성에서 권장되는 난소암에 대한 스크리닝 검사는 존재하지 않는다. 다른 것 중에서, 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 난소암 위험 평가를 제공하기 위해 사용될 수 있는 (예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은) 난소암 액체 생검 검정의 개발에 대한 필요성이 있다는 통찰을 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 검정 및/또는 기술은 (예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은) 참조 역치에 대한 점수를 제공할 수 있다. 특정 실시형태에서, 이러한 점수는 난소암 위험 점수이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 점수는 다른 난소암 스크리닝 평가(들), 예를 들어, 비제한적으로 CA-125 측정 (예를 들어, CA-125 혈청 수준 측정 및/또는 TVUS) 및/또는 난소암-연관 위험 인자(들)와 함께 사용되어 전반적인 평가를 제공할 수 있다.

[0140] 조기 검출을 위해 중앙 마커 CA-125에서 질경유 초음파(TVUS) 및 고정 컷-포인트(35U/ml 이상)의 사용을 평가한 전립선, 폐, 결장직장 및 난소암 스크리닝 시험(Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial: PLCO)은 최대 19년의 추적 관찰 후에도 난소암 사망률의 감소는 관찰되지 않았다. 난소암 스크리닝의 영국 협력 시험(UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening)은 CA-125 수준의 변화를 통합한 위험 알고리즘과 조합된 TVUS를 평가하였으며, 15년 후 평균 위험 여성의 사망률이 감소한 것을 발견하였다. 이러한 모순에도 불구하고, 미국 예방 서비스 태스크 포스(U.S. Preventive Services Task Force: USPSTF)는 연례 스크리닝이 난소암 사망률을 감소시키지 않고, 난소암이 없는 여성에서 주로 외과적 수술과 같은 중요한 위험을 초래할 수 있다는 충분한 증거가 있다고 결론지으면서 일반 인구에서 난소암에 대한 스크리닝에 대해 계속 권고하고 있다.

[0141] 다른 것 중에서, 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 난소암에 대한 유전적 위험이 있는 여성 및/또는 난소암과 연관된 하나 이상의 증상을 경험할 수 있는 여성을 스크리닝하기 위한 난소암 액체 생검 검정의 개발이 필요하다는 통찰력을 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 예를 들어, 다른 스크리닝 방법, 예를 들어, TVUS 전에 유증상 또는 무증상 여성을 스크리닝하기 위한 난소암 액체 생검 검정의 개발이 필요하다는 통찰력을 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 예를 들어, 다른 스크리닝 방법, 예를 들어, TVUS 전에 무증상 여성을 스크리닝하기 위한 난소암 액체 생검 검정의 개발이 필요하다는 통찰력을 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 난소암에 대해 평균 위험을 갖는 여성을 스크리닝하기 위한 난소암 액체 생검 검정의 개발이 필요하다는 통찰력을 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 난소암의 생애 이력 연관된 위험을 갖는 여성을 스크리닝하기 위한 난소암 액체 생검 검정의 개발이 필요하다는 통찰력을 제공한다. 다른 것 중에서, 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 폐경 후 여성, 예를 들어, 난소암과 연관된 하나 이상의 증상을 경험할 수 있는 폐경 후 여성을 스크리닝하기 위한 난소암 액체 생검 검정의 개발이 필요하다는 통찰력을 제공한다. 모든 암 중에서 여성의 5번째로 높은 사망 원인임에도 불구하고(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Howlander *et al.*, 2019]), 현재 평균-위험 여성을 위한 권장되는 난소암 스크리닝 도구는 존재하지 않으며, 유전 위험이 있는 여성 및/또는 난소암 증상을 경험할 수 있는 여성에서 I기 및 II기 질환에 대한 현재 표준 치료 스크리닝 검정(예를 들어, TVUS 및 혈청 마커 CA-125 수준)은 낮은 감도(약 20%) 및 낮은 특이성을 나타낸다(각각 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌 [NCCN, 2019]; 문헌 [Buys *et al.*, 2011]). 이러한 낮은 감도 및 특이성은 효율적이고 시기 적절한 진단에 장벽이 된다. 평균-위험 여성에서의 난소암 발병률을 감안할 때, 부적절한 시험 특이성(예를 들어, 99.5% 미만)이 진양성보다 10배 초과하게 많은 위양성 결과를 초래한다. 이는 의료 시스템에 상당한 부담을 주고, 위양성 결과로서 스크리닝된 여성은 추가 검사, 불필요한 수술 및 정서적/신체적 고통으로 이어진다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Buys *et al.*, 2011]).

[0142] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 특히 유용한 난소암 스크리닝 검사가 하기를 특징으로 할 수 있다는 통찰력을 제공한다: (1) 위양성의 수를 최소화하기 위한 초고 특이성(98% 초과), 및 (2) (즉, 예후가 가장 양호한 경우) I기 및 II기 난소암에 대해서 높은 감도(40% 초과). 예를 들어, 일부 실시형태에서, 특히 유용한 난소암 스크리닝 검사는 예를 들어, I기 및 II기 난소암에 대해서 98% 초과 특이성 및 50% 초과 감도를 특징으로 할 수 있다. 일부 실시형태에서, 특히 유용한 난소암 스크리닝 검사는 예를 들어, I기 및 II기 난소암에 대해서 98% 초과 특이성 및 60% 초과 감도를 특징으로 할 수 있다. 일부 실시형태에서, 특히 유용한 난소암 스크리

닝 검사는 예를 들어, I기 및 II기 난소암에 대해서 98% 초과 특이성 및 70% 초과 감도를 특징으로 할 수 있다. 일부 실시형태에서, 특히 유용한 난소암 스크리닝 검사는 예를 들어, I기 및 II기 난소암에 대해서 99.5% 초과 특이성 및 65% 초과 감도를 특징으로 할 수 있다. 일부 실시형태에서, 특히 유용한 난소암 스크리닝 검사는 예를 들어, I기 및 II기 난소암에 대해서 99.5% 초과 특이성 및 60% 초과 감도를 특징으로 할 수 있다.

[0143] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 한 세트 초과 바이오마커 조합물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 적어도 2개의 오쏘고널 바이오마커 조합물)을 포함하는 난소암 스크리닝 시험이 한 세트의 바이오마커 조합물에 의해서 달성되는 것에 비교하여 이러한 검정의 감도를 증가시킬 수 있다는 통찰력을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 적어도 2개의 오쏘고널 바이오마커 조합물을 포함하는 난소암 스크리닝 검사는 적어도 98%의 특이성 및 적어도 50%의 감도를 달성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 적어도 2개의 오쏘고널 바이오마커 조합물을 포함하는 난소암 스크리닝 검사는 적어도 98%의 특이성 및 적어도 60%의 감도를 달성할 수 있다.

[0144] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 특히 유용한 난소암 스크리닝 검사가 경제적으로 타당한 비용으로 허용 가능한 양성 예측 값(positive predictive value: PPV)을 특징으로 할 수 있다는 통찰력을 제공한다. PPV는 환자가 양성 검사 후 질환을 가질 가능성이고, 감도, 특이성 및/또는 질환 유병률에 의해서 영향을 받는다. 난소암 스크리닝에 필요한 최소 PPV에 대한 하나의 임상의 합의는 10%이다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Nossov *et al.*, 2008]). 10% PPV에서는, 진양성 1개당 9건의 위양성이 존재할 것이다. 이러한 위양성은 추가 검사, 불필요한 수술, 정서적 및 육체적 고통으로 이어지기 때문에 의료 시스템 및 스크리닝될 여성 둘 다에게 상당한 부담을 준다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Buys *et al.*, 2011]). 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 검정은 예를 들어, 15% 초과, 20% 초과 또는 25% 초과 또는 그 초과를 비롯하여 10% 초과 또는 그 초과 PPV를 달성하는 조기 난소암 검출에 특히 유용하며, 특이성 컷오프는 난소암의 유전적 위험이 있는 여성의 경우 적어도 98%이고, 특이성 컷오프는 난소암과 연관된 하나 이상의 증상을 경험하는 여성의 경우 적어도 99.5%이다.

[0145] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 검정은 예를 들어, 3% 초과, 4% 초과, 5% 초과, 6% 초과, 7% 초과, 8% 초과, 9% 초과, 10% 초과, 15% 초과, 20% 초과 또는 25% 초과 또는 그 초과를 비롯하여 2% 초과 또는 그 초과 PPV를 달성하는 조기 난소암 검출에 유용할 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 검정은 적어도 95% 또는 그 초과 특이성 컷오프(난소암의 유전적 위험이 있는 여성의 경우 특이성 컷오프 적어도 98%, 난소암과 연관된 하나 이상의 증상을 경험하는 여성의 경우 특이성 컷오프 적어도 99.5%)를 달성할 수 있다.

[0146] 순환 종양 DNA(ctDNA), 순환 종양 세포(CTC), 벌크 단백질 및 세포외 소포(EV)를 포함하는 난소암 액체 생검 검정을 위해 몇몇 상이한 바이오마커 부류가 연구되어 왔다. EV는 ctDNA 및 CTC에 비해 혈류에서의 풍부함 및 안정성으로 인해 특히 유망하며, 이는 초기 암에 대한 감도가 향상되었음을 시사한다. 또한 EV는 동일한 세포에서 유래한 카고(즉, 단백질, RNA, 대사산물)를 함유하여, 벌크 단백질 측정보다 우수한 특이성을 제공한다. 진단 유틸리티 EV가 연구되는 동안, 이러한 작업의 대부분은 벌크 EV 측정 또는 낮은 처리량의 단일 EV 분석과 관련이 있다.

[0147] II. 난소암의 검출을 위한 제공된 바이오마커 및/또는 표적 바이오마커 시그니처

[0148] 본 개시내용은 다른 것 중에서 난소암에 대한 다양한 표적 바이오마커 또는 이들의 조합물(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처)을 제공한다. 난소암에 대한 높은 감도 및 특이성을 나타낸다고 예측되는 이러한 표적 바이오마커 시그니처는 다방면 생물정보학 분석(multi-pronged bioinformatics analysis) 및 생물학적 접근법에 의해 발견되었는데, 이는 예를 들어, 일부 실시형태에서 예를 들어, 서열결정 데이터, 발현 데이터, 질량 분석, 조직학, 번역 후 변형 데이터 및/또는 기계 학습 및/또는 컴퓨터 모델링을 통한 시험관내 및/또는 생체내 실험 데이터 중 하나 이상을 포함하는 일부 실시형태에서 다양한 데이터 세트의 컴퓨터 분석을 포함한다.

[0149] 일부 실시형태에서, 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처는 적어도 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8개 또는 그 초과)의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 난소암과 연관된 세포외 소포에 존재하는 표면 폴리펩타이드 및 적어도 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8개 또는 그 초과)의 표면 단백질 바이오마커(들), 소포내 단백질 바이오마커(들) 및 소포내 RNA 바이오마커(들)로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 바이오마커를 포함하여, 이러한 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(들) 및 이러한 표적 바이오마커(들)는, (a) 위양성의 수를 최소화하는 높은 특이성(예를 들어, 98% 초과 또는 그 초과, 예컨대, 99% 초과 또는 99.5% 초과), 및 (b) 예후가 가장 바람직한 경우 I기 및 II기 난소암에 대한 높은 감도(예를 들어, 40% 초과, 50% 초과, 60% 초과, 70% 초과, 80% 초과)를 제공하는 난소암의 표적 바이오마커 시그니

2(BST2) 폴리펩타이드, 소세포 폐 암종 클러스터 4 항원(CD24) 폴리펩타이드, 메소텔린(MSLN) 폴리펩타이드, 뮤신-1(MUC1) 폴리펩타이드, 프로스타글란딘-엔도퍼옥사이드 합성효소 1(PTGS1) 폴리펩타이드, ST14 막관통 세린 프로테아제 마트립타제(ST14) 폴리펩타이드, 암-연관 시알릴-Tn(sTn) 폴리펩타이드 글리코실화, 종양 연관 칼슘 신호 트랜스듀서 2(TACSTD2) 폴리펩타이드, 기저 세포 부착 분자(BCAM) 폴리펩타이드, CD74 항원(CD74) 폴리펩타이드, 림프구 항원 6 패밀리 구성원 E(LY6E) 폴리펩타이드, 용질 담체 패밀리 2 구성원 1(SLC2A1) 폴리펩타이드, C-X-C 모티프 케모카인 수용체 4(CXCR4) 폴리펩타이드, 디스코이딘 도메인 수용체 티로신 키나제 1(DDR1) 폴리펩타이드, 에프린 B1(EFNB1) 폴리펩타이드, 노치 수용체 3(NOTCH3) 폴리펩타이드, 플렉신 B1(PLXNB1) 폴리펩타이드, 세린 펩티다제 저해제 쿠니츠 타입 2(SPINT2) 폴리펩타이드, TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 12A(TNFRSF12A) 폴리펩타이드 또는 이들의 조합물.

[0153] 일부 실시형태에서, 난소암의 표적 바이오마커 시그니처에 포함된 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(들)는 아쿠아포린-5(AQP5) 폴리펩타이드, 카드헤린-6(CDH6) 폴리펩타이드, 콘드로렉틴(CHODL) 폴리펩타이드, 클라우딘-3(CLDN3) 폴리펩타이드, 클라우딘-6(CLDN6) 폴리펩타이드, 클라우딘-16(CLDN16) 폴리펩타이드, 상피 세포 부착 분자(EpCAM), 엽산염 수용체 알파(FOLR1) 폴리펩타이드, 5-하이드록시트립타민 수용체 3A(HTR3A) 폴리펩타이드, LEM 도메인-함유 1(LEMD1) 폴리펩타이드, 류신-풍부 반복부 막관통 신경 단백질 1(LRRMT1) 폴리펩타이드, 뮤신-16(MUC16) 폴리펩타이드, 나트륨-의존적 인산염 수송체 단백질 2B(SLC34A2) 폴리펩타이드 또는 이들의 조합물이거나 이들을 포함한다.

[0154] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 표 1에 제시된 바와 같은 조합물의 표적을 포함할 수 있고, 여기서 표적은 포획 프로브 및/또는 검출 프로브에서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 표 1에 제시된 바와 같은 포획 프로브의 표적 및 검출 프로브(예를 들어, 검출 프로브 1 및/또는 검출 프로브 2)의 적어도 1종 이상(예를 들어, 적어도 2종 이상)의 표적을 포함할 수 있다. 단지 예의 방식으로, 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 ALPL(표 1에 제시된 포획 프로브의 표적), sTn(표 1에 제시된 검출 프로브 1 또는 2의 표적) 및 FOLR1(표 1에 제시된 검출 프로브 1 또는 2의 표적)을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처는 표 1에 제시된 바와 같은 포획 프로브와 검출 프로브의 조합물의 표적을 포함할 수 있다.

표 1

예시적인 표적 바이오마커 시그니처 프로브 조합물

조합물	포획 프로브의 표적	검출 프로브 1의 표적	검출 프로브 2의 표적
1	ALPL	sTn	sTn
2	ALPL	FOLR1	FOLR1
3	BST2	FOLR1	FOLR1
4	BST2	MSLN	MSLN
5	BST2	sTn	sTn
6	BST2	MUC16	MUC16
7	FOLR1	MUC1	MUC1
8	FOLR1	TACSTD2	TACSTD2
9	FOLR1	FOLR1	MUC16
10	FOLR1	FOLR1	MSLN
11	FOLR1	SLC2A1	SLC2A1
12	FOLR1	FOLR1	BST2
13	FOLR1	SLC34A2	FOLR1
14	FOLR1	FOLR1	TACSTD2
15	FOLR1	FOLR1	CD24
16	FOLR1	FOLR1	SLC2A1
17	FOLR1	FOLR1	sTn
18	FOLR1	FOLR1	ALPL
19	FOLR1	MUC16	FOLR1
20	FOLR1	sTn	sTn
21	FOLR1	MSLN	MSLN
22	FOLR1	MUC16	MUC16
23	FOLR1	FOLR1	MUC1
24	MSLN	SLC34A2	MSLN
25	MSLN	MSLN	sTn
26	MSLN	MSLN	BST2
27	MSLN	MSLN	TACSTD2
28	MSLN	sTn	sTn
29	MSLN	TACSTD2	TACSTD2
30	MSLN	FOLR1	MSLN
31	MSLN	MSLN	SLC2A1
32	MSLN	MUC1	MSLN
33	MSLN	MSLN	CD24
34	MSLN	MUC16	MSLN
35	MSLN	MSLN	MUC16
36	MSLN	FOLR1	FOLR1
37	MSLN	MUC16	MUC16
38	MSLN	MUC1	MUC1
39	MSLN	SLC2A1	SLC2A1

[0155]

조합물	포획 프로브의 표적	검출 프로브 1의 표적	검출 프로브 2의 표적
40	MUC1	MUC1	sTn
41	MUC1	MUC16	MUC16
42	MUC1	FOLR1	FOLR1
43	MUC1	MUC16	MUC1
44	MUC1	sTn	sTn
45	MUC1	FOLR1	MUC1
46	MUC1	MUC1	MSLN
47	MUC1	MSLN	MSLN
48	MUC1	MUC1	MUC16
49	MUC16	SLC34A2	MUC16
50	MUC16	MUC16	TACSTD2
51	MUC16	MUC16	SLC2A1
52	MUC16	MUC1	MUC1
53	MUC16	MUC16	MSLN
54	MUC16	TACSTD2	TACSTD2
55	MUC16	MSLN	MSLN
56	MUC16	MUC16	sTn
57	MUC16	sTn	sTn
58	MUC16	FOLR1	FOLR1
59	MUC16	MUC16	MUC1
60	MUC16	MUC16	FOLR1
61	MUC16	MUC16	MUC16
62	MUC16	MUC16	BST2
63	MUC16	MUC16	CD24
64	MUC16	SLC2A1	SLC2A1
65	PTGS1	FOLR1	FOLR1
66	PTGS1	sTn	sTn
67	PTGS1	MSLN	MSLN
68	PTGS1	MUC16	MUC16
69	SLC34A2	SLC2A1	SLC2A1
70	SLC34A2	MSLN	MSLN
71	SLC34A2	sTn	sTn
72	SLC34A2	FOLR1	FOLR1
73	SLC34A2	MUC16	MUC16
74	sTn	TACSTD2	TACSTD2
75	sTn	TACSTD2	sTn
76	sTn	MUC16	sTn
77	sTn	CD24	sTn
78	sTn	ALPL	sTn
79	sTn	SLC34A2	sTn
80	sTn	BST2	sTn
81	sTn	SLC2A1	sTn

[0156]

조합물	포획 프로브의 표적	검출 프로브 1의 표적	검출 프로브 2의 표적
82	sTn	SLC2A1	SLC2A1
83	sTn	MUC16	MUC16
84	sTn	MUC16	sTn
85	sTn	MUC1	sTn
86	sTn	FOLR1	FOLR1
87	sTn	MUC1	MUC1
88	sTn	FOLR1	sTn
89	sTn	MSLN	sTn
90	sTn	MSLN	MSLN
91	TACSTD2	FOLR1	TACSTD2
92	TACSTD2	TACSTD2	MUC16
93	TACSTD2	FOLR1	FOLR1
94	TACSTD2	MUC16	TACSTD2
95	TACSTD2	MSLN	TACSTD2
96	TACSTD2	TACSTD2	sTn
97	TACSTD2	MSLN	MSLN
98	TACSTD2	MUC16	MUC16
99	TACSTD2	sTn	sTn
100	SLC34A2	SLC34A2	SLC34A2
101	SLC34A2	SLC34A2	MUC16
102	SLC34A2	SLC34A2	FOLR1
103	SLC34A2	SLC34A2	CLDN3
104	SLC34A2	SLC34A2	CLDN6
105	SLC34A2	SLC34A2	AQP5
106	SLC34A2	MUC16	MUC16
107	SLC34A2	MUC16	FOLR1
108	SLC34A2	MUC16	CLDN3
109	SLC34A2	MUC16	CLDN6
110	SLC34A2	MUC16	AQP5
111	SLC34A2	FOLR1	FOLR1
112	SLC34A2	FOLR1	CLDN3
113	SLC34A2	FOLR1	CLDN6
114	SLC34A2	FOLR1	AQP5
115	SLC34A2	CLDN3	CLDN3
116	SLC34A2	CLDN3	CLDN6
117	SLC34A2	CLDN3	AQP5
118	SLC34A2	CLDN6	CLDN6
119	SLC34A2	CLDN6	AQP5
120	SLC34A2	AQP5	AQP5
121	MUC16	SLC34A2	SLC34A2
122	MUC16	SLC34A2	MUC16
123	MUC16	SLC34A2	FOLR1

[0157]

조합물	포획 프로브의 표적	검출 프로브 1의 표적	검출 프로브 2의 표적
124	MUC16	SLC34A2	CLDN3
125	MUC16	SLC34A2	CLDN6
126	MUC16	SLC34A2	AQP5
127	MUC16	MUC16	MUC16
128	MUC16	MUC16	FOLR1
129	MUC16	MUC16	CLDN3
130	MUC16	MUC16	CLDN6
131	MUC16	MUC16	AQP5
132	MUC16	FOLR1	FOLR1
133	MUC16	FOLR1	CLDN3
134	MUC16	FOLR1	CLDN6
135	MUC16	FOLR1	AQP5
136	MUC16	CLDN3	CLDN3
137	MUC16	CLDN3	CLDN6
138	MUC16	CLDN3	AQP5
139	MUC16	CLDN6	CLDN6
140	MUC16	CLDN6	AQP5
141	MUC16	AQP5	AQP5
142	FOLR1	SLC34A2	SLC34A2
143	FOLR1	SLC34A2	MUC16
144	FOLR1	SLC34A2	FOLR1
145	FOLR1	SLC34A2	CLDN3
146	FOLR1	SLC34A2	CLDN6
147	FOLR1	SLC34A2	AQP5
148	FOLR1	MUC16	MUC16
149	FOLR1	MUC16	FOLR1
150	FOLR1	MUC16	CLDN3
151	FOLR1	MUC16	CLDN6
152	FOLR1	MUC16	AQP5
153	FOLR1	FOLR1	FOLR1
154	FOLR1	FOLR1	CLDN3
155	FOLR1	FOLR1	CLDN6
156	FOLR1	FOLR1	AQP5
157	FOLR1	CLDN3	CLDN3
158	FOLR1	CLDN3	CLDN6
159	FOLR1	CLDN3	AQP5
160	FOLR1	CLDN6	CLDN6
161	FOLR1	CLDN6	AQP5
162	FOLR1	AQP5	AQP5
163	CLDN3	SLC34A2	SLC34A2
164	CLDN3	SLC34A2	MUC16
165	CLDN3	SLC34A2	FOLR1

[0158]

조합물	표적 프로브의 표적	검출 프로브 1의 표적	검출 프로브 2의 표적
166	CLDN3	SLC34A2	CLDN3
167	CLDN3	SLC34A2	CLDN6
168	CLDN3	SLC34A2	AQP5
169	CLDN3	MUC16	MUC16
170	CLDN3	MUC16	FOLR1
171	CLDN3	MUC16	CLDN3
172	CLDN3	MUC16	CLDN6
173	CLDN3	MUC16	AQP5
174	CLDN3	FOLR1	FOLR1
175	CLDN3	FOLR1	CLDN3
176	CLDN3	FOLR1	CLDN6
177	CLDN3	FOLR1	AQP5
178	CLDN3	CLDN3	CLDN3
179	CLDN3	CLDN3	CLDN6
180	CLDN3	CLDN3	AQP5
181	CLDN3	CLDN6	CLDN6
182	CLDN3	CLDN6	AQP5
183	CLDN3	AQP5	AQP5
184	LRRTM1	SLC34A2	SLC34A2
185	LRRTM1	SLC34A2	MUC16
186	LRRTM1	SLC34A2	FOLR1
187	LRRTM1	SLC34A2	CLDN3
188	LRRTM1	SLC34A2	CLDN6
189	LRRTM1	SLC34A2	AQP5
190	LRRTM1	MUC16	MUC16
191	LRRTM1	MUC16	FOLR1
192	LRRTM1	MUC16	CLDN3
193	LRRTM1	MUC16	CLDN6
194	LRRTM1	MUC16	AQP5
195	LRRTM1	FOLR1	FOLR1
196	LRRTM1	FOLR1	CLDN3
197	LRRTM1	FOLR1	CLDN6
198	LRRTM1	FOLR1	AQP5
199	LRRTM1	CLDN3	CLDN3
200	LRRTM1	CLDN3	CLDN6
201	LRRTM1	CLDN3	AQP5
202	LRRTM1	CLDN6	CLDN6
203	LRRTM1	CLDN6	AQP5
204	LRRTM1	AQP5	AQP5

[0159]

[0160] 일부 실시형태에서, 난소암 검출에 특히 유용할 수 있는 표 1에 제시된 바와 같은 특정 바이오마커 조합물(예를 들어, 더 높은 감도, 특이성 및/또는 PPV를 가짐)은 진행된 병기(예를 들어, 말기, 예를 들어, III기 및/또는 IV기) 난소암 샘플 풀 및 참조로서의 건강한 대조군 샘플 풀을 사용한 초기 스크리닝 라운드를 겪을 수 있다. 일부 실시형태에서, 선택된 조합물은 초기 난소암 샘플 풀(예를 들어, I기 및/또는 II기, 선택적으로 저 또는 고 CA-125 함량에 의해서 나뉨), 양성 부인과 종양 혈장 샘플 풀(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음), 비-난소암 샘플 풀(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음) 및/또는 이들의 임의의 조합을 사용하여 추가로 시험될 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커 조합물 성능은 건강한 샘플 풀과 난소암 샘플 풀 사이의 검정 신호(예를 들어, Ct 기반)의 차이를 계산함으로써 결정될 수 있다.

[0161] 일부 실시형태에서, 난소암 검출을 위한 특정 바이오마커 조합물은 검정 간 변동성보다 큰 델타 Ct로 선택될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 델타 Ct가 2.0(4배 차이에 해당) 또는 1.0(2배 차이에 해당)보다 큰 바이오마커 조합물은 특히 효과적인 진단 유틸리티(예를 들어, 검정 간 변동성보다 큰 신호 제공)를 제공하는 것으로 간주된다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 특정 조합물의 예시적인 분석을 제공하는 실시예 7 참조.

[0162] 일부 실시형태에서, 난소암의 표적 바이오마커 시그니처에 포함된 표적 바이오마커는 세포 레티노산-결합 단백질 2(CRABP2) 폴리펩타이드, 칼리크레인-7(KLK7) 폴리펩타이드, 대식세포 이동 저해 인자(MIF) 폴리펩타이드, 흑색종에서 우선적으로 발현되는 항원(PRAME) 폴리펩타이드, S100 칼슘-결합 단백질 A1(S100A1) 폴리펩타이드 및 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 소포내 단백질 바이오마커이거나 이들을 포함한다.

[0163] 일부 실시형태에서, 난소암의 표적 바이오마커 시그니처에 포함된 표적 바이오마커는 CLDN6 RNA, CRABP2 RNA, KLK7 RNA, MIF RNA, PRAME RNA, S100A1 RNA 및 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커이거나 이들을 포함한다.

- [0164] 일부 실시형태에서, 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처는 적어도 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 그 초과)의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것) 및 적어도 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 그 초과)의 표면 단백질 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드와 적어도 1종의 표면 단백질 바이오마커는 동일하다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 MUC16 폴리펩타이드인 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 MUC16 폴리펩타이드인 적어도 1종의 표면 단백질 바이오마커를 포함한다. 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 FOLR1 폴리펩타이드인 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 FOLR1 폴리펩타이드인 적어도 1종의 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.
- [0165] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처의 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 적어도 1종의 표면 단백질 바이오마커(들)는 구별된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 CLDN3 폴리펩타이드, CLDN6 폴리펩타이드 및/또는 SLC34A2 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 표면 단백질 바이오마커를 포함한다. 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 CLDN3 폴리펩타이드, CLDN6 폴리펩타이드 및/또는 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 표면 단백질 바이오마커를 포함한다. 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 SLC34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 MUC16 폴리펩타이드 및/또는 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 표면 단백질 바이오마커를 포함한다. 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 LRRTM1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 MUC16 폴리펩타이드이거나 이들을 포함하는 적어도 1종의 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.
- [0166] 일부 실시형태에서, 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처는 적어도 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 그 초과)의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것) 및 적어도 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 그 초과)의 세포내 단백질 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(들) 및 세포내 단백질 바이오마커(들)는 동일한 유전자에 의해 암호화될 수 있는 반면, 전자는 세포외 소포의 막에서 발현되고, 후자는 세포외 소포 내에서 발현된다. 일부 이러한 실시형태에서, 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(들) 및 세포내 단백질 바이오마커(들)는 상이한 유전자에 의해 암호화될 수 있다.
- [0167] 일부 실시형태에서, 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처는 적어도 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 그 초과)의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것) 및 적어도 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 그 초과)의 세포내 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(들) 및 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커(들)는 동일한 유전자에 의해 암호화될 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(들) 및 소포내 RNA(예를 들어, mRNA) 바이오마커(들)는 상이한 유전자에 의해 암호화될 수 있다.
- [0168] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 표 3 내지 표 5에 기재된 바와 같은 조합물의 표적이거나 이를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 대조군 샘플(예를 들어, 건강한 샘플과 비교하여, 양성 부인과 종양 샘플과 비교하여 및/또는 다른 암 샘플과 비교하여; 예를 들어, 표 3 내지 표 5 초과)로부터의 말기 병기 난소암 샘플과 구별되는 것이다. 특정 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 대조군 샘플(예를 들어, 건강한 샘플과 비교하여, 양성 부인과 종양 샘플과 비교하여 및/또는 다른 암 샘플과 비교하여; 예를 들어, 표 3 내지 표 5 초과)로부터의 초기 난소암 샘플(예를 들어, 저 및/또는 고 혈청 CA-125)과 구별되는 것이다. 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 표 3 내지 표 5에 기재된 바와 같은 포획 프로브 및 검출 프로브의 조합물을 포함할 수 있다.
- [0169] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 (세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드로서) 적어도 SLC34A2 폴리펩타이드 및 (표적 표면 단백질 바이오마커로서) MUC16 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0170] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 (세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드로서) 적어도 SLC34A2 폴리펩타이드 및 (표적 표면 단백질 바이오마커로서) FOLR1 폴리펩타이드를 포함한다.

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

도 2종의 표적 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.

- [0245] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 (세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드로서) 적어도 MSLN 폴리펩타이드와, MUC16 폴리펩타이드 및 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 2종의 표적 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.
- [0246] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 (세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드로서) 적어도 MSLN 폴리펩타이드 폴리펩타이드와, MUC1 폴리펩타이드 및 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 2종의 표적 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.
- [0247] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 (세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드로서) 적어도 MSLN 폴리펩타이드 폴리펩타이드와, FOLR1 폴리펩타이드 및 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 2종의 표적 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.
- [0248] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 (세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드로서) 적어도 MSLN 폴리펩타이드와, MUC1 폴리펩타이드 및 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 2종의 표적 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.
- [0249] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 (세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드로서) 적어도 SLC34A2 폴리펩타이드와, MUC16 폴리펩타이드 및 MSLN 폴리펩타이드이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 2종의 표적 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.
- [0250] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 (세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드로서) 적어도 SLC34A2 폴리펩타이드와, MUC16 폴리펩타이드 및 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 2종의 표적 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.
- [0251] 일부 실시형태에서, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처는 (세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드로서) 적어도 SLC34A2 폴리펩타이드와, FOLR1 폴리펩타이드 및 sTn 글리코실화된 폴리펩타이드이거나 이들을 포함할 수 있는 적어도 2종의 표적 표면 단백질 바이오마커를 포함한다.
- [0252] 일부 실시형태에서, 제공된 바이오마커 중 어느 하나는 야생형 형태에서 단백질 및/또는 RNA(예를 들어, mRNA) 발현 수준에 의해서 검출되고/되거나 측정될 수 있다.
- [0253] 일부 실시형태에서, 제공된 바이오마커 중 어느 하나는 돌연변이체 형태에서 단백질 및/또는 RNA(예를 들어, mRNA) 발현 수준에 의해서 검출되고/되거나 측정될 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 제공된 바이오마커(예를 들어, 단백질 및/또는 RNA, 예를 들어, mRNA)의 돌연변이체-특이적 검출이 포함될 수 있다.
- [0254] 본 명세서에서 주목된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 바이오마커는 하나 이상의 폴리펩타이드 또는 단백질의 특정 형태(예를 들어, 프로-형태(pro-form), 절단된 형태, 변형된 형태, 예컨대, 글리코실화된, 인산화된, 지질화된 형태 등)이거나 이들을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 형태의 검출은 그 형태로 존재하는 복수의 (그리고 일부 실시형태에서, 실질적으로 모두) 폴리펩타이드(예를 들어, 특정 변형, 예를 들어, 특정 글리코실화, 예를 들어, 시알릴-Tn(sTn) 글리코실화, 예를 들어, GalNAc α -O-Ser/Thr에 연결된 시알산 α -2,6을 함유하는 절단된 O-글리칸)를 검출한다.
- [0255] 따라서, 일부 실시형태에서, 표면 단백질 바이오마커는 글리코실화 모이어티(예를 들어, sTn 모이어티)이거나 이들을 포함할 수 있다. 톰슨-노블(Thompson-nouvelle: Tn) 항원은 광범위한 종양과 연관되어 있다고 생각되는 O-연결 글리칸이다. Tn은 제1 단계의 주요 O-연결된 글리코실화 경로로서 Ser 또는 Thr에 첨가된 단일 알파-연결된 GalNAc이다. 일부 실시형태에서, 표면 단백질 바이오마커는 종양-연관된 번역 후 변형이거나 이들을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 번역 후 변형은 종양-특이적 글리코실화 패턴, 예컨대, 초기 GalNAc(예를 들어, Tn)에서 비정상적으로 절단된 글리칸을 갖는 뮤신 또는 이들의 조합물이거나 이들을 포함할 수 있다.
- [0256] 일부 실시형태에서, 바이오마커는 폴리펩타이드의 절단된 형태이거나 이들을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, MUC16 바이오마커는 MUC16 단백질의 절단된 형태이다.
- [0257] **III. 난소암에 대한 제공된 마커 및/또는 표적 바이오마커 시그니처의 예시적인 검출 방법**
- [0258] 일반적으로, 본 개시내용은 표적 바이오마커 시그니처가 이를 필요로 하는 대상체로부터의 세포외 소포를 포함하는 혈액-유래 샘플에서 분석 및/또는 평가되고; 일부 실시형태에서, 이러한 분석 및/또는 평가를 기반으로 진단 또는 치료 결정이 이루어진다.

- [0259] 일부 실시형태에서, 표적 바이오마커 시그니처의 를 검출하는 방법은 단백질로서 표적 바이오마커 시그니처의 1 종 이상의 제공된 마커를 검출하는 방법을 포함할 수 있다. 1종 이상의 제공된 마커를 검출하는 예시적인 단백질-기반 방법은 근접 결합 검정, 질량 분석(MS) 및 면역검정, 예컨대, 면역침전; 웨스턴 블롯; ELISA; 면역조직 화학; 면역세포화학; 유세포 분석; 및 면역-PCR을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 면역검정은 화학발광 면역검정일 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역검정은 고속대량처리(high throughput) 및/또는 자동화된 면역검정 플랫폼일 수 있다.
- [0260] 일부 실시형태에서, 샘플에서 단백질로서 1종 이상의 제공된 마커를 검출하는 방법은 샘플을 제공된 관심 마커에 지향되는 1종 이상의 항체 작용제와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 또한 샘플을 1종 이상의 검출 표지와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 작용제는 1종 이상의 검출 표지로 표지된다.
- [0261] 일부 실시형태에서, 관심 바이오마커와 관심 바이오마커에 대한 항체 작용제 사이의 결합을 검출하는 것은 하나 이상의 검출 작용제에 대한 흡광도 값 또는 방출 값을 결정하는 것을 포함한다. 예를 들어, 흡광도 값 또는 방출 값은 세포의 소포에 의해 발현되는 관심 바이오마커의 양 및/또는 농도를 나타낸다(예를 들어, 더 높은 흡광도는 세포의 소포에 의해 발현되는 관심 바이오마커의 더 높은 수준을 나타냄). 일부 실시형태에서, 검출제에 대한 흡광도 값 또는 방출 값은 역치 값 초과이다. 일부 실시형태에서, 검출제에 대한 흡광도 값 또는 방출 값은 역치 값보다 적어도 1.3, 적어도 1.4, 적어도 1.5, 적어도 1.6, 적어도 1.7, 적어도 1.8, 적어도 1.9, 적어도 2.0, 적어도 2.5, 적어도 3.0, 적어도 3.5배 또는 그 초과이다. 일부 실시형태에서, 역치 값은 대조군 또는 참조군(예를 들어, 비-암 대상체)의 집단에 걸쳐 결정된다.
- [0262] 일부 실시형태에서, 1종 이상의 제공된 마커는 핵산으로서 1종 이상의 제공된 마커를 검출하는 방법을 포함할 수 있다. 제공된 1종 이상의 마커를 검출하는 예시적인 핵산 기반-방법은 핵산 증폭 방법, 예컨대, 중합효소 연쇄 반응(PCR), 역전사 중합효소 연쇄 반응(RT-PCR), 전사-매개 증폭(TMA), 리가제 연쇄 반응(LCR), 가닥 치환 증폭(SDA) 및 핵산 서열 기반 증폭(NASBA)을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 제공된 1종 이상의 마커를 검출하는 핵산-기반 방법은 관심 바이오마커를 암호화하는 1종 이상의 핵산 프로브와 하나 이상의 뉴클레오타이드 사이의 혼성화를 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산 프로브는 각각 관심 바이오마커를 암호화하는 1종 이상의 뉴클레오타이드 중 하나의 적어도 일부에 상보적이다. 일부 실시형태에서, 관심 바이오마커를 암호화하는 뉴클레오타이드는 DNA(예를 들어, cDNA)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 관심 바이오마커를 암호화하는 뉴클레오타이드는 RNA(예를 들어, mRNA)를 포함한다.
- [0263] 일부 실시형태에서, 1종 이상의 제공된 바이오마커를 검출하는 방법은 근접-결합-면역 정량적 중합효소 연쇄 반응(pliq-PCR)을 포함할 수 있다. Pliq-PCR은 EV를 프로파일링하기 위한 다른 기술에 비해 특정 이점을 가질 수 있다. 예를 들어, pliq-PCR은 다른 표준 면역검정, 예컨대, ELISA보다 세 자릿수 더 큰 감도를 가질 수 있다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Darmanis *et al.*, 2010]). 일부 실시형태에서, pliq-PCR 반응은 극도로 낮은 LOD를 갖도록 설계될 수 있으며, 이는 중앙-유래 EV를 미량 수준으로, 예를 들어 μL 당 1000개 EV까지 검출할 수 있다.
- [0264] 일부 실시형태에서, 1종 이상의 제공된 마커를 검출하는 방법은 예를 들어, 나노플라즈믹 엑소솜(Nanoplasmic Exosome: nPLEX) 센서(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Im *et al.*, 2014]) 및 통합 자성-전기화학 엑소솜(Integrated Magnetic-Electrochemical Exosome: iMEX) 센서(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Jeong *et al.*, 2016])를 포함할 수 있고, 이것은 각각 약 10^3 및 내지 약 10^4 개의 EV의 LOD로 보고되어 있다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Shao *et al.*, 2018] 참고).
- [0265] 일부 실시형태에서, 세포의 소포에서 1종 이상의 제공된 바이오마커를 검출하는 방법은 벌크 EV 샘플 분석법에 기초할 수 있다.
- [0266] 일부 실시형태에서, 세포의 소포에서 1종 이상의 제공된 바이오마커를 검출하는 방법은 개별 EV 프로파일링(예를 들어, 단일-EV 프로파일링 검정)에 기초할 수 있으며, 이는 하기 "**개별 세포의 소포(EV)를 프로파일링하기 위한 예시적인 방법**"이라는 제목의 섹션에 추가로 논의되어 있다.
- [0267] 일부 실시형태에서, 샘플 중의 세포의 소포는 본 개시내용에 따른 1종 이상의 제공된 표적 바이오마커를 검출하기 전에 고체 기질 상에 포획되거나 고정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포는 예를 들어, 흡착을 비롯한 비특이적 상호작용에 의해 고체 기질 표면 상에 포획될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포는 고체

기질 표면 상에 선택적으로 포획될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 고체 기질 표면은 세포의 소포에 특이적으로 결합하는 작용제(예를 들어, 세포의 소포를 특이적으로 표적화하는 항체 작용제, 예를 들어, 난소암과 연관됨)로 코팅될 수 있다. 일부 실시형태에서, 고체 기질 표면은 친화성 결합 쌍의 구성원으로 코팅될 수 있고, 포획될 관심 엔티티(예를 들어, 세포의 소포)는 친화성 결합 쌍의 상보적 구성원에 접합될 수 있다. 일부 실시형태에서, 예시적인 친화성 결합 쌍은 예를 들어, 바이오틴 및 아비딘-유사 분자, 예컨대, 스트렙타비딘을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 다른 적절한 친화성 결합 쌍이 또한 고체 기질 표면에 대한 관심 엔티티의 포획을 용이하게 하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 관심 엔티티는 예를 들어, 이들 둘 다 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Ibsen et al. ACS Nano., 11: 6641-6651 (2017) 및 Lewis et al. ACS Nano., 12: 3311-3320 (2018)]에 기재된 바와 같은, 전류의 인가에 의해서 고체 기질 표면 상에서 포획될 수 있고, 이들 둘 다는 비희석된 인간 혈액 또는 혈장 샘플로부터 세포의 소포를 분리시키기 위한 교류 동전기 마이크로어레이 칩 장치의 사용을 기재한다.

[0268] 고체 기질은 세포의 소포를 포획하기에 적합하고, 하류 취급, 처리 및/또는 검출을 방해하지 않는 형태로 제공될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 고체 기질은 비드(예를 들어, 자성 비드)이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 고체 기질은 표면일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 이러한 표면은 검정 챔버(예를 들어, 튜브, 웰, 마이크로웰, 플레이트, 필터, 막, 매트릭스 등 포함)의 포획 표면일 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 샘플에서 제공된 바이오마커를 검출하기 전에, 세포의 소포 고체 기질 상에 포획하거나 고정시키는 단계를 포함한다.

[0269] 일부 실시형태에서, 샘플은 고체 기질 표면 상에서 세포의 소포를 포획하기 전에, 예를 들어, 목적하지 않은 엔티티, 예컨대, 세포 파편 또는 세포를 제거하기 위해서, 처리될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 이러한 샘플은 원심분리를 거쳐, 예를 들어, 세포 파편, 세포 및/또는 다른 미립자를 제거할 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서 이러한 샘플은 크기 배제 기반 정제 또는 여과에 적용될 수 있다. 다양한 크기 배제 기반 정제 또는 여과가 당업계에 공지되어 있으며, 당업자는 일부 경우에 샘플이 특정 분자량 또는 입자 크기 컷오프를 기반으로 하는 스핀 칼럼 정제에 적용될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 당업자는 또한 정제 목적을 위한 적절한 분자량 또는 입자 크기 컷오프가, 예를 들어, 세포의 소포의 크기에 기초하여 선택될 수 있음을 이해할 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 크기-배제 분리 방법은 특정 크기(예를 들어, 30nm 초과 내지 1000nm 이하 또는 70nm 초과 내지 200nm 이하)인 세포의 소포의 분획을 분리시키기 위해 세포의 소포를 포함하는 샘플에 적용될 수 있다. 전형적으로, 세포의 소포는 30nm 내지 수 마이크로미터의 직경 범위일 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Chuo et al., "Imaging extracellular vesicles: current and emerging methods" *Journal of Biomedical Sciences* 25: 91 (2018)]을 참고하기 바람, 이것은 상이한 세포의 소포(EV) 하위유형에 대한 크기의 정보를 제공한다: 마이그라솜(migrasome)(0.5 내지 3 μ m), 마이크로소포(0.1 내지 1 μ m), 오토킴(ontosome)(1 내지 10 μ m), 엑소머(exomere)(50nm 미만), 작은 엑소솜(60 내지 80nm) 및 큰 엑소솜(90 내지 120nm). 일부 실시형태에서, 약 30 nm 내지 1000 nm의 크기 범위를 갖는 나노입자가 검출 검정을 위해서 예를 들어, 일부 실시형태에서는 하나 이상의 크기-배제 분리 방법에 의해서 분리될 수 있다. 일부 실시형태에서, 특정 EV 하위유형(들)은 검출 검정을 위해서 예를 들어, 일부 실시형태에서는 하나 이상의 크기-배제 분리 방법에 의해서 분리될 수 있다.

[0270] 일부 실시형태에서, 샘플 중의 세포의 소포는 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 1종 이상의 제공된 바이오마커를 검출하기 전에 가공될 수 있다. 예를 들어, 검출될 세포의 소포 중에서 표적(예를 들어, 표적 바이오마커)을 안정화시키기 위해서 그리고/또는 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에 대한 표적(예를 들어, 소포내 단백질 및/또는 RNA, 예컨대, mRNA)의 노출을 용이하게 하기 위해서 그리고/또는 비-특이적 결합을 감소시키기 위해서, 상이한 샘플 가공 및/또는 준비가 수행될 수 있다. 이러한 샘플 처리 및/또는 준비의 예는 당업계에 공지되어 있으며, 분자 표적의 가교(예를 들어, 고정), 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포 또는 세포의 소포)의 투과화 및/또는 비특이적 결합 부위의 차단을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

[0271] 일 양상에서, 본 개시내용은 일부 실시형태에서 세포의 소포를 포함하는 혈액-유래 샘플일 수 있는, 검출을 필요로 하는 대상체로부터의 생물학적 샘플에서 난소암의 표적 바이오마커 시그니처가 존재하는지 존재하지 않는지를 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 (a) 대상체로부터의 생물학적 샘플, 예컨대, 혈액-유래 샘플(예를 들어, 혈장 샘플)에서 난소암의 표적 바이오마커 시그니처를 발현하는 관심 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 소포 포함)를 검출하는 단계; 및 (b) 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액-유래 샘플)에서 관심 표적 바이오마커 시그니처-발현 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 소포)의 수준을 나타내는 샘플 정보를 참조 역치 수준을 포함하는 참조 정보와 비교하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 참조 역치

수준은 참조 대상체, 예를 들어, 비-암 대상체의 집단으로부터의 대등한 샘플에서 이러한 표적 바이오마커 시그니처를 발현하는 관심 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포와 소포)의 수준에 상응한다. 일부 실시형태에서, 예시적인 비-암 대상체는 건강한 암컷 대상체(예를 들어, 명시된 연령 범위, 예를 들어, 55세 미만 또는 55세 초과)의 건강한 암컷 대상체), 비-난소 관련된 건강 질환, 장애 또는 병태를 갖는 암컷 대상체(예를 들어, 비-난소암, 예컨대, 폐암, 결장직장암 등을 갖는 암컷 대상체 또는 염증성 장 질환 또는 장애의 증상을 갖는 암컷 대상체), 양성 난소 종양(예를 들어, 나팔관 및/또는 난소에서 발견되는 양성 종괴)을 갖는 암컷 대상체 및 이들의 조합물을 포함한다.

[0272] 일부 실시형태에서, 샘플은 본 명세서에 기재된 바와 같은 검정에 사용하기 전에 특정 특성에 대해 사전 스크리닝된다. 일부 실시형태에서, 특정 사전 스크리닝 기준을 충족하는 샘플은 사전 스크리닝 기준에 실패한 샘플보다 진단 적용에 더 적합하다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 샘플은 공지된 표준을 사용하여 외관, 예를 들어, 샘플이 정상, 용혈(적색), 황달(노란색) 및/또는 지혈성(흔터함)인지에 대해서 시각적으로 조사된다. 일부 실시형태에서, 그 다음 샘플은 공지된 표준 척도(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5)로 평가될 수 있고 결과가 기록된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 용혈(예를 들어, 헴)에 대해 육안으로 조사되고, 1 내지 5의 척도로 등급이 매겨지는데, 여기서 육안 검사는 알려진 농도와 상관관계가 있으며, 예를 들어, 1은 대략 0 mg/dL를 나타내고, 2는 대략 50 mg/dL를 나타내고, 3은 대략 150 mg/dL를 나타내고, 4는 대략 250 mg/dL를 나타내고, 5는 대략 525 mg/dL를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 샘플은 황달 수준(예를 들어, 빌리루빈)에 대해 육안으로 조사되고, 1 내지 5의 척도로 등급이 매겨지는데, 여기서 육안 검사는 알려진 농도와 상관관계가 있으며, 예를 들어, 1은 대략 0 mg/dL를 나타내고, 2는 대략 1.7 mg/dL를 나타내고, 3은 대략 6.6 mg/dL를 나타내고, 4는 대략 16 mg/dL를 나타내고, 5는 대략 30 mg/dL를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 샘플은 탁도(예를 들어, 지질)에 대해 육안으로 조사되고, 1 내지 5의 척도로 등급이 매겨지는데, 여기서 육안 검사는 알려진 농도와 상관관계가 있으며, 예를 들어, 1은 대략 0 mg/dL를 나타내고, 2는 대략 125 mg/dL를 나타내고, 3은 대략 250 mg/dL를 나타내고, 4는 대략 500 mg/dL를 나타내고, 5는 대략 1000 mg/dL를 나타낸다.

[0273] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 메트릭에서 특정 수준보다 낮은 점수, 예를 들어, 4점 이하의 샘플을 본 명세서에 기재된 바와 같은 검정에서 활용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 메트릭에서 특정 수준보다 낮은 점수, 예를 들어, 3점 이하의 샘플을 본 명세서에 기재된 바와 같은 검정에서 활용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 메트릭에서 특정 수준보다 낮은 점수, 예를 들어, 2점 이하의 샘플을 본 명세서에 기재된 바와 같은 검정에서 활용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 3개 메트릭 모두(예를 들어, 용혈, 황달 및 지방혈증)에서 특정 수준보다 낮은 점수, 예를 들어, 2점 이하의 샘플을 본 명세서에 기재된 바와 같은 검정에서 활용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 사전 스크리닝 기준, 예컨대, 용혈, 빌리루빈 및/또는 지방혈증에 대한 낮은 육안 검사 점수(예를 들어, 2점 이하)는 본 명세서에 기재된 바와 같은 검정에서 생성된 진단 특성(예를 들어, Ct 값)에 대해서 눈에 띄는 효과가 없을 수 있다(예를 들어, 상관관계가 없을 수 있다).

[0274] 일부 실시형태에서, 샘플은, 그것이 참조 역치 수준(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)에 비해 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포의 상승된 수준을 나타낼 때 표적 바이오마커 시그니처(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 발현하는 세포의 소포를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 이의 수준이 예를 들어, 참조 역치 수준과 비교하여 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 그 초과를 포함하여, 적어도 30% 또는 그 초과인 경우 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포에 대해서 양성인 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 이의 수준이 예를 들어, 참조 역치 수준과 비교하여 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 적어도 10배, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 250배, 적어도 500배, 적어도 750배, 적어도 1000배, 적어도 2500배, 적어도 5000배 또는 그 초과를 포함하여, 적어도 2배 또는 그 초과인 경우 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포에 대해서 양성인 것으로 결정된다.

[0275] 일부 실시형태에서, 샘플이 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포에 대해 양성인지 여부를 결정하기 위해 이원 분류 시스템이 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 샘플의 수준이 참조 역치 수준, 예를 들어, 컷오프 값 이상인 경우 샘플은 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포에 대해 양성인 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 이러한 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 난소암 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)의 목적하는 감도 및/또는 특이성이 달성될 수 있도록 대조군 대상체에서 얻은 평균값에서 벗어난 특정 표준 편차 수치를 선택함으로써 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 난소암 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)의 목적하는 감도 및/또는 특이성이 달성될 수 있도록 대조군 대상체에서 얻은 최대 검정 신호에서 벗어난 특정 표준 편차 수치를 선택함으로써 결

정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 난소암 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)의 목적하는 감도 및/또는 특이성이 달성될 수 있도록, (i) 대조군 대상체에서 얻은 평균값에서 벗어난 특정 표준 편차 수치 또는 (ii) 대조군 대상체에서 얻은 최대 검정 신호에서 벗어난 특정 표준 편차 수치 중 덜 제한적인 것을 선택함으로써 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)의 결정을 위한 대조군 대상체는 건강한 대상체, 염증성 병태(예를 들어, 크론병, 궤양성 대장염, 자궁내막증 등)를 갖는 대상체, 양성 부인과 종양을 갖는 대상체 및 이들의 조합을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 건강한 대상체 및 염증성 병태(예를 들어, 크론병, 궤양성 대장염, 자궁내막증 등)를 갖는 대상체가 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)의 결정에 포함된다. 일부 실시형태에서, 양성 부인과 종양을 갖는 대상체는 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)의 결정에 포함되지 않는다. 일부 실시형태에서, 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 난소암 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)의 목적하는 특이성(예를 들어, 적어도 95% 이상의 특이성[예를 들어, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 그 초과 특이성], 예컨대, 일부 실시형태에서 적어도 99.8%의 특이성)이 달성될 수 있도록, (i) 대조군 대상체로부터 얻은 평균 값, 또는 (ii) 대조군 대상체로부터 얻은 최대 검정 신호에서 적어도 1.5 표준 편차(SD) 또는 그 초과(예를 들어, 적어도 1.6, 적어도 1.7, 적어도 1.8, 적어도 1.9, 적어도 2, 적어도 2.1, 적어도 2.2, 적어도 2.3, 적어도 2.4, 적어도 2.5, 적어도 2.6, 적어도 2.7, 적어도 2.8, 적어도 2.9, 적어도 3, 적어도 3.1, 적어도 3.2, 적어도 3.3, 적어도 3.4, 적어도 3.5, 적어도 3.6 또는 그 초과)의 SD)를 벗어난 값을 선택함으로써 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 난소암 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)의 목적하는 특이성(예를 들어, 적어도 99% 이상의 특이성)이 달성될 수 있도록, (i) 대조군 대상체에서 얻은 평균 값 또는 (ii) 대조군 대상체에서 얻은 최대 검정 신호에서 적어도 2.9 SD(예를 들어, 적어도 2.93 SD)를 벗어난 값을 선택함으로써 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 난소암 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)의 목적하는 특이성(예를 들어, 적어도 99% 이상의 특이성)이 달성될 수 있도록, (i) 대조군 대상체에서 얻은 평균 값 또는 (ii) 대조군 대상체에서 얻은 최대 검정 신호 중 덜 제한적인 것에서 적어도 2.9 SD(예를 들어, 적어도 2.93 SD)를 벗어난 값을 선택함으로써 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 관심 특이성 및/또는 감도(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)가 달성될 수 있도록 난소암 샘플과 비교하여 정상적인 건강한 조직에서 표적 바이오마커의 발현 수준(예를 들어, 전사체 수준)에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 예를 들어, 난소암 병기 및/또는 하위유형 및/또는 환자 특징, 예를 들어, 환자 연령, 폐경 상태, 난소암에 대한 위험 인자(예를 들어, 유전적 위험 대 평균 위험, 생애 이력-연관 위험 인자), 유증상/무증상 상태 및 이들의 조합에 따라서 달라질 수 있다.

[0276]

일부 실시형태에서, 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은, 예를 들어, 난소암 또는 이의 하위유형의 유병률에 기초하여, 관심 특이성(예를 들어, 적어도 95% 또는 그 초과 특이성[예를 들어, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 그 초과 특이성 포함], 예컨대, 일부 실시형태에서 적어도 99.8% 특이성)을 달성하는 데 필요한 표준 편차(SD) 수치(예를 들어, 적어도 1.5, 적어도 1.6, 적어도 1.7, 적어도 1.8, 적어도 1.9, 적어도 2, 적어도 2.1, 적어도 2.2, 적어도 2.3, 적어도 2.4, 적어도 2.5, 적어도 2.6, 적어도 2.7, 적어도 2.8, 적어도 2.9, 적어도 3, 적어도 3.1, 적어도 3.2, 적어도 3.3, 적어도 3.4, 적어도 3.5, 적어도 3.6 또는 그 초과)의 SD)의 선택 및 건강한 여성 대상체(예를 들어, 특정 연령 범위) 및 선택적으로 염증성 병태(예를 들어, 크론병, 궤양성 대장염, 자궁내막증 등)를 갖는 여성 대상체에 대한 로그-정규 분포에 기초하여 결정될 수 있다. 본 개시내용은, 다른 것 중에서, 대상체가 난소암을 갖거나 이에 민감한지를 결정하기 위한 기술을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 이를 필요로 하는 대상체로부터의 혈액-유래 샘플이 참조 역치 수준, 예를 들어, 컷오프 값(예를 들어, 본 개시내용에 따라서 결정된 바와 같음) 이상인 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 세포의 수준을 나타내는 경우, 이 대상체는 난소암을 갖거나 이에 민감한 것으로 분류된다. 일부 이러한 실시형태에서, 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은, 예를 들어, 난소암 또는 이의 하위유형의 유병률에 기초하여, 관심 특이성(예를 들어, 적어도 95% 또는 그 초과 특이성[예를 들어, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 그 초과 특이성 포함], 예컨대, 일부 실시형태에서 적어도 99.8% 특이성)을 달성하는 데 필요한 표준 편차(SD) 수치(예를 들어, 적어도 1.5, 적어도 1.6, 적어도 1.7, 적어도 1.8, 적어도 1.9, 적어도 2, 적어도 2.1, 적어도 2.2, 적어도 2.3, 적어도 2.4, 적어도 2.5, 적어도 2.6, 적어도 2.7, 적어도 2.8, 적어도 2.9, 적어도 3, 적어도 3.1, 적어도 3.2, 적어도 3.3, 적어도 3.4, 적어도 3.5, 적어도 3.6 또는 그 초과)의 SD)의 선택 및 건강한 여성 대상체(예를 들어, 특정 연령 범위) 및 선택적으로 염증성 병태(예를 들어, 크론병, 궤양성 대장염, 자궁내막증 등)를 갖는 여성 대상체에 대한 로그-정규 분포에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 관심 특이성 및/또는 감도

(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)가 달성될 수 있도록 난소암 샘플에서와 비교하여 정상적인 건강한 조직에서 표적 바이오마커 시그니처의 개별 표적 바이오마커(들)의 발현 수준(예를 들어, 전사체 수준)에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 참조 역치 수준(예를 들어, 컷오프 값)은 예를 들어, 난소암 병기 및/또는 하위유형 및/또는 환자 특징, 예를 들어, 환자 연령, 폐경 상태, 난소암에 대한 위험 인자(예를 들어, 유전적 위험 대 평균 위험, 생애 이력-연관 위험 인자), 유증상/무증상 상태 및 이들의 조합에 따라서 달라질 수 있다.

[0277] 일부 실시형태에서, 이를 필요로 하는 대상체로부터의 혈액-유래 샘플이 참조 역치 수준에 비해서 증가된 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포의 수준을 나타내는 경우, 이 대상체는 난소암을 갖거나 이에 민감한 것으로 분류된다. 일부 실시형태에서, 이를 필요로 하는 대상체는, 대상체의 혈액-유래 샘플이 참조 역치 수준과 비교할 때 예를 들어, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 그 초과를 포함하여 적어도 30% 또는 그 초과인 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포의 수준을 나타내는 경우 난소암을 갖거나 이에 민감한 것으로 분류된다. 일부 실시형태에서, 이를 필요로 하는 대상체는, 대상체의 혈액-유래 샘플이 참조 역치 수준과 비교할 때 예를 들어, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 60배, 적어도 70배, 적어도 80배, 적어도 90배, 적어도 100배, 적어도 250배, 적어도 500배, 적어도 750배, 적어도 1000배 또는 그 초과를 포함하여, 적어도 2배 또는 그 초과인 표적 바이오마커 시그니처-발현 세포의 소포의 수준을 나타내는 경우, 난소암을 갖거나 이에 민감한 것으로 분류된다. 이를 필요로 하는 대상체로부터의 혈액-유래 샘플이 참조 역치 수준과 대등한 수준(예를 들어, 10 내지 20% 이내)을 나타내는 경우, 대상체는 난소암을 가질 가능성이 없거나, 이에 민감할 가능성이 없는 것으로 분류된다. 일부 이러한 실시형태에서, 참조 역치 수준은 참조 대상체, 예를 들어, 비-암 대상체의 집단으로부터의 대등한 샘플에서 표적 바이오마커 시그니처를 발현하는 예를 들어, 세포의 소포의 수준에 상응한다. 일부 실시형태에서, 예시적인 비-암 대상체는 건강한 암컷 대상체(예를 들어, 명시된 연령 범위, 예를 들어, 55세 미만 또는 55세 초과)의 건강한 암컷 대상체), 비-난소 관련된 건강 질환, 장애 또는 병태를 갖는 암컷 대상체(예를 들어, 비-난소암, 예컨대, 폐암, 결장직장암 등을 갖는 암컷 대상체 또는 염증성 장 질환 또는 장애의 증상을 갖는 암컷 대상체), 양성 난소 종양(예를 들어, 나팔관 및/또는 난소에서 발견되는 양성 종괴)을 갖는 암컷 대상체 및 이들의 조합물을 포함한다.

[0278] **IV. 개별 세포의 소포(EV)를 프로파일링하기 위한 예시적인 방법**

[0279] 일부 실시형태에서, 개별 세포의 소포를 프로파일링하기 위한 검정(예를 들어, 단일 EV 프로파일링 검정)을 사용하여 난소암에 대한 1종 이상의 표적 바이오마커 시그니처의 하나 이상의 제공된 바이오마커를 검출할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 이러한 검정은 (i) 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 1종 이상의 제공된 마커의 표적화를 통한 포획 검정 및 (ii) 난소암에 대한 이러한 표적 바이오마커 시그니처의 적어도 1종 이상의 추가로 제공된 마커에 대한 검출 검정을 포함할 수 있고, 여기서 이러한 포획 검정은 이러한 검출 검정 전에 수행된다.

[0280] 일부 실시형태에서, 포획 검정은 이를 필요로 하는 대상체의 혈액 또는 혈액-유래 샘플(예를 들어, 혈장 샘플)로부터 종양-연관 세포의 소포(예를 들어, 난소 종양-연관 세포의 소포)를 선택적으로 포획하기 위해 수행된다. 일부 실시형태에서, 포획 검정은 특정 크기 범위 및/또는 특정 특징(들)의 세포의 소포, 난소암과 연관된 세포의 소포를 선택적으로 포획하기 위해 수행된다. 이러한 일부 실시형태에서, 포획 검정 이전에, 혈액 또는 혈액-유래 샘플은 예를 들어, 가용성 단백질 및 간섭 엔티티, 예를 들어, 세포 파편을 포함하지만 이에 제한되지 않는 비-세포의 소포를 제거하기 위해 전처리될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 세포의 소포는 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 대상체의 혈액 또는 혈액-유래 샘플로부터 정제된다. 이러한 일부 실시형태에서, 세포의 소포는 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 혈액 또는 혈액-유래 샘플로부터 직접 정제될 수 있으며, 이는 일부 실시형태에서 가용성 단백질 및 다른 간섭제, 예를 들어, 세포 파편의 적어도 90% 또는 그 초과(예를 들어, 적어도 93%, 95%, 97%, 99% 또는 그 초과 포함)를 제거할 수 있다.

[0281] 일부 실시형태에서, 포획 검정은 혈액 또는 혈액-유래 샘플을 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 적어도 1종 이상의 제공된 바이오마커에 결합하는 표적-포획 모이어티를 포함하는 적어도 1종의 포획제와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 포획 검정은 멀티플렉싱될 수 있으며, 이것은 혈액 또는 혈액-유래 샘플을 포획제의 세트와 접촉시키는 단계를 포함하고, 각각의 포획제는 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 구별되는 제공된 바이오마커에 결합하는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 표적-포획 모이어티는 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 사용된 것)에

지향된다.

- [0282] 일부 실시형태에서, 이러한 표적-포획 모이어티는 고체 기질 상에 고정될 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 포획 검정에 사용되는 포획제는 이에 접합된 적어도 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과)의 표적-포획 모이어티를 포함하는 고체 기질이거나 이를 포함하며, 각각의 표적-포획 모이어티는 세포의 소포-연관 막-결합 폴리펩타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같은 것)에 지향된다. 고체 기질은 세포의 소포를 포획하기에 적합하고, 하류 취급, 처리 및/또는 검출을 방해하지 않는 형태로 제공될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 고체 기질은 비드(예를 들어, 자성 비드)이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 고체 기질은 표면일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 이러한 표면은 검정 챔버(예를 들어, 튜브, 웰, 마이크로웰, 플레이트, 필터, 막, 매트릭스 등 포함)의 포획 표면일 수 있다. 일부 실시형태에서, 포획제는 이에 접합된 표적-포획 모이어티를 포함하는 자성 비드이거나 이를 포함한다.
- [0283] 일부 실시형태에서, 검출 검정은 포획 검정(예를 들어, 상기에 기재된 바와 같음)에 의해서 포획된 세포의 소포에서 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처(예를 들어, 포획 검정에서 표적화된 것과 상이한 것)의 1종 이상의 제공된 바이오마커를 검출하도록 수행된다. 일부 실시형태에서, 검출 검정은 면역-PCR을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역-PCR은 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 단일 제공된 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 표적화하는 적어도 하나의 프로브를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역-PCR은 표적 바이오마커 시그니처의 동일한 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)의 상이한 에피토프에 지향되는 복수(예를 들어, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 그 초과)의 프로브를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역-PCR은 각각 본 명세서에 기재된 상이한 제공된 바이오마커에 지향되는 복수(예를 들어, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 그 초과)의 프로브를 포함할 수 있다.
- [0284] 일부 실시형태에서, 검출 검정은 역전사 중합효소 연쇄 반응 (RT-PCR)을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, RT-PCR은 본 명세서에 기재된 단일 제공된 바이오마커를 표적으로 하는 적어도 하나의 프라이머/프로브 세트를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, RT-PCR은 각각의 세트가 본 명세서에 기재된 상이한 제공된 바이오마커에 지향되는 복수(예를 들어, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 그 초과)의 프라이머/프로브 세트를 포함할 수 있다.
- [0285] 일부 실시형태에서, 검출 검정은 예를 들어, 세포의 소포(예를 들어, 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드를 발현하는 포획된 세포의 소포) 내의 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 하나 이상의 제공된 바이오마커의 공동-국지화를 결정하기 위한, 근접-결찰-면역 정량적 중합효소 연쇄 반응(pliq-PCR)을 포함할 수 있다.
- [0286] 일부 실시형태에서, 검출 검정은 개별 세포의 소포에서 표적 바이오마커 시그니처의 상호작용 및/또는 공동 국지화를 기반으로 하는, 본 출원인에 의해서 개발되고, 미국 출원 제16/805,637호 및 국제 출원 제PCT/US2020/020529호(둘 다 2020년 2월 28일자 출원, 발명의 명칭: "Systems, Compositions, and Methods for Target Entity Detection" ("637 출원" 및 "529 출원"; 둘 다 전문이 본 명세서에 참조에 의해 포함됨)에 기재된 표적 엔티티 검출 시스템을 사용한다. 예를 들어, 이러한 표적 엔티티 검출 시스템('637 출원 및 '529 출원에 기재되고, 또한 "제공된 표적 엔티티 검출 시스템 및 이와 관련된 방법"이라는 제목의 섹션 아래에 추가로 기재된 바와 같음)은 샘플에서(예를 들어, 생물학적, 환경적 또는 다른 샘플에서), 일부 실시형태에서 단일 엔티티 수준에서, 적어도 1종 이상(예를 들어, 적어도 2종 이상 표적(예를 들어, 분자 표적)을 포함하는 관심 엔티티(예를 들어, 관심 생물학적 또는 화학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포 또는 분석물)를 검출할 수 있다. 본 개시내용을 읽는 당업자는 제공된 표적 엔티티 검출 시스템이 예를 들어, 난소암의 검출을 위한 것을 비롯한여 광범위한 응용 및/또는 목적에 유용하다는 것을 인식할 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 제공된 표적 엔티티 검출 시스템은 의학적 적용 및/또는 목적에 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 표적 엔티티 검출 시스템은 질환 또는 병태(예를 들어, 난소암)에 대해서 개체(예를 들어, 일부 실시형태에서 무증상 개체일 수 있거나 또는 일부 실시형태에서 난소암과 연관된 하나 이상의 증상을 경험 중인 개체일 수 있거나 또는 일부 실시형태에서 난소암에 대한 위험이 있는 개체, 예를 들어, 난소암에 대한 유전적 위험 및/또는 생애 이력-연관 위험 인자를 갖는 개체 또는 폐경 후 개체일 수 있음)를 스크리닝(예를 들어, 정기적인 스크리닝)하는 데 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 표적 엔티티 검출 시스템은 상이한 유형의 암(예를 들어, 복수의 상이한 암, 이들 중 하나는 난소암일 수 있음)에 대해서 개체(예를 들어, 일부 실시형태에서 무증상 개체일 수 있거나 또는 일부 실시형태에서 난소암과 연관된 하나 이상의 증상을 경험 중인 개체일 수 있거나 또는 일부 실시형태에서 난소암에 대한 위험이 있는 개체, 예를 들어, 난소암에 대한 유전적 위험 및/또는 생애 이력-연관 위험 인자를 갖는 개체 또는 폐경 후 개체일 수 있음)를 스크리닝(예를 들어, 정기적인 스크리닝)하는 데 유용할 수

있다. 일부 실시형태에서, 제공된 표적 엔티티 검출 시스템은 (예를 들어, 충분히 높은 감도 및/또는 낮은 비율의 위양성 및/또는 위음성 결과로 인해서) 무증상 개체를 포함하거나 이것으로 이루어진 집단에 적용되는 경우에도 효과적이다. 일부 실시형태에서, 제공된 표적 개체 검출 시스템은 질환 치료(예를 들어, 난소암 치료)와 함께 동반 진단으로서 유용할 수 있다.

[0287] 일부 실시형태에서, 복수(예를 들어, 적어도 2종 이상)의 검출 검정은 세포의 세포, 예를 들어, 포획 검정(예를 들어, 상기에 기재된 바와 같음)에 의해서 포획된 것에서 난소암에 대한 1종 이상의 표적 바이오마커 시그니처(예를 들어, 포획 검정에서 표적화된 것과 상이한 것)의 복수의 바이오마커(예를 들어, 적어도 2종 이상)를 검출하도록 수행될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 복수의 검출 검정은 (i) '637 출원 및 '529 출원에 기재된 시스템 또는 제공된 표적 엔티티 검출 시스템; 및 (ii) 면역-PCR을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 검출 검정은 (i) '637 출원 및 '529 출원에 기재된 시스템 또는 제공된 표적 엔티티 검출 시스템; 및 (ii) RT-PCR을 포함할 수 있다.

[0288] V. 제공된 표적 엔티티 검출 시스템 및 이와 관련된 방법

[0289] 일부 실시형태에서, 난소암에 대한 1종 이상의 표적 바이오마커 시그니처의 1종 이상의 제공된 바이오마커에 대한 검출 검정에 유용할 수 있는 표적 엔티티 검출 시스템은 각각 특이적 표적(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커)에 대한 복수의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 시스템은 각각 특정 표적(예를 들어, 제공된 표적 바이오마커 시그니처의 바이오마커)에 대해서 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50종 또는 그 초과 검출 프로브를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 시스템은 각각 특정 표적(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커)에 대한 2 내지 50개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 시스템은 각각 특정 표적(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커)에 대한 2 내지 30개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 시스템은 각각 특정 표적(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커)에 대한 2 내지 25개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 시스템은 각각 특정 표적(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커)에 대한 5 내지 30개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 시스템은 각각 특정 표적(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커)에 대한 5 내지 25개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 세트 내의 이러한 검출 프로브 중 적어도 2개는 표적 바이오마커 시그니처의 동일한 바이오마커에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세트 내의 이러한 검출 프로브 중 적어도 2개는 표적 바이오마커 시그니처의 동일한 바이오마커의 동일한 에피토프에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세트 내의 이러한 검출 프로브 중 적어도 2개는 표적 바이오마커 시그니처의 동일한 바이오마커의 상이한 에피토프에 지향될 수 있다.

[0290] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템에서 사용하기에 적절한 검출 프로브는 단일 질환 또는 병태, 예를 들어, 난소암의 검출을 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템에서 사용하기에 적절한 검출 프로브는 적어도 2종 이상의 질환 또는 병태(예를 들어, 이들 중 하나는 난소암임)의 검출을 허용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템에서 사용하기에 적절한 검출 프로브는 예를 들어, 비제한적으로 고 등급 장액성 난소 암, 자궁내막모양 난소암, 투명 세포 난소암, 저 등급 장액성 난소암, 및/또는 점액성 난소암을 비롯한 특정 하위 유형의 난소암의 검출을 허용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템에서 사용하기에 적절한 검출 프로브는 예를 들어, I기, II기, III기 및/또는 IV기를 비롯한 특정 병기의 난소암의 검출을 허용할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템에서 사용하기에 적절한 검출 프로브는 복수(예를 들어, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10 또는 그 초과)의 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있고, 여기서 각각의 세트는 상이한 질환 또는 상이한 유형의 질환 또는 병태의 검출에 관한 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템에서 사용하기에 적절한 검출 프로브는 복수(예를 들어, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10 또는 그 초과)의 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있고, 여기서 일부 실시형태에서 각각의 세트는 암의 상이한 유형(이들 중 하나는 난소암임)의 검출에 관한 것이거나, 또는 일부 실시형태에서, 각각의 세트는 난소암의 다양한 하위유형 및/또는 병기의 검출에 관한 것이다.

[0291] 검출 프로브

- [0292] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공되고/되거나 이용되는 바와 같은 검출 프로브는 표적-결합 모이어티 및 표적-결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 적어도 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 각각의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브는 근접 결합 면역 정량적 중합효소 연쇄 반응(pliq-PCR)에 적합할 수 있고, 이것은 pliq-PCR 검출 프로브라고 지칭될 수 있다.
- [0293] A. 표적-결합 모이어티
- [0294] 올리고뉴클레오타이드 도메인에 커플링된 표적-결합 모이어티는 표적(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커; 당업자는 표적 바이오마커가 특정 형태 또는 모이어티/성분인 경우, 표적-결합 모이어티가 그 형태 또는 모이어티/성분에 특이적으로 결합한다는 것을 인식할 것임)에 특이적으로 결합하는 엔티티 또는 작용제이다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 표적(예를 들어, 분자 표적)에 대한 결합 친화도(예를 들어, 해리 상수로 측정 시)가 적어도 약 10^{-4} M, 적어도 약 10^{-5} M, 적어도 약 10^{-6} M, 적어도 약 10^{-7} M, 적어도 약 10^{-8} M, 적어도 약 10^{-9} M 또는 그 미만일 수 있다. 당업자는 일부 경우에 결합 친화도(예를 들어, 해리 상수에 의해 측정됨)가 두 분자 간의 비공유 분자간 상호작용, 예컨대, 수소 결합, 정전기 상호작용, 소수성 및 반데르발스 힘에 의해 영향을 받을 수 있음을 이해할 것이다. 대안적으로 또는 추가로, 리간드와 이의 표적 분자 사이의 결합 친화도는 다른 분자의 존재에 의해 영향을 받을 수 있다. 당업자는 본 개시내용에 따라 결합 친화도 및/또는 해리 상수를 측정하기 위한 다양한 기술, 예를 들어, 비제한적으로 ELISA, 겔-이동 검정, 폴-다운 검정, 평형 투석, 분석용 초원심분리, 표면 플라즈몬 공명(SPR), 생물층 간섭계, 격자 결합 간섭계 및 분광 검정에 친숙할 것이다.
- [0295] 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 예를 들어, 탄수화물, 핵산, 지질, 금속, 폴리펩타이드, 소분자 등 및/또는 이들의 조합물과 같은 임의의 화학적 부류의 작용제이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 항체 작용제 및/또는 애타머이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 항체 작용제, 예를 들어, 표적 또는 이의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 작용제, 예를 들어 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커 또는 이의 에피토프이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제공된 바이오마커에 대한 표적-결합 모이어티는 상업적으로 입수 가능할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 바이오마커에 대한 표적-결합 모이어티는 본 명세서에 기재된 바와 같은 검정에 사용할 목적을 위해서 설계되고 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 애타머, 예를 들어, 표적 또는 이의 에피토프에 특이적으로 결합하는 애타머, 예를 들어 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커 또는 이의 에피토프이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 표적 또는 이의 에피토프에 특이적으로 결합하는 아피머 분자, 예를 들어 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커 또는 이의 에피토프이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 아피머 분자는 상응하는 항체의 것과 유사한 특이성 및 친화도로 표적 또는 이의 에피토프(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에 결합하는 펩타이드 또는 폴리펩타이드이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적은 난소암과 연관된 표적일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 이러한 실시형태에서, 암-연관된 표적은 1종 초과(즉, 적어도 2종 이상 암)와 연관된 표적일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 암-연관된 표적은 암과 전형적으로 연관된 표적일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 암-연관된 표적은 특정 조직의 암, 예를 들어, 난소암과 연관된 표적일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 암-연관된 표적은 특정 암, 예를 들어, 특정 난소암에 특이적인 표적일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.
- [0296] 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포 및/또는 세포의 소포를 포함하지만 이들로 제한되지 않음)에 존재하는 표적을 인식하고 이에 특이적으로 결합한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 종양-연관된 항원 또는 이의 에피토프를 인식하고, 이에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 종양-연관된 항원은 암, 예를 들어, 피부암, 뇌암(예를 들어, 교모세포종 포함), 유방암, 결장직장암, 간암, 폐암, 난소암, 췌장암 및 피부암과 연관된 항원이거나 이들을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 난소암(예를 들어, 고등급 장액성 난소암, 자궁내막모양 난소암, 투명 세포 난소암, 저등급 장액성 난소암 또는 점액성 난소암)과 연관된 종양 항원을 인식할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 고등급 장액성 난소암과 연관된 종양 항원을 인식할 수 있다.
- [0297] 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 소포내 표적, 예를 들어, 제공된 소포내 단백질 또는 RNA(예를 들어,

mRNA)에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 세포의 소포 상에/내에 존재하는 표면 표적, 예를 들어, 난소암-연관된 세포의 소포 상에 존재하는 막-결합된 폴리펩타이드에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0298] 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 특정 병태 또는 질환(예를 들어, 암)에 대한 바이오마커에 대해 지향되며, 이 바이오마커는 예를 들어, 집단 또는 라이브러리(예를 들어, 수 십, 수 백, 수 천, 수 만, 수 십 만, 또는 그 초과)의 환자 샘플 및/또는 이러한 바이오마커(예를 들어, 예측 바이오마커)를 식별하기 위한 환자 데이터를 분석함으로써 결정되거나 결정되었다.

[0299] 일부 실시형태에서, 관련 바이오마커는 예를 들어, 데이터 분석을 통해 식별 및/또는 특징규명된 것일 수 있다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 다양한 데이터의 세트(예를 들어, 일부 실시형태에서 벌크 RNA 서열결정, 단일 세포 RNA(scRNA) 서열결정, 질량 분석, 조직학, 번역 후 변형 데이터, 시험관내 및/또는 생체내 실험 데이터 중 하나 이상을 포함함)는 기계 학습 및/또는 컴퓨터 모델링을 통해 분석되어 질환 또는 병태(예를 들어, 암)에 매우 특이적인 바이오마커(예를 들어, 예측 마커)를 식별할 수 있다.

[0300] 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 조직-특이적 표적, 예를 들어, 뇌, 유방, 결장, 난소 및/또는 여성 생식기계와 연관된 다른 조직, 췌장, 전립선 및/또는 남성 생식기계와 연관된 다른 조직, 간, 폐 및 피부와 연관된 표적에 지향된다. 일부 실시형태에서, 이러한 조직-특이적 표적은 정상적인 건강한 조직 및/또는 병이 걸린 조직, 예컨대, 종양과 연관될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 대상체의 정상적인 건강한 상태와 특이적으로 연관된 표적에 지향된다.

[0301] 일부 실시형태에서, 복수의 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)에서 사용되는 개별 표적 결합 엔티티는 상이한 표적에 지향된다. 일부 실시형태에서, 이러한 상이한 표적은 상이한 마커 단백질 또는 폴리펩타이드를 나타낼 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 상이한 표적은 동일한 마커 단백질 또는 폴리펩타이드의 상이한 에피토프를 나타낼 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)에서 이용되는 2개 이상의 개별 표적 결합 엔티티는 동일한 표적에 지향될 수 있다.

[0302] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 복수의 검출 프로브에 사용되는 개별 표적 결합 엔티티는 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 상이한 표적 바이오마커(예를 들어, 상기 "난소암의 검출을 위한 제공된 바이오마커 및/또는 표적 바이오마커 시그니처"라는 제목의 섹션에 기재된 바와 같은 것)에 지향될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 복수의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 MUC16 및 FOLR1에 지향되는 이의 표적 결합 엔티티를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 MUC16 및 CLDN6에 지향되는 이의 표적 결합 엔티티를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 MUC16 및 CLDN3에 지향되는 이의 표적 결합 엔티티를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 FOLR1 및 CLDN6에 지향되는 이의 표적 결합 엔티티를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 FOLR1 및 CLDN3에 지향되는 이의 표적 결합 엔티티를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 SLC34A2 및 CLDN3에 지향되는 이의 표적 결합 엔티티를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 적어도 2개의 검출 프로브는 각각 SLC34A2 및 CLDN3에 지향되는 이의 표적 결합 엔티티를 가질 수 있다.

[0303] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 복수의 검출 프로브에 사용되는 개별 표적 결합 엔티티는 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 동일한 표적 바이오마커(예를 들어, 상기 "난소암의 검출을 위한 제공된 바이오마커 및/또는 표적 바이오마커 시그니처"라는 제목의 섹션에 기재된 바와 같은 것)에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 표적 결합 엔티티는 난소암을 위한 이러한 표적 바이오마커 시그니처의 동일한 표적 바이오마커의 동일하거나 상이한 에피토프에 지향된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 복수의 적어도 2개의 검출 프로브는 (즉, 이의 온전한 막관통 단백질 형태 및/또는 동일한 에피토프 또는 상이한 에피토프에서) 각각 MUC16에 지향되는 이의 표적 결합 엔티티를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 적어도 2개의 검출 프로브는 (예를 들어, 동일한 에피토프 또는 상이한 에피토프에서) 각각 FOLR1 펩타이드에 지향되는 이의 표적 결합 엔티티를 가질 수 있다.

[0304] B. 올리고뉴클레오타이드 도메인

[0305] 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 따라서 사용하기 위한(예를 들어, 표적-결합 모이어티에 커플링될 수 있는) 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나 또는 두 단부로부터 연

장된 단일-가닥 오버행을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 도메인이 각각의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행을 포함하는 일부 실시형태에서, 단일-가닥 오버행은 이중-가닥 부분의 상이한 가닥으로부터 연장된다. 올리고뉴클레오타이드 도메인이 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행을 포함하는 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 다른 말단은 뭉툭한 단부일 수 있다.

[0306] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 리보뉴클레오타이드, 데옥시리보뉴클레오타이드, 왓슨 크릭 유형 또는 유사한 염기쌍 상호작용에 참여할 수 있는 합성 뉴클레오타이드 잔기 및 이들의 임의의 조합물을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 DNA이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 펩타이드 핵산(PNA)이거나 이를 포함한다.

[0307] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 예를 들어, 예를 들어, 검출될 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예를 들어, 세포의 소포)의 물리적 특징 및/또는 검출될 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예를 들어, 세포의 소포)에서 분자 표적의 선택 및 국지화에 의해 적어도 부분적으로 결정되는 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인은, 제1 검출 프로브 및 제2 검출 프로브가 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포)에 결합하는 경우, 제1 단일-가닥 오버행과 제2 단일 가닥 오버행이 단일-가닥 오버행 간의 상호작용(예를 들어, 혼성화)을 허용하기에 충분히 가깝게 근접하도록 하는 길이를 갖도록 구성된다. 예를 들어, 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)가 세포의 소포(예를 들어, 엑소솜)인 경우, 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인은 각각 독립적으로 각각의 단일-가닥 오버행이 상응하는 검출 프로브가 동일한 세포의 소포에 결합되는 경우 서로와 어닐링하거나 상호작용하기에 충분히 가깝게 근접하도록 하는 길이를 가질 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 세포의 소포(예를 들어, 엑소솜)를 검출하는 데 사용하기 위한 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인은 각각 독립적으로 약 20nm 내지 약 200nm, 약 40nm 내지 약 500nm, 약 40nm 내지 약 300nm 또는 약 50nm 내지 약 150nm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포(예를 들어, 엑소솜)를 검출하는 데 사용하기 위한 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인은 각각 독립적으로 약 20nm 내지 약 200nm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 세트 내의 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인의 길이는 그들이 동일한 관심 엔티티에 동시에 결합하는 경우 서로를 찾을 확률을 증가시키고/거나 최대화하도록 각각 독립적으로 달라질 수 있다.

[0308] 따라서, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술에 사용하기 위한 올리고뉴클레오타이드 도메인은 약 20개 내지 최대 약 1000개 뉴클레오타이드 범위의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 약 30개 내지 최대 약 1000개 뉴클레오타이드 범위의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 약 30 내지 약 500개 뉴클레오타이드, 약 30 내지 약 250개 뉴클레오타이드, 약 30 내지 약 200개 뉴클레오타이드, 약 30 내지 약 150 뉴클레오타이드, 약 40 내지 약 150개 뉴클레오타이드, 약 40 내지 약 125개 뉴클레오타이드, 약 40 내지 약 100개 뉴클레오타이드, 약 40 내지 약 60개 뉴클레오타이드, 약 50 내지 약 90개 뉴클레오타이드, 약 50 내지 약 80개 뉴클레오타이드 범위의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 예를 들어, 적어도 30개, 적어도 40개, 적어도 50개, 적어도 60개, 적어도 70개, 적어도 80개, 적어도 90개, 적어도 100개, 적어도 250개, 적어도 500개, 적어도 750개, 적어도 1000개 또는 그 초과 뉴클레오타이드를 포함하는, 적어도 20개 또는 그 초과 뉴클레오타이드의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 예를 들어, 900개 이하, 800개 이하, 700개 이하, 600개 이하, 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 100개 이하, 90개 이하, 80개 이하, 70개 이하, 60개 이하, 50개 이하, 40개 이하, 30개 이하, 20개 이하 또는 그보다 더 적은 뉴클레오타이드를 포함하는, 1000개 이하 또는 그보다 더 적은 뉴클레오타이드의 길이를 가질 수 있다.

[0309] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 약 20nm 내지 약 500nm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 약 20nm 내지 약 400nm, 약 30nm 내지 약 200nm, 약 50nm 내지 약 100nm, 약 30nm 내지 약 70nm 또는 약 40nm 내지 약 60nm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 예를 들어, 적어도 약 30nm, 적어도 약 40nm, 적어도 약 50nm, 적어도 약 60nm, 적어도 약 70nm, 적어도 약 80nm, 적어도 약 90nm, 적어도 약 100nm, 적어도 약 200nm, 적어도 약 300nm, 적어도 약 400nm 또는 그 초과를 포함하는, 적어도 약 20nm 이상의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 예를 들어, 900nm 이하, 800nm 이하, 700nm 이하, 600nm 이하, 500nm 이하, 400nm 이하, 300nm 이하, 200nm 이하, 100nm 이하 또는 그보다 더 짧은 길이를 포함하는, 1000nm 이하 또는 그보다 더 짧은 길이를 가질 수 있다.

[0310] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술에 사용하기 위한 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 약 30개 내지 최대 약 1000개 뉴클레오타이드 범위의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클

레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 약 30 내지 약 500개 뉴클레오타이드, 약 30 내지 약 250개 뉴클레오타이드, 약 30 내지 약 200개 뉴클레오타이드, 약 30 내지 약 150 뉴클레오타이드, 약 40 내지 약 150개 뉴클레오타이드, 약 40 내지 약 125개 뉴클레오타이드, 약 40 내지 약 100개 뉴클레오타이드, 약 50 내지 약 90개 뉴클레오타이드, 약 50 내지 약 80개 뉴클레오타이드 범위의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 예를 들어, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100개, 적어도 250개, 적어도 500개, 적어도 750개, 적어도 1000개 또는 그 초과의 뉴클레오타이드를 포함하는, 적어도 30개 또는 그 초과의 뉴클레오타이드의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 예를 들어, 900개 이하, 800개 이하, 700개 이하, 600개 이하, 500개 이하, 400개 이하, 300개 이하, 200개 이하, 100개 이하, 90개 이하, 80개 이하, 70개 이하, 60개 이하, 50개 이하, 40개 이하 또는 그보다 더 적은 뉴클레오타이드를 포함하는, 1000개 이하 또는 그보다 더 적은 뉴클레오타이드의 길이를 가질 수 있다.

[0311] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 약 20nm 내지 약 500nm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 약 20nm 내지 약 400nm, 약 30nm 내지 약 200nm, 약 50nm 내지 약 100nm, 약 30nm 내지 약 70nm 또는 약 40nm 내지 약 60nm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 예를 들어, 적어도 약 30nm, 적어도 약 40nm, 적어도 약 50nm, 적어도 약 60nm, 적어도 약 70nm, 적어도 약 80nm, 적어도 약 90nm, 적어도 약 100nm, 적어도 약 200nm, 적어도 약 300nm, 적어도 약 400nm 또는 그 초과를 포함하는, 적어도 약 20nm 이상의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 예를 들어, 900nm 이하, 800nm 이하, 700nm 이하, 600nm 이하, 500nm 이하, 400nm 이하, 300nm 이하, 200nm 이하, 100nm 이하 또는 그보다 더 짧은 길이를 포함하는, 1000nm 이하 또는 그보다 더 짧은 길이를 가질 수 있다.

[0312] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 검출 프로브가 각각의 상보적 단일-가닥 오버행의 혼성화를 통해 서로 연결되는 경우(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음), 각각의 올리고뉴클레오타이드 도메인(존재하는 경우 표적-결합 모이어티를 올리고뉴클레오타이드 도메인에 연결하는 링커 포함)의 조합된 길이는 각각의 표적 결합 엔티티가 관심 엔티티(예를 들어, 세포의 소포)의 전체 특징적인 길이(예를 들어, 직경)에 실질적으로 걸쳐있는 것을 허용하기에 충분히 길다. 예를 들어, 세포의 소포가 관심 엔티티인 일부 실시형태에서, 검출 프로브가 서로에 완전히 연결되는 경우, 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인(존재하는 경우 표적-결합 모이어티를 올리고뉴클레오타이드 도메인에 연결하는 링커 포함)의 조합된 길이는 대략 50 내지 200 nm일 수 있다.

[0313] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 프라이머에 대한 결합 부위를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 프라이머에 대한 이러한 결합 부위는 미스-프라이밍 또는 프라이머 이량체의 가능성을 줄이거나 최소화하도록 설계된 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 특징은 검출의 하한을 감소시킬 수 있고, 따라서 본 명세서에 제공된 시스템의 감도를 증가시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 프라이머의 결합 부위는 또 다른 프라이머 결합 부위와 유사한 어닐링 온도를 갖도록 설계된 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0314] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 전형적으로 대상체(예를 들어, 인간 대상체)의 게놈 및/또는 유전자 전사체(예를 들어, 게놈 DNA 및/또는 RNA, 예컨대, 유전자의 mRNA)와 회합된 핵산 서열(예를 들어 DNA 및/또는 RNA 서열)과의 중첩을 감소 또는 최소화하도록 설계된 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 특징은 검출 동안 샘플에 (예를 들어, 오염 물질로서) 존재할 수 있는 대상체의 임의의 게놈 DNA 및/또는 mRNA 전사체의 간섭을 감소시키거나 최소화할 수 있다.

[0315] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중-가닥 부분은 자가-이량체, 동종이량체 또는 이종이량체의 형성을 감소시키거나 최소화하도록 설계된 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다.

[0316] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술에서 사용하기 위한 올리고뉴클레오타이드 도메인의 단일-가닥 오버행은 약 2 내지 약 20개 뉴클레오타이드의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 단일-가닥 오버행은 약 2 내지 약 15개 뉴클레오타이드, 약 2 내지 약 10개 뉴클레오타이드, 약 3 내지 약 20개 뉴클레오타이드, 약 3 내지 약 15개 뉴클레오타이드, 약 3 내지 약 10개 뉴클레오타이드의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 단일-가닥 오버행은 적어도 1 내지 5개의 뉴클레오타이드 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 단일-가닥 오버행은 예를 들어, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14,

적어도 15, 적어도 20개 또는 그 초과 뉴클레오타이드를 포함하는, 적어도 2개 이상의 뉴클레오타이드의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 단일-가닥 오버행은 예를 들어, 15개 이하, 14개 이하, 13개 이하, 12개 이하, 11개 이하, 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하 또는 그보다 더 적은 뉴클레오타이드를 포함하는, 20개 이하 또는 그보다 적은 뉴클레오타이드의 길이를 가질 수 있다.

[0317] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 단일-가닥 오버행은 약 1nm 내지 약 10nm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 단일-가닥 오버행은 약 1nm 내지 약 5nm의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 단일-가닥 오버행은 예를 들어, 적어도 약 1nm, 적어도 약 1.5nm, 적어도 약 2nm, 적어도 약 3nm, 적어도 약 4nm, 적어도 약 5nm, 적어도 약 6nm, 적어도 약 7nm, 적어도 약 8nm, 적어도 약 9nm, 적어도 약 10nm 또는 그 초과를 포함하는, 적어도 약 0.5nm 이상의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 단일-가닥 오버행은 예를 들어, 9nm 이하, 8nm 이하, 7nm 이하, 6nm 이하, 5nm 이하, 4nm 이하, 3nm 이하, 2nm 이하, 1nm 이하 또는 그보다 짧은 길이를 포함하는, 10nm 이하 또는 그보다 더 짧은 길이를 가질 수 있다.

[0318] 올리고뉴클레오타이드 도메인의 단일-가닥 오버행은 제1 검출 프로브 및 제2 검출 프로브를 포함하는 이중-가닥 복합체가 상보적 단일-가닥 오버행의 혼성화를 통해 형성될 수 있도록 제2 검출 프로브의 단일-가닥 오버행의 적어도 일부와 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하도록 설계된다. 일부 실시형태에서, 상보적 단일-가닥 오버행의 뉴클레오타이드 서열은 적절한 핵산 리가제의 존재 하에 최적의 결합 효율을 위해 선택된다. 일부 실시형태에서, 단일-가닥 오버행은 관심의 특이적 핵산 리가제(예를 들어, DNA 리가제, 예컨대, T4 또는 T7 리가제)에 의한 효율적인 결합을 위해 우선적으로 선택된 뉴클레오타이드 서열을 갖는다. 예를 들어, 이러한 단일-가닥 오버행은 예를 들어, 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Song *et al.*, "Enzyme-guided DNA sewing architecture" *Scientific Reports* 5: 17722 (2015)]에 기재된 바와 같은 GAGT의 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다.

[0319] 2개의 검출 프로브가 각각의 상보적 단일-가닥 오버행의 혼성화를 통해 함께 커플링되는 경우, 혼성화된 단일-가닥 오버행을 포함하는 이들 각각의 올리고뉴클레오타이드 도메인은 일부 실시형태에서 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)의 특징적인 길이의 약 90% 내지 110% 또는 약 95% 내지 105%의 조합된 길이를 가질 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티가 엑소좀인 경우, 조합된 길이는 약 50nm 내지 약 200nm 또는 약 75nm 내지 약 150nm 또는 약 80nm 내지 약 120nm일 수 있다.

[0320] C. 표적-결합 모이어티와 올리고뉴클레오타이드 도메인 간의 커플링

[0321] 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 표적-결합 모이어티는 공유 링키지에 의해서 그리고/또는 비-공유 회합(예를 들어, 단백질-단백질 상호작용, 예컨대, 스트렙타비딘-바이오틴 상호작용 및/또는 이온 상호작용)에 의해 검출 프로브에서 함께 커플링될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 따라 사용하기에 적절한 검출 프로브는 표적-결합 모이어티 및 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하는 접합체 분자이고, 여기서 2개의 성분은 전형적으로 예를 들어, 결합을 통해 직접적으로 또는 하나 이상의 링커를 통해 간접적으로 서로 공유 커플링된다. 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티는 공유 링키지에 의해(예를 들어, 결합을 통해 직접적으로 또는 하나 이상의 링커를 통해 간접적으로) 그리고/또는 비-공유 회합(예를 들어, 단백질-단백질 상호작용, 예컨대, 스트렙타비딘-바이오틴 상호작용 및/또는 이온 상호작용)에 의해서 올리고뉴클레오타이드 도메인의 2개의 가닥 중 하나에 커플링된다.

[0322] 링커가 사용되는 경우, 일부 실시형태에서, 링커는 선택된 링커를 통해 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 가닥 또는 두 가닥 다에 대한 표적-결합 모이어티의 공유 부착을 제공하도록 선택된다. 일부 실시형태에서, 링커는, 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 가닥 또는 두 가닥 다에 대한 표적-결합 모이어티의 생성된 공유 부착이 이의 표적에 대한 표적-결합 모이어티의 목적하는 결합 친화도를 유지하도록 선택된다. 일부 실시형태에서, 링커는 이의 표적에 대한 표적-결합 모이어티의 결합 특이성을 향상시키도록 선택된다. 관심 링커 및/또는 접합 방법은 표적-결합 모이어티, 예를 들어, 이의 크기 및/또는 전하에 따라 상당히 달라질 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 생물학적으로 불활성이다.

[0323] 표적-결합 모이어티를 올리고뉴클레오타이드에 커플링시키기 위한 다양한 링커 및/또는 방법이 당업자에게 공지되어 있고, 본 개시내용에 따라 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 표적-결합 모이어티에 공유 부착할 수 있는 반응성 작용기와 함께 양쪽 단부에 스페이서기를 포함할 수 있다. 링커에 사용될 수 있는 스페이서기의 예는 지방족 및 불포화 탄화수소쇄(예를 들어, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16,

C17, C18, C19, C20 또는 그 초과 포함), 헤테로원자, 예컨대, 산소(예를 들어, 에터, 예컨대, 폴리에틸렌 글리콜) 또는 질소(폴리아민)를 함유하는 스페이서, 펩타이드, 탄수화물, 헤테로원자를 함유할 수 있는 환식 또는 비환식 시스템을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 공유 부작을 용이하게 하기 위한 반응성 작용기의 비제한적 예는 친핵성 작용기(예를 들어, 아민, 알코올, 티올 및/또는 하이드라지드), 친전자성 작용기(예를 들어, 알데하이드, 에스터, 바이닐 케톤, 에폭사이드, 아이소사이아네이트 및/또는 말레이미드), 고리화 첨가 반응, 이황화 결합 또는 금속에 대한 결합이 가능할 수 있는 작용기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 예시적인 반응성 작용기는 1차 및 2차 아민, 하이드록삼산, N-하이드록시석신이미드 (NHS) 에스터, 다이벤조사이클로옥틴(DBCO)-NHS 에스터, 아지도-NHS 에스터, 아지도아세트산 NHS 에스터, 프로파길-NHS 에스터, 트랜스-사이클로옥텐-NHS 에스터, N-하이드록시석신이미드 카보네이트, 옥시카보닐이미다졸, 나이트로페닐에스터, 트라이플루오로에틸 에스터, 글리시딜 에터, 바이닐설폰, 말레이미드, 아지도벤조일 하이드라자이드, N-[4-(p-아지도살리실아미노)부틸]-3'-[2'-피리딜다이트오]프로피온아마이드), 비스-설포석신이미드 수버레이트, 다이메틸아디프이미데이트, 다이석신이미드타트레이트, N-말레이미도부틸옥시석신이미드 에스터, N-하이드록시 설포석신이미드-4-아지도벤조에이트, N-석신이미드 [4-아지도페닐]-1,3'-다이티오프로피온에이트, N-석신이미드 [4-아이오도아세틸]아미노벤조에이트, 글루타르알데하이드 및 석신이미드 4-[N-말레이미도메틸]사이클로헥산-1-카르복실레이트, 3-(2-피리딜다이트오)프로피온산 N-하이드록시석신이미드 에스터(SPDP), 4-(N-말레이미도메틸)-사이클로헥산-1-카르복실산 N-하이드록시석신이미드 에스터(SMCC) 및 이들의 임의의 조합물을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

[0324] 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티(예를 들어, 표적 결합 항체 작용제)는 N-하이드록시석신이미드(NHS) 에스터 화학을 사용하여 올리고뉴클레오타이드 도메인 중 하나의 가닥 또는 두 가닥 다에 커플링되거나 접합된다. NHS 에스터는 자유 1차 아민과 반응하여, 안정적인 공유 결합을 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 1차 아미노기는 스페이서기, 예를 들어, 비제한적으로, 지방족 및 불포화 탄화수소쇄(예를 들어, C6 또는 C12 스페이서기)와 함께 말단 단부에 위치될 수 있다.

[0325] 일부 실시형태에서, 표적-결합 모이어티(예를 들어, 표적 결합 항체 작용제)는 당업계에 예를 들어, 접합된 표적-결합 모이어티(예를 들어, 접합된 표적 결합 항체 작용제)의 결합 특이성을 향상시키기 위해서, 공지된 부위-특이적 접합 방법을 사용하여, 올리고뉴클레오타이드 도메인 중 하나의 가닥 또는 두 가닥 다에 커플링되거나 접합될 수 있다. 부위-특이적 접합 방법의 예는 이황화 결합, C-말단, 탄수화물 잔기 또는 글리칸 및/또는 비자연 아미노산 표지를 통한 커플링 또는 접합을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 표적-결합 모이어티가 항체 작용제 또는 펩타이드 압타머이거나 이를 포함하는 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 표적-결합 모이어티에 존재하는 적어도 하나 이상의 유리 아민 기를 통해 표적-결합 모이어티에 커플링되거나 접합될 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 표적-결합 모이어티에 존재하는 적어도 하나 이상의 반응성 티올기를 통해 항체 작용제 또는 펩타이드 압타머이거나 이를 포함하는 표적-결합 모이어티에 커플링되거나 접합될 수 있다. 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 표적-결합 모이어티에 존재하는 적어도 하나 이상의 탄수화물 잔기를 통해 항체 작용제 또는 펩타이드 압타머이거나 이를 포함하는 표적-결합 모이어티에 커플링되거나 접합될 수 있다.

[0326] 일부 실시형태에서, 복수의 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10개 또는 그 초과)가 표적-결합 모이어티(예를 들어, 표적 결합 항체 작용제)에 커플링되거나 접합될 수 있다.

[0327] 예시적인 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템

[0328] 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 의해서 제공된 바와 같은 (그리고 예를 들어, 난소암과 연관된 세포외 소포를 예를 들어, 단일 엔티티 수준에서 검출하는 데 유용한) 표적 엔티티 검출 시스템은 제공된 표적 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 위한 제1 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 사용된 것과 같음)의 제1 집단 및 제공된 표적 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 위한 제2 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 사용된 것과 같음)의 제2 집단을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 검출 프로브 및 제2 검출 프로브는 동일한 제공된 표적 바이오마커에 지향된다. 일부 실시형태에서, 제1 검출 프로브 및 제2 검출 프로브는 상이한 제공된 표적 바이오마커에 지향된다.

[0329] 도 2는 (i) 동일한 표적(예를 들어, 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커)의 2개의 분자가 가깝게 근접하게 발견되도록 발현 수준이 충분히 높은 적어도 1종의 표적(예를 들어, 난소암을 위한 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커) 또는 (ii) 적어도 2종 이상의 구별되는 표적(예를 들어, 난소암을

위한 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커)을 포함하는 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포)를 단일 엔티티 수준에서 검출하기 위한 예시적인 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템을 도시한다. 제1 검출 프로브는 제1 표적-결합 모이어티(예를 들어, 표적 암 마커 1에 지향됨) 및 상기 제1 표적-결합 모이어티에 커플링된 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하되, 상기 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인은 제1 이중-가닥 부분 및 상기 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 제1 단일-가닥 오버행을 포함한다. 도 2에 도시된 바와 같이, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인은 더 긴 가닥(가닥 3)과 더 짧은 가닥(가닥 1)의 혼성화로부터 초래되어, 하나의 단부에 이중-가닥 부분 및 단일-가닥 오버행을 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 표적-결합 모이어티(예를 들어, 표적 암 마커 1에 지향됨)는 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, 가닥 1)의 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부에 커플링(예를 들어, 공유 커플링)된다. 일부 실시형태에서, 제1 표적-결합 모이어티에 커플링된 가닥의 5' 단부 또는 3' 단부는 링커(예를 들어, 스페이서를 갖거나 갖지 않는 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)로 변형될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인의 또 다른 가닥(예를 들어, 가닥 3)의 5' 단부는 유리 포스포이트기를 갖는다.

[0330] 도 2에 도시된 실시형태에서, 제2 검출 프로브는 제2 표적-결합 모이어티(예를 들어, 표적 암 마커 2에 지향됨) 및 상기 제2 표적-결합 모이어티에 커플링된 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고, 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인은 제2 이중-가닥 부분 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 제2 단일-가닥 오버행을 포함한다. 도 2에 도시된 바와 같이, 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인은 더 긴 가닥(가닥 4)과 더 짧은 가닥(가닥 2)의 혼성화로부터 초래되어, 하나의 단부에 이중-가닥 부분 및 단일-가닥 오버행을 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제2 표적-결합 모이어티(예를 들어, 표적 암 마커 2에 지향됨)는 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, 가닥 2)의 가닥의 5' 단부에 커플링(예를 들어, 공유 커플링)된다. 일부 실시형태에서, 제2 표적-결합 모이어티에 커플링된 가닥의 5' 단부는 링커(예를 들어, 스페이서를 갖거나 갖지 않는 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)로 변형될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 또 다른 가닥(예를 들어, 가닥 4)의 5' 단부는 유리 포스포이트기를 갖는다.

[0331] 제1 단일-가닥 오버행 및 제2 단일-가닥 오버행의 적어도 일부는, 이들이 충분히 가깝게 근접하는 경우, 예를 들어, 제1 검출 프로브와 제2 검출 프로브가 동일한 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포)에 동시에 결합하는 경우, 이들이 혼성화하여 이중-가닥 복합체를 형성할 수 있도록 서로와 상보성이다. 일부 실시형태에서, 제1 단일-가닥 오버행 및 제2 단일-가닥 오버행은, 이들이 혼성화하여 이중-가닥 복합체를 형성하는 경우, 이들 각각의 올리고뉴클레오타이드 도메인 사이에 갭(결찰될 틈(nick)이 아님)이 존재하지 않고, 각각의 각각의 표적-결합 모이어티가 이중-가닥 복합체의 반대 단부에 위치되도록, 동일한 길이를 갖는다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 결찰이 일어나기 전에 이중-가닥 복합체가 형성되는데, 여기서 이중-가닥 복합체는 이들 각각의 단일-가닥 오버행(예를 들어, 4개 뉴클레오타이드 길이를 가짐)의 직접 혼성화를 통해서 서로에 커플링된 제1 검출 프로브 및 제2 검출 프로브를 포함하며, 각각의 각각의 표적-결합 모이어티(예를 들어, 각각 표적 암 마커 1 및 표적 암 마커 2에 지향됨)는 이중-가닥 복합체의 반대 단부에 존재한다. 이러한 실시형태, 이중-가닥 복합체(각각의 올리고뉴클레오타이드 도메인 사이에 틈을 포함함)의 두 가닥은 예를 들어, 증폭 및 검출을 위해서 결찰 가능하다. 일부 실시형태에서, 이중-가닥 복합체(예를 들어, 결찰이 일어나기 전에)는 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포)를 포함할 수 있고, 여기서 제1 표적-결합 모이어티(예를 들어, 표적 암 마커 1에 지향됨) 및 제2 표적-결합 모이어티(예를 들어, 표적 암 마커 2에 지향됨)는 관심 엔티티에 동시에 결합된다.

[0332] 난소암의 검출을 위한 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템의 일부 실시형태에서, 제1 검출 프로브의 제1 표적-결합 모이어티는 제1 표적 표면 단백질 바이오마커(예를 들어, "난소암의 검출을 위한 제공된 바이오마커 및/또는 표적 바이오마커 시그니처"라는 제목의 섹션에 제공된 것)에 지향될 수 있는 반면, 제2 검출 프로브의 제2 표적-결합 모이어티는 제2 표적 표면 단백질 바이오마커(예를 들어, "난소암의 검출을 위한 제공된 바이오마커 및/또는 표적 바이오마커 시그니처"라는 제목의 섹션에 제공된 것)에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 검출 프로브의 제1 표적-결합 모이어티는 제1 표적 소포내 단백질 바이오마커(예를 들어, "난소암의 검출을 위한 제공된 바이오마커 및/또는 표적 바이오마커 시그니처"라는 제목의 섹션에 제공된 것)에 지향될 수 있는 반면, 제2 검출 프로브의 제2 표적-결합 모이어티는 제2 표적 소포내 단백질 바이오마커(예를 들어, "난소암의 검출을 위한 제공된 바이오마커 및/또는 표적 바이오마커 시그니처"라는 제목의 섹션에 제공된 것)에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 표적-결합 모이어티 및 제2 표적-결합 모이어티는 동일한 표적 표면 단백질 바이오마커 또는 동일한 표적 소포내 단백질 바이오마커의 동일한 또는 상이한 에피토프에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 표적-결합 모이어티 및 제2 표적-결합 모이어티는 상이한 표적 표면 단백질 바이오마커 또는 상이한

표적 소포내 단백질 바이오마커에 지향될 수 있다.

- [0333] 난소암의 검출을 위한 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템의 일부 실시형태에서, 제1 검출 프로브는 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 (예를 들어, 온전한 막관통 단백질 형태의) MUC16에 지향되는 제1 표적-결합 모이어티를 포함하는 반면; 제2 검출 프로브는 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 (예를 들어, 온전한 막관통 단백질 형태의) MUC16에 지향되는 제2 표적-결합 모이어티를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 제1 표적-결합 모이어티 및 제2 표적-결합 모이어티는 (예를 들어, 무손상 막관통 단백질 형태의) MUC16의 동일하거나 상이한 에피토프(들)에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 상이할 수 있다.
- [0334] 난소암의 검출을 위한 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템의 일부 실시형태에서, 제1 검출 프로브는 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 제1 표적-결합 모이어티를 포함하는 반면; 제2 검출 프로브는 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 제2 표적-결합 모이어티를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 제1 표적-결합 모이어티 및 제2 표적-결합 모이어티는 FOLR1 폴리펩타이드의 동일하거나 상이한 에피토프(들)에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 상이할 수 있다.
- [0335] 난소암의 검출을 위한 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템의 일부 실시형태에서, 제1 검출 프로브는 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 MUC16 폴리펩타이드에 지향되는 제1 표적-결합 모이어티를 포함하는 반면; 제2 검출 프로브는 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 제2 표적-결합 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 상이할 수 있다.
- [0336] 난소암의 검출을 위한 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템의 일부 실시형태에서, 제1 검출 프로브는 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 CLDN6 폴리펩타이드에 지향되는 제1 표적-결합 모이어티를 포함하는 반면; 제2 검출 프로브는 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 MUC16 폴리펩타이드 또는 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 제2 표적-결합 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 상이할 수 있다.
- [0337] 난소암의 검출을 위한 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템의 일부 실시형태에서, 제1 검출 프로브는 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 CLDN3 폴리펩타이드에 지향되는 제1 표적-결합 모이어티를 포함하는 반면; 제2 검출 프로브는 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인에 접합된 SLC34A2 폴리펩타이드에 지향되는 제2 표적-결합 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 이중 가닥 부분은 상이할 수 있다.
- [0338] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위한 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템은 적어도 2개의 구별되는 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 각각의 세트는 하나 이상의 표적 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 포함하는 구별되는 표적 바이오마커 시그니처에 지향될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 도 21에 도시된 바와 같이, 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템은 적어도 두 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있는데, 여기서 제1 세트는 각각 MUC16 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하고, 제2 세트는 각각 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 도 38에 도시된 바와 같이, 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템은 적어도 두 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있는데, 여기서 제1 세트는 FOLR1 폴리펩타이드(예를 들어, SLC34A2 폴리펩타이드에 지향되는 포획 프로브를 가짐)에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하고, 제2 세트는 각각 MUC16 폴리펩타이드 및 FOLR1 폴리펩타이드(예를 들어, 적어도 MUC16 폴리펩타이드에 지향되는 포획 프로브를 가짐)에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 도 39에 도시된 바와 같이, 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템은 적어도 두 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있는데, 여기서 제1 세트는 각각 FOLR1 폴리펩타이드(예를 들어, SLC34A2 폴리펩타이드에 지향되는 포획 프로브를 가짐)에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하고, 제2 세트는 각각 MUC16 폴리펩타이드 및 FOLR1 폴리펩타이드(예를 들어, MUC16 폴리펩타이드

에 지향되는 포획 프로브를 가짐)에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 각각의 세트는 난소암에 대한 표적 바이오마커의 구별되는 조합물에 지향될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템은 적어도 두 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있는데, 여기서 제1 세트는 각각 구별되는 바이오마커에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하고, 제2 세트는 각각 구별되는 바이오마커에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다.

[0339] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위한 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템은 3개의 구별되는 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 각각의 세트는 하나 이상의 표적 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 포함하는 구별되는 표적 바이오마커 시그니처에 지향될 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 적어도 하나의 세트는 단일 표적 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)에 지향될 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 적어도 하나의 세트는 적어도 2개의 구별되는 표적 바이오마커의 조합물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 적어도 2개의 표적 바이오마커의 조합물)에 지향될 수 있다. 예를 들어, 실시예 10에 기재된 바와 같이, 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템은 적어도 세 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있는데, 여기서 제1 세트는 각각 MUC16 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하고; 제2 세트는 각각 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하고; 제3 세트는 MUC16 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브 및 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 제2 검출 프로브를 포함한다.

[0340] 일부 실시형태에서, 적어도 2개의 구별되는 세트의 검출 프로브를 포함하는 듀플렉스 표적 엔티티 검출 시스템은 또한 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 포획제를 포함하는 포획 검정을 포함할 수 있다.

[0341] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 포획 프로브 또는 검출 프로브를 포함하는 바이오마커 프로브(예를 들어, 바이오마커 시그니처)의 임의의 조합물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 포획 프로브 또는 검출 프로브를 비롯한 임의의 다른 세트의 바이오마커 프로브(예를 들어, 바이오마커 시그니처)와 조합하여 사용될 수 있다.

[0342] 예시적인 트라이플렉스 또는 멀티플렉스($n \geq 3$) 표적 엔티티 검출 시스템

[0343] 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 의해서 제공된 바와 같은 (그리고 예를 들어, 난소암과 연관된 세포외 소포를 예를 들어, 단일 엔티티 수준으로 검출하기 위해서 유용한) 표적 엔티티 검출 시스템은 구별되는 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)의 n 개의 집단을 포함할 수 있고, 여기서 n 은 3 이상이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 $n=3$ 인 경우, 표적 엔티티 검출 시스템은 제1 표적을 위한 제1 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음), 제2 표적을 위한 제2 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)의 집단 및 제3 표적을 위한 제3 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)의 집단을 포함할 수 있다.

[0344] 도 15는 단일 엔티티 수준에서, 3개의 구별되는 분자 표적을 포함하는 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포외 소포)를 검출하기 위한 예시적인 트라이플렉스 표적 엔티티 검출 시스템을 도시한다. 제1 검출 프로브는 제1 표적-결합 모이어티(예를 들어, 항암 마커 1 항체 작용제) 및 제1 표적-결합 모이어티에 커플링된 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고, 상기 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인은 제1 이중-가닥 부분 및 상기 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 제1 단일-가닥 오버행을 포함한다. 도 15에 도시된 바와 같이, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인은 더 긴 가닥(가닥 8)과 더 짧은 가닥(가닥 1)의 혼성화로부터 초래되어, 하나의 단부에 이중-가닥 부분 및 단일-가닥 오버행을 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 표적-결합 모이어티(예를 들어, 항암 마커 1 항체 작용제)는 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, 가닥 1)의 가닥의 5' 단부에 커플링(예를 들어, 공유 커플링)된다. 일부 실시형태에서, 제1 표적-결합 모이어티에 커플링된 가닥의 5' 단부는 링커(예를 들어, 스페이서를 갖거나 갖지 않는 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)로 변형될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 올리고뉴클레오타이드 도메인의 또 다른 가닥(예를 들어, 가닥 8)의 5' 단부는 유리 포스페이트기를 갖는다.

[0345] 도 15에 도시된 실시형태에서, 제2 검출 프로브는 제2 표적-결합 모이어티(예를 들어, 항암 마커 3 항체 작용제) 및 제2 표적-결합 모이어티에 커플링된 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고, 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인은 제2 이중-가닥 부분 및 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 제2 단일-가닥 오버행을 포함한다. 도 15에 도시된 바와 같이, 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인은 더 긴 가닥(가닥 4)과 더 짧은 가닥(가닥 2)의 혼성화로부터 초래되어, 하나의 단부에 이중-가닥 부분 및 단일-가닥 오버행을 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제2 표적-결합 모이어티(예를 들어, 항암 마커 3 항체 작용제)는 제2 올리고

뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, 가닥 2)의 가닥의 5' 단부에 커플링(예를 들어, 공유 커플링)된다. 일부 실시형태에서, 제2 표적-결합 모이어티에 커플링된 가닥의 5' 단부는 링커(예를 들어, 스페이서를 갖거나 갖지 않는 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)로 변형될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제2 올리고뉴클레오타이드 도메인의 또 다른 가닥(예를 들어, 가닥 4)의 5' 단부는 유리 포스페이트기를 갖지 않는다.

[0346] 제3 검출 프로브는 제3 표적-결합 모이어티(예를 들어, 항암 마커 2 항체 작용제) 및 제3 표적-결합 모이어티에 커플링된 제3 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하고, 제3 올리고뉴클레오타이드 도메인은 제3 이중-가닥 부분 및 제3 올리고뉴클레오타이드 도메인의 각각의 단부로부터 연장된 제3 단일-가닥 오버행을 포함한다. 예를 들어, 단일-가닥 오버행은 제3 올리고뉴클레오타이드 도메인의 가닥의 하나의 단부로부터 연장되는 반면, 또 다른 단일-가닥 오버행은 제3 올리고뉴클레오타이드 도메인의 상이한 가닥의 반대 단부로부터 연장된다. 도 15에 도시된 바와 같이, 제3 올리고뉴클레오타이드 도메인은 2개의 가닥(예를 들어, 가닥 9 및 10)의 부분의 혼성화로부터 유래되어, 각각의 단부에 이중-가닥 부분 및 단일-가닥 오버행을 형성할 수 있다. 예를 들어, 단일-가닥 오버행(3A)은 제3 검출 프로브의 가닥 9의 5' 단부에서 형성되며, 여기서 가닥 9의 '5' 단부는 유리 포스페이트기를 갖는다. 추가로, 단일-가닥 오버행(3B)이 동일한 제3 검출 프로브의 가닥 10의 5' 단부에 형성되고, 제3 표적-결합 모이어티(예를 들어, 항-표적 2 항체 작용제)가 또한 가닥 10의 5' 단부에 커플링된다(예를 들어, 공유 커플링된다). 일부 실시형태에서, 제3 표적-결합 모이어티에 커플링된 가닥(예를 들어, 가닥 10)의 5' 단부는 링커(예를 들어, 스페이서를 갖거나 갖지 않는 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)로 변형될 수 있다.

[0347] 3개의 모든 검출 프로브가 충분히 가깝게 근접하게 존재하는 경우, 예를 들어, 3개의 모든 검출 프로브가 동일한 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)에 동시에 결합하는 경우, (i) 제3 검출 프로브의 단일-가닥 오버행(예를 들어, 3A)의 적어도 일부는 제2 검출 프로브의 단일-가닥 오버행의 상응하는 상보성 부분에 혼성화되고, (ii) 제3 검출 프로브의 또 다른 단일-가닥 오버행(예를 들어, 3B)의 적어도 일부는 제1 검출 프로브의 단일-가닥 오버행의 상응하는 상보성 부분에 혼성화된다. 그 결과, 선형 배열로 서로 커플링된 3개의 모든 검출 프로브를 포함하는 이중-가닥 복합체가 상응하는 단일-가닥 오버행의 직접 혼성화에 의해 형성된다. 예를 들어, 도 15 참조.

[0348] 제공된 기술에서 적어도 3개 이상의($n \geq 3$) 검출 프로브의 사용을 포함하는 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 단일-가닥 오버행이 각각의 각자의 파트너(들)에 어닐링되어 이중-가닥 복합체를 형성하는 경우, 적어도 ($n-2$)개의 표적 결합 모이어티/모이어티들이 이중-가닥 복합체의 내부 위치(들)에 존재한다. 이러한 실시형태에서, 이중-가닥 복합체의 또 다른 가닥에 임의의 내부 표적 결합 부분이 존재하지 않고, 따라서 예를 들어, 결합 가능하여 예를 들어, 증폭 및 검출을 위해 결합된 주형을 형성하도록 이중-가닥 복합체의 단일 가닥에 존재하는 내부 표적 결합 모이어티를 갖는 것이 바람직하다. 예를 들어, 도 15(3개의 검출 프로브 사용), 도 16(4개의 검출 프로브 사용) 및 도 17(n 개의 검출 프로브 사용)을 참고하기 바란다.

[0349] 이중-가닥 복합체의 가닥이 적어도 하나 이상의 내부 표적 결합 모이어티를 포함하는 일부 실시형태에서, 가닥은 내부 표적 결합 모이어티가 커플링된 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 가닥의 단부와 또 다른 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 가닥의 단부 사이에 갭을 포함한다. 갭의 크기는 가닥이 핵산 리가제의 존재 하에서 결합 가능하지 않게 되도록 충분히 크다. 일부 실시형태에서, 갭은 2 내지 8개 뉴클레오타이드 크기 또는 2 내지 6개 뉴클레오타이드 크기일 수 있다. 일부 실시형태에서, 갭은 6개 뉴클레오타이드 크기이다. 일부 실시형태에서, 중첩부(단일-가닥 오버행 사이의 혼성화 영역)는 2 내지 15개 뉴클레오타이드 길이 또는 4 내지 10개 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 일부 실시형태에서, 중첩부(단일-가닥 오버행 사이의 혼성화 영역)는 8개 뉴클레오타이드 길이이다. 갭 및/또는 혼성화 영역의 크기는 결합된 주형(내부 표적 결합 부분을 포함하지 않음) 및 비-결합된 주형(적어도 하나의 내부 표적-결합 모이어티를 포함함)으로부터 최적의 신호 분리를 제공하도록 선택된다. 도 15 내지 도 17은 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)에 대한 검출 프로브의 결합을 나타내지 않지만, 이중-가닥 복합체(예를 들어, 결합이 발생하기 전)는 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포외 소포)를 포함할 수 있고, 여기서 적어도 3개 이상의 표적 결합 모이어티가 동시에 관심 엔티티에 결합된다는 것을 주목해야 한다.

[0350] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템(예를 들어, 본 명세서에 기재된 듀플렉스, 트라이플렉스 또는 멀티플렉스 표적 엔티티 검출 시스템)에 사용하기 위한 검출 프로브(예를 들어, 다수의 검출 프로브 및/또는 특이적 바이오마커)의 조합물(예를 들어, 세트)의 선택은 예를 들어, 적용에 최적인 것으로 간주되는 목적하는 특이성 및/또는 목적하는 감도를 기반으로 한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 조합물은 그것이 예를 들어, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 적어도

99.7%, 적어도 99.8% 또는 그 초과를 포함하는, 적어도 95% 또는 그 초과의 특이성을 제공하도록 난소암의 검출(예를 들어, I, II, III 또는 IV기의 경우)을 위해서 선택된다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 조합물은, 그것이 예를 들어, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 그 초과를 포함하는 적어도 30% 이상의 감도를 제공하도록 난소암의 검출(예를 들어, I, II, III 또는 IV기의 경우)을 위해서 선택된다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 조합물은, 그것이 예를 들어, 적어도 9%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50% 또는 그 초과를 포함하는 적어도 8% 또는 그 초과의 예측 값을 제공하도록 난소암의 검출(예를 들어, I, II, III 또는 IV기의 경우)을 위해서 선택된다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 조합물은, 그것이 예를 들어, 적어도 3%, 적어도 4%, 적어도 5%, 적어도 6%, 적어도 7%, 적어도 8%, 적어도 9%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50% 또는 그 초과를 포함하는 적어도 2% 또는 그 초과의 예측 값을 제공하도록 난소암의 검출(예를 들어, I, II, III 또는 IV기의 경우)을 위해서 선택된다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 조합물은, 그것이 예를 들어, 7×10^6 개 EV/ml 샘플 미만, 6×10^6 개 EV/ml 샘플 미만, 5×10^6 개 EV/ml 샘플 미만, 4×10^6 개 EV/ml 샘플 미만, 3×10^6 개 EV/ml 샘플 미만, 2×10^6 개 EV/ml 샘플 미만, 1×10^6 개 EV/ml 샘플 미만 또는 그보다 더 낮은 것을 포함하는, 1×10^7 개 EV/ml 샘플 미만 또는 그보다 더 낮은 검출 한계(LOD)를 제공하도록 난소암(예를 들어, I, II, III 또는 IV기)의 검출을 위해 선택된다. 일부 실시형태에서, 이러한 난소암 검출 검정은 예를 들어, 비제한적으로 고등급 장액성 난소암, 자궁내막모양 난소암, 투명 세포 난소암, 저등급 장액성 난소암 또는 점액성 난소암을 비롯한 상이한 하위유형의 난소암을 검출하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 난소암 검출 검정은 상피 기원의 난소암을 검출하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 난소암 검출 검정은 고등급 장액성 난소암을 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0351] 일부 실시형태에서, 개별 검출 프로브보다 검출 프로브의 조합물(예를 들어, 세트)은 질환, 장애 또는 병태(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 특정 난소암 및/또는 난소암의 병기)의 검출에 특이성을 부여하고, 예를 들어, 하나 이상의 개별 프로브는 그 자체가 난소암에 특이적이지 않은 표적에 지향될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템(예를 들어, 본 명세서에 기재된 듀플렉스, 트라이플렉스 또는 멀티플렉스 표적 엔티티 검출 시스템)에서 검출 프로브의 유용한 조합물은 관련 질환, 장애 또는 병태에 특이적인 표적(즉, 관련 질환, 장애 또는 병태에 특이적인 표적)에 지향되는 적어도 하나의 검출 프로브를 포함할 수 있고, 관련 질환, 장애 또는 병태에 반드시 또는 완전히 특이적이지는 않은(예를 들어, 건강한, 특정 질환, 장애 또는 병태를 갖지 않는 그리고/또는 관심 특정 질환 병기를 갖지 않는 일부 또는 모든 세포에서 또한 발견될 수 있는) 표적에 지향되는 적어도 1종의 검출 프로브를 추가로 포함할 수 있다. 즉, 본 명세서를 읽는 당업자에 의해 인식되는 바와 같이, 본 발명에 따라 이용되는 검출 프로브 세트가 함께 관련 질환, 장애 또는 병태의 검출에 특이적인(즉, 관련 질환, 장애 또는 병태와 연관된 검출을 위한 생물학적 엔티티를 검출을 위한 관심이 아닌 다른 생물학적 엔티티로부터 충분히 구별하는) 복수의 개별 검출 프로브이거나 이를 포함하는 한, 이러한 세트가 본 발명의 특정 실시형태에 따라 유용하다.

[0352] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템(예를 들어, 본 명세서에 기재된 듀플렉스, 트라이플렉스 또는 멀티플렉스 표적 엔티티 검출 시스템)은 적어도 1종 이상(예를 들어, 적어도 2종 이상)의 대조군 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같은 표적-특이적 검출 프로브, 예를 들어, 일부 실시형태에서 질환-특이적 바이오마커, 예컨대, 암-특이적 바이오마커 및/또는 조직-특이적 바이오마커를 인식하기 위함)를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 대조군 프로브는, 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)에 대한 결합이 검출 신호의 생성을 (완전히 또는 부분적으로) 저해하도록 설계된다.

[0353] 일부 실시형태에서, 대조군 프로브는 대조군 결합 모이어티 및 대조군 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)을 포함하고, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행을 포함한다. 대조군 결합 모이어티는 대조군 참조에 결합되는 엔티티 또는 모이어티이다. 일부 실시형태에서, 대조군 참조는 정상적인 건강한 세포와 우선적으로 연관되는 바이오마커일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 대조군 참조는 비-표적 조직과 우선적으로 연관되는 바이오마커일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 대조군 프로브의 포함은 위양성(예를 들어, 선택적으로 검출될 하나 이상의 표적과 조합하여, 대조군 참조를 포함하는 관심 엔티티)으로부터 생성된 검출 가능한 신호를 선택적으로 제거하거나 최소화할 수 있다. 각각의 출원 내용 전문이 참조에 의해 본 명세서에 포함된 미국 출원 제16/805,637호 및 국제 출원 제PCT/US2020/020529호(둘 다 2020년 2월 28일자 출원, 발명의 명칭: "Systems, Compositions, and Methods

for Target Entity Detection")에 기재된 다른 대조군 프로브가 제공된 표적 엔티티 검출 시스템에 유용할 수 있다.

[0354] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 다른 것 중에서 본 명세서에 기재되고/되거나 활용되는 바와 같은 검출 프로브가 고체 기질 표면에 비특이적으로 결합할 수 있고, 이들 중 일부는 임의의 과량의 또는 결합되지 않은 검출 프로브를 제거하기 위한 수 회의 세척 후에도 검정 샘플에서 유지될 수 있고; 이러한 비-특이적으로 결합된 검출 프로브가 고체 기질 표면으로부터 떨어져 나와서, 결합 반응에서 자유롭게 부유하게 됨으로써, 그들이 서로와 상호작용하여 바람직하지 않은 배경 신호를 생성시키는 비특이적인 결합된 주형을 생성시킬 수 있다는 통찰력을 제공한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템(예를 들어, 본 명세서에 기재된 듀플렉스, 트라이플렉스 또는 멀티플렉스 표적 엔티티 검출)은 관심 엔티티에 결합하지 않고, 결합 반응에서 자유로운 작용제로서 남아있는 잔류하는 검출 프로브를 포획하도록 설계된 적어도 1종 이상(예를 들어, 적어도 2종 이상)의 저해제 올리고뉴클레오타이드를 포함함으로써, 이러한 자유롭게 부유하는 검출 프로브가 다른 자유롭게 부유하는 상보성 검출 프로브와 상호작용하여 바람직하지 않은 배경 신호를 생성시키는 것을 방지할 수 있다. 일부 실시형태에서, 저해제 올리고뉴클레오타이드는 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되거나 이용됨)의 단일-가닥 오버행에 대한 결합 도메인을 포함하는 단일-가닥 또는 이중-가닥 올리고뉴클레오타이드이거나 이를 포함할 수 있으며, 여기서 저해제 올리고뉴클레오타이드는 프라이머 결합 부위를 포함하지 않는다. 저해제 올리고뉴클레오타이드에서 이러한 프라이머 결합 부위의 부재는 프라이머가 저해제 올리고뉴클레오타이드에 대한 검출 가능한 프로브의 결합로부터 야기되는 비특이적인 결합된 주형에 결합하는 것을 방지함으로써, 비특이적인 결합된 주형이 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응에 의해서 증폭 및/또는 검출되는 것을 감소시키거나 저해한다.

[0355] 일부 실시형태에서, 저해제 올리고뉴클레오타이드는 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기술되거나 이용됨)의 단일-가닥 오버행에 대한 결합 도메인을 포함하고, 여기서 결합 도메인은 상보성 단일-가닥 오버행을 갖는 자유로운 결합되지 않은 검출 프로브가 저해제 올리고뉴클레오타이드의 결합 도메인에 결합할 수 있도록 검출 프로브의 단일-가닥 오버행과 실질적으로 상보성인 뉴클레오타이드 서열이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 저해제 올리고뉴클레오타이드는 하나의 단부에 헤어핀을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 저해제 올리고뉴클레오타이드는 하나의 단부에 검출 프로브의 단일-가닥 오버행에 대한 결합 도메인을 포함하는 단일-가닥 올리고뉴클레오타이드일 수 있으며, 여기서 단일-가닥 올리고뉴클레오타이드의 일부는 자가-혼성화되어 또 다른 단부에 헤어핀을 형성할 수 있다.

[0356] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 표적 엔티티 검출 시스템(예를 들어, 본 명세서에 기재된 듀플렉스, 트라이플렉스 또는 멀티플렉스 표적 엔티티 검출 시스템)은 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인을 또 다른 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인과 회합시키는 연결자 올리고뉴클레오타이드를 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 연결자 올리고뉴클레오타이드는, 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인이 관심 엔티티에 결합하는 경우 서로와 상호작용하지 않았을 임의의 2개의 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인을 브리징하도록 설계된다. 일부 실시형태에서, 연결자 올리고뉴클레오타이드는 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인의 적어도 일부 및 또 다른 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인의 적어도 일부와 혼성화하도록 설계된다. 연결자 올리고뉴클레오타이드는 단일-가닥, 이중-가닥 또는 이들의 조합물일 수 있다. 연결자 올리고뉴클레오타이드는 어떠한 표적-결합 모이어티(예를 들어, 본 명세서에 기술되고/되거나 이용됨) 또는 대조군 결합 모이어티도 존재하지 않는다. 적어도 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인을 간접적으로 연결하기 위한 연결자 올리고뉴클레오타이드가 필요하지 않으며; 일부 실시형태에서, 이러한 연결자 올리고뉴클레오타이드는 사용되지 않는데, 이는 부분적으로 본 명세서에서 제공되고/되거나 이용되는 바와 같은 검출 프로브가 그들의 각각의 올리고뉴클레오타이드 도메인이 충분히 가깝게 근접하는 경우, 예를 들어, 검출 프로브가 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포)에 동시에 결합하는 경우, 서로에 도달하여 서로와 상호작용하기에 충분한 길이를 갖도록 설계되기 때문이다.

[0357] 제공된 표적 엔티티 검출 시스템을 사용하는 방법

[0358] 제공된 표적 엔티티 검출 시스템은 난소암의 검출과 연관된 다양한 적용 및/또는 목적을 위해 샘플(예를 들어, 생물학적, 환경적 또는 다른 샘플)에서 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포외 소포)를 검출하는 데 유용하다. 따라서, 본 명세서에 제공된 일부 양상은 본 개시내용에 따라 사용하기에 적절한 복수(예를 들어, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 그 초과)의 검출 프로브를 사용하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 방법은 샘플(예를 들어, 인간 여성 대상체로부터의 혈액 또는 혈액-유래 샘플) 내의 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포외 소포)를 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같은 적어도 2개 이

상(예를 들어, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20개 또는 그 초과 포함)의 검출 프로브 검출 프로브의 세트와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포)를 포함하는 샘플을 표적 엔티티 검출 시스템(예를 들어, 본 명세서에 제공된 바와 같음)에 적용하는 단계를 포함한다. 복수의 검출 프로브(예를 들어, 적어도 2개 이상)가 동시에 또는 상이한 시간에(예를 들어, 순차적으로) 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 개체, 예컨대 세포의 소포)를 포함하는 샘플에 첨가될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방법은 복수의 검출 프로브와 접촉시키기 전에, 관심 엔티티를 포함하는 샘플을 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 포획제와 접촉시키는 단계를 포함할 수 있다.

[0359]

특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법에 사용하기 위한 제공된 표적 엔티티 검출 시스템은 복수(예를 들어, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20개 또는 그 초과)의 구별되는 세트(예를 들어, 조합물)의 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 방법은 샘플(예를 들어, 인간 여성 대상체로부터의 혈액 또는 혈액-유래 샘플) 내의 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포)를 복수의 세트의 검출 프로브와 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 각각의 세트는 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같은 적어도 2개 또는 그 초과(예를 들어, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20개 또는 그 초과 포함)의 검출 프로브를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 방법은 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포)를 포함하는 샘플을 표적 엔티티 검출 시스템(예를 들어, 본 명세서에 제공된 바와 같음)에 적용하는 단계를 포함한다. 복수의 검출 프로브 및/또는 검출 프로브 조합물(예를 들어, 적어도 2개 또는 그 초과)은 동시에 또는 상이한 시간에(예를 들어, 순차적으로) 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 개체, 예컨대 세포의 소포)를 포함하는 샘플에 첨가될 수 있다. 일부 실시형태에서, 방법은 복수의 검출 프로브와 접촉시키기 전에, 관심 엔티티를 포함하는 샘플을 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 1종의 포획제와 접촉시키는 단계를 포함할 수 있다.

[0360]

일부 실시형태에서, 샘플에서 하나 이상의 바이오마커 조합물을 프로파일링하여 얻은 결과(예를 들어, Ct 값 및/또는 결합된 핵산 주형(예를 들어, 결합된 DNA 주형)의 상대적인 수) 사이의 관계는 임상 정보(예를 들어, 비제한적으로 환자 연령, 과거 병력, 혈청 CA-125 등을 포함함) 및/또는 난소암이 있거나 난소암의 위험이 있는 환자를 더 잘 분류하기 위한 기타 정보와 조합될 수 있다. 다양한 분류 알고리즘을 사용하여 여러 변수 간의 관계를 해석하여 감정의 감도 및/또는 특이성을 높일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 알고리즘은 로지스틱 회귀 모델, 지원 벡터 머신, 구배 부스팅 머신, 랜덤 포레스트 알고리즘, 나이브 베이즈 알고리즘(Naive Bayes algorithms), K-최근접 이웃 알고리즘, 및 이들의 조합을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 감정의 성능(예를 들어, 정확도)은 예를 들어, 바이오마커 조합물의 선택(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음), 알고리즘을 포함하는 다른 인자 또는 변수(예를 들어, 임상 정보)의 선택 및/또는 알고리즘 자체의 유형 선택에 의해서 개선될 수 있다.

[0361]

특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 기술은 본 명세서에 기재된 바와 같은 데이터 세트를 사용하여 훈련되고 검증되는 예측 알고리즘을 활용한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 기술은 바이오마커 시그니처(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)를 포함하는 적어도 2개, 예를 들어, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개 또는 5개 초과개의 개별 감정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)로부터의 결과를 고려하도록 설계된 훈련 샘플로부터 생성된 알고리즘을 사용하여 위험 점수를 생성하는 데 활용된다. 특정 실시형태에서, 알고리즘-생성 위험 점수는 적어도 하나의 개별 감정(예를 들어, 개별 바이오마커 시그니처)으로부터의 진단 데이터(예를 들어, 원시 및/또는 정규화된 Ct 값)를 사용하여 적어도 부분적으로 생성될 수 있다. 특정 실시형태에서, 참조 역치는 위험 점수 내에 포함될 수 있다. 특정 실시형태에서, 난소암 위험의 다중의 상이한 정도를 나타내는 다중 역치 수준이 위험 점수에 포함될 수 있다. 일부 실시형태에서, 개별 표적 바이오마커 시그니처 감정은 일련의 감정에서 개별 감정으로 수행될 수 있고, 개별 감정은 예측 알고리즘에서 동일하거나 상이하게 가중될 수 있다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 알고리즘에서 조합된 개별 감정의 가중치(예를 들어, 바이오마커 감정의 코호트)는 개별 감정의 감도, 개별 감정의 특이성, 개별 감정의 재현성, 개별 감정의 가변성, 개별 감정의 양성 예측값 및/또는 특정 감정의 최저 검출 한계를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 다수의 인자에 의해 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커 감정의 코호트는 특징(예를 들어, 감도, 특이성, 검출의 최저 한계 등)에 따라 순위가 매겨질 수 있고, 이어서 바이오마커 감정은 그들의 상대적 순위에 기초하여 가

증될 수 있다.

- [0362] 일부 실시형태에서, 알고리즘(본 명세서에 기재된 바와 같음)에 의해 생성된 위험 점수는 적합한 방식으로, 예를 들어, 명목 척도로, 예를 들어, 여성이 난소암을 가질 가능성, 여성이 난소암에 걸릴 가능성 및/또는 난소암의 가능한 병기를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 다수의 가능성을 반영하는 0 내지 100의 척도로 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 더 높은 위험 점수는 질환 병리의 증가 가능성이 있음을 입증할 수 있고, 예를 들어, 더 낮은 값에서 더 높은 값은 건강한 대조군, 양성 대조군, I기, II기, III기 및 IV기 난소암을 반영할 수 있다. 일부 실시형태에서, 위험 점수는 다른 암 유형과 비교할 때 본 명세서에 기재된 바와 같은 기술의 교차 반응성의 가능성을 감소시키기 위해 이용될 수 있다.
- [0363] 일부 실시형태에서, 위험 점수는 다른 적용 가능한 진단 데이터, 예컨대, 연령, 생애 이력, TVUS 결과, CA-125 수준 또는 이들의 임의의 조합과 커플링된 본 명세서에 기재된 바와 같은 검정으로부터 유래된 데이터의 조합으로부터 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 위험 점수는 예를 들어, 단독으로 또는 조합하여 사용되는 TVUS 및/또는 CA-125 검정에 의해 제공되는 예측 값보다 높은, 통상적인 표준 치료 진단 검정 예측 값의 것보다 높은 예측 값을 제공한다. 일부 실시형태에서, 난소암(예를 들어, 고등급 장액성 암종)에 대해 높은 특이성을 갖고 다른 암에 대해 낮은 감도를 갖는 위험 점수가 생성될 수 있다.
- [0364] 일부 실시형태에서, 위험 점수는 난소암의 검출을 위한 연관된 임상 컷오프를 가질 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 검출을 위한 위험 점수 임상 컷오프는 초기 난소암 및 말기 난소암 둘 다의 검출에 대해서 적어도 40%, 예를 들어, 적어도 50%, 적어도 60% 또는 그 초과와 감도를 생성하고, 20세 내지 89세의 일반적으로 건강한 여성 집단에서 최소 95%의 특이성, 예를 들어, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 그 초과와 특이성을 갖는 검정을 필요로 할 수 있다. 일부 실시형태에서, 감도 및 특이성 목표는 표적화된 77% 감도 및 99.5% 특이성에 대한 양측 95% 신뢰 구간의 대략적인 하한이다.
- [0365] 일부 실시형태에서, 위험 점수 알고리즘을 프로그래밍하는 데 필요한 필수 데이터를 제공하기 위해 훈련 연구가 수행된다. 일부 실시형태에서, 이러한 훈련 연구는 적어도 상업적 공급업체, 목적 중심 연구 및/또는 의사를 포함하는 다양한 공급업체로부터의 샘플 코호트를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 훈련 연구는 고등급 장액성 난소암 환자(예를 들어, I기, II기, III기 및/또는 IV기)로부터의 양성 샘플, 고등급 장액성 난소암 세포주로부터의 양성 대조군 샘플, 양성 부인과 종양 환자(예를 들어, 난소 종양, 자궁 종양 등)의 음성 샘플, 비-난소암 환자(예를 들어, 뇌암, 유방암, 결장직장암, 자궁내막암, 폐 선암종, 흑색종, 비-호지킨 림프종, 췌장암, 피부암 등)로부터의 음성 샘플, 염증성 병태 환자(예를 들어, 크론병, 자궁내막증, 제2형 당뇨병, 루푸스, 췌장염, 류마티스 관절염, 궤양성 대장염 등)로부터의 음성 샘플, 건강한 환자로부터의 음성 샘플 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 훈련 연구는 임의의 적절한 연령 범위, 예를 들어, 31세 미만, 31 내지 40세, 41 내지 50세, 51 내지 60세, 61 내지 70세, 71세 내지 80세 또는 80세 초과와 환자로부터의 샘플을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 훈련 연구는 임의의 인종/민족/적절한 환자(예를 들어, 백인, 아프리카인, 아시아인 등)의 샘플을 포함할 수 있다.
- [0366] 일부 실시형태에서, 위험 점수 알고리즘의 유용성을 확인하는 데 필요한 필수 데이터를 제공하기 위해 검증 연구가 수행된다. 일부 실시형태에서, 이러한 검증 연구는 적어도 상업적 공급업체, 목적 중심 연구 및/또는 의사를 포함하는 다양한 공급업체로부터의 샘플 코호트를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 검증 연구는 고등급 장액성 난소암 환자(예를 들어, I기, II기, III기 및/또는 IV기)로부터의 양성 샘플, 고등급 장액성 난소암 세포주로부터의 양성 대조군 샘플, 양성 부인과 종양 환자(예를 들어, 난소 종양, 자궁 종양 등)의 음성 샘플, 비-난소암 환자(예를 들어, 뇌암, 유방암, 결장직장암, 자궁내막암, 폐 선암종, 흑색종, 비-호지킨 림프종, 췌장암, 피부암 등)로부터의 음성 샘플, 염증성 병태 환자(예를 들어, 크론병, 자궁내막증, 제2형 당뇨병, 루푸스, 췌장염, 류마티스 관절염, 궤양성 대장염 등)로부터의 음성 샘플, 건강한 환자로부터의 음성 샘플 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 검증 연구는 임의의 적절한 연령 범위, 예를 들어, 31세 미만, 31 내지 40세, 41 내지 50세, 51 내지 60세, 61 내지 70세, 71세 내지 80세 또는 80세 초과와 환자로부터의 샘플을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 검증 연구는 임의의 인종/민족/적절한 환자(예를 들어, 백인, 아프리카인, 아시아인 등)의 샘플을 포함할 수 있다.
- [0367] 특정 실시형태에서, 적어도 1종의 세포외 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 적어도 1종(예를 들어, 적어도 2종 또는 그 초과 포함)의 표적 바이오마커(이것은 본 명세서에 기재된 표면 단백질 바이오마커, 본 명세서에 기재된 소포내 단백질 바이오마커 및/또는 본 명세서에 기재된 소포내 RNA 바이오마커 중 임의의 것으로부터 선택될 수 있음)를 포함하는 적어도 하나의 표적 바이오마커 시그니처는 난소암 검출 검정에서 구현될 수 있다.

일부 이러한 실시형태에서, 적어도 1종의 포획제는 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되고, 검출 프로브의 적어도 하나의 세트는 본 명세서에 기재된 이러한 표적 바이오마커 중 하나 이상에 지향된다. 예를 들어, **도 20(패널 B)** 및 **도 22**는 표적 바이오마커 시그니처의 특정 예를 개시하고, 이들 각각은 난소암 검출 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)에서 구현될 수 있다.

[0368] 특정 실시형태에서, 적어도 1종의 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 및 적어도 1종(예를 들어, 적어도 2종 또는 그 초과 포함)의 표적 바이오마커(이것은 본 명세서에 기재된 표면 단백질 바이오마커, 본 명세서에 기재된 소포내 단백질 바이오마커 및/또는 본 명세서에 기재된 소포내 RNA 바이오마커 중 임의의 것으로부터 선택될 수 있음)를 각각 포함하는 적어도 2종(예를 들어, 적어도 3종 또는 그 초과 포함)의 구별되는 표적 바이오마커 시그니처는 난소암 검출 검정에서 구현될 수 있다. 예를 들어, **도 21**은 난소암에 대한 적어도 2종의 표적 바이오마커 시그니처를 사용하는 난소암 검출 검정을 개시하며, 여기서 제1 표적 바이오마커 시그니처는 SLC34A1 및 MUC16을 포함하고, 제2 표적 바이오마커 시그니처는 SLC34A2 및 FOLR1을 포함한다. **도 21**에 도시된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 일부 실시형태에서 고체 기질, 예를 들어 비드, 예컨대, 자기 비드 상에 고정될 수 있는 SLC34A2에 지향되는 포획제는 환자의 혈액 유래 샘플로부터 세포의 소포를 포획하는 데 사용된다. 포획된 세포의 소포의 제1 분취물은 각각 MUC16에 지향되는 검출 프로브의 제1 세트에 적용되는 반면, 포획된 세포의 소포의 제2 분취물은 각각 FOLR1에 지향되는 검출 프로브의 제2 세트에 적용된다. **도 29**는 난소암에 대한 적어도 3개의 표적 바이오마커 시그니처를 사용하는 난소암 검출 검정을 개시하며, 여기서 제1 표적 바이오마커 시그니처는 SLC34A1 및 MUC16을 포함하고; 제2 표적 바이오마커 시그니처는 SLC34A2 및 FOLR1을 포함하고; 제3 표적 바이오마커 시그니처는 MUC16 및 FOLR1을 포함한다. **도 29**에 도시된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 환자의 혈액-유래 샘플의 분취물은 일부 실시형태에서, 추가 분석을 위한 세포의 소포의 포획을 위해서 고체 기질, 예를 들어, 비드, 예컨대, 자기 비드 상에 고정될 수 있는 SLC34A2에 지향되는 제1 포획제에 적용된다. SLC34A2-포획된 세포의 소포의 제1 분취물은 각각 MUC16에 지향되는 검출 프로브의 제1 세트에 적용되는 반면, SLC34A2-포획된 세포의 소포의 제2 분취물은 각각 FOLR1에 지향되는 검출 프로브의 제2 세트에 적용된다. 일부 실시형태에서, 이러한 환자의 혈액-유래 샘플의 또 다른 분취물은 일부 실시형태에서, 추가 분석을 위한 세포의 소포의 포획을 위해서 고체 기질, 예를 들어, 비드, 예컨대, 자기 비드 상에 고정될 수 있는 MUC16에 지향되는 제2 포획제에 적용된다. 그 다음 MUC16-포획된 세포의 소포는 MUC16에 지향되는 제1 검출 프로브 및 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브를 포함하는 세트에 적용된다.

[0369] **도 21** 및 **도 29**에 나타난 바와 같이, 일부 실시형태에서, 각각의 구별되는 표적 바이오마커 시그니처는 샘플이 난소암에 대해 양성인지 여부를 개별적으로 결정하기 위해 상이한 미리 결정된 컷오프 값을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 검정 판독이 복수(예를 들어, 적어도 2개 또는 그 초과)의 표적 바이오마커 시그니처에 대한 컷오프 값 중 적어도 하나를 초과하는 경우 샘플은 난소암에 대해 양성인 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 컷오프 값의 조합(예를 들어, 적어도 2, 적어도 3 또는 그 초과)은 결과적으로 개선된 감도 및/또는 특이성을 갖는 진단 값을 생성하기 위해 이용될 수 있다.

[0370] 따라서, 일부 실시형태에서, 샘플은 상이한 포획제 및/또는 검출 프로브의 상이한 세트(예를 들어, 각각이 구별되는 질환 또는 병태의 검출에 지향됨)가 상이한 분취물에 첨가될 수 있도록 분취물로 분할될 수 있다. 이러한 실시형태에서, 제공된 기술은 한 번에 하나의 분취물 또는 한 번에 여러 분취물로 구현될 수 있다(예를 들어, 처리량을 증가시키기 위한 병렬 검정의 경우).

[0371] 일부 실시형태에서, 샘플에 첨가되는 검출 프로브의 양은, 검출 프로브가 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)에 대한 결합의 부재 하에서 적어도 임의의 상당한 또한 실질적인 정도가 아닌 서로와 가깝게 무작위적으로 근접하지 않을 것을 보장하도록 혼합물 중의 검출 프로브의 충분히 낮은 농도를 제공한다. 이와 같이, 다수의 실시형태에서, 검출 프로브가 검출 프로브의 각각의 표적화 결합 모이어티와 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)의 결합 부위 간의 결합 상호작용을 통해서 관심의 동일한 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)에 동시에 결합하는 경우, 검출 프로브는 서로 충분히 가깝게 근접하여 이중-가닥 복합체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)를 형성한다. 일부 실시형태에서, 샘플과 조합한 후 혼합물 중의 검출 프로브의 농도는 약 1pM 내지 약 100nM을 포함하는 약 1pM 내지 약 1nM과 같은 약 1fM 내지 1μM의 범위일 수 있다.

[0372] 일부 실시형태에서, 샘플 중의 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)의 농도는, 하나의 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)에 결합하는 검출 프로브가 동일한 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)에 결합하는 각각의 검출 프로브의 부재 하에서, 적어도 임의의 상당한 또한 실질적인 정도가 아니게, 또 다른 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)에 결합하는 또 다른 검출 프로브와 가깝게 무작위적으로 근접하지 않도록 충분히 낮다. 단지 예로서, 샘플 중의 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)의 농도는, 관심 비-표적 엔티티(예

를 들어, 비암성 생물학적 엔티티, 예컨대, 제1 표적을 포함하는 세포의 소포)에 결합하는 제1 표적 검출 프로브가 위양성의 검출 가능한 신호를 생성시키도록 적어도 임의의 상당한 또는 실질적인 정도가 아니게, 관심의 또 다른 비-표적 엔티티(예를 들어, 비암성 생물학적 엔티티, 예컨대, 세포의 소포)에 결합되는 또 다른 상이한 표적 검출 프로브와 가깝게 무작위적으로 근접하지 않을 것이도록 충분히 낮다.

[0373] 샘플 중의 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)를 검출 프로브의 세트와 접촉시킨 후, 이러한 혼합물은 검출 프로브가 존재하는 경우 관심 엔티티 중의 상응하는 표적(예를 들어, 분자 표적)에 결합하여 이중-가닥 복합체(예를 들어 본 명세서에 기재된 바와 같음)를 형성하기에 충분한 시간 기간 동안 인큐베이션될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 혼합물은 약 30분 내지 약 2시간을 포함하는 약 5분 내지 약 5시간 범위의 시간 기간 동안 20℃ 내지 약 37℃를 포함하는 약 10 내지 약 50℃ 범위의 온도에서 인큐베이션된다.

[0374] 이중-가닥 복합체(관심 엔티티, 예컨대, 생물학적 엔티티를 검출 프로브와 접촉시킴으로써 생성됨)는 이후에 핵산 리가제와 접촉되어 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 가닥의 유리 3' 단부 하이드록실 및 5' 단부 포스페이트 단부의 핵산 결합을 수행함으로써, 적어도 2종 이상의 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 가닥을 포함하는 결합된 주형을 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 이중-가닥 복합체를 포함하는 검정 샘플을 핵산 리가제와 접촉시키기 전에, 저해제 올리고뉴클레오타이드가 결합 반응 동안 서로 상호작용하지 않았을 수 있는 임의의 잔류하는 자유롭게 부유하는 검출 프로브를 포획할 수 있도록 적어도 1종 이상의 저해제 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)가 검정 샘플에 첨가될 수 있다.

[0375] 당업계에 공지된 바와 같이, 리가제는 바로 인접한 2개의 핵산이 이들이 상보적인 제3 핵산 서열에 어닐링되거나 혼성화되는 경우 이들의 병치된 3'-하이드록실과 5'-포스페이트 말단 사이의 포스포다이에스터 결합 형성을 촉매한다. 온도 민감성 및/또는 열안정성 리가제를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 임의의 공지된 핵산 리가제(예를 들어, DNA 리가제)가 사용될 수 있다. 온도 민감성 리가제의 비제한적인 예는 박테리오파지 T4 DNA 리가제, 박테리오파지 T7 리가제 및 이. 콜라이(E. coli) 리가제를 포함한다. 열안정성 리가제의 비제한적인 예는 Taq 리가제, Tth 리가제, 및 Pfu 리가제를 포함한다. 열안정성 리가제는 원핵생물, 진핵생물 또는 원시생물을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 호열성(thermophilic) 또는 호고열성(hyperthermophilic) 유기체로부터 얻을 수 있다. 일부 실시형태에서, 핵산 리가제는 DNA 리가제이다. 일부 실시형태에서, 핵산 리가제는 RNA 리가제일 수 있다.

[0376] 일부 실시형태에서, 결합 단계에서, 적합한 핵산 리가제(예를 들어, DNA 리가제) 및 필요하고/하거나 바람직한 임의의 시약이 반응 혼합물과 조합되고, 혼성화된 결합 올리고뉴클레오타이드의 결합이 일어나기에 충분한 조건 하에서 유지된다. 결합 반응 조건은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 결합 동안, 일부 실시형태에서, 반응 혼합물은 약 20℃ 내지 약 45℃ 범위의 온도, 예컨대, 약 25℃ 내지 약 37℃ 범의 온도에서 약 5분 내지 약 16시간, 예컨대, 약 1시간 내지 약 4시간 범위의 시간 기간 동안 유지될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 반응 혼합물은 약 35℃ 내지 약 45℃, 예컨대, 약 37℃ 내지 약 42℃ 범위의 온도, 예를 들어, 38℃, 39℃, 40℃ 또는 41℃에서 또는 그 근처에서 약 2 내지 약 8시간을 포함하는 약 5분 내지 약 16시간, 예컨대, 약 1시간 내지 약 10시간 범위의 시간 기간 동안 유지될 수 있다.

[0377] 이러한 결합된 주형의 검출은 샘플 내의 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)가 검출 프로브가 지향되는 표적에 대해 양성인지 음성인지에 대한 정보를 제공할 수 있다. 예를 들어, 이러한 결합된 주형의 검출 가능한 수준은 관심 표적(예를 들어, 분자 표적)을 포함하는 관심의 시험된 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 검출 가능한 수준은 참조 수준을, 예를 들어, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 초과를 포함하는, 예를 들어, 적어도 10%만큼 초과하는 수준이다. 일부 실시형태에서, 참조 수준은 이러한 표적을 포함하는 관심 엔티티가 없는 샘플과 같은 음성 대조군 샘플에서 관찰된 수준일 수 있다. 반대로, 이러한 결합된 주형의 검출 가능하지 않은 수준(예를 들어, 검출 가능한 수준의 역치보다 작은 수준)은 관심 표적(예를 들어, 분자 표적) 중 적어도 하나가 시험된 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)로부터 존재하지 않음을 나타낸다. 당업자는, 검출 가능한 수준을 검출 가능하지 않은 수준으로부터 분리하는 역치가 예를 들어, 각각의 응용 및/또는 목적을 위해서 최적인 것으로 간주되는 바람직한 감도 수준 및/또는 바람직한 특이성 수준에 기초하여 결정될 수 있음을 이해할 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 99.7%의 특이성은, 예를 들어, 참조 수준(예를 들어, 음성 대조군 샘플에서 관찰된 수준, 예를 들어, 1명 이상의 정상적인 건강한 개체로부터 유래된 샘플)보다 3 표준 편차를 초과하는 역치를 설정함으로써 본 명세서에 제공된 시스템을 사용하여 달성될 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 당업자는 검출 가능한 수준의 역치(예를 들어, 검출 신호 강도에 의해 반영되는 바와 같음)가 참조 수준보다 1 내지

100배 높을 수 있음을 이해할 것이다.

- [0378] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 방법은 결찰 후, 예를 들어, 샘플에서 관심 엔티티의 존재 및/또는 양의 척도로서 결찰된 주형을 검출하는 단계를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 결찰된 주형의 검출은 정성적 또는 정량적일 수 있다. 이와 같이, 검출이 정성적인 일부 실시형태에서, 방법은 적어도 2종 이상의 표적(예를 들어, 분자 표적)을 포함하는 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)가 검정될 샘플에 존재하는지의 여부의 판독 또는 평가, 예를 들어, 평가방법을 제공한다. 다른 실시형태에서, 방법은 적어도 2종 이상의 표적(예를 들어, 분자 표적)을 포함하는 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)가 검정될 샘플에 존재하는지 여부에 대한 정량적 검출, 예를 들어, 검정될 샘플에서 적어도 2종 이상의 표적(예를 들어, 분자 표적)을 포함하는 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)의 실제 양의 평가 또는 평가방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 이러한 정량적 검출은 절대적 또는 상대적일 수 있다.
- [0379] 본 명세서에 제공된 기술을 사용하여 형성된 결찰된 주형은 당업계에 공지된 적절한 방법에 의해 검출될 수 있다. 당업자는 적절한 검출 방법이 예를 들어, 바람직한 감도 수준 및/또는 방법이 실행되고 있는 응용에 기초하여 선택될 수 있음을 이해할 것이다. 일부 실시형태에서, 결찰된 주형은 임의의 증폭 없이 직접 검출될 수 있는 반면, 다른 실시형태에서, 결찰된 주형은 예를 들어, 특정 검정의 감도를 향상시키기 위해, 결찰된 주형의 카피 수가 증가하도록 증폭될 수 있다. 증폭 없는 검출이 실시 가능한 경우, 결찰된 주형은 다수의 상이한 방식으로 검출될 수 있다. 예를 들어, 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, 본 명세서에 기술되고/되거나 이용된 바와 같음)은 직접 표지, 예를 들어, 형광 또는 방사성 동위원소 표지될 수 있어서, 결찰된 주형은 직접 표지된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, 본 명세서에 기술되고/되거나 이용된 바와 같음)은 검출 가능한 표지를 포함할 수 있다. 검출 가능한 표지는 분광, 광화학적, 생화학적, 면역화학적, 전기적, 광학적 또는 화학적 수단에 의해 검출 가능한 조성물일 수 있다. 이러한 표지는 표지된 스트랩타비딘 접합체로 염색하기 위한 바이오틴, 자성 비드(예를 들어, Dynabeads®), 형광 염료(예를 들어, 플루오레세인, 텍사스 레드, 로다민, 녹색 형광 단백질 등), 방사성 표지(예를 들어, ^3H , ^{125}I , ^{34}S , ^{14}C 또는 ^{32}P), 효소(예를 들어, 호스레디쉬 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제 및 ELISA에서 일반적으로 사용되는 다른 것), 및 열량계 표지, 예컨대, 콜로이드성 금 또는 유색 유리 또는 플라스틱(예를 들어, 폴리스타이렌, 폴리프로필렌, 라텍스 등) 비드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 직접 표지된 결찰된 주형은 결찰된 주형을 검출하기 위해 결찰되지 않은 직접 표지된 결찰 올리고뉴클레오타이드를 포함하는, 반응 혼합물의 나머지로 부터 크기가 분리될 수 있다.
- [0380] 일부 실시형태에서, 결찰된 주형의 검출은 증폭 단계를 포함할 수 있으며, 여기서 결찰된 핵산의 카피 수는 예를 들어, 검정의 감도를 향상시키기 위해 증가된다. 증폭은 바람직한 경우, 선형 또는 지수적일 수 있으며, 여기서 증폭은 중합효소 연쇄 반응(PCR); 정량적 PCR, 등온 증폭, NASBA, 디지털 액적 PCR 등을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0381] PCR 증폭을 달성하기 위한 다양한 기술이 당업계에 공지되어 있으며; 당업자는 PCR 기술의 다양한 실시형태에 대해 상당히 친숙할 것이고, 본 명세서에 제공된 기술을 사용하여 생성된 결찰된 주형을 증폭시키기에 적합한 것을 쉽게 선택할 수 있을 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 결찰된 주형을 포함하는 반응 혼합물은 프라이머 연장 반응에 사용되는 하나 이상의 프라이머, 예를 들어, PCR 프라이머(예를 들어, 기하(또는 지수) 증폭에 사용되는 정방향 및 역방향 프라이머 또는 선형 증폭에 사용되는 단일 프라이머)와 조합된다. 하나 이상의 결찰된 주형이 접촉되는 올리고뉴클레오타이드 프라이머는 적절한 어닐링 조건에서 상보적 주형 DNA에 대한 혼성화를 제공하기에 충분한 길이를 가져야 한다. 프라이머는 전형적으로 예를 들어, 적어도 15bp 길이, 적어도 20bp 길이, 적어도 25bp 길이, 적어도 30bp 길이를 포함하는, 적어도 10bp 길이이다. 일부 실시형태에서, 프라이머의 길이는 전형적으로 약 15 내지 50bp 길이, 약 18 내지 30bp 또는 약 20 내지 35bp 길이의 범위일 수 있다. 결합된 주형은 주형 DNA의 프라이머 확장, 선형 또는 지수적 증폭이 바람직한지의 여부에 따라, 단일 프라이머 또는 2개의 프라이머 세트(정방향 및 역방향 프라이머)와 접촉될 수 있다.
- [0382] 상기 성분에 더하여, 결찰된 주형을 포함하는 반응 혼합물은 전형적으로 중합효소 및 데옥시리보뉴클레오사이드 트라이포스페이트(dNTP)를 포함한다. 목적하는 중합효소 활성은 하나 이상의 구별되는 중합효소 효소에 의해 제공될 수 있다. 예를 들어, 결찰된 주형의 증폭을 위한 반응 혼합물의 제조 시에, 다양한 구성 성분이 임의의 편리한 순서로 조합될 수 있다. 예를 들어, 적절한 완충액을 하나 이상의 프라이머, 하나 이상의 중합효소 및 검출될 결찰된 주형과 조합하거나, 다양한 구성 성분 모두를 동시에 조합하여 반응 혼합물을 생성할 수 있다.

[0383] VI. 용도

[0384] 일부 실시형태에서, 난소암에 대한 1종 이상의 표적 바이오마커 시그니처의 1종 이상의 제공된 바이오마커는 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 검출 및/또는 검정을 사용하여 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포, 순환 종양 세포, 세포-유리 DNA, 세포의 소포 등 포함)를 포함하는 샘플에서 검출될 수 있다. 일부 실시형태에서, 난소암에 대한 1종 이상의 표적 바이오마커 시그니처의 1종 이상의 제공된 바이오마커는 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 검출 및/또는 검정을 사용하여 세포의 소포를 포함하는 샘플에서 검출될 수 있다.

[0385] 일부 실시형태에서, 샘플은 생물학적 샘플일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 이러한 검정을 필요로 하는 대상체(예를 들어, 인간 여성 대상체, 예컨대, 인간 여성 대상체)의 혈액 또는 혈액-유래 샘플로부터 유래될 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 이러한 검정을 필요로 하는 대상체(예를 들어, 인간 대상체)로부터의 1차 샘플(예를 들어, 조직 또는 종양 샘플)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 관심 비-표적 엔티티로부터 하나 이상의 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)를 분리시키고/시키거나 하나 이상의 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)를 농축시키도록 가공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 샘플에 존재하는 관심 엔티티는 생물학적 엔티티, 예를 들어, 세포 또는 세포의 소포(예를 들어, 엑소좀)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 소포)는 예를 들어, 생물학적 엔티티에서 검정될 표적(예를 들어, 제공된 표적 바이오마커)을 안정화시키고/시키거나 가교시키고/시키거나 검출 프로브와의 비-특이적 결합을 감소시키기 위해서 화학 시약으로 처리되거나 화학 시약과 접촉될 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티는 예를 들어, 표적(예를 들어, 분자 표적)을 안정화시키고/시키거나 가교시키고/시키거나 비-특이적 결합을 감소시키기 위해서 화학 시약으로 선택적으로 처리될 수 있는 세포이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 생물학적 엔티티는 예를 들어, 표적(예를 들어, 분자 표적)을 안정화시키고/시키거나 가교시키고/시키거나 비-특이적 결합을 감소시키기 위해서 화학 시약으로 선택적으로 처리될 수 있는 세포의 소포(예를 들어, 엑소좀)이거나 이를 포함한다.

[0386] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 예를 들어, 1명 이상의 개별 대상체에 대해서 그리고/또는 대상체의 집단에 걸쳐서 환자 케어를 관리하기에 유용할 수 있다. 단지 예의 방식으로, 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 예를 들어, 년 단위, 반년 단위, 격년 단위로 또는 당업자가 적절하다고 간주하는 다른 빈도로 주기적으로 수행될 수 있는 스크리닝에 이용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 스크리닝은 일시적으로 동기부여되거나 우발적으로 동기부여될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 특정 연령보다 더 나이가 많은(예를 들어, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80세 또는 그 초과) 1명 이상의 개별 대상체에서 또는 대상체의 집단(예를 들어, 무증상 여성 대상체)을 일시적으로 동기부여된 스크리닝하기 위해서 이용될 수 있다. 당업자가 인식할 바와 같이, 일부 실시형태에서, 스크리닝 연령 및/또는 빈도는 예를 들어, 비제한적으로 질환, 장애 또는 병태(예를 들어, 암, 예컨대, 난소암)의 유병률에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 특정 질환, 장애 또는 병태(예를 들어, 암, 예컨대, 난소암)에 대한 스크리닝을 동기부여하는 사고 또는 사건을 경험할 수 있는 개별 대상체를 우발적으로 동기부여된 스크리닝하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 질환, 장애 또는 병태(예를 들어, 암, 예컨대, 난소암)의 하나 이상의 지표 또는 이에 대한 감수성의 결정과 관련된 부수적인 동기부여는 예를 들어, 가족력에 기초한 사건(예를 들어, 혈연 관계 친척과 같은 가까운 친척이 이전에 질환, 장애 또는 병태, 예컨대, 난소암 또는 유방암 진단을 받은 적이 있음), 질환, 장애 또는 병태(예를 들어, 난소암)에 대한 하나 이상의 위험 요소의 식별 및/또는 유전자 검사(예를 들어, 게놈 서열결정) 및/또는 영상 진단 시험(예를 들어, 초음파, 컴퓨터 단층촬영(CT) 및/또는 자기 공명 영상(MRI) 스캔)으로부터의 사전 부수적인 소견, 특정 질환, 장애 또는 병태(예를 들어, 난소암)의 특징적인 하나 이상의 징후 또는 증상의 발생(예를 들어, 잠재적으로 난소암을 나타내는 월경 기간 동안의 비정상적인 출혈 등) 및/또는 당업자에게 인지될 바와 같은 다른 사고 또는 사건일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0387] 일부 실시형태에서, 환자 케어를 관리하기 위한 제공된 기술은 치료 및/또는 지불(예를 들어, 치료에 대한 지원) 결정 및/또는 조치를 알릴 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 개별 대상체가 질환, 장애 또는 병태(예를 들어, 암, 예컨대, 난소암)의 위험, 발생 또는 재발의 하나 이상의 지표를 갖고 있는지의 여부에 대한 결정을 제공할 수 있으며, 이에 따라 이러한 소견에 비추어 치료적 또는 예방적 권고를 제공하고/제공받을 시기 및/또는 이러한 요법을 시작해야 하는 시기를 의사 및/또는 환자에게 알릴 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 개별 대상체는 무증상 대상체일 수 있으며, 이들은 정기적인 빈도(예를 들어, 년 단위, 반년 단위, 격년 단위로 또는 당업자가 적절하다고 간주하는 다른 빈도)로 일시적으로 동기부여되거나 우발적으로 동기부여된 스크리닝이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 개별 대상체는 난소암과 연관될 수 있는 하나 이상의 증상을 경험할 수 있으며, 이들은 정기적인 빈도(예를 들어, 년 단위, 반년 단위, 격년 단위로 또는 당

업자가 적절하다고 간주하는 다른 빈도)로 일시적으로 동기부여되거나 우발적으로 동기부여된 스크리닝이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 개별 대상체는 양성 부인과 종양 및/또는 만성 염증 병태를 갖는 대상체일 수 있으며, 이들은 정기적인 빈도(예를 들어, 년 단위, 반년 단위, 격년 단위로 또는 당업자가 적절하다고 간주하는 다른 빈도)로 일시적으로 동기부여되거나 우발적으로 동기부여된 스크리닝이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 개별 대상체는 난소암에 대한 유전적 위험이 있는 대상체일 수 있으며, 이들은 정기적인 빈도(예를 들어, 년 단위, 반년 기준, 격년 기준으로 또는 당업자가 적절하다고 간주하는 다른 빈도)로 일시적으로 동기부여되거나 우발적으로 동기부여된 스크리닝이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 개별 대상체는 생애 이력 연관된 위험을 갖는 대상체일 수 있으며, 이들은 정기적인 빈도(예를 들어, 년 단위, 반년 단위, 격년 단위로 또는 당업자가 적절하다고 간주하는 다른 빈도)로 일시적으로 동기부여되거나 우발적으로 동기부여된 스크리닝이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 개별 대상체는 폐경 후 대상체일 수 있으며, 이들은 정기적인 빈도(예를 들어, 년 단위, 반년 단위, 격년 단위로 또는 당업자가 적절하다고 간주하는 다른 빈도)로 일시적으로 동기부여되거나 우발적으로 동기부여된 스크리닝이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 폐경 후 대상체는 복통 및/또는 골반통을 경험 중일 수 있다.

[0388] 추가로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 예를 들어, 특정 반응성 바이오마커(예를 들어, 암 반응성 바이오마커)의 소견에 기초하여 치료 선택을 의사 및/또는 환자에게 알릴 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 예를 들어, 질환과 연관된 분자 표적의 하나 이상의 수준에서의 변화의 소견에 기초하여, 개별 대상체가 현재 치료에 반응하는지의 여부에 대한 결정을 제공할 수 있으며, 이에 의해서 의사 및/또는 환자에게 이러한 요법의 효능 및/또는 이러한 소견에 비추어 요법을 유지하거나 변경하도록 하는 결정을 알릴 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 예를 들어, 개별 대상체에 대한 권고된 치료의 치료적 효과를 예측하는 분자 표적(예를 들어, 난소암에 대한 1종 이상의 표적 바이오마커 시그니처의 제공된 바이오마커)의 소견에 기초하여, 개별 대상체가 제안된 치료에 반응성일 가능성이 있는지의 여부에 대한 결정을 제공할 수 있으며, 이에 의해서 의사 및/또는 환자에게 이러한 요법의 잠재적인 효능 및/또는 이러한 소견에 비추어 요법을 투여하거나 변경하도록 하는 결정을 알릴 수 있다.

[0389] 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 건강 보험 제공자가 예를 들어, (1) 자체적으로 스크리닝(예를 들어, 주기적인/정기적인 스크리닝에 대해서만 이용 가능하거나 일시적 및/또는 우발적으로 동기부여된 스크리닝에 대해서만 이용 가능한 지원)하고/하거나; (2) 제공된 기술에 의한 소견에 비추어 치료를 시작하고/하거나, 유지하고/하거나 변경하는 것에 대해서 지원할 것인 지(지원하지 않을 것은 지)에 관련하여 결정하도록 할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 (a) 제공된 기술을 사용하는 스크리닝의 결과를 제공받고, 또한 스크리닝 및/또는 특정 치료 요법의 지원에 대한 요청을 제공받는 것; (b) 적절한 일정(예를 들어, 스크리닝 연령, 예컨대, 특정 연령을 초과하는 연령, 예를 들어, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80세 또는 그 초과하는 연령 또는 스크리닝 빈도, 예컨대, 3개월마다, 6개월마다, 매년, 2년마다, 3년마다 또는 일부 다른 빈도에 기초하여) 또는 관련 사건에 대한 반응에 따라 대상체에 대해 수행된 경우 스크리닝의 지원을 승인하고/하거나 제공받은 스크리닝 결과에 비추어 적절한 치료를 나타내는 경우 치료 요법의 지원을 승인하는 것; 및 선택적으로 (c) 지원을 구현하거나 지원이 거부되었다는 통지를 제공하는 것에 관련된 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제공받은 스크리닝 결과가 관련 치료 요법에 대해 승인된 바이오마커를 나타내는 바이오마커를 검출하는 경우(예를 들어, 처방 정보 라벨에 그리고/또는 승인된 동반 진단을 통해서 주목될 수 있는 바와 같음) 제공받은 스크리닝 결과에 비추어 치료 요법이 적절하다.

[0390] 대안적으로 또는 추가로, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 바와 같은 스크리닝 결과(예를 들어, 본 개시내용에 따라서 생성되는 바와 같음) 및/또는 지원 결정의 보고 및/또는 처리를 허용하거나 촉진하는 보고 시스템(예를 들어, 적절한 전자 장치(들) 및/또는 통신 시스템(들)을 통해 구현됨)을 고려한다. 다양한 보고 시스템이 당업계에 공지되어 있고; 당업자는 이러한 다양한 실시형태에 상당히 친숙할 것이며, 구현에 적합한 것을 쉽게 선택할 수 있을 것이다.

[0391] 예시적인 용도

[0392] A. 난소암 발생 또는 재발의 검출

[0393] 본 개시내용은, 다른 것 중에서, 단일 생물학적 엔티티(예를 들어, 개별 세포의 소포)의 분해능이 아닌, 벌크 샘플에 기반한 복수의 암-연관된 바이오마커 또는 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 소포) 내의 단일 암-연관된 바이오마커의 검출이 전형적으로 생물학적 엔티티가 얻어진 대상체가 암(예를 들어, 난소암)을 앓고 있거나 이에 민감할 가능성이 있는지를 결정하는 데 있어서 충분한 특이성 및/또는 감도를 제공하지 않는다는 것을 인

식할 것이다. 본 개시내용은, 다른 것 중에서, 예를 들어, 검출을 위한 엔티티(예를 들어, 세포외 소포)가 적어도 2종 또는 그 초과 표적(예를 들어, 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 적어도 2종 또는 그 초과 표적의 제공된 바이오마커)의 조합물의 존재를 특징으로 하도록 구체적으로 요구함으로써, 이러한 문제를 해결하는 조성물 및/또는 방법을 포함하는 기술을 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 이러한 엔티티(예를 들어, 세포외 소포)가 암에 특이적인 분자 표적의 조합물(즉, 관련 암, 예를 들어, 난소암의 "표적 바이오마커 시그니처")의 존재(예를 들어, 발현)를 특징으로 하는 반면, 표적화 조합물(예를 들어, 표적 바이오마커 시그니처)을 포함하지 않는 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포외 소포)는 검출 가능한 신호를 생성시키지 않을 것을 요구하는 기술을 교시한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 대상체에서 암의 위험, 발생 및/또는 재발의 검출에 유용할 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 여성 대상체에서 난소암의 위험, 발생 및/또는 재발의 검출에 유용할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 2종 이상의 제공된 바이오마커의 조합물은 특정 암(예를 들어, 난소암) 또는 다양한 암(이들 중 하나는 난소암을 포함함)의 검출을 위해서 선택된다. 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위한 제공된 바이오마커의 특정 조합물은 집단 또는 라이브러리(예를 들어, 수 십, 수 백, 수 천, 수 만, 수 십 만, 또는 그 초과)의 난소암 환자 샘플 및/또는 환자 데이터를 분석하여 이러한 예측 조합물을 식별함으로써 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 관련 바이오마커의 조합물은 예를 들어, 데이터 분석을 통해 식별 및/또는 특징구명된 것일 수 있다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 다양한 난소암-연관된 데이터의 세트(예를 들어, 일부 실시형태에서 벌크 RNA 서열결정, 단일 세포 RNA(scRNA) 서열결정, 질량 분석, 조직학, 번역 후 변형 데이터, 시험관내 및/또는 생체내 실험 데이터 중 하나 이상을 포함함)는 기계 학습 및/또는 컴퓨터 모델링을 통해 분석되어 난소암에 매우 특이적인 예측 마커의 조합물을 식별할 수 있다. 일부 실시형태에서, 암(예를 들어, 난소암)의 병기를 구별하기 위한 예측 마커의 조합물은 암(예를 들어, 난소암)의 상이한 병기에 관련된 광범위한 데이터(예를 들어, 일부 실시형태에서 벌크 RNA 서열결정, scRNA 서열결정, 질량 분광법, 조직학, 번역 후 변형 데이터, 시험관내 및/또는 생체내 실험 데이터 포함)의 비교 및 분석에 기초하여 인 실리코로 결정될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 예를 들어, 건강한 여성 대상체, 양성 종양 또는 부속기 덩이로 진단된 여성 대상체 및 난소 미관 관련 질환, 장애 및/또는 병태를 갖는 여성 대상체(예를 들어, 비-난소암을 갖는 여성 대상체 또는 염증성 장 질환 또는 장애를 갖는 여성 대상체)를 비롯한, 비-난소암 대상체로부터 난소암 대상체를 구별하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 난소암의 조기 검출, 예를 들어, I기 또는 II기의 난소암의 검출에 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 예를 들어, 고 등급 장액성 난소암, 자궁내막모양 난소암, 투명 세포 난소암, 저 등급 장액성 난소암 또는 점액성 난소암을 비롯한 하나 이상의 난소암 하위유형의 검출에 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 초기 고등급 장액성 난소암에 대한 유전적 위험 또는 평균 위험이 있는 여성을 스크리닝하는 데 유용할 수 있다.

[0394] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 대상체를 단일 검정에서 특정 암의 위험, 발생 및/또는 재발에 대해서 스크리닝하는 데 유용할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 대상체를 난소암의 위험, 발생 및/또는 재발에 대해서 스크리닝하는 데 유용하다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 대상체를 단일 검정에서 특정 암 또는 복수의(예를 들어, 적어도 2, 적어도 3종 또는 그 초과) 암의 위험 또는 발생에 대해서 스크리닝하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 단일 검정으로 복수의 암에 대해서 대상체를 스크리닝하는 데 사용될 수 있으며, 이들 중 하나는 난소암을 포함하고, 스크리닝될 다른 암은 뇌암(예를 들어, 교모세포종), 유방암, 결장직장암, 췌장암, 난소암, 간암, 폐암 및 피부암으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0395] 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 인간 대상체(예를 들어, 인간 암컷 대상체)를 난소암(예를 들어, 초기 난소암) 또는 암 재발에 대해서 스크리닝하기 위해 주기적으로(예를 들어, 매년, 2년마다, 3년마다 등) 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 스크리닝이 가능한 인간 대상체는 어린이 또는 노인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 스크리닝이 가능한 인간 대상체는 폐경 후 여성일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 스크리닝이 가능한 인간 대상체는 예를 들어, 65세 초과, 70세 초과, 75세 초과, 80세 초과 또는 그 초과 노인 여성일 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 스크리닝이 가능한 인간 대상체는 약 50세 초과 연령을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 스크리닝이 가능한 인간 대상체는 50세 이하의 연령을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 스크리닝이 가능한 인간 대상체는 35세 초과 연령을 가질 수 있다.

[0396] 일부 실시형태에서, 난소암의 발생 또는 재발의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체는 일부 실시형태에서 복통 및/또는 골반통을 경험 중일 수 있는 폐경 후 인간 암컷 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 난소암의 발생 또는 재발의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체는 적어도 55세 이고, 양성 부인과 종양 및/또는 하나 이상의 만성 염증성 병태를 갖는 것으로 결정된 인간 암컷 대상체일 수

있다. 일부 실시형태에서, 난소암의 발생 또는 재발의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체는 유방암 및/또는 난소암의 가족력을 갖고/갖거나(예를 들어, 유방암 및/또는 난소암의 병력을 갖는 1명 이상의 1촌 친척을 갖는 여성), 암(예를 들어, 난소암)에 대해서 이전에 치료된 적이 있고/있거나, 암 치료 후 난소암 재발의 위험이 있고/있거나, 난소암 치료 후 관해 중이고/거나 예를 들어, (예를 들어, 혈청 단백질 CA-125를 검출함으로써 그리고/또는 질경유 초음파(TVUS)에 의해서) 적어도 1종의 난소암 바이오마커를 스크리닝함으로써 난소암에 대해서 이전에 또는 주기적으로 스크리닝된 폐경 후 인간 암컷 대상체 또는 적어도 55세의 인간 암컷 대상체일 수 있다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, 폐경 후 인간 암컷 대상체 또는 적어도 55세의 인간 암컷 대상체는 난소암에 대해서 이전에 스크리닝된 적이 없고/없거나 난소암에 대해서 진단된 적이 없고/없거나 이전에 난소암 요법을 제공받은 적이 없는 여성 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 폐경 후 인간 암컷 대상체 또는 적어도 55세의 인간 암컷 대상체는 양성 부인과 종양을 갖는 암컷 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 폐경 후 대상체는 난소암(예를 들어, 평균 집단 위험, 생애 이력 인자로 인한 증가된 위험, 폐경기로 인한 증가된 위험 또는 난소암에 대한 유전적 위험을 가짐)에 민감한 대상체일 수 있다.

[0397] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은, 다른 것 중에서, 본 명세서에 기재되고/활용되는 기술이 여성 대상체, 예를 들어, 난소암 발병에 대해서 더 높은 민감성을 갖는 암컷 대상체의 특정 집단을 스크리닝하는 데 특히 유용할 수 있다는 통찰력을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은, 다른 것 중에서, HGSOC 검출을 위해서 본 명세서에 기재되고/활용되는 기술의 생성된 PPV가 난소암 취약 또는 민감 집단에서 더 높을 수 있다는 것을 인식한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 다른 것 중에서, 폐경 후 개체의 스크리닝, 예를 들어, 발병된 증상(들) 이전 또는 달리는 발병된 증상(들)의 부재 하에서 정기적인 스크리닝이 이로울 수 있고, 심지어는 난소암의 효과적인 관리(예를 들어, 성공적인 치료)에 중요할 수 있다는 통찰력을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 일부 실시형태에서 폐경 후 개체(예를 들어, 난소암에서 유전적 및/또는 생애 이력 위험이 있거나 없음 및/또는 복통 및/또는 골반통과 같은 증상이 있거나 없음)에서, 초기 암을 비롯한 난소암을 검출하기 위해 구현될 수 있는 난소암 스크리닝 시스템을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 폐경 후 개체(예를 들어, 난소암에서 유전적 및/또는 생애 이력 위험이 있거나 없음 및/또는 복통 및/또는 골반통과 같은 증상이 있거나 없음)의 정기적인 스크리닝을 달성하기 위해서 구현될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 제공된 기술을 1회 및/또는 정기적인(예를 들어, 주기적인) 평가에 유용하게 적용할 수 있도록 적절한 감도 및/또는 특이성(예를 들어, 위양성 및/또는 위음성 결과의 비율)을 갖는 난소암의 하나 이상의 특징(예를 들어, 발병률, 진행, 요법에 대한 반응성, 재발 등)의 검출(예를 들어, 유증상 또는 무증상 개체(들) 및/또는 집단(들)에서 조기 검출)을 달성한다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 여성의 주기적인 신체 검사, 예컨대, 유방조영상, HPV 및/또는 Pap 도말 스크리닝(예를 들어, 매년, 격년 또는 주치의에 의해서 승인된 간격으로)과 함께 유용하다. 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 치료 요법(들)과 함께 유용하며; 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 이러한 치료 요법(들)의 하나 이상의 특징(예를 들어, 허용되는 파라미터에 따른 성공률)을 개선할 수 있다.

[0398] 일부 실시형태에서, 난소암의 발생 또는 재발의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체는 무증상 인간 여성 대상체 및/또는 여성 대상체의 무증상 집단일 수 있다. 암컷 대상체의 이러한 무증상 대상체 및/또는 무증상 집단은 유방암 및/또는 난소암의 가족력을 갖고/갖거나(예를 들어, 유방암 및/또는 난소암의 병력을 갖는 1명 이상의 1촌 친척을 갖는 여성), 암(예를 들어, 난소암)에 대해서 이전에 치료된 적이 있고/있거나, 암 치료 후 난소암 재발의 위험이 있고/있거나, 난소암 치료 후 관해 중이고/거나 예를 들어, (예를 들어, 혈청 단백질 CA-125를 검출함으로써 그리고/또는 질경유 초음파(TVUS)에 의해서) 적어도 1종의 난소암 바이오마커를 스크리닝함으로써 난소암에 대해서 이전에 또는 주기적으로 스크리닝된 대상체(들)일 수 있다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, 무증상 대상체는 난소암에 대해서 이전에 스크리닝된 적이 없고/없거나 난소암에 대해서 진단된 적이 없고/없거나 이전에 난소암 요법을 제공받은 적이 없는 여성 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 무증상 대상체는 양성 부인과 종양을 갖는 암컷 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 무증상 대상체는 난소암에 민감한 대상체(예를 들어, 평균 집단 위험이 있음 또는 난소암에 대한 유전적인 위험을 가짐)일 수 있다.

[0399] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출에 대해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 하나 이상의 특징, 예컨대, 연령, 인종, 유전력, 병력, 개인 이력(예를 들어, 흡연, 알코올, 약물, 발암 물질, 식이, 비만, 신체 활동, 태양 노출, 방사선 노출, 바이러스와 같은 감염원에 대한 노출 및/또는 직업상 위험)에 기초하여 선택될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 예를 들어, BARD1, BRIP1, RAD51C, RAD51D, CHEK2, MRE11A, RAD50, ATM, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, MSH2, MLH1, MSH2, EPCAM, PALB2, STK11, TP53 및 이들의 조합물을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 난소암-연관된 유전자에서 하나 이상의 생식세포계열 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다. 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해

서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 WNT4, RSP01, BCL2L11, HOXD3, HAGLR, TIPARP, SYNP02, TERT, GPX6, CHMP4C, LINC00824, COL15A1, SMC2-AS1, MLLT10, INCENP, RCCD1, ATAD5, HNF1B, PLEKHM1, SKAP1, ANKLE1, GATAD2A, Cytobands 및 SNPs 2q13 rs752590, 4q32.3 rs4691139, 9p22 rs3814113, 9q34.2 rs635634, 10p11.21 rs1192691, 및/또는 19q13.2 rs688187(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Reid *et al.*, 2017])을 포함하지만 이들로 제한되지 않는, 난소암과 연관된 것으로 게놈 전체 연관 연구에 의해서 결정된 특정 유전자좌 또는 특정 유전자 내의 하나 이상의 생식세포계열 단일 뉴클레오타이드 다형성을 갖는 것으로 결정된 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다.

[0400] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 BRCA1, BRCA2 및/또는 PALB2에서 생식세포계열 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 유방암을 갖는 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다.

[0401] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 하나 이상의 특징, 예컨대, 연령, 인종, 유전력, 병력, 개인 이력(예를 들어, 흡연, 알코올, 약물, 발암 물질, 식이, 비만, 당뇨, 난산/불임, 경구 피임약 사용의 이력 없음/짧은 이력, 신체 활동, 태양 노출, 방사선 노출, 회음부 탭크 사용, 호르몬 대체 요법(HRT), 바이러스와 같은 감염원에 대한 노출 및/또는 직업상 위험)에 기초하여 선택될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 하나 이상의 생애 이력 연관 위험 인자를 갖는 것으로 결정된 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다.

[0402] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 영상-확인된 부속기 덩이 또는 골반 덩이를 갖는 것으로 진단된 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다.

[0403] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 위험 감소 양측 자궁관 난소 절제술을 수행하기 전에 유전적 위험이 있는 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다.

[0404] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 난소암의 하나 이상의 비특이적 증상을 갖는 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다. 일부 실시형태에서, 난소암의 예시적인 비특이적 증상은 과민성 대장 증후군에 대한 하나 이상의 증상과 유사한 증상을 포함할 수 있다.

[0405] 일부 실시형태에서, 난소암의 발생 또는 재발의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체는 유증상 인간 여성 대상체 및/또는 여성 대상체의 유증상 집단일 수 있다. 암컷 대상체의 이러한 유증상 대상체 및/또는 유증상 집단은 유방암 및/또는 난소암의 가족력을 갖고/갖거나(예를 들어, 유방암 및/또는 난소암의 병력을 갖는 1명 이상의 1촌 친척을 갖는 여성), 암(예를 들어, 난소암)에 대해서 이전에 치료된 적이 있고/있거나, 암 치료 후 난소암 재발의 위험이 있고/있거나, 난소암 치료 후 관해 중이고/거나 예를 들어, (예를 들어, 혈청 단백질 CA-125를 검출함으로써 그리고/또는 질경유 초음파(TVUS)에 의해서) 적어도 1종의 난소암 바이오마커를 스크리닝함으로써 난소암에 대해서 이전에 또는 주기적으로 스크리닝된 대상체(들)일 수 있다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, 유증상 대상체는 난소암에 대해서 이전에 스크리닝된 적이 없고/없거나 난소암에 대해서 진단된 적이 없고/없거나 이전에 난소암 요법을 제공받은 적이 없는 여성 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 유증상 대상체는 양성 부인과 종양을 갖는 암컷 대상체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 유증상 대상체는 난소암에 민감한 대상체(예를 들어, 평균 집단 위험이 있음, 난소암에 대한 유전적 위험을 가짐, 난소암에 대한 생애 이력 연관된 위험을 가짐 및/또는 난소암에 대한 노화 연관 위험을 가짐)일 수 있다.

[0406] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 아시아인, 아프리카계 미국인, 백인, 하와이 원주민 또는 다른 태평양 제도인, 히스패닉계 또는 라틴계, 아메리칸 인디언 또는 알래스카 원주민, 비히스패닉계 흑인 또는 비히스패닉계 백인의 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다. 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 아시아 태평양 제도인, 히스패닉계, 아메리칸 인디언/알래스카 원주민, 비히스패닉계 흑인 또는 비히스패닉계 백인의 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다. 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해서 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 임의의 인종 및/또는 임의의 민족의 암컷 대상체(예를 들어, 여성) 또는 암컷 대상체(예를 들어, 여성)의 집단일 수 있다.

들어, 여성)의 집단일 수 있다.

[0407] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 정상 혈청 CA-125 수준(예를 들어, 35U/ml 미만의 수준)을 갖는 것으로 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위해 제공된 기술에 적용될 수 있는 대상체 또는 대상체의 집단은 정상 혈청 CA-125 수준(예를 들어, 35U/ml 미만의 수준) 이하인 혈청 CA-125 수준을 갖는 것으로 결정될 수 있다.

[0408] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 예를 들어, (i) 여성의 연례 신체 검사(예를 들어, 자궁경부암에 대한 HPV 및/또는 Pap 도말 스크리닝 및 유방암에 대한 유방조영상 스크리닝); (ii) 혈청 CA-125 및/또는 TVUS 스크리닝 시험; (iii) 순환 종양 DNA 및/또는 암과 관련된 단백질 바이오마커에서의 유전자 돌연변이에 대해 혈장을 스크리닝하기 위한 유전자 검정; (iv) 세포 표현형 및 마커 발현을 식별하기 위한 면역형광 염색을 포함하는 검정, 그 다음 차세대 서열결정에 의한 증폭 및 분석; 및 (v) BRCA1 및/또는 BRCA2 생식세포계열 및 체세포 돌연변이 검정 또는 세포-유리 종양 DNA, 액체 생검, 혈청 단백질 및 세포-유리 DNA, OVA1® 및 OVERA® 시험 및/또는 순환 종양 세포를 포함하는 검정을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 다른 진단 검정과 조합하여 사용될 수 있다.

[0409] B. 암 요법(예를 들어, 난소암 요법)의 선택

[0410] 일부 실시형태에서, 제공된 기술은 암 환자(예를 들어, 암을 앓고 있거나 암에 민감한 환자)에 대한 적절한 치료를 선택하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 제공된 일부 실시형태는 본 명세서에 제공된 기술을 사용하여 제공된 바이오마커의 선택된 조합물의 환자 샘플(예를 들어, 난소암 환자로부터의 혈액 또는 혈액-유래 샘플)에서의 평가를 포함하는 요법에 대한 환자의 분류를 위한 동반 진단 검정에 관한 것이다. 이러한 검정 결과에 기초하여, 암 요법(예를 들어, 난소암 요법 및/또는 부가 요법, 예를 들어, 올라파립, 시스플라틴, 루카파립, 니라파립, 탈라조파립 포함)에 반응할 가능성이 더 높은 것으로 결정된 환자는 이러한 요법이 투여될 수 있거나, 또는 특정 이러한 요법에 비반응성인 것으로 결정된 환자는 상이한 요법이 투여될 수 있다.

[0411] C. 치료 효능(예를 들어, 암 치료 효능)의 평가

[0412] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 기술은 암환자(예를 들어, 난소암 환자)에게 투여되는 항암 요법의 효능을 모니터링 및/또는 평가하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 혈액 또는 혈액-유래 샘플을 첫 번째 시점에서 항암요법(예를 들어, 올라파립, 시스플라틴, 루카파립, 니라파립, 탈라조파립)을 제공받기 전에 또는 제공받고 있는 난소암 환자로부터 수집하여, 예를 들어, 난소암 검출에 특이적인 바이오마커의 선택된 조합물을 포함하는 세포의 소포의 존재 또는 양을 검출함으로써 종양 부담을 검출하거나 측정할 수 있다. 치료 기간 후에, 제2 혈액 또는 혈액-유래 샘플을 동일한 난소암 환자로부터 수집하여 예를 들어, 난소암의 검출에 특이적인 바이오마커의 선택된 조합물을 포함하는 세포의 소포의 존재 또는 이의 양의 감소를 검출함으로써, 종양 부담의 변화를 검출할 수 있다. 치료 과정에 걸쳐 종양 부담의 수준 및/또는 변화를 모니터링함으로써, 적절한 작용 과정, 예를 들어, 치료제의 용량을 증가 또는 감소시키는 것 및/또는 상이한 치료제를 투여하는 것이 수행될 수 있다.

[0413] VII. 키트

[0414] 또한 본 명세서에 기재된 바와 같은 기술을 실시하는 데 사용되는 키트가 제공된다. 일부 실시형태에서, 키트는 복수의 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에 기재되고/되거나 이용된 바와 같음)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제공된 키트는 2개 이상(예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 그 초과)의 검출 프로브를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 개별 검출 프로브는 상이한 표적에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 2개 이상의 개별 검출 프로브는 동일한 표적에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 키트는 상이한 표적에 지향되는 2개 이상의 상이한 검출 프로브를 포함하고, 선택적으로 또 다른 검출 프로브가 지향되는 표적에 또한 지향되는 적어도 하나의 추가 검출 프로브를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 키트는 검출 프로브의 복수의 하위세트를 포함하고, 이들 각각은 동일한 표적에 지향되는 2개 이상의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 복수의 검출 프로브는 용기 내의 혼합물로서 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 다중 하위세트가 별도의 용기에 개별 혼합물로 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 각각의 검출 프로브는 별도의 용기에 개별적으로 제공된다.

[0415] 일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위한 키트는 (a) 세포의 소포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함하는 포획제; 및 (b) 검출 프로브의 세트로서, 이 세트는 각각 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함하는, 상기 검출 프로브의 세트를 포함하고, 여기서 검출 프로브는 각각 (i) 난소암에 대한 표적 바이오마커 시그니처의 표적 바이오마커에 지향되는 표적

결합 모이어티; 및 (ii) 표적 결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인을 포함하며, 올리고뉴클레오타이드 도메인은 이중-가닥 부분 및 올리고뉴클레오타이드 도메인의 하나의 단부로부터 연장된 단일-가닥 오버행 부분을 포함하고, 적어도 2개의 검출 프로브의 단일-가닥 오버행 부분은, 검출 프로브가 동일한 세포의 세포에 결합되는 경우, 그들이 서로에 혼성화할 수 있다는 것을 특징으로 한다. 이들 실시형태에서, 난소암에 대한 이러한 표적 바이오마커 시그니처는,

[0416] 적어도 1종의 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커, 및 표면 단백질 바이오마커, 세포내 단백질 바이오마커 및 세포내 RNA 바이오마커로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 표적 바이오마커를 포함하며:

[0417] • 표면 단백질 바이오마커는 CLDN3, CLDN6, AQP5, CLDN16, EpCAM, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFN1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물로부터 선택되고;

[0418] • 세포내 단백질 바이오마커는 CRABP2, KLK7, MIF, PRAME 및 S100A1 및 이들의 조합물로부터 선택되며;

[0419] • 세포내 RNA 바이오마커는 CRABP2, MIF, CLDN6, PRAME, S100A1, KLK7 및 이들의 조합물로부터 선택된다.

[0420] 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 바이오마커가 제공된 표면 단백질 바이오마커 중 하나 이상으로부터 선택되는 경우, 상기 선택된 표면 단백질 바이오마커(들)와 상기 적어도 하나의 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 상이하다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 바이오마커가 제공된 표면 단백질 바이오마커 중 하나 이상으로부터 선택되는 경우, 상기 선택된 표면 단백질 바이오마커(들)와 상기 적어도 하나의 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드는 동일하다(동일하거나 상이한 예피토프를 가짐).

[0421] 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 CLDN3, CLDN6, AQP5, CLDN16, EpCAM, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFN1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물이거나 이들을 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드 바이오마커에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다.

[0422] 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 SLC34A2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 MUC16 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 FOLR1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 LRRTM1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 TACSTD2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 CD24 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 PTGS1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 MUC1 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 sTn 폴리펩타이드 글리코실화이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 MSLN 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 ALPL 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 BST2 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 CLDN3 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 포획제는 CLDN6 폴리펩타이드이거나 이를 포함하는 세포의 세포-연관된 막-결합된 폴리펩타이드에 지향되는 표적-포획 모이어티를 포함한다.

[0423] 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 표적 바이오마커 시

그니처의 동일한 표적 바이오마커에 지향된다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 MUC16이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 FOLR1이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 CLDN3이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 CLDN6이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 SLC34A2이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 SLC2A1이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 MUC1이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 MSLN이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 AQP5이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 sTn이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 동일한 표적 바이오마커는 TACSTD2이거나 이를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 이러한 적어도 2개의 검출 프로브의 올리고뉴클레오타이드 도메인은 상이하다.

- [0424] 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 적어도 2개의 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 각각 표적 바이오마커 시그니처의 구별되는 표적 바이오마커에 지향된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 키트는 MUC16 폴리펩타이드 및 FOLR1 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 MUC16 폴리펩타이드 및 CLDN3 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 FOLR1 폴리펩타이드 및 CLDN3 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 MUC16 폴리펩타이드 및 CLDN6 폴리펩타이드에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다.
- [0425] 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 표적 결합 모이어티는 항체(예를 들어, 단클론성 항체)이거나 이를 포함할 수 있다.
- [0426] 일부 실시형태에서, 키트는 적어도 1종의 화학 시약, 예컨대, 고정제, 투과화제 및/또는 차단제를 포함할 수 있다.
- [0427] 일부 실시형태에서, 키트는 1종 이상의 핵산 결합 시약(예를 들어, 핵산 리가제, 예컨대, DNA 리가제 및/또는 완충 용액)을 포함할 수 있다.
- [0428] 일부 실시형태에서, 키트는 적어도 1종 이상의 증폭 시약, 예컨대, PCR 증폭 시약을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 키트는 1종 이상의 핵산 중합효소(예를 들어, DNA 중합효소), 하나 이상의 쌍의 프라이머, 뉴클레오타이드 및/또는 완충 용액을 포함할 수 있다.
- [0429] 일부 실시형태에서, 키트는 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)를 포획하기 위한 고체 기질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 이러한 고체 기질은 비드(예를 들어, 자성 비드)이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 고체 기질은 표면일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표면은 검정 챔버, 예를 들어, 필터, 매트릭스, 막, 플레이트, 튜브, 웰(예를 들어, 비제한적으로 마이크로웰)의 포획 표면(예를 들어, 엔티티 포획 표면)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 고체 기질의 표면(예를 들어, 포획 표면)은 관심 엔티티(예를 들어, 생물학적 엔티티)에 대한 포획제(예를 들어, 폴리펩타이드 또는 항체 작용제)로 코팅될 수 있다.
- [0430] 일부 실시형태에서, 키트에 제공된 검출 프로브의 세트가 난소암의 진단을 위해 선택될 수 있다.
- [0431] 일부 실시형태에서, 키트는 복수의 세트의 검출 프로브를 포함할 수 있는데, 여기서 검출 프로브의 각각의 세트는 특정 암의 검출을 위해서 지향되고, 적어도 2종 이상의 검출 프로브를 포함한다. 예를 들어, 이러한 키트는 단일 검정으로 다양한 암에 대해서 대상체를 스크리닝하는 데 사용될 수 있고, 다양한 암 중 하나는 난소암인 반면, 다른 암은 피부암, 폐암, 유방암, 결장직장암, 췌장암, 전립선암, 뇌암 및 간암으로부터 선택될 수 있다.
- [0432] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 키트는 본 명세서에 기재된 방법을 실시하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 이러한 설명서는 다양한 형태로 키트에 존재할 수 있는데, 이들 중 하나 이상은 키트에 존재할 수 있다. 이들 설명서의 하나의 형태는 적합한 매체 또는 기재 상에 인쇄된 정보, 예를 들어, 포장 삽입물 내의 키트의 포장재에 정보가 인쇄된 종이 조각 또는 조각들 등으로서 존재할 수 있다. 추가의 또 다른 수단은 설명 정보가 기록된 컴퓨터 판독 가능 매체, 예를 들어 디스켓, CD, USB 드라이브 등일 수 있다. 존재할 수 있는 추가의 또 다른 수단은 설명 정보에 접근하기 위해 인터넷을 통해 사용될 수 있는 웹사이트 주소이다. 편리한 수단이 키트에 존재할 수 있다.
- [0433] 키트가 동반 진단으로 사용하기 위한 일부 실시형태에서, 이러한 키트는 치료제에 반응할 가능성이 있는 환자를 식별(예를 들어, 치료제에 대한 환자 반응성을 나타내는 바이오마커의 식별)하기 위한 설명서를 포함할 수

있다. 일부 실시형태에서, 이러한 키트는 동반 진단 시험과 함께 사용하기 위한 치료제를 포함할 수 있다.

[0434] 본 발명의 다른 특징은 본 발명의 예시를 위해 제공되고 본 발명을 제한하려는 의도가 아닌 예시적인 실시예의 다음 설명 과정에서 명백해질 것이다.

[0435] **실시예**

[0436] **실시예 1: 난소암과 연관된 개별 세포의 세포에서의 예시적인 표적 바이오마커 시그니처의 검출**

[0437] 본 실시예는 표적-결합 모이어티 및 표적-결합 모이어티에 커플링된 올리고뉴클레오타이드 도메인(이중-가닥 부분 및 단일 가닥 오버행 포함)을 각각 포함하는 표적(예를 들어, 표적 바이오마커(들))에 대한 검출 프로브의 합성을 기재한다. 본 실시예는 2개 이상의 구별되는 표적을 포함하는 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 세포)의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 이러한 검출 프로브의 사용을 추가로 입증한다.

[0438] 일부 실시형태에서, 검출 프로브는 하나의 단부에 표적 암 바이오마커에 특이적인 항체 작용제 및 또 다른 단부에 단일 가닥 오버행을 갖는 이중-가닥 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 2개 이상의 검출 프로브가 동일한 생물학적 엔티티(예를 들어, 세포의 세포)에 결합되는 경우, 검출 프로브의 단일-가닥 오버행은, 이들이 서로 혼성화하여 이중-가닥 복합체를 형성하고, 그 다음 검출을 위해서 결합되고 증폭될 수 있도록 가깝게 근접하게 존재할 수 있다.

[0439] 이 연구는 적어도 2개의 검출 프로브를 세트로 사용하였다. 일부 실시형태에서 이러한 적어도 2개의 검출 프로브는 동일한 표적에 지향되는데, 이것은 동일한 표적의 상이한 에피토프 또는 동일한 표적의 동일한 에피토프에 지향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 적어도 2개의 검출 프로브는 구별되는 표적에 지향된다. 본 개시내용을 읽는 당업자는 2종의 검출 프로브가 상이한 표적 바이오마커에 지향될 수 있거나, 각각 구별되는 표적 단백질에 지향되는 3종 이상의 검출 프로브가 사용될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 또한, 본 실시예에 기재된 조성물 및 방법은 상이한 생물학적 샘플(예를 들어, 세포의 세포를 포함함)에서의 적용으로 확장될 수 있다.

[0440] 본 실시예는 본 명세서에 제공된 기술을 입증하는 특정 실험으로부터의 실험 데이터가 본 명세서에 기재된 바와 같은 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, SLC34A2 및 MUC16, 예를 들어, 일부 실시형태에서, 검출 프로브에 기초한 MUC16 + MUC16 항체를 사용한 SLC34A2 포획)을 사용하여 환자 샘플에서 난소암(예를 들어, 난소 낭선암 종 및/또는 고등급 장액성 난소암)을 검출할 수 있다는 것을 나타낸다. 첫 번째 실험은 본 명세서에 기재된 듀플렉스 시스템 검정을 사용하여 PBS에서 2개의 상이한 난소암 세포주-유래-세포의 세포(CLD-EV)의 검출을 입증하였다. 예를 들어 **도 3**을 참고하기 바란다.

[0441] CLD-EV를 검출할 수 있는 이러한 듀플렉스 시스템 검정으로, 각각의 병기(I기 내지 IV기) 및/또는 하위유형의 난소암 및 다양한 대조군(예를 들어, 건강한 대상체, 양성 부인과 종양 및 비-난소암을 갖는 대상체)으로부터의 환자 샘플을 함유하는 연구를 수행하였다. SLC34A2 및 MUC16을 포함하는 표적 바이오마커 시그니처를 포함하는 예시적인 듀플렉스 시스템 검정의 성능을 나타낸 **실시예 6** 및 **도 7 내지 도 13**을 참고하기 바란다.

[0442] 예시적인 검정의 개요

[0443] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 표적 엔티티 검출 시스템은 듀플렉스 시스템이다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, **도 2**에 도시된 바와 같은, 이러한 듀플렉스 시스템은 각각 상이한 에피토프를 인식하는 2개의 항체를 이용한다. 짝을 이룬 이중-가닥 주형 DNA가 또한 qPCR에서 이용되며, 이들 각각은 이의 파트너 상에 5' 오버행에 상보적인 특이적 4-염기 5' 오버행을 갖는다. 각각의 항체는 2개의 이중-가닥 DNA 주형 중 하나와 결합된다. 항체가 이의 표적 에피토프에 결합하는 경우, 각각의 주형의 끈적한 단부가 혼성화할 수 있다. 이어서 이러한 끈적한 단부는 PCR 증폭 전에 T7 리가제에 의해 함께 결합된다. 두 DNA 주형 간의 혼성화가 일어나게 하기 위해서, 두 항체는 서로 충분히 가깝게 결합할 필요가 있다(DNA 링커와 항체의 길이가 50 내지 60nm 이내). 결합하지만 비결합되어 유지되는 임의의 주형은 **도 2**에 도시된 바와 같이 PCR 산물을 생산하지 않을 것이다.

[0444] 건강한 대조군 대 I, II, III 및 IV기 난소 낭선암종(OC) 혈장:

[0445] 건강한 대조군 및 OC 환자로부터의 혈장 샘플을 처리하여 정제된 세포의 세포를 수득하고, 이를 하기에 기재된 예시적인 검정을 사용하여 조사하였다.

[0446] 항-SLC34A2 항체와 공유 결합된 자성 비드를 사용하여 정제된 EV를 포획하였다. 비드에 의해 포획된 EV를 각각 항-MUC16 항체 및 구별되는 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)을 포함하는 2개의 세트의 검출 프로브를 사용하여 프로파일링하였다.

[0447] SLC34A2와 MUC16의 바이오마커 조합물은 건강한-조직-유래 세포의 소포와의 교차 반응성을 최소화하기 위해 신중하게 선택되었다. 건강한 조직과의 이러한 바이오마커 조합물의 교차 반응성은 부분적으로 난소 낭선암종에서 차등적으로 발현된 mRNA의 히트맵을 사용함으로써 생물정보학적으로 예측되었다. 따라서, 마커의 상이한 조합물은 건강한 조직의 세포의 소포의 표면보다 난소암 세포의 소포 표면에 훨씬 더 풍부할 것으로 예측될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 바이오마커 조합물은 SLC34A2 및 MUC16을 포함한다.

표 2

특정 난소암 세포주 대 음성 대조군 세포주(예를 들어, 비-난소암 세포주)에서 발현되는 바와 같은, 하기 바이오마커 조합물에 대한 전사체 발현 점수

유전자	난소암 세포주 1	난소암 세포주 2	음성 비-난소암
SLC34A2	+++	+	-
MUC16	+++	+	-

[0448]

[0449] 예시적인 방법:

[0450] 올리고뉴클레오타이드

[0451] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 서열 구조 및 변형을 가질 수 있다. 하기의 가닥 번호는 도 2에 도시된 가닥과 연관된 수치에 상응함이 주목된다.

[0452] 가닥 1 v1:

[0453] /5AzideN/CAGTCTGACACAGCAGTCGTTAATCGTCGCTGCTACCCCTTGACATCCGTGACTGGCTAGACAGAGGTGT, 여기서 /5AzideN/은 NHS 에스터 링커를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아자이드기를 지칭함

[0454] /5AmMC12/CAGTCTGACACAGCAGTCGTTAATCGTCGCTGCTACCCCTTGACATCCGTGACTGGCTAGACAGAGGTGT, /5AmMC12/는 12-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아민기(예를 들어, 1차 아미노기)를 지칭함, 또는

[0455] /5ThiolMC6/CAGTCTGACACAGCAGTCGTTAATCGTCGCTGCTACCCCTTGACATCCGTGACTGGCTAGACAGAGGTGT, 여기서 /5티올MC6/은 6-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 티올을 지칭함.

[0456] 가닥 2 v1:

[0457] /5AzideN/GACCTGACCTACAGTGACCATAGCCTTGCCTGATTAGCCACTGTCCAGTTTGGCTCCTGGTCTCACTAG, 여기서 /5AzideN/은 NHS 에스터 링커를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아자이드기를 지칭함, 또는

[0458] /5AmMC12/GACCTGACCTACAGTGACCATAGCCTTGCCTGATTAGCCACTGTCCAGTTTGGCTCCTGGTCTCACTAG, 여기서 /5AmMC12/은 12-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아민기(예를 들어, 1차 아미노기)를 지칭함, 또는

[0459] /5ThiolMC6/GACCTGACCTACAGTGACCATAGCCTTGCCTGATTAGCCACTGTCCAGTTTGGCTCCTGGTCTCACTAG, 여기서 /5티올MC6/은 6-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 티올을 지칭함.

[0460] 가닥 3 v1:

[0461] /5Phos/GAGTACACCTCTGTCTAGCCAGTCACGGATGTCAAGGGTAGCAGCGACGATTAACGACTGCTGTGTCAGACTG, 여기서 /5Phos/는 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 포스페이트기를 지칭함

[0462] 가닥 4 v1:

[0463] /5Phos/ACTCCTAGTGAGACCAGGAGCCAACTGGACAGTGGCTAATCAGGCAAGGCTATGGTCACTGTAGGTCAGGTC, 여기서 /5Phos/는 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 포스페이트기를 지칭함

[0464] 가닥 5 v1:

[0465] CAGTCTGACACAGCAGTCGT

- [0466] **가닥 6 v1:**
- [0467] GACCTGACCTACAGTGACCA
- [0468] **가닥 7 (프로브) v1:**
- [0469] /56-FAM/TGGCTAGAC/ZEN/AGAGGTGTACTCCTAGTGAGA/3IABkFQ/, 여기서 /56-FAM/은 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 서의 플루오레세인(예를 들어, 6-FAM)을 지칭하고; /3IABkFQ/는 3' 올리고뉴클레오타이드 말단에서의 플루오레 세인 소광제를 지칭함
- [0470] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 서열 구조 및 변형을 가질 수 있다. 하기의 가닥 번호는 도 2 에 도시된 가닥과 연관된 수치에 상응함이 주목된다.
- [0471] **가닥 1 v2:**
- [0472] /5AzideN/CAGTCTGACTCACCCTCGTTAATCGTCGCTGCTACCCTTGACATCCGTGACTGGCTAGACAGAGGTGT, 여기서 /5AzideN/은 NHS 에스터 링커를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아자이드기를 지칭함 또는
- [0473] /5AmMC12/CAGTCTGACTCACCCTCGTTAATCGTCGCTGCTACCCTTGACATCCGTGACTGGCTAGACAGAGGTGT, 여기서 /5AmMC12/는 12- 탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아민기(예를 들어, 1차 아미노기)를 지칭함 또 는
- [0474] /5Thio1MC6/CAGTCTGACTCACCCTCGTTAATCGTCGCTGCTACCCTTGACATCCGTGACTGGCTAGACAGAGGTGT, 여기서 /5티올MC6/은 6-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 티올을 지칭함
- [0475] **가닥 2 v2:**
- [0476] /5AzideN/CACCAGACCTACGAAGTCCATAGCCTTGCCTGATTAGCCACTGTCCAGTTTGGCTCCTGGTCTCACTAG, 여기서 /5AzideN/은 NHS 에스터 링커를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아자이드기를 지칭함, 또는
- [0477] /5AmMC12/CACCAGACCTACGAAGTCCATAGCCTTGCCTGATTAGCCACTGTCCAGTTTGGCTCCTGGTCTCACTAG, 여기서 /5AmMC1/은 12- 탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아민기(예를 들어, 1차 아미노기)를 지칭함
- [0478] /5Thio1MC6/CACCAGACCTACGAAGTCCATAGCCTTGCCTGATTAGCCACTGTCCAGTTTGGCTCCTGGTCTCACTAG, 여기서 /5티올MC6/은 6-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 티올을 지칭함.
- [0479] **가닥 3 v2:**
- [0480] /5Phos/GAGTACACCTCTGTCTAGCCAGTCACGGATGTCAAGGGTAGCAGCGACGATTAACGAGTGGTGAGTCAGACTG, 여기서 /5Phos/는 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 포스페이트기를 지칭함
- [0481] **가닥 4 v2:**
- [0482] /5Phos/ACTCCTAGTGAGACCAGGAGCCAACTGGACAGTGGCTAATCAGGCAAGGCTATGGACTTCGTAGGTCTGGTG, 여기서 /5Phos/는 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 포스페이트기를 지칭함
- [0483] **가닥 5 v2:**
- [0484] CAGTCTGACTCACCCTCGT
- [0485] **가닥 6 v2:**
- [0486] CACCAGACCTACGAAGTCCA
- [0487] **가닥 7 (프로브) v2:**
- [0488] /56-FAM/TGGCTAGAC/ZEN/AGAGGTGTACTCCTAGTGAGA/3IABkFQ/, 여기서 /56-FAM/은 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 서의 플루오레세인(예를 들어, 6-FAM)을 지칭하고; /3IABkFQ/는 3' 올리고뉴클레오타이드 말단에서의 플루오레 세인 소광제를 지칭함
- [0489] 일부 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 서열 구조 및 변형을 가질 수 있다. 하기의 가닥 번호는 도 2 에 도시된 가닥과 연관된 수치에 상응함이 주목된다.
- [0490] **가닥 1 v1-med:**

- [0491] /5AzideN/CAGTCTGACACAGCAGTCGTGACTGGCTAGACAGAGGTGT, 여기서 /5AzideN/은 NHS 에스터 링커를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아자이드기를 지칭함, 또는
- [0492] /5AmMC12/CAGTCTGACACAGCAGTCGTGACTGGCTAGACAGAGGTGT, 여기서 /5AmMC12/는 12-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아민기(예를 들어, 1차 아미노기)를 지칭함, 또는
- [0493] /5ThiolMC6/CAGTCTGACACAGCAGTCGTGACTGGCTAGACAGAGGTGT, 여기서 /5티올MC6/은 6-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 티올을 지칭함.
- [0494] **가닥 2 v1-med:**
- [0495] /5AzideN/GACCTGACCTACAGTGACCATTGGCTCCTGGTCTCACTAG, 여기서 /5AzideN/은 NHS 에스터 링커를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아자이드기를 지칭함, 또는
- [0496] /5AmMC12/GACCTGACCTACAGTGACCATTGGCTCCTGGTCTCACTAG, 여기서 /5AmMC12/은 12-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 아민기(예를 들어, 1차 아미노기)를 지칭함
- [0497] /5ThiolMC6/GACCTGACCTACAGTGACCATTGGCTCCTGGTCTCACTAG, 여기서 /5티올MC6/은 6-탄소 스페이서를 통해서 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 티올을 지칭함.
- [0498] **가닥 3 v1-med:**
- [0499] /5Phos/GAGTACACCTCTGTCTAGCCAGTCACGACTGCTGTGTCAGACTG, 여기서 /5Phos/는 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 포스페이트기를 지칭함
- [0500] **가닥 4 v1-med:**
- [0501] /5Phos/ACTCCTAGTGAGACCAGGAGCCAATGGTCACTGTAGGTCAGGTC, 여기서 /5Phos/는 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에 연결된 포스페이트기를 지칭함
- [0502] **가닥 5 v1:**
- [0503] CAGTCTGACACAGCAGTCGT
- [0504] **가닥 6 v1:**
- [0505] GACCTGACCTACAGTGACCA
- [0506] **가닥 7 (프로브) v1:**
- [0507] /56-FAM/TGGCTAGAC/ZEN/AGAGGTGTACTCCTAGTGAGA/3IABkFQ/, 여기서 /56-FAM/은 5' 올리고뉴클레오타이드 말단에서의 플루오레세인(예를 들어, 6-FAM)을 지칭하고; /3IABkFQ/는 3' 올리고뉴클레오타이드 말단에서의 플루오레세인 소광제를 지칭함.
- [0508] **항체-올리고뉴클레오타이드(예를 들어, 항체-DNA) 접합:**
- [0509] 25 내지 100 μ g 범위의 항체 분취물을 올리고뉴클레오타이드 가닥과 접합시키고, 예를 들어, 60 μ g의 분취물의 항-MUC16 항체를 예를 들어, 구리-무함유 클릭 화학을 사용하여, 혼성화된 가닥 1+3 및 2+4와 접합시켰다. 첫 번째 단계는 아자이드-변형된 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, DNA 도메인)과의 접합 반응에 참여하기 위해 DBCO 기능화된 항체를 준비하는 것이었다. 이것은 항체를 DBCO-PEG5-NHS 이중이작용성 가교제와 반응시키는 것으로 시작되었다. NHS 에스터와 이용 가능한 라이신기 사이의 반응을 실온에서 2시간 동안 일어나도록 한 후, 원심 한외여과를 사용하여 미반응 가교제를 제거하였다. 접합을 완료하기 위해, 아자이드-변형된 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, DNA 도메인) 및 DBCO-작용화된 항체를 실온에서 밤새 반응시켰다. 접합된 항체의 농도를 Qubit 단백질 검정을 사용하여 측정하였다.
- [0510] **세포 배양**
- [0511] 음성 대조군 세포(예를 들어, 비-난소암 세포, 예컨대, 흑색종 세포 또는 건강한 세포)를 10% 엑소솜 무함유 FBS 및 ml당 50단위의 페니실린/스트렙토마이신을 함유한 이글 최소 필수 배지(EMEM)에서 성장시켰다. 난소 낭선암종 세포를 10% 엑소솜 무함유 FBS 및 ml당 50단위의 페니실린/스트렙토마이신을 함유한 Roswell Park Memorial Institute(RPMI 1640)에서 성장시켰다. 난소암의 검출을 위한 검정의 개발에 유용할 수 있는 예시적인 난소암 세포주(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)는 A2780, Caov-3, COV413A, ES2, OVCAR-3, OV90, PA-1, SK-

OV-3, SW 626, TOV-112 및 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Ince *et al.*, "Characterization of twenty-five ovarian tumor cell lines that phenocopy primary tumours" *Nature Communications* 6: 7419 (2015)]에 기재된 세포주를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 모든 세포주를 5% CO₂ 및 37℃에서 유지시켰고, 계대 수는 20 미만이었다.

[0512] 세포 배양 배지로부터의 세포의 소포의 정제

[0513] 일부 실시형태에서, 난소암 세포 및 음성 대조군 세포를 약 80% 컨플루언시에 도달할 때까지 각각의 배지에서 성장시켰다. 세포 배양 배지를 수집하고, 실온(RT)에서 5분 동안 300× rcf에서 회전시켜 세포 및 파편을 제거하였다. 그런 다음 상청액을 수집하고, -80℃에서 동결시켰다.

[0514] 사용 전에, -80℃에 저장된 냉동 상청액을 해동시키고, 이어서 세포 및 큰(예를 들어, 직경 1마이크론 초과) 세포 단편을 정화시켰다. 해동된 상청액은 원심분리를 사용하여 정화시켰다.

[0515] 일부 실시형태에서, 정화된 세포 배양 배지(예를 들어, 약 500μl)를 크기 배제 정제 칼럼에 통과시켰다. 약 65 nm 내지 약 1000nm의 크기 범위를 갖는 나노입자를 각각의 샘플에 대해 수집하였다. 일부 실시형태에서, 더 작은 입자 범위가 바람직할 수 있다.

[0516] 입자 계수:

[0517] 예를 들어, 예를 들어, TS400 칩을 사용하는 SpectroDyne 입자 계수 기기를 사용하여 입자 계수치를 얻어서 65 nm 내지 1000nm의 나노입자 범위를 측정하였다. 일부 실시형태에서, 더 작은 입자 범위가 바람직할 수 있다.

[0518] 환자 혈장 풀의 생성:

[0519] 일부 실시형태에서, 폴링된 환자 혈장 풀을 활용하였다. 간략하면, 1ml의 분취물의 환자 혈장을 실온에서 적어도 30분 동안 해동시켰다. 튜브를 잠깐 보텍싱시키고, 회전시켜 각각의 튜브의 바닥에 혈장을 통합시켰다. 주어진 환자 코호트로부터의 혈장 샘플을 적절한 크기의 컨테이너에서 합하고, 엔드-오버-엔드(end-over-end) 혼합에 의해서 철저히 혼합하였다. 각각의 혈장 풀을 단백질 Lo-bind 1.5ml Eppendorf 튜브에서 1ml 분취물로 분할하고, -80℃에서 재동결시켰다.

[0520] 전체-혈장 정화(선택적임):

[0521] 실시형태에서, EV 정제 전에, 샘플은 샘플 취급에 참여하지 않을 작업자에 의해 샘플을 맹검되었다. 환자-식별 정보는 데이터 분석이 가능하도록 실험이 완료된 후에 공개되었다. 전체 혈장의 1ml 분취물을 -80℃에서 저장에서 제거하고, 3회의 정화 스텝에 적용하여 세포, 혈소판 및 부스러기를 제거하였다.

[0522] 정화된 혈장으로부터의 EV의 크기-배제 크로마토그래피 정제:

[0523] 각각의 정화된 혈장 샘플(개별 샘플 또는 폴링된 샘플)을 일회용 크기-배제 정제 칼럼을 통해 전개시켜 EV를 분리시켰다. 약 65nm 내지 약 1000nm의 크기 범위를 갖는 나노입자를 각각의 샘플에 대해 수집하였다. 일부 실시형태에서, 더 작은 입자 범위가 바람직할 수 있다.

[0524] 자성-포획 비드에 대한 포획-항체 접합:

[0525] 항체를 자성 비드(예를 들어, 예폭시-작용화 Dynabeads®)에 접합시켰다. 간략하면, 비드를 멸균 환경에서 칭량하고, 완충액에 재현탁시켰다. 항체를 작용화된 비드와 혼합하고, 접합 반응이 종단 간 혼합으로 발생하였다. 비드를 접합 키트에 의해서 제공된 세척 완충액을 사용하여 수 회 세척하고, 제공된 저장 완충액에 4℃에서 저장하였다.

[0526] 항체-접합된 자성 비드를 사용한 정제된 혈장 EV의 직접 포획:

[0527] 특정 실시형태에서 정제된 혈장 EV를 정화된 혈장 샘플로부터 직접 포획하였다. 예를 들어, SLC34A2 포획을 위해서, 정제된 혈장 EV의 희석된 샘플을 항-SLC34A2 항체와 접합된 자기 비드와 함께 적절한 시간 동안, 예를 들어 실온에서 인큐베이션시켰다.

[0528] 자성 포획 비드에 결합된 EV에 대한 항체-올리고뉴클레오타이드 접합체의 결합:

[0529] 항체-올리고뉴클레오타이드 접합체(예를 들어, 항-MUC16 항체-올리고뉴클레오타이드 접합체; "항체 프로브")를 최적 농도로 적절한 완충액에서 희석시켰다. 항체 프로브를 자성 포획 비드에 결합된 EV를 포함하는 샘플과 상호작용하도록 하였다.

[0530] **결합 후 세척:**

[0531] 일부 실시형태에서, 샘플을 적절한 완충액에서 예를 들어, 수 회 세척하였다.

[0532] **결찰:**

[0533] 결합되지 않은 항체-올리고뉴클레오타이드 접합체를 제거하기 위한 세척 후, 결합된 세포의 소포 및 결합된 항체-올리고뉴클레오타이드 접합체가 있는 비드를 결찰 믹스와 접촉시켰다. 혼합물을 실온에서 20분 동안 인큐베이션시켰다.

[0534] **PCR:**

[0535] 결찰 후, 결합된 세포의 소포 및 결합된 항체-올리고뉴클레오타이드 접합체를 갖는 비드를 PCR 믹스와 접촉시켰다. PCR을 예를 들어, Quant Studio 3에서 하기 예시적인 PCR 프로토콜에 따라서 96-웰 플레이트에서 수행하였다: 95℃에서 1분 동안 유지, 95℃에서 5초 동안 및 62℃에서 15초 동안의 50회 주기 수행. 온도 변화율은 표준이도록 선택하였다(초당 2℃). 각각의 실험 복제에 대해 단일 qPCR 반응을 수행하였고, ROX를 qPCR 신호를 정규화하기 위한 수동 참조로 사용하였다. 이어서 데이터를 Quant Studio 3 기계로부터 다운로드하고, Python 3.7로 분석하고, 플로팅하였다.

[0536] **데이터 분석:**

[0537] 일부 실시형태에서, 이진 분류 시스템을 데이터 분석을 위해 사용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 검출 검정으로부터의 신호를 참조 신호에 기초하여 정규화할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 참조 샘플을 선택함으로써 단일 항체 듀플렉스에 대한 정규화된 신호를 계산되었다. 일부 실시형태에서, 임의의 샘플 i 에 대한 정규화된 신호를 계산하는 데 사용되는 방정식을 하기에 제공하며, 식 중, 여기서 $Signal_{max}$ 는 최고 농도의 세포주 EV 표준품으로부터의 신호이다.

$$\Delta Ct_i = Ct_{ref} - Ct_i$$

$$신호_i = 2^{\Delta Ct_i}$$

$$정상\ 신호_i = \frac{신호_i}{신호_{max}}$$

[0538]

[0539] **대표적인 결과:**

[0540] **OC 세포주 실험**

[0541] 정제된 세포주 EV를 적절한 완충액에서 최적 농도로 희석시키고, SLC34A2-작용화 비드(예를 들어, 1mL 또는 그 미만의 복제물)를 사용하여 포획하였다. 포획된 EV를 MUC16 + MUC16 항체 프로브("MUC16 + MUC16 항체 프로브"라고도 알려짐)를 사용하여 분석하였다. 대표적인 qPCR 데이터 및 ΔCt 값을 도 3에 제공한다. 이 데이터는, SLC34A2와 MUC16의 바이오마커 조합물(예를 들어, 본 실시예에 기재되고 도 1 내지 도 2에 도시된 바와 같은 예시적인 검정과 조합됨)이 두 마커의 발현과 양호하게 상관되는 신호 강도로, 음성 대조군 세포주로부터 OC-유래 EV를 구별할 수 있다는 것을 나타낸다(표 2 참고).

[0542] **OC 파일럿 환자 혈장 연구**

[0543] OC 환자 혈장 샘플 파일럿 연구에 포함된 환자의 인구통계학을 도 4에 제공된다. 상이한 샘플 코호트에 걸쳐 연령 및 성별을 가능한 한 가깝게 일치시키도록 주의를 기울였다.

[0544] 환자 샘플 혈장의 1밀리리터 이하(예를 들어, 500 μ L 이하, 400 μ L 이하, 300 μ L 이하, 200 μ L 이하 또는 100 μ L 이하)의 복제물을 상기에 기재된 바와 같이 정화시키고, EV를 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 정제시켰다. EV를 항-SLC34A2 자성 비드를 사용하여 포획하였다. 항-SLC34A2 자성 비드에 의해서 포획된 EV를 MUC16 + MUC16 항체 프로브를 사용하여 프로파일링하였다. SLC34A2 및 MUC16을 포함하는 표적 바이오마커 시그니처를 포함하는 예시적인 듀플렉스 시스템 검정의 성능을 나타낸 실시예 6 및 도 7 내지 도 13을 참고하기 바란다.

[0545] **논의:**

[0546] 본 실시예는 (예를 들어, 본 실시예에 기재되고, 도 1 내지 도 2에 예시된 바와 같은 듀플렉스 검정과 조합하여) SLC34A2와 MUC16의 바이오마커 조합물이 초기 난소 낭선암종을 99.5% 초과로 특이성으로 검출할 수

있다는 것을 입증한다. 일부 이러한 실시형태에서, 바이오마커 조합물은 SLC34A2 포획 프로브 및 MUC16 + MUC16 항체 프로브를 포함한다. 검정 신호가 혈청 CA-125 수준과 높은 상관관계가 있는 것은 아니었지만, 더 넓은 범위의 혈청 CA-125에 걸쳐 있는 건강한 대조군 환자 및 OC-양성 환자의 더 큰 코호트는 난소암 진단에 대한 현재 임상 표준에 비해서 이러한 검정의 유용성을 입증하는 데 유용할 수 있다.

[0547] 일부 실시형태에서, SLC34A2 포획 프로브와 MUC16 + MUC16 항체 프로브의 바이오마커 조합물을 혈청 CA-125 수준이 낮거나 중간인 건강한 환자 샘플 및 OC-양성 환자 샘플에 적용할 수 있다.

[0548] 일부 실시형태에서, (예를 들어, SLC34A2 및/또는 MUC16과 조합하여) CLDN6을 포함하는 바이오마커 조합물을 난소암 검출 검정에 사용할 수 있다.

[0549] 일부 실시형태에서, 항체당 최대 16개 가닥의 올리고뉴클레오타이드 도메인(예를 들어, DNA)을 추가할 수 있는 텐드론을 항체당 1 또는 2개 DNA 가닥 대신에 사용하여 예를 들어, 신호-대-노이즈를 향상시킬 수 있다.

[0550] 실시예 2: 난소암 검출의 실시형태

[0551] 일부 실시형태에서, SLC34A2 및 MUC16을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, SLC34A2 포획(예를 들어, MUC16 + MUC16 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 면역친화성 포획)을 예를 들어, 건강한 대조군, 비흡연자($n = 93$); 양성 부인과 종양; I기 OC; II기 OC; III기 OC; IV기 OC; 및 재발된 OC를 포함하는 다양한 대상체 집단에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.

[0552] 일부 실시형태에서, SLC34A2 및 FOLR1을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, SLC34A2 포획(예를 들어, FOLR1 + FOLR1 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.

[0553] 일부 실시형태에서, SLC34A2, MUC16 및 FOLR1을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, SLC34A2 포획(예를 들어, MUC16 + FOLR1 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.

[0554] 일부 실시형태에서, MUC16 및 CLDN6을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, MUC16 포획(예를 들어, MUC16 + CLDN6 항체 프로브를 사용한 MUC16 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.

[0555] 일부 실시형태에서, MUC16 및 FOLR1을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, MUC16 포획(예를 들어, MUC16 + FOLR1 항체 프로브를 사용한 MUC16 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 바이오마커 조합물을 MUC16 면역친화성 포획 및 FOLR1 + FOLR1 항체 프로브(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)를 사용하여 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암의 검출을 위한 검정에서 구현할 수 있다.

[0556] 일부 실시형태에서, MUC16 및 CLDN3을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, MUC16 포획(예를 들어, MUC16 + CLDN3 항체 프로브를 사용한 MUC16 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.

[0557] 일부 실시형태에서, FOLR1 및 CLDN6을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, FOLR1 포획(예를 들어, FOLR1 + CLDN6 항체 프로브를 사용한 FOLR1 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.

[0558] 일부 실시형태에서, LRRTM1 및 MUC16을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, LRRTM1 포획(예를 들어, MUC16 + MUC16 항체 프로브를 사용한 LRRTM1 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.

- [0559] 일부 실시형태에서, FOLR1, SLC34A2 및 CLDN3을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, FOLR1 포획(예를 들어, SLC34A2 + CLDN3 항체 프로브를 사용한 FOLR1 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.
- [0560] 일부 실시형태에서, MUC16, FOLR1 및 CLDN3을 포함하는 바이오마커 조합물(예를 들어, 일부 실시형태에서, MUC16 포획(예를 들어, FOLR1 + CLDN3 항체 프로브를 사용한 MUC16 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단을 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.
- [0561] 일부 실시형태에서, 단일 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 임의의 바이오마커)는 높은 감도 및/또는 특이성으로 난소암을 효과적으로 검출하기에 충분할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, MUC16 포획(예를 들어, MUC16 + MUC16 항체 프로브를 사용한 MUC16 면역친화성 포획)을 다양한 대상체 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)에서 난소암(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정 이후)의 검출을 위해서 사용할 수 있다.
- [0562] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 2종 이상의 바이오마커 조합물을 예를 들어, 검정의 감도를 증가시키기 위해서, 난소암의 검출을 위해서 함께 사용할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 난소암 검출을 위한 검정은 적어도 2종의 바이오마커 조합물을 포함할 수 있고, 여기서 제1 바이오마커 조합물은 SLC34A2 및 MUC16을 포함할 수 있고, 제2 바이오마커 조합물은 SLC34A2 및 FOLR1을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, SLC34A2 및 MUC16을 포함하는 제1 바이오마커 조합물은 SLC34A2 포획(예를 들어, MUC16 + MUC16 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 면역친화성 포획)를 포함하는 검정에서 구현될 수 있다. 일부 실시형태에서, SLC34A2 및 FOLR1을 포함하는 제2 바이오마커 조합물은 SLC34A2 포획(예를 들어, FOLR1 + FOLR1 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 면역친화성 포획)를 포함하는 검정에서 구현될 수 있다.
- [0563] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 3종 이상의 바이오마커 조합물을 예를 들어, 검정의 감도를 증가시키기 위해서, 난소암의 검출을 위해서 함께 사용할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 난소암 검출을 위한 검정은 적어도 3종의 바이오마커 조합물을 포함할 수 있고, 여기서 제1 바이오마커 조합물은 SLC34A2 및 MUC16을 포함할 수 있고, 제2 바이오마커 조합물은 SLC34A2 및 FOLR1을 포함할 수 있고, 제3 바이오마커 조합물은 MUC16 및 FOLR1을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, SLC34A2 및 MUC16을 포함하는 제1 바이오마커 조합물은 SLC34A2 포획(예를 들어, MUC16 + MUC16 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 면역친화성 포획)를 포함하는 검정에서 구현될 수 있다. 일부 실시형태에서, SLC34A2 및 FOLR1을 포함하는 제2 바이오마커 조합물은 SLC34A2 포획(예를 들어, FOLR1 + FOLR1 항체 프로브를 사용한 SLC34A2 면역친화성 포획)를 포함하는 검정에서 구현될 수 있다. 일부 실시형태에서, MUC16 및 FOLR1을 포함하는 제3 바이오마커 조합물은 MUC16 포획(예를 들어, MUC16 + FOLR1 항체 프로브를 사용한 MUC16 면역친화성 포획)를 포함하는 검정에서 구현될 수 있다.
- [0564] **실시예 3: 난소암 바이오마커로서의 세포외 소포(EV) 표면 단백질의 평가**
- [0565] 일부 실시형태에서, 난소암 검출은 적어도 EV 표면 단백질(들)의 검출 이후에 이어지는 세포외 소포의 면역친화성 포획을 포함한다.
- [0566] 일부 실시형태에서, 세포외 소포 상에 존재하는 하나 이상의 표면 단백질 또는 세포외 막 단백질("포획 단백질")을 난소암-연관된 세포외 소포의 면역친화성 포획을 위해서 사용할 수 있다. 이러한 포획 단백질 바이오마커의 예는 CLDN3, CLDN6, AQP5, CLDN16, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, EpCAM, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0567] 일부 실시형태에서, EV 면역검정 방법론(예를 들어, 본 명세서, 예컨대, 실시예 1에 기재된 것) 및 바이오마커-검증 공정(예를 들어, 본 명세서, 예컨대, 실시예 1에 기재된 것)을 사용하여 난소암에 대한 바이오마커로서 추가적인 표면 단백질을 평가할 수 있다. 일부 실시형태에서, 포획 단백질(예를 들어, 난소암-연관된 EV에 존재하는 표면 단백질)에 지향되는 항체를 자성 비드에 접합시키고, 특이적 표적 단백질에 결합하는 능력을, 먼저 세포주 EV에 대해서, 그 다음 환자 샘플에 대해서 평가하였다. 항체-코팅된 비드를 난소암-연관된 EV를 포획하는 능력에 대해서 평가하고, 항체-코팅된 비드에 의해서 포획된 EV를 표적 엔티티 검출 시스템(예를 들어, 각각 포획 단백질과 구별되는 표적 마커에 지향되는 2개의 세트의 검출 프로브를 포함하는 본 명세서에 기재된 바와 같은 듀플렉스 시스템)을 사용하여 판독한다.

- [0568] 일부 실시형태에서, 포획된 EV는 하기 표면 단백질 바이오마커의 적어도 1종 이상(예를 들어, 1, 2, 3종 또는 그 초과)을 사용하여 판독할 수 있다: CLDN3, CLDN6, AQP5, CLDN16, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, EpCAM, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물. 일부 실시형태에서, 포획된 EV는 검출 프로브(예를 들어, 본 명세서에서 활용되고/되거나 기재된 바와 같음)의 세트를 사용하여 판독될 수 있는데, 이들 중 적어도 2개는 하기 표면 단백질 바이오마커 중 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3개 또는 그 초과)에 지향된다: CLDN3, CLDN6, AQP5, CLDN16, FOLR1, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, EpCAM, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 세트는 각각 동일한 표면 단백질에 지향되는 2개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 프로브의 세트는 각각 구별되는 표면 단백질에 지향되는 2개의 검출 프로브를 포함한다.
- [0569] **실시예 4: 난소암 바이오마커로서 세포외 소포(소포내 mRNA)에서 mRNA의 평가**
- [0570] 일부 실시형태에서, 난소암 검출은 적어도 소포내 mRNA(들)의 검출 이후에 이어지는 세포외 소포의 면역친화성 포획을 포함한다.
- [0571] 일부 실시형태에서, 세포외 소포 상에 존재하는 하나 이상의 표면 단백질 또는 세포외 막 단백질("포획 단백질")을 난소암-연관된 세포외 소포의 면역친화성 포획을 위해서 사용할 수 있다. 이러한 포획 단백질 바이오마커의 예는 AQP5, CLDN3, CLDN6, CLDN16, LEMD1, LRRTM1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, EpCAM, FOLR1, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0572] 일부 실시형태에서, EV 핵산 검출 검정(예를 들어, 프라이머-프로브 세트를 사용한 역전사 PCR) 및 바이오마커-검증 공정(예를 들어, 본 명세서, 예컨대, 실시예 1에 기재된 것)을 사용하여 난소암에 대한 mRNA 바이오마커 후보물질을 평가할 수 있다. 일부 실시형태에서, 포획 단백질(예를 들어, 난소암-연관된 EV에 존재하는 표면 단백질)에 지향되는 항체를 자성 비드에 접합시키고, 특이적 표적 단백질에 결합하는 능력을, 먼저 세포주 EV에 대해서, 그 다음 환자 샘플에 대해서 평가하였다. 항체-코팅된 비드를 포획 난소암-연관된 EV를 포획하는 능력에 대해서 평가하고, 항체-코팅된 비드에 의해서 포획된 EV를 예를 들어, 1단계 정량적 역전사 PCR(RT-qPCR) 마스터 믹스를 사용하여 mRNA 함량에 대해서 프로파일링한다.
- [0573] 일부 실시형태에서, 포획된 EV를 하기 mRNA의 적어도 1종 또는 그 초과(예를 들어, 1, 2, 3종 또는 그 초과)의 검출에 의해서 판독할 수 있다: CRABP2, MIF, CLDN6, PRAME, S100A1, KLK7 및 이들의 조합물. 일부 실시형태에서, 포획된 EV를 RT-qPCR을 사용하여 하기 mRNA의 1종 또는 그 초과(예를 들어, 1, 2, 3종 또는 그 초과)의 검출에 의해서 판독할 수 있다: CRABP2, MIF, CLDN6, PRAME, S100A1, KLK7 및 이들의 조합물.
- [0574] 일부 실시형태에서, 포획된 EV를 하기 mRNA의 적어도 1종 또는 그 초과(예를 들어, 1, 2, 3종 또는 그 초과)의 검출에 의해서 판독할 수 있다: CRABP2, MIF, CLDN6, PRAME, S100A1, KLK7 및 이들의 조합물; 및 실시예 3에 기재된 적어도 1종 또는 그 초과(예를 들어, 1, 2, 3종 초과)의 EV 표면 단백질. 일부 이러한 실시형태에서, 포획된 EV를 (i) RT-qPCR을 사용하여 하기 mRNA의 1종 또는 그 초과(예를 들어, 1, 2, 3종 또는 그 초과)의 검출에 의해서: CRABP2, MIF, CLDN6, PRAME, S100A1, KLK7 및 이들의 조합물; 그리고 (ii) 검출 프로브의 세트(예를 들어, 본 명세서에서 활용되고/되거나 기재된 바와 같음)를 사용하여(이들 중 적어도 하나는 실시예 3에 기재된 EV 표면 단백질 중 1종 이상(예를 들어, 1, 2, 3종 초과)에 지향됨) 판독할 수 있다. 일부 이러한 실시형태에서, 검출 프로브의 세트는 EV 표면 단백질에 지향되는 적어도 1종의 검출 프로브를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 검출 프로브의 세트는 동일한 EV 표면 단백질(동일하거나 상이한 에피토프를 가짐)에 지향되는 적어도 2개의 검출 프로브를 포함한다. 일부 이러한 실시형태에서, 검출 프로브의 세트는 구별되는 EV 표면 단백질에 지향되는 적어도 2종의 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-EV 표면 단백질 항체가 EV 표면 단백질에 결합되고, 접합된 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드는 동일한 샘플에 존재하는 소포내 mRNA 바이오마커와 혼성화되도록, EV 표면 단백질 및 소포내 mRNA를 포함하는 샘플을 소포내 mRNA 바이오마커(예를 들어, 실시예 4에 기재됨)를 위해서 한 쌍의 2개의 프라이머 중 하나로서 작용하는 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, DNA)에 접합된 항-EV 표면 단백질 항체(예를 들어, 실시예 3에 기재된 바와 같은 EV 표면 단백질에 지향되는 항체)와 접촉시킬 수 있다. 그 다음 그 쌍의 제2 프라이머 및 RT-qPCR 프로브를 첨가하여 단일 샘플 중의 소포내 mRNA 및 EV 표면 단백질의 존재의 검출을 위해서 RT-qPCR을 수행한다.
- [0575] 일부 실시형태에서, 포획된 EV를 하기 mRNA의 적어도 1종 또는 그 초과(예를 들어, 1, 2, 3종 또는 그 초과)의

그 초과)에 지향되는 제2 검출 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 고정 및/또는 투과화 후 포획된 EV는 상기 실시예 4에 기재된 바와 같은 단일 샘플에서 EV 소포내 단백질 및 EV 소포내 mRNA를 함께 검출함으로써 관측될 수 있다.

[0582] 실시예 6: 난소암 액체 생검 검정의 개발

[0583] 본 실시예는 예를 들어, 유전적- 및 평균-위험 여성을 스크리닝하기 위한 난소암 액체 생검 검정의 개발을 기재한다. 모든 암 중에서 여성의 다섯 번째로 큰 사망 원인이었음에도 불구하고(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Howlader *et al.*, 2019]), 평균-위험 여성을 위한 권장되는 난소암 스크리닝 도구는 현재 존재하지 않는다. 이것은 부분적으로 제안된 난소암 스크리닝 기술의 열악한 성능 때문이다. 평균-위험 여성에서의 난소암 발병률을 감안할 때, 부적절한 시험 특이성(99.5% 미만)이 진양성보다 10배 초과하게 많은 위양성 결과를 초래한다. 이는 의료 시스템에 상당한 부담을 주고, 위양성 결과로서 스크리닝된 여성은 추가 검사, 불필요한 수술 및 정서적/신체적 고통으로 이어진다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Buys *et al.*, 2011]). 결과적으로, 임상적 유용성을 제공하기 위해 두 가지 특징을 나타낼 수 있는 난소암 스크리닝 시험을 개발하는 것이 바람직할 수 있다: (1) 위양성의 수를 최소화하기 위한 초고 특이성(99.5% 초과), 및 (2) 예측이 가장 양호한 경우 I기 및 II기 난소암에 대해서 높은 감도(40% 초과). 이러한 시험의 개발은 매년 수 만명의 생명을 구할 가능성을 갖는다.

[0584] 순환 종양 DNA(ctDNA), 순환 종양 세포(CTC), 벌크 단백질 및 세포외 소포(EV)를 포함하는 난소암 액체 생검 검정을 위해 몇몇 상이한 바이오마커 부류가 연구되어 왔다. EV는 ctDNA 및 CTC에 비해 혈류에서의 풍부함 및 안정성으로 인해 특히 유망하며, 이는 초기 암에 대한 감도가 향상되었음을 시사한다. 또한 EV는 동일한 세포에서 유래한 카고(예를 들어, 단백질, RNA, 대사산물)를 함유하여, 벌크 단백질 측정보다 우수한 특이성을 제공한다. 진단 유틸리티 EV가 연구되는 동안, 이러한 작업의 대부분은 벌크 EV 측정 또는 낮은 처리량의 단일 EV 분석과 관련이 있다.

[0585] 본 실시예는 인간 혈장에서 개별 세포외 소포(EV)의 프로파일링을 통한 초기 난소암 검출을 위한 예시적인 접근법의 일 양상을 기재한다. 엑소좀 및 미세소포를 포함한 EV는 공동 국지화된 단백질, RNA, 대사산물 및 기원 세포를 나타내는 다른 화합물을 함유한다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Kosaka *et al.*, 2019]). 단일 EV 내에서 전략적으로 선택된 공동 국지화된 마커의 검출은 정상 조직에서 암 세포를 구별하는 능력을 포함하여, 초고 특이성을 갖는 세포 유형의 식별을 가능하게 할 수 있다. 바이오마커가 혈액(즉, cfDNA)에 들어가기 위해 세포 사멸에 의존하는 다른 암 진단 접근법과 달리, EV는 기능하는 세포에 의해 높은 속도로 방출된다. 단일 세포는 시험관내에서 하루에 최대 10,000개의 EV를 방출하는 것으로 나타났다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Balaj *et al.*, 2011]). 또한 암세포가 건강한 세포보다 더 빠른 속도로 EV를 방출한다는 것이 널리 받아들여지고 있다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Bebelman *et al.*, 2018]).

[0586] 일 양상에서, 본 개시내용은 본 출원인의 독점 생물정보학 바이오마커 발견 과정을 사용하여 건강한 조직에 비해서 난소암에서 상향조절되는 유전자를 식별하는 것을 포함하는 통찰력 및 기술을 제공한다. 상향조절된 바이오마커의 목록으로부터, 난소암에 대해서 높은 감도 및 특이성을 나타낸다고 예측된 바이오마커 조합물이 설계된다. 예시적인 개별 EV 검정(예를 들어, 도 1 또는 도 2에 도시되고/되거나 본 명세서에 기재된 것 참고)을 사용하여, 개별 소포 상의 이러한 바이오마커의 공동 국지화 검출되는데, 이는 바이오마커의 군화가 동일한 세포로부터 유래되었음을 나타낸다. 이것은 다수의 상향 조절된 암 바이오마커, 예컨대, MUC16이 하나 이상의 건강한 조직에 의해 발현된다는 점을 고려할 때, 벌크 EV 검정을 포함한 벌크 바이오마커 측정에 우수한 특이성을 제공한다. 바이오마커 조합물의 신중한 설계를 통해서, 난소암과 밀접한 관련이 있는 것을 포함하여, 경쟁 조직으로부터 신호를 감소시키거나 제거할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 예를 들어, 질환의 유병률이 낮고, 높은 양성 예측 값(10% 초과)이 요구되는 난소암 스크리닝 시험으로서 특히 도움이 되는 초고 특이성을 갖는 기술을 제공한다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Seltzer *et al.*, 1995]).

[0587] 바이오마커 발견

[0588] 일부 실시형태에서, 바이오마커 발견 과정은 대규모 데이터베이스의 생물정보학적 분석 및 난소암 및 세포외 소포의 생물학에 대한 이해를 활용한다.

[0589] 개별 세포외 소포 분석

- [0590] 혈액에서 종양-유래 EV의 검출은 다양한 범위의 건강한 조직으로부터의 100억개의 EV의 배경에서 혈장 밀리리터 당 비교적 적은 종양-유래 EV를 검출하기에 충분한 선택성 및 감도를 갖는 검정을 필요로 한다. 본 개시내용은 다른 것 중에서 이러한 과제를 해결하는 기술을 제공한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 개별 세포의 소포 분석을 위한 검정이 도 1에 예시되어 있으며, 이는 하기에 요약된 세 가지 주요 단계로 수행된다:
- [0591] 1. EV를 가용성 단백질 및 다른 간접 화합물을 99%를 초과하게 제거한 크기 배제 크로마토그래피(SEC)를 사용하여 환자 혈장으로부터 정제한다.
- [0592] 2. 종양-특이적 EV를 막-결합된 단백질에 특이적인 항체-작용화된 자성 비드를 사용하여 포획한다.
- [0593] 3. 변형된 버전의 근접-결합 면역 정량적 중합효소 연쇄 반응(pliq-PCR)을 수행하여 포획된 EV 상에 또는 그 내에 함유된 추가 단백질 바이오마커의 공동 국지화를 결정한다.
- [0594] pliq-PCR 검정의 변형된 버전의 많은 실시형태에서, 2개 이상의 상이한 항체-올리고뉴클레오타이드 접합체를 항체-작용화된 자성 비드에 의해 포획된 EV에 첨가하고, 항체는 후속적으로 이의 단백질 표적에 결합한다.
- [0595] 올리고뉴클레오타이드는 상보적인 단일-가닥 오버행을 갖는 dsDNA로 구성되며, 따라서 가깝게 근접할 때(즉, 상응하는 단백질 표적이 동일한 EV 상에 위치할 때) 혼성화할 수 있다. 결합되지 않은 항체-올리고뉴클레오타이드 종을 세척한 후, 인접하게 결합된 항체-올리고뉴클레오타이드 종을 표준 DNA 리가제 반응을 사용하여 결합시킨다. 결합된 주형 가닥의 후속 qPCR은 공동 국지화된 단백질 종의 검출 및 상대적 정량을 가능하게 한다. 일부 실시형태에서, 2 내지 20개의 구별되는 항체-올리고뉴클레오타이드 프로브는 예를 들어, 둘 다 임의의 목적을 위해서 전문가 참조에 의해 본 명세서에 포함된 미국 출원 제16/805,637호 및 국제 출원 제PCT/US2020/020529호(둘 다 2020년 2월 28일자 출원, 발명의 명칭: "Systems, Compositions, and Methods for Target Entity Detection")에 기재된 바와 같은 검정에 포함될 수 있다.
- [0596] pliq-PCR은 EV를 프로파일링하는 다른 기술에 비해 많은 장점이 있다. 예를 들어, pliq-PCR은 다른 표준 면역검정, 예컨대, ELISA보다 세 자릿수 더 큰 감도를 갖는다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Darmanis *et al.*, 2010]). 양호하게 최적화된 pliq-PCR 반응의 최저 LOD는 종양 유래 EV의 미량 수준을 mL당 천 개의 EV까지 검출할 수 있다. 이것은 예를 들어, 나노플라즈믹 엑소솜(Nanoplasmic Exosome: nPLEX) 센서(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Im *et al.*, 2014]) 및 통합 자성-전기화학 엑소솜(Integrated Magnetic-Electrochemical Exosome: iMEX) 센서(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Jeong *et al.*, 2016])를 포함하는 다른 떠오르는 EV 분석과 유리하게 비교되며, 이것은 각각 약 10^3 및 내지 약 10^4 개의 EV의 LOD로 보고되어 있다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Shao *et al.*, 2018] 참고). 더욱이, 일부 실시형태에서, pliq-PCR 접근법의 변형된 버전은 복잡한 장비를 필요로 하지 않으며, 개별 EV에서 다중 바이오마커의 공동 국지화를 고유하게 검출할 수 있다.
- [0597] 일부 실시형태에서, 개별 EV 프로파일링 검정의 감도 및 특이성을 추가로 개선시키기 위해, EV 바이오마커의 다른 부류는 mRNA를 포함하고, (EV 표면 단백질에 추가하여) 소포내 단백질이 검정에서, 식별되고 포함될 수 있다.
- [0598] 예비 작업
- [0599] 예비 연구를 통해, 바이오마커 후보물질이 EV에 존재하고 상업적으로 이용 가능한 항체 또는 mRNA 프라이머-프로브 세트에 의해 검출될 수 있는 것으로 검증되는 작업흐름이 개발된다. 주어진 관심 바이오마커에 대해, 관심 바이오마커를 발현하는 하나 이상의 세포주(양성 대조군) 및 이를 발현하지 않는 하나 이상의 세포주(음성 대조군)를 배양하여 세포 배양 배지를 농축시키고, 정제를 수행하여 관심 크기 범위를 갖는 나노입자를 분리(예를 들어, SEC 사용)시킴으로써 EV를 수거할 수 있다. 전형적으로, 세포의 소포는 30nm 내지 수 마이크로미터의 직경 범위일 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Chuo *et al.*, "Imaging extracellular vesicles: current and emerging methods" *Journal of Biomedical Sciences* 25: 91 (2018)]을 참고하기 바라며, 이것은 상이한 세포의 소포(EV) 하위유형에 대한 크기의 정보를 제공한다: 마이그라솜(migrasome)(0.5 내지 $3\mu\text{m}$), 마이크로소포(0.1 내지 $1\mu\text{m}$), 오키토솜(oncosome)(1 내지 $10\mu\text{m}$), 엑소머(exomere)(50nm 미만), 작은 엑소솜(60 내지 80nm) 및 큰 엑소솜(90 내지 120nm). 일부 실시형태에서, 약 30nm 내지 1000nm의 크기 범위를 갖는 나노입자가 검출 검정을 위해 분리될 수 있다. 일부 실시형태에서, 특정 EV 하위유형(들)이 검출 검정을 위해 분리될 수 있다.

- [0600] 독점적인 바이오마커 발견 과정을 통해, 건강한 조직에 비해 HGSOC에서 상향조절되는 막-결합 단백질 바이오마커(MUC16 및 SLC34A2)를 식별하고, 세포주 EV 및 난소암 환자 샘플의 개념 증명 실험에 사용하였다. 막 단백질인 MUC16은 난소암에서 가장 널리 연구되는 바이오마커이다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 혈청 중의 CA-125(이것은 MUC16 폴리펩타이드의 일부임)의 농도는 난소암 및 난소암의 재발에 대한 유전적 위험이 있는 여성에서 통상적으로 모니터링되어 왔다. CA-125는 이의 절단된 형태로 혈청에서 전통적으로 측정된다. 그러나, 본 개시내용의 일부 실시형태에서, MUC16은 온전한 막관통 단백질로서 측정된다. 본 개시내용의 일부 실시형태에서, MUC16은 이의 절단된 형태로 측정된다. 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, SLC34A2은 난소암 및 비소세포 폐암에 대한 치료 표적으로서 연구되어 온 멀티-패스 막 수송체이다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[*Lin et al.*, 2015]).
- [0601] 공동 국지화된 MUC16 마커 및 SLC34A2 마커를 함유하는 EV로부터 검정 신호를 검출하기 위해서, 일부 실시형태에서, SLC34A2 면역친화성 포획 및 MUC16에 특이적인 2개의 구별되는 항체-올리고뉴클레오타이드 프로브를 포함하는 검정 구성을 개발하였다.
- [0602] 정제된 세포주 EV를 항-SLC34A2-작용화된 자성 비드를 사용하여 포획하였다. 도 3(패널 A)은 예를 들어, 2개의 양성 대조군 세포주 및 1개의 음성 대조군 세포주에 대한 대표적인 qPCR 추적 결과를 제공한다. 이 데이터는, 검정 신호에 대한 유전자 발현의 영향을 입증하는데, 여기서 더 높은 발현 세포주는 더 낮은 발현 세포주에 비해 신호에서 36배 증가($2^{5.2}$)를 나타내었다. 이러한 결과는, 일부 실시형태에서 단일 EV 프로파일링 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)이 매우 높은 감도로 단일 EV에서 공동 국지화된 막-결합된 단백질을 검출할 수 있음을 입증한다.
- [0603] 난소암 세포주 EV에서 MUC16 및 SLC34A2의 검출 이후에, 파일럿 연구(결국 320개의 환자 샘플로 확장됨)를 최적화되고 작업자-맹검된 검정 프로토콜을 사용하여 난소암 환자 혈장 샘플에서 수행하였다. 모든 혈장 샘플은 동일한 공급원에서 구입하였고, 동일한 혈액 수집 프로토콜에 따라 처리되었으며, 환자 샘플은 임의의 치료를 시작하기 전(즉, 치료 미경험)에 수집되었다. 본 실시예의 연구에 포함된 환자 코호트는 도 4(패널 A)에 기재되어 있다.
- [0604] 본 임상 파일럿 연구의 결과를 각각 모든 난소암 및 고등급 장액성 난소암(HGSOC)에 대해서 도 7에 제공한다. 일부 실시형태에서, 특이성은 모든 건강한 대조군($n=172$)에 대한 로그-정규 분포를 가정하고, 99.8% 특이성에 대해서 평균 위의 2.879 표준 편차에서 컷오프(컷오프 1) 및 98% 특이성에 대해서 평균 위의 2.055 표준 편차에서 컷오프(컷오프 2)를 설정함으로써 결정하였다. 일부 실시형태에서, 특이성은 모든 건강한 대조군($n=172$)에 대한 로그-정규 분포를 가정하고, 99.5% 특이성(95% 신뢰 구간(CI): 98.4% 내지 100%)에 대해서 평균으로부터의 2.576 표준 편차에서 컷오프(컷오프 1)를 설정함으로써 결정하였다. 컷오프 2는 98% 특이성(95% CI: 95.9% 내지 100%)에 대해서 평균으로부터의 2.055 표준 편차를 취했다. 컷오프 1 및 2에 대한 HGSOC의 I/II기 검출의 감도는 각각 39.1% (95% CI: 19.2% 내지 59.0%) 및 60.9%(95%CI: 41.0% 내지 80.8%)였다. 일부 실시형태에서, 99.5%의 특이성을 갖는 컷오프 1을 사용하여 폐경 후 유증상 여성을 스크리닝하기 위한 PPV를 입력할 수 있는데, 여기서 난소암의 유병률은 500명의 여성당 1명이라고 추정된다(본 명세서에 기재된 목적을 위해서 본 명세서에 참조에 의해 포함된 문헌[Goff *et al.*, 2007]). 일부 실시형태에서, 98% 특이성 컷오프를 사용하여 유전적 위험이 있는 여성을 스크리닝하기 위한 PPV를 입력할 수 있는데, 여기서 유병률은 100명의 여성당 1명이라고 추정된다. 이러한 개별 컷오프는 상이한 환자 집단에서 위양성 내성 차이를 설명하기 위해 설정되었다. HGSOC에 대한 생성된 PPV는 10%를 훨씬 초과하는데(폐경 후 유증상 여성 및 유전적-위험 여성 각각에 대해서 17.6% 및 27%), 이는 일부 실시형태에서, 단일 EV 프로파일링 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)이 난소암 스크리닝 검사로서 사용될 가능성이 크다는 것을 입증한다. 추가적이고 상보적인 바이오마커 조합물의 평가를 통해서, 이러한 검정의 감도가 증가되어 평균-위험 여성에서 적어도 10%의 I/II기 PPV를 얻을 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 검정의 감도는 난소암에 대한 유전적 위험이 있는 여성 대상체 또는 난소암과 연관된 하나 이상의 증상, 예를 들어, 복통 및/또는 골반통을 경험할 수 있는 폐경 후 여성 대상체에서 I/II기에서 훨씬 더 높은 PPV를 얻도록 증가될 수 있다.
- [0605] 난소암의 검출을 위한 예시적인 단일 EV 프로파일 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)의 성능을 추가로 개선시키기 위해서, 일부 실시형태에서, 막-결합된 단백질 및 소포내 mRNA/단백질을 포함하는 추가 바이오마커 후보물질을 식별할 수 있다.
- [0606] 일부 실시형태에서, 대식세포 저해 인자(macrophage: MIF) 전사체의 검출을 위해 도 14(패널 A)에 도시된 바와 같이 벌크로 정제된 세포주 EV를 사용한 EV-mRNA 검출의 가능성을 입증하였다. 막 결합 단백질 마커의 면역친화

성 포획을 통해서, 이러한 접근법은 2개의 공동 국지화된 바이오마커의 검출을 가능하게 한다. 또한, 면역친화성 포획 직후에 RT-qPCR을 수행할 수 있기 때문에 EV-mRNA 검출은 더 간단한 프로토콜이 필요하다. EV를 사용한 mRNA 검출은 **도 14(패널 B)**에서 입증되었는데, 여기서 항-상피 세포 부착 분자(EpCAM) 변형된 자성 비드를 사용하여 먼저 EV를 포획하였고, MIF mRNA를 검출하였다. 양성 세포주 및 음성 세포주 둘 다 MIF를 발현하지만, 양성 세포주만 EpCAM을 발현한다. 양성 세포주의 선택적 검출은, 이러한 검출 시스템을 사용하여 한 자릿수 정도 더 높은 농도의 음성 세포주 EV에서도 입증되었다.

[0607] 실시예 7: 예시적인 난소암 액체 생검 검정의 개발

[0608] 본 실시예는 예를 들어, 평균 위험, 유전적 위험, 생애 이력 위험 및/또는 폐경 후 위험을 갖는 유증상 또는 무증상 여성을 스크리닝하기 위한 예시적인 난소암 액체 생검 검정의 개발을 설명한다. 바이오마커 발견으로 이어지는 단계는 본 개시내용의 실시예 6에 기재된 바와 같이 수행하였다.

[0609] 실시예 6 및 도 7에 논의된 바와 같이, 예시적인 난소암 액체 생검 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)의 감도는 SLC34A2 면역친화성 포획의 단일 바이오마커 조합물 및 MUC16 + MUC16 pliq-PCR 판독과 함께 I기 및 II기 난소암 환자의 검출에 대한 99.5% 특이성 컷오프를 사용하는 경우 개선될 수 있다. 이는 부분적으로 SLC34A2 및 MUC16을 공동 발현하는 건강한 조직으로 인한 건강한 여성 전반에 걸친 검정 신호의 넓은 범위에 기인할 수 있다.

[0610] 감도 및 특이성을 개선하기 위해서, 난소암에서 과발현될 것으로 생물정보학적으로 예측된 추가 표적을 포함하도록 바이오마커 패널을 확장시켰다(생성된 데이터의 하위세트에 대해 도 18 패널 A 내지 패널 D 참조). 일부 실시형태에서, 폴리펩티드 바이오마커 FOLR1, CLDN3, CLDN6, AQP5 및 LRRTM1을 포함하는 목록이 고안되었다. AQP5(아쿠아포린 5)는 타액, 눈물 및 폐 분비물의 생성에 관여하는 통합 막 단백질의 아쿠아포린 패밀리의 구성원인 수로 단백질이다. CLDN3 및 CLDN6(각각 클라우딘 3 및 6)은 통합 막 단백질 및 밀착 연결 가닥의 성분이며, 두 단백질 모두 상피 및/또는 내피 세포에서 세포-세포 접착을 통해 연속적인 밀봉을 형성하여 세포 주변 공간을 통한 용질 및 물 확산 방지하도록 작용하는 단백질의 클라우딘 패밀리의 구성원이다. FOLR1(엽산염 수용체 1)은 엽산염 수용체 패밀리의 구성원이며, 세포의 엽산염 및 환원된 엽산염 유도체의 결합 및 후속 세포 내 전달에 관여하는 막관통 단백질이다. LRRTM1(류신 풍부 반복부 막관통 신경세포 1)은 일반적으로 신경 기능, 예를 들어, 정신분열증 및 손잡이(handedness)와 관련된 막관통 단백질이며, LRRTM1은 시냅스에서의 단백질-단백질 상호작용 및 시냅스를 통한 특정 화학물질의 전달에 관여하는 것으로 생각된다.

[0611] 이들 바이오마커 각각을 예시적인 검정에서 높은 결합활성 및 선택성을 나타내는 항체 클론을 식별하기 위해 세포주 EV를 표적으로 하는 상업적으로 이용 가능한 단클론성 항체를 사용하여 엄격하게 스크리닝하였다(데이터 나타내지 않음). 각각의 바이오마커에 대해 적어도 하나의 적합한 항체 클론이 식별되었다.

[0612] 진단적 유용성이 높은 신규 바이오마커 조합물의 식별을 용이하게 하기 위해, 풀링된 환자 혈장 샘플에서 조합물을 스크리닝하는 절차를 개발하였다. 55세 내지 79세의 건강한 여성 90명으로부터의 혈장을 풀링시켜 각각의 바이오마커 조합물에 대한 평균 건강한 배경 단백질 풍부도 수준을 추정하였다. 동시에, 진행성 난소암 사례에서 발견되는 신호를 추정하기 위해 10명의 III기 및 10명의 IV기 난소암 환자로부터 난소암 혈장 풀을 생성하였다. AQP5, MUC16, CLDN3, CLDN6, FOLR1, LRRTM1 및 SLC34A2를 포함하는 7개의 잠재적인 바이오마커 목록으로부터 3개의 바이오마커(하나의 포획 프로브 및 2개의 pliq-PCR 판독 프로브)의 조합물을 생성하였다. 조합물을 풀링된 환자 및/또는 대조군 혈장 샘플에서 스크리닝하였다. 각각의 스크리닝 실험 동안, 풀링된 환자 혈장 1ml를 예를 들어, 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 정제시키고, 10개의 분취물로 나누었다(각각의 바이오마커 조합물에 대한 혈장 100 μ l에 해당). 예비 바이오마커 스크린 데이터의 하위세트를 도 20A에 제공하는데, 여기서 각각의 데이터 포인트는 상이한 바이오마커 조합물을 나타낸다. 혈장 풀 전반에 걸쳐 검정 신호에서 큰 차이를 나타내지 않은 도 20A의 바이오마커 조합물은 전반적으로 매우 낮은 신호 강도를 나타내는데, 이는 소수의 EV가 이러한 공동 국지화된 바이오마커를 함유하였다는 것을 시사한다. 도 20B는 7개의 상이한 예시적인 바이오마커 조합물에 대한 풀링된 건강한 혈장과 풀링된 난소암 혈장 간의 검정 신호의 차이를 제공한다. 결과는 본 명세서에 기재된 바와 같은 바이오마커 조합물이 풀링된 난소암 혈장과 비교할 때 풀링된 건강한 혈장 100 μ l 사이의 신호에서 100배에서 1000배 차이를 검출할 수 있음을 입증한다.

[0613] 바이오마커 조합물 스크리닝의 개선은 폐경 전의 건강한 여성, 양성 부인과 종양을 갖는 여성, 다른 염증성 병태를 갖는 여성 및/또는 초기 HGSC 사례를 포함하는 추가 환자 코호트에서 풀링된 혈장을 시험함으로써 달성될 수 있다.

- [0614] 도 20A 및 도 20B는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 몇몇 예시적인 바이오마커 조합물(예를 들어, MUC16 포획 프로브와 MUC16 + MUC16 pliq-PCR 프로브, SLC34A2 포획 프로브와 MUC16 + FOLR1 pliq-PCR 프로브, SLC34A2 포획 프로브와 FOLR1 + FOLR1 pliq-PCR 프로브, SLC34A2 포획 프로브와 MUC16 + MUC16 pliq-PCR 프로브, MUC16 포획 프로브와 MUC16 + CLDN6 pliq-PCR 프로브, FOLR1 포획 프로브와 FOLR1 + CLDN6 pliq-PCR 프로브 등)이 건강한 환자와 난소암을 가진 환자를 구별할 수 있다는 것을 나타낸다. 다수의 오쓰고널하고, 상보적인 바이오마커 조합물을 사용하는 것이 (예를 들어, 건강한 코호트로부터 상이한 암 환자 하위집단을 구별함으로써) 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 개선할 것이라는 것을 입증하기 위해서, 몇몇 바이오마커 조합물을 이전에 조사되었고/되었거나 실시예 6 및 도 7에 기재된 환자 샘플의 하위세트에 대해 시험하였다. 건강한 코호트 및 HGSOC 코호트를 도 7에서 관찰된 신호의 전체 범위를 포함하도록 구체적으로 선택하였다.
- [0615] 도 21에는 적어도 2개의 바이오마커 조합물을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 성능을 나타내는 결과가 제공되어 있는데, 이는 일부 실시형태에서, 1) SLC34A2 포획, MUC16 + MUC16 pliq-PCR 판독(즉각적인 도 7 연구, 예를 들어 실시예 6에서 사용된 동일한 조합물); 및 2) SLC34A2 포획, FOLR1 + FOLR1 pliq-PCR 판독을 포함할 수 있다. 본 데이터는 본 명세서에 기술된 예시적인 검정(예를 들어, 적어도 2개의 바이오마커 조합물, 예를 들어, 적어도 2개의 오쓰고널 바이오마커 조합물(예를 들어, 통계적으로 독립적인 적어도 2개의 바이오마커 조합물 포함)이 HGSOC 환자를 건강한 환자 및 양성 환자 코호트와 구별할 수 있다는 것을 입증한다. 바이오마커 조합물 전반에 걸친 이러한 오쓰고널리티는 단일 바이오마커 조합물을 포함하는 검정에서 관찰된 것과 비교하여 감도를 개선하였다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 본 명세서에 기재된 바와 같은 2종 이상의 바이오마커 조합물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 오쓰고널 바이오마커 조합물)이 검정에 활용된 경우, 99.5%의 특이성 컷오프에서 1기 및 II기 난소암 사례(n=22)의 경우 전체 검정 민감도가 59.1%로 증가했으며 모든 난소암 사례(n=36)의 경우 63.9% 증가하였다. 이러한 결과는 다중(예를 들어, 적어도 2개 또는 그 초과) 바이오마커 조합물을 본 명세서에 개시된 예시적인 검정에 통합하는 것이 검정의 성능(예를 들어, 감도 및/또는 특이성)을 실질적으로 개선할 수 있다는 것을 입증한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 적어도 2개의 바이오마커 조합물(예를 들어, (1) SLC34A2 포획, MUC16 + MUC16 pliq-PCR 판독, 및 (2) SLC34A2 포획, FOLR1 + FOLR1 pliq-PCR 판독)을 포함하는 예시적인 검정의 감도는 98% 특이성 컷오프에서 66.7%였다. 본 실시예에서 두 바이오마커 조합물(여기서 각각의 조합물은 공통 바이오마커, SLC34A2를 가짐)을 사용한 감도의 전반적인 증가는 대략 8.3%이지만, 공통 바이오마커를 공유하지 않는 바이오마커 조합물이 감도에서 훨씬 더 큰 증가를 제공할 수 있는 특정 실시형태이다.
- [0616] 난소암의 검출을 위한 예시적인 단일 EV 프로파일 검정(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)의 성능을 추가로 개선시키기 위해서, 일부 실시형태에서, 예를 들어, 막-결합된 단백질 및 본 명세서에 기재된 바와 같은 소포내 mRNA/단백질을 포함하는 추가 표적 바이오마커를 예시적인 단일 EV 프로파일 검정에 포함시킬 수 있다.
- [0617] 일부 실시형태에서, 난소암에서 과발현될 것으로 생물정보학적으로 예측된 추가적인 표적을 포함하도록 바이오마커 패널을 확장시켰다. CLDN6, AQP5, CLDN3, CLDN16, LEMD1, LRRTM1, FOLR1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, EpCAM, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFN1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2 및 TNFRSF12A를 포함하는 폴리펩타이드 바이오마커를 고려하였다. 실시예 1에 기재된 바와 같은 검정을 통해 스크리닝된 특정 바이오마커 조합물을 표 1에 도시한다. 이러한 1차 스크리닝 후, 특정 조합물을 추가 분석을 위해 선택하였고, 예시적인 결과를 하기에 기재한다.
- [0618] 건강한 폴링 샘플(폴은 90개의 개별 샘플로 이루어짐) 또는 양성 폴링된(폴은 장액성 낭선종, 점액성 낭선종, 자궁내막모양 낭종, 장액성 유두 낭선종, 장액성 낭선섬유종 또는 성숙한 기형종을 갖는 환자로부터의 10개의 개별 샘플로 이루어짐) 샘플을 말기 난소암 샘플(폴은 III기 또는 IV기 난소 선암종을 갖는 환자로부터의 20개의 개별 샘플로 이루어짐) 또는 초기 난소암 샘플(폴은 I기 또는 II기 난소 선암종을 갖는 환자로부터의 16개 개별 샘플로 이루어짐)과 비교하는 바이오마커 조합물에 대해서 표 3에 제시된 2차 스크리닝 결과는, (도시된 바이오마커 조합물과 함께 실시예 1에 기재된 바와 같이 수행된 증폭에서 적어도 4배 차이에 의해 측정되는 경우) 특정 바이오마커 조합물이 참조 샘플로부터 난소암 샘플을 성공적으로 구별하였다는 것을 문서화하였다.
- [0619] 하기에 나타난 바와 같이, 다양한 바이오마커 조합물은 말기 난소암 폴과 양성 부인과 종양 폴을 구별한다. 다른 것 중에서, 이러한 발견은 본 개시내용에 따라 사용된 이러한 바이오마커 조합물이 양성 종양에 비해 난소 악성종양을 특이적으로 구별함으로써, 개시된 기술의 특히 유리한 하나의 특징을 문서화한다는 것을 입증한다. 일부 상황에서, 양성 종양이 악성 종양과 유사한 증상을 나타낼 수 있고 종종 기존의 스크리닝 방법으로 분류하기 어렵기 때문에 이러한 특징은 특히 중요하다.

- [0620] 하기에 나타낸 바와 같이, 다양한 바이오마커 조합물은 초기 난소암 풀을 건강한 풀 및/또는 양성 부인과 종양 풀과 구별하였다. 다른 것 중에서, 이러한 발견은 본 개시내용에 따라 사용된 이러한 바이오마커 조합물이 초기 난소암(예를 들어, I/II기)에서 건강한 조직 및/또는 양성 종양에 비해 난소 악성종양을 특이적으로 구별함으로써, 개시된 기술의 특히 유리한 하나의 특징을 문서화한다는 것을 입증한다. 일부 상황에서, 양성 부인과 종양으로부터 난소암 샘플을 정확하게 구별하는 동시에 초기 단계에서 난소암을 검출하고 진단하는 것이 환자의 웰빙을 유지하면서 질환을 성공적으로 퇴치하는 데 매우 중요할 수 있기 때문에, 이러한 특징은 특히 중요하다.
- [0621] 다른 것 중에서, 본 실시예에 제시된 결과는 제공된 기술이 난소 낭선암종을 검출한다는 것을 입증하고, 특히 제공된 기술(예를 들어, EV 내 및/또는 EV 상의 바이오마커를 검출하기 위해 본 명세서에 기재된 바와 같은 바이오마커 조합물을 사용함)이 난소암-유래 EV와 건강한 조직 및/또는 양성 부인과 종양에서 유래한 것을 구별한다는 것을 구체적으로 입증한다.
- [0622] 본 실시예는 공동 국지화된 바이오마커 시그니처를 검출(예를 들어, 개별 EV 내 또는 상의 바이오마커 세트를 검출)하여, 진행성 난소암을 검출하고/하거나, 90명의 건강한 여성으로부터의 혈장 풀보다 적어도 4배 더 큰 신호를 갖는 것을 포함하여 초기 난소암을 검출하고/하거나 난소암 혈장을 양성 종양 혈장과 구별하는 제공된 기술(예를 들어, 본 명세서에 기재된 근접 결합 기술)의 효율성을 입증한다. 본 실시예는 특히 (예를 들어, 개별 EV의 표면 상의) 공동-국지화된 표면 바이오마커 시그니처를 검출하기 위한 제공된 기술의 효율성을 문서화한다.
- [0623] 표 4는 특정 바이오마커 조합물에 대한 2차 스크리닝 결과를 제공하는 반면, 표 5는 표 4에 제시된 발견으로부터 고안된 조합물인 적어도 3개의 EV 표면 폴리펩타이드 바이오마커를 포함하는 특정 바이오마커 시그니처에 대한 3차 스크리닝 결과를 제공한다. 표시된 결과는 건강한 풀링된 샘플(풀은 90개의 개별 샘플로 이루어짐), 비-난소암 풀링된 샘플(풀은 암, 예컨대, 유방암, 결장암, 폐암, 췌장암, 자궁암 또는 미만성 거대 B 세포 림프종을 갖는 환자로부터의, 26개의 개별 샘플로 이루어짐) 및/또는 양성 부인과 풀링된 샘플(풀은 장액성 낭선종, 점액성 낭선종, 장액성 낭선섬유종, 자궁내막모양 낭종, 자궁내막모양 낭선종, 성숙한 기형종, 자궁내막증 또는 평활근을 갖는 환자로부터의 14개 개별 샘플로 이루어짐)을 말기 난소암 샘플(풀은 12개의 개별 샘플로 이루어짐), 혈청 CA-125 수준, 예를 들어, 높은 CA-125(35 U/ml 초과, 풀은 12개의 개별 샘플로 이루어짐) 또는 낮은 CA-125(35 U/ml 미만, 풀은 11개의 개별 샘플로 이루어짐)으로 설명되는 초기 난소암 샘플과 비교한다. 적합한 양성 대조군 및 음성 대조군을 각각의 바이오마커 조합물에 대해 수행하여 분석이 적절하게 작동했음을 검증하였다(예를 들어, 세포의 소포를 포함하지 않는 샘플 또는 난소암 세포주로부터의 세포의 소포를 포함하는 샘플). 결과는 특정 바이오마커 조합물이 (도시된 바이오마커 조합물을 사용하여 실시예 1에 기재된 바와 같이 수행된 증폭의 적어도 2배 차이에 의해 측정되는 경우) 언급된 참조 샘플로부터 난소암 샘플을 성공적으로 구별함을 문서화하였다.
- [0624] 다른 것 중에서, 하기에 나타낸 바와 같이, 이러한 발견은 본 개시내용에 따라 사용되는 이러한 바이오마커 조합물 중 특별한 것이 난소 악성종양을 건강한 조직, 양성 부인과 종양 및/또는 기타 암 유형으로부터 특이적으로 구별함으로써, 개시된 기술의 특별히 유리한 특징을 문서화한다는 것을 입증한다. 또한, 하기에 나타낸 결과는 다양한 바이오마커 조합물이 초기 단계의 높은 CA-125 난소암 샘플 풀 및/또는 초기 병기의 낮은 CA-125 난소암 샘플 풀과 건강한 샘플 풀, 비-난소암 샘플 풀 및/또는 양성 부인과 종양 샘플 풀을 구별함을 입증한다. 특정 시나리오에서, 현재 표준의 비침습적 검출 방법이 혈청 CA-125 수준의 측정에 의존하기 때문에(상세한 설명에서 상기에 기재된 바와 같음) 이러한 특징은 특히 중요하다. 따라서, 본 실시예는 현재 치료 표준보다 초기 병기의 낮은 CA-125 난소암 진단을 위한 더 효과적인 진단 시스템을 제공할 수 있는, 본 개시내용에 따라 사용되는 바이오마커 시그니처를 설명한다. 또한, 본 실시예에 발견은 난소암 샘플과 양성 부인과 종양 및/또는 다른 암 유형을 구별하는 검정을 설명한다. 일부 상황에서, 양성 종양 및/또는 다른 암 유형이 악성 난소암과 유사한 증상 및/또는 분자 시그니처를 생성할 수 있고 이러한 병태는 종래의 스크리닝 방법을 사용할 때 종종 구별하기 어렵기 때문에, 이러한 특징은 특히 중요하다.
- [0625] 다른 것 중에서, 본 실시예에 제시된 결과는 제공된 기술이 난소 낭선암종을 검출한다는 것을 입증하고, 특히 제공된 기술(예를 들어, EV 내 및/또는 EV 상의 바이오마커를 검출하기 위해 본 명세서에 기재된 바와 같은 바이오마커 조합물을 사용함)이 난소암-유래 EV와 건강한 조직, 양성 부인과 종양 및/또는 특정 다른 암 유형에서 유래한 것을 구별한다는 것을 구체적으로 입증한다.
- [0626] 본 실시예는 공동 국지화된 바이오마커 시그니처를 검출(예를 들어, 개별 EV 내 또는 상의 바이오마커 세트를 검출)하여, 90명의 건강한 여성으로부터의 혈장 풀보다 적어도 2배 더 큰 신호를 갖는 것을 포함하여 진행성 난

소암을 검출하고/하거나 난소암 혈장을 양성 부인과 종양 혈장과 구별하고/하거나 난소암 혈장을 특정 다른 암 유형으로부터의 혈장과 구별하는 제공된 기술(예를 들어, 본 명세서에 기재된 근접 결합 기술)의 효율성을 입증한다. 본 실시예에는 특히 (예를 들어, 개별 EV의 표면 상의) 공동-국지화된 표면 바이오마커 시그니처를 검출하기 위한 제공된 기술의 효율성을 문서화한다.

[0627]

본 개시내용은 본 명세서에 기재된 바와 같은 검정에서 특히 유용하고/하거나 효과적인 특정 바이오마커 및 이의 세트를 추가로 정의한다. 일부 실시형태에서, 특정 예시된 바이오마커 및/또는 세트는 예시된 바와 같이 유용하다. 일부 실시형태에서, 다수의 특정 예시된 바이오마커 및/또는 세트가 동일한 샘플(예를 들어, 동일한 샘플의 상이한 분취물) 및/또는 동일한 개체(들) 및/또는 공급원으로부터의 유사한 샘플에 적용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 복수의 별개의 바이오마커 또는 이의 세트(예를 들어, 바이오마커 시그니처)를 평가하고, 결과 점수(들)(예를 들어, 특정 결합 수준 및/또는 특정 감도 수준 및/또는 특이성을 반영함)를 각각에 대해 결정한다. 일부 실시형태에서, 다수의 이러한 평가가 동일한 상태(예를 들어, 양성 여부, 암의 단계 등)를 나타내는 점수를 달성할 때 진단적 확실성이 개선된다. 대안적으로 또는 추가로, 일부 실시형태에서, 이러한 점수의 결정 및/또는 고려가 하나 이상의 다른 진단 평가 또는 전략(예를 들어, TVUS 및/또는 혈청 CA-125 수준 등)과 조합될 때 진단 확실성이 개선된다.

표 3

건강한 샘플 또는 양성 샘플과 비교할 때 난소암 풀링된 샘플을 구별하는 특정 바이오마커 조합물을 도시함.
검출/구별은 *로서 표시하고, 제시된 표준 샘플과 비교할 때 양성 샘플들 간에 4배 증폭 차이에 상응함. 약어:
말기 난소암(LS), 초기 난소암(ES), 포획 프로브의 표적(Capture), 검출 프로브의 표적(Det), 조합물(Combo).

Combo	Capture	Det 1	Det 2	건강한 풀과 비교		양성 풀과 비교	
				LS	ES	LS	ES
1	SLC34A2	SLC34A2	FOLR1	*		*	
2	SLC34A2	MUC16	MUC16	*		*	
3	SLC34A2	MUC16	FOLR1	*	*	*	
4	SLC34A2	FOLR1	FOLR1	*	*	*	
5	MUC16	SLC34A2	MUC16	*	*	*	
6	MUC16	SLC34A2	FOLR1	*	*	*	
7	MUC16	MUC16	MUC16	*	*	*	
8	MUC16	MUC16	FOLR1	*	*	*	*
9	MUC16	MUC16	CLDN3	*	*	*	*
10	MUC16	MUC16	CLDN6	*		*	
11	MUC16	MUC16	AQP5	*		*	
12	MUC16	FOLR1	FOLR1	*		*	
13	MUC16	FOLR1	CLDN3	*	*	*	*
14	MUC16	FOLR1	AQP5	*		*	
15	FOLR1	MUC16	MUC16	*		*	
16	FOLR1	MUC16	FOLR1	*		*	
17	FOLR1	MUC16	CLDN3	*		*	
18	FOLR1	FOLR1	CLDN6	*		*	
19	FOLR1	SLC34A2	MUC16	*		*	
20	FOLR1	FOLR1	FOLR1	*		*	
21	FOLR1	FOLR1	CLDN3	*		*	
22	FOLR1	FOLR1	AQP5	*		*	
23	CLDN3	FOLR1	FOLR1	*	*	*	

[0628]

Combo	Capture	Det 1	Det 2	건강한 풀과 비교		양성 풀과 비교	
				LS	ES	LS	ES
24	CLDN3	SLC34A2	MUC16	*		*	
25	CLDN3	MUC16	MUC16	*		*	
26	CLDN3	MUC16	FOLR1	*		*	
27	CLDN3	MUC16	CLDN3	*		*	
28	CLDN3	MUC16	CLDN6	*		*	
29	LRRTM1	MUC16	MUC16	*	*		*

[0629]

표 4

말기 난소암 풀링된 샘플과 건강한 풀링된 샘플을 구별하기 위해서 1차 스크리닝으로 나타난 특정 예시적인 2개의 바이오마커 조합물을 나타냄. 그 다음 조합물을 활용하여 초기 난소암 샘플(CA-125 수준이 구별됨)을 건강한 샘플 풀, 비-난소암 샘플 풀 또는 양성 부인과 종양 샘플 풀과 비교하였음을 주목하였다. 검출/구별은 *로서 표시하고, 제시된 표준 샘플과 비교할 때 양성 샘플들 간에 2배 증폭 차이에 상응함; 표 4에서는, 면역친화성 포획을 위해서 사용되는 바이오마커와 검정 판독을 위해서 사용되는 바이오마커 사이에 차이가 없다는 것을 주목하기 바란다. 약어: 말기 난소암(LS), 초기 고 CA-125 난소암(ES High), 초기 저 CA-125 난소암(ES Low), 포획 및/또는 검출 프로브의 표적(Target), 조합물(Combo).

Combo	Target 1	Target 2	건강한 풀과 비교			양성 종양 풀과 비교		비-난소암 풀과 비교	
			LS	ES High	ES Low	ES High	ES Low	ES High	ES Low
1	ALPL	FOLR1	*	*		*		*	
2	BST2	MUC16	*	*		*		*	
3	FOLR1	MSLN	*	*		*		*	
4	FOLR1	MUC16	*	*				*	*
5	MSLN	MUC16	*	*		*			
6	MSLN	MUC1	*	*		*		*	*
7	MSLN	SLC2A1	*						
8	MUC1	sTn	*	*	*	*	*	*	
9	MUC1	MUC16	*	*		*	*	*	
10	MUC1	FOLR1	*	*		*		*	
11	MUC16	sTn	*	*		*		*	
12	PTGS1	MUC16	*	*					
13	SLC34A2	FOLR1	*	*				*	
14	SLC34A2	MUC16	*					*	
15	sTn	FOLR1	*	*		*		*	*
16	sTn	MSLN	*	*		*	*	*	*

[0630]

Combo	Target 1	Target 2	건강한 풀과 비교			양성 종양 풀과 비교		비-난소암 풀과 비교	
			LS	ES High	ES Low	ES High	ES Low	ES High	ES Low
17	TACSTD2	MUC16	*	*	*	*	*	*	*
18	TACSTD2	sTn	*	*		*		*	

[0631]

표 5

특정 예시적인 3개의 표적 바이오마커 조합물을 나타냄. 비교는 후기 난소암 및/또는 초기 난소암 샘플(CA-125 수준이 구별됨)과 건강한 샘플 풀, 비-난소암 샘플 풀 또는 양성 부인과 종양 샘플 풀의 비교이다. 검출/구별은 *로서 표시하고, 제시된 표준 샘플과 비교할 때 양성 샘플들 간에 2배 증폭 차이에 상응함. 약어: 말기 난소암(LS), 초기 고 CA-125 난소암(ES High), 초기 저 CA-125 난소암(ES Low), 포획 프로브의 표적(Capture), 검출 프로브의 표적(Det), 조합물(Combo).

Combo	Capture	Det 1	Det 2	건강한 풀과 비교			양성 종양 풀과 비교			비-난소암 풀과 비교		
				LS	ES High	ES Low	LS	ES High	ES Low	LS	ES High	ES Low
1	TACSTD2	MUC16	sTn	*	*	*		*	*	*	*	*
2	TACSTD2	MUC16	MUC1	*	*	*			*		*	*
3	TACSTD2	MUC16	MSLN	*		*				*		*
4	TACSTD2	MUC16	FOLR1	*		*				*		*
5	TACSTD2	sTn	MUC1	*	*	*	*			*	*	*
6	TACSTD2	sTn	MSLN			*				*	*	*
7	TACSTD2	sTn	FOLR1				*	*		*	*	
8	TACSTD2	MUC1	MSLN									*
9	TACSTD2	MUC1	FOLR1									
10	TACSTD2	MSLN	FOLR1									
11	MUC1	MUC16	sTn	*	*		*	*	*	*	*	*
12	MUC1	MUC16	MSLN	*	*		*	*		*	*	*
13	MUC1	MUC16	FOLR1	*	*		*	*		*	*	*
14	MUC1	sTn	MSLN	*	*		*	*		*	*	*
15	MUC1	sTn	FOLR1	*	*		*	*	*	*	*	*

[0632]

Combo	Capture	Det 1	Det 2	건강한 풀과 비교			양성 종양 풀과 비교			비-난소암 풀과 비교		
				LS	ES High	ES Low	LS	ES High	ES Low	LS	ES High	ES Low
16	MUC1	MSLN	FOLR1	*	*		*	*	*	*	*	*
17	MUC16	sTn	MUC1	*	*		*	*	*	*	*	*
18	MUC16	sTn	MSLN	*	*		*	*	*	*	*	*
19	MUC16	sTn	FOLR1	*	*		*	*	*	*	*	*
20	MUC16	MUC1	MSLN							*	*	*
21	MUC16	MUC1	FOLR1									
22	MUC16	MSLN	FOLR1							*	*	*
23	sTn	MUC16	MUC1	*	*		*	*	*	*	*	*
24	sTn	MUC16	MSLN	*	*		*	*	*	*	*	*
25	sTn	MUC16	FOLR1	*	*		*	*	*	*	*	*
26	sTn	MUC1	MSLN	*	*		*	*	*	*	*	*
27	sTn	MUC1	FOLR1	*	*		*	*	*	*	*	*
28	sTn	MSLN	FOLR1	*	*		*	*	*	*	*	*
29	MSLN	MUC16	sTn	*	*		*	*	*	*	*	*
30	MSLN	MUC16	MUC1	*	*		*	*	*	*	*	*
31	MSLN	MUC16	FOLR1	*	*		*	*	*	*	*	*
32	MSLN	sTn	MUC1	*	*	*	*	*	*	*	*	*
33	MSLN	sTn	FOLR1	*	*		*	*	*	*	*	*
34	MSLN	MUC1	FOLR1	*	*	*	*	*	*	*	*	*
35	SLC34A2	MUC16	FOLR1	*	*					*	*	*
36	SLC34A2	MUC16	MSLN	*			*			*		
37	SLC34A2	MUC16	sTn	*			*	*		*	*	*
38	SLC34A2	FOLR1	sTn	*			*	*		*	*	*

실시예 8: 예시적인 난소암 액체 생검 검정의 추가 특징규명

본 실시예는 상이한 세포 집단 및 환자 집단을 사용한 예시적인 난소암 액체 생검 검정에서의 다양한 바이오마커 조합물의 추가 특징규명에 관한 것이다. 본 명세서에 개시된 바이오마커(예를 들어, 표면 단백질 표적 바이오마커, 예를 들어, SLC34A2, MUC16, FOLR1, CLDN3, CLDN6, AQP5, LRRTM1, CLDN16, LEMD1, MUC16, CHODL, CDH6, HTR3A, SLC34A2, EpCAM, ALPL, BST2, CD24, MSLN, MUC1, PTGS1, ST14, sTn, TACSTD2, BCAM, CD74, LY6E, SLC2A1, CXCR4, DDR1, EFNB1, NOTCH3, PLXNB1, SPINT2, TNFRSF12A 및 이들의 조합물)의 다양한 조합물을 풀링된 대조군 샘플 및 환자 혈장 샘플에서 스크리닝함으로써 난소암의 검출에 유용한 바이오마커 조합물을 결정할 수 있다. 풀링된 샘플은 다양한 환자 코호트 간의 평균 검정 신호에 대한 추정치를 제공하여 바이오마커 조합물 분류를 용이하게 할 수 있다.

일부 실시형태에서, 난소암의 검출을 위한 바이오마커 조합물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7개 또는 그 초과 바이오마커(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)를 포함할 수 있고, 여기서 이러한 조합물은 (예를 들어, 면역친화성 포획에 의해) 세포의 소포를 포획하기 위한 적어도 하나의 바이오마커 및 pliq-PCR 검정에 의한 검출을 위한 적어도 하나의 바이오마커(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7개 또는 그 초과 바이오마커 포함)를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포를 포획하기 위한 표적 바이오마커(예를 들어, 면역친화성 포획)는 pliq-PCR 기반 분석을 위한 적어도 하나의 표적 바이오마커와 동일할 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포의 소포를 포획하기 위한 표적 바이오마커 및 pliq-PCR 기반 분석은 각각 별개일 수 있다. 다양한 예시적인 바이오마커 조합물의 예를 도 20B, 도 22 내지 도 28 및 도 33 및 도 36에 제시한다. 다양한 예시적인 바이오마커 조합물의 진단 능력의 예를 도 37A 내지 도 37J에 제시한다.

다양한 바이오마커 조합물을 풀링된 환자 코호트에서 검증할 수 있다. 환자 코호트는 적절한 환자 및/또는 대조군을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 환자 코호트는 폐경 후의 건강한 여성(예를 들어, 55세 내지 79세의 건강한 여성), 폐경 전의 건강한 여성(예를 들어, 20세 내지 54세의 여성), 진행성 HGSOC(예를 들어, III기 및 IV기 HGSOC 사례)를 갖는 여성, 초기 HGSOC(예를 들어, I기 및 II기 HGSOC 사례)를 갖는 여성, 양성 부인과 종양을 갖는 여성(예를 들어, 양성 부인과 성장을 갖는 여성) 및/또는 염증성 질환, 장애 또는 병태를 갖는 여성(예를 들어, 자궁내막증, 골반 염증성 질환, 염증성 장 질환(예를 들어, 크론병 및/또는 궤양성 대장염 등) 및/또는 기타 염증성 질환을 포함하는 염증성 질환을 갖는 여성)을 포함할 수 있다.

일부 실시형태에서, 2-단계 스크리닝 절차는 다양한 바이오마커 조합물의 성능을 특징규명할 수 있다. 예를 들어, 다양한 바이오마커 조합물(예를 들어, (예를 들어, 면역친화성 포획을 위한) 포획 프로브를 위한 바이오마커와 검출 프로브용 바이오마커의 다양한 조합물)을 먼저 (다양한 연령군으로부터의) 건강한 배경 풀 및 진행기 HGSOC 풀에서 스크리닝할 수 있다. 일부 실시형태에서, 건강한 풀과 난소암 풀 사이의 불량한 분리를 나타내는 바이오마커 조합물(예를 들어, 4 미만의 ΔCt , 16배 미만의 차이에 해당)은 단독으로 사용하기 위한 바이오마커 조합물로서 추가 연구에서 제거될 수 있지만, 이러한 바이오마커 조합물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 추가 바이오마커 조합과 조합될 때 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 건강한 풀과 난소암 풀 사이의 불량한 분리

를 나타내는 바이오마커 조합물(예를 들어, 2 미만의 ΔCt , 4배 미만의 차이에 해당)은 단독으로 사용하기 위한 바이오마커 조합물로서 추가 연구에서 제거될 수 있지만, 이러한 바이오마커 조합물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 추가 바이오마커 조합과 조합될 때 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 건강한 풀과 난소암 풀 사이의 불량한 분리를 나타내는 바이오마커 조합물(예를 들어, 1 미만의 ΔCt , 2배 미만의 차이에 해당)은 단독으로 사용하기 위한 바이오마커 조합물로서 추가 연구에서 제거될 수 있지만, 이러한 바이오마커 조합물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 추가 바이오마커 조합과 조합될 때 유용할 수 있다.

[0639] 일부 실시형태에서, 2-단계 스크리닝 절차는 다양한 바이오마커 조합물의 성능을 특징규명할 수 있다. 예를 들어, 다양한 바이오마커 조합물(예를 들어, (예를 들어, 면역친화성 포획을 위한) 포획 프로브를 위한 바이오마커와 검출 프로브용 바이오마커의 다양한 조합물)을 먼저 (다양한 연령군으로부터의) 건강한 배경 풀 및 진행기 HGSOC 풀에서 스크리닝할 수 있다. 일부 실시형태에서, 우수한 진단 성능을 나타내는 바이오마커 조합물(예를 들어, 1 초과 ΔCt , 2배 초과 ΔCt 의 차이에 해당)은 풀링된 초기 HGSOC, 양성 부인과 종양 및/또는 염증성 병태에 대해서 제2 라운드의 스크리닝을 겪을 수 있다. 일부 실시형태에서, 우수한 진단 성능을 나타내는 바이오마커 조합물(예를 들어, 2 초과 ΔCt , 4배 초과 ΔCt 의 차이에 해당)은 풀링된 초기 HGSOC, 양성 부인과 종양 및/또는 염증성 병태에 대해서 제2 라운드의 스크리닝을 겪을 수 있다. 일부 실시형태에서, 우수한 진단 성능을 나타내는 바이오마커 조합물(예를 들어, 4 초과 ΔCt , 16배 초과 ΔCt 의 차이에 해당)은 풀링된 초기 HGSOC, 양성 부인과 종양 및/또는 염증성 병태에 대해서 제2 라운드의 스크리닝을 겪을 수 있다. 일부 실시형태에서, 초기 및 말기 HGSOC와 대조군 풀을 구별할 수 있는 상위 바이오마커 조합물(예를 들어, 가장 우수하게 기능하는 대략 20개의 바이오마커 조합물)을 추가로 평가할 수 있다.

[0640] 예시적인 검정(예를 들어, 본 명세서에 기술된 것)에 하나 이상의 추가 바이오마커 조합을 통합하면 감도를 향상시킬 수 있다. 실시예 7에서 언급된 바와 같이, 적어도 2개의 바이오마커 조합물을 이용함으로써, 검정의 개선된 성능(예를 들어, 98% 특이성에서 적어도 대략 80% 감도; 또는 99.5% 특이성에서 적어도 대략 70% 감도)이 달성될 수 있다. 풀링된 환자 샘플은 개별 환자 집단에 걸쳐 검정 신호를 근사화할 수 있으며, 이는 다수의 바이오마커 조합물을 효율적인 방식으로 평가하기 위한 현실적인 매트릭스를 제공할 수 있는 특성이다. 식별된 상위 바이오마커 조합물(예를 들어, 최대 20개의 바이오마커 조합물)을 개별 환자 혈장 기반 파일럿 연구에서 추가로 시험할 수 있다. 일부 실시형태에서, 개별 환자 혈장 기반 파일럿 연구는 폐경 전 또는 폐경 후인 대조군 환자, 무증상인 대조군 환자, 유증상인 대조군 환자, 양성 부인과 종양을 갖는 대조군 환자 및/또는 비-난소암 염증성 건강 병태를 갖는 대조군 환자를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 개별 환자 혈장 기반 파일럿 연구는 폐경 전 또는 폐경 후인 시험 환자, 유증상인 시험 환자, 무증상인 시험 환자, I기 또는 II기 HGSOC를 갖는 시험 환자 및/또는 III기 또는 IV기 HGSOC가 있는 환자를 시험한다. 비-HGSOC 건강 상태는 난소암 코호트와 연령-일치할 수 있다. 대조군 샘플(예를 들어, 건강한 대조군, 양성 부인과 종양 및/또는 다른 표적외 상태)은 유전적 위험 스크리닝 검정의 경우 98% 특이성(대략 95% CI: 95.3% 내지 100%) 및 유증상 트리아이징(triaging) 검정의 경우 99.5% 특이성(대략 95% CI: 98.1% 내지 100%)과 관련된 신호 컷오프를 설정하기 위해서 로그-정규 분포의 추정치를 제공할 수 있다고 예측될 수 있다. 독립성을 평가하기 위해 조합물 간의 이변량 연관성을 사용하여 바이오마커 조합물 성능 특징을 평가될 수 있으며, 상위 바이오마커 조합물을 난소암 예측을 위한 3-변수 로지스틱 회귀 모델을 사용하여 추가로 시험할 수 있다.

[0641] HGSOC 사례를 대조군과 구별하고 조합물 간의 오쏘고널리티를 식별할 수 있는 신규한 바이오마커 조합물을 확인할 수 있다. 이러한 오쏘고널리티는 HGSOC 사례를 대조군 코호트와 구별하는 데 도움이 될 수 있으며, 본 명세서에 기재된 예시적인 검정의 감도를 증가시킬 수 있다. 환자 코호트의 인종적 다양성을 평가하기 위해서, 다양한 집단의 공급업체로부터 샘플을 얻을 수 있다. 특정 실시형태에서, 예시적인 바이오마커 조합물은 특정 인종 및/또는 민족 군 특이적일 수 있다. 특정 실시형태에서, 다양한 인종 및/또는 민족 군에서 예시적인 바이오마커 조합물을 시험하는 것은 특정 인종 및/또는 민족 군에 대한 적절한 진단 값의 바이오마커 조합물을 식별할 수 있다.

[0642] 1차 환자 샘플에서 추가적인 난소암 바이오마커 조합물의 검증은 예시적인 검정의 진단 성능을 개선시킬 수 있다. 149명의 여성의 코호트에서, 본 명세서에 기재된 예시적인 검정은 2개의 바이오마커 조합물을 사용하여 98% 특이성에서 66.7% 감도 및 99.5% 특이성에서 63.9% 민감도를 달성하였다(실시예 7에 기재되고 도 21에 도시된 바와 같음). 추가적인 오쏘고널 바이오마커 조합물의 통합을 통해 검정 성능은 98% 특이성에서 80% 감도 및 99.5% 특이성에서 70% 감도를 초과하게 개선될 수 있다.

[0643] **실시예 9: 난소암의 검출을 위한 다른 바이오마커 조합물의 추가 평가**

[0644] 본 실시예에서, 10개의 상이한 바이오마커 조합물을 예를 들어, 폐경 후의 건강한 여성(예를 들어, 55세 내지 79세의 건강한 여성), 폐경 전의 건강한 여성(예를 들어, 20세 내지 54세의 여성), 진행성 HGSOC(예를 들어, III기 및 IV기 HGSOC 사례)를 갖는 여성, 초기 HGSOC(예를 들어, I기 및 II기 HGSOC 사례)를 갖는 여성, 양성 부인과 종양을 갖는 여성(예를 들어, 양성 부인과 성장을 갖는 여성) 및/또는 염증성 질환, 장애 또는 병태를 갖는 여성(예를 들어, 자궁내막증, 크론병, 궤양성 대장염 등을 갖는 여성) 및/또는 기타 염증성 질환을 포함하는 염증성 질환을 갖는 여성)을 포함하는 다양한 환자 샘플을 사용하여 평가하였다. 도 22는 대조군 대상체(예를 들어, 건강한 여성 대상체 및/또는 양성 부인과 종양 및/또는 염증성 병태를 갖는 대상체)와 난소암 환자를 구별하기 위한 개별 예시적인 바이오마커 조합물을 포함하는 본 명세서에 기재된 예시적인 검정(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같음)의 성능을 도시한다. 예시적인 개별 바이오마커 조합물을 하기 표 6에 제시한다.

표 6

포획 프로브와 검출 프로브의 특정 예시적인 조합물.

포획 프로브의 표적	검출 프로브 1의 표적	검출 프로브 2의 표적
SLC34A2	MUC16	MUC16
SLC34A2	FOLR1	FOLR1
SLC34A2	MUC16	FOLR1
MUC16	MUC16	MUC16
MUC16	MUC16	FOLR1
MUC16	MUC16	CLDN3
MUC16	FOLR1	CLDN3
MUC16	MUC16	CLDN6
MUC16	FOLR1	FOLR1
LRRTM1	MUC16	MUC16

[0645]

[0646] 도 23 내지 도 28은 상기 표에 제시된 특정 바이오마커 조합을 포함하는 예시적인 검정(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같음)의 성능을 도시한다. 각각의 검정에서, (i) 건강한 대조군 대상체 및 염증성 병태를 갖는 대상체(예를 들어, 분포에서 건강한 대상체의 99.83%를 제외하기 위해서)의 평균으로부터의 2.93 표준 편차 또는 (ii) 건강한 대조군 대상체로부터의 최대 검정 신호 중 덜 제한적인 것을 선택함으로써 컷오프 값을 결정하였다. 일부 실시형태에서, 양성 난소 종양 샘플은 건강한 대조군 대상체 및/또는 염증성 병태(예를 들어, 크론병, 궤양성 대장염, 자궁내막증 등)를 갖는 대상체보다 표적의 신호에 대한 우려가 적을 수 있다. 따라서, 일부 이러한 실시형태에서, 양성 난소 종양 샘플은 컷오프 값을 결정하기 위해서 포함되지 않을 수 있다. 도 33 내지 도 36은 상기 표에 제시된 특정 바이오마커 조합을 포함하는 추가의 예시적인 검정(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같이 기능함)의 성능을 도시한다.

[0647] 시험된 바이오마커 조합물 중에서, 도 29는 3개의 선택된 바이오마커 조합물의 성능(감도 포함)을 도시하는데, 이것은 다음과 같다: (패널 A) SLC34A2에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 MUC16에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트; (패널 B) SLC34A2에 지향되는 포획제 및 FOLR1에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트; 및 (패널 C) MUC16에 지향되는 포획제 및 MUC16에 지향되는 적어도 제1 검출 프로브와 FOLR1에 지향되는 제2 검출 프로브의 세트. 도면에 도시된 바와 같이, 각각의 개별 검정은 적어도 50% 또는 그 초과 감도를 달성하였다.

[0648] 난소암 검출 검정의 감도를 추가로 증가시키기 위해서, 본 명세서에 기재된 적어도 2개의 바이오마커 조합의 조합물이 사용될 수 있다. 예를 들어, 도 29에 도시된 바와 같이 3가지 바이오마커 조합물을 모두 사용할 때(즉, 샘플이 3가지 개별 바이오마커 조합물 모두의 컷오프를 포함하는 분류 컷오프를 충족하거나 초과하는 경우에만 난소암의 양성 표시), 이러한 검정의 감도가 개선된다 - 난소암 I기 환자: 83.3%; 난소암 II기 환자: 83.3%; 난소암 III기 환자: 90.0%; 난소암 IV기 환자: 71.4%; 저 혈청 CA-125 수준을 갖는 난소암 환자: 71.4%; 양성 난소 종양을 갖는 여성: 30.0%; 및 건강한 대상체: 0.8%. 이는 2개 이상의 바이오마커 조합물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같음)의 사용이 적어도 80 내지 81%의 검정 감도 및 적어도 99.2% 또는 그 초과(최대 100% 특이성)의 검정 특이성을 달성할 수 있음을 나타낸다.

- [0649] 도 30 내지 도 32는 특정 바이오마커 조합물을 사용하는 예시적인 검정(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은)의 능력이 정상 혈청 CA-125(예를 들어, 35 U/ml 미만)를 갖는 난소암 환자를 검출할 수 있다(그렇지 않았으면 종래의 혈청 CA-125 검정에서 누락하였을 것임)는 것을 입증한다. 또한, 이 결과는 바이오마커 조합물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은)이 혈청 CA-125가 상승된 많은 비-난소암 환자(예를 들어, 양성 부인과 종양이 있는 환자)와 난소암 환자를 구별할 수 있음(그렇지 않았으면 난소암을 갖는다고 잘못 진단하였을 것임)을 나타낸다. 이러한 결과는 혈청 CA-125가 여성의 난소암 위험과 반드시 상관관계가 있는 것은 아니지만, 본 명세서에 제공된 기술은 혈청 CA-125 수준과 무관하게 난소암 대상을 성공적으로 식별할 수 있다는 것을 나타낸다.
- [0650] **실시예 10: 예시적인 난소암 액체 생검 검정의 검증**
- [0651] 본 실시예는 추가 집단/코호트에서 예시적인 난소암 액체 생검 검정의 검증에 관한 것이다. 환자 샘플의 추가 코호트를 사용하여 본 명세서에 기재된 바와 같은 예시적인 난소암 진단 검정을 평가하기 위한 독립적인 검증 연구를 수행할 수 있다. 샘플은 적절한 공급원으로부터 얻을 수 있다. 기술 전문가를 임의의 결과 분석 전에 샘플 지정에 대해 맹검하고/하거나 검정 결과를 외부의 독립적인 기술 전문가에 의해서 분석한다. 미국 인구를 대표하는 집단으로부터의 샘플링을 보장하기 위해서, 샘플 가용성에 따라서 샘플의 적어도 대략 20%를 비백인 인종에서 확보할 수 있다(미국 인구 조사국, 2018).
- [0652] 특정 실시형태에서, 분석된 환자 코호트는 다음을 포함할 수 있다: 임의의 위험 감소 수술을 수행하기 전에 난소암에 대한 유전적 위험이 있는 환자(예를 들어, 난소암의 가족 사례가 있는 환자) 및/또는 양측 자궁관 난소 절제술 또는 유사한 수술을 받지 않은 BRCA1 또는 BRCA2 병리학적 변이체 보유자, 복통과 연관된 만성 질환을 갖는 폐경 후 여성(예를 들어, 만성 염증성 질환을 갖는 54세 초과의 여성), 양성 부인과 종양을 갖는 환자 및/또는 HGSOC를 갖는 환자(예를 들어, I/II기 난소암을 갖는 개체 및 III/IV기 난소암을 갖는 개체). 특정 실시형태에서, 바이오마커 조합물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)은 유전적 위험이 있는 여성의 경우 대략 98% 특이성(95% CI: 95.5% 내지 100%)에서 적어도 대략 80% 감도(95% CI: 68.7% 내지 91.3%)를 제공할 수 있다. 특정 실시형태에서, 바이오마커 조합물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것)은 폐경 후 유증상 여성의 경우 대략 99.5% 특이성 (95% CI: 98.2% 내지 100%)에서 적어도 대략 70% 감도(95% CI: 57% 내지 83%)를 제공할 수 있다. 더욱이, 특정 실시형태에서, 예시적인 검정은 양성 종양을 갖는 여성과 HGSOC를 갖는 여성을 구별할 수 있기 때문에, 위양성을 거의 생성시키지 않을 수 있다.
- [0653] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 예시적인 검정의 추가 검증 연구는 독립적인 공급원으로부터 종방향으로 수집된 샘플을 사용하여 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 샘플은 난소암 사례로부터 종방향으로 수집된 채혈(예를 들어, 시간적으로 별개의 시점에서 수집된 채혈)로부터 얻거나 유래될 수 있다. 또한 연령-일치 대조군의 채혈을 분석할 수 있다. 98% 특이성 컷오프에 대한 예시적인 로지스틱 회귀 모델을 사용하여, 진단 몇 년 전에 평가가 이루어질 수 있고(예를 들어, 그러나 난소암 진단 전 몇 년 동안 채혈이 가능함), 예시적인 검정은 98%의 연간 특이성을 유지하면서 난소암을 검출할 수 있다. 대조군 샘플에서 특이성을 98%로 유지하면서, 진단 전 연도의 함수로 검정 감도를 계산할 수 있다.
- [0654] 일부 실시형태에서, 진단 시기에 수집된 샘플의 경우 대략 98% 특이성(95% CI: 93.8% 내지 100%)에서 HGSOC에 대해서 적어도 대략 80%의 감도(95% CI: 63.3% 내지 96.7%)가 예측될 수 있다. 난소암 종양이 4년 이상 동안 I/II기 질환으로 존재하는 것으로 나타났음을 고려할 때(문헌[Brown and Palmer, 2009]), 예시적인 검정은 임상 진단 2년 전에 HGSOC에 대해서 적어도 대략 60% 감도(95% CI: 39.5% 내지 80.5%)를 달성한다고 예측될 수 있다. 이것은 임상 진단 2년 전에 이 고위험 환자 코호트에서 23.3%의 PPV에 해당하며, 유전 위험이 있는 여성에 대한 현재 치료 표준보다 훨씬 우수한 PPV이다.

[0655] 인용된 참고 문헌

- Balaj, L., Lessard, R., Dai, L., Cho, Y.J., Pomeroy, S.L., Breakefield, X.O. and Skog, J., 2011. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences. *Nature communications*, 2, p.180.
- Bebelman, M.P., Smit, M.J., Pegtel, D.M., and Baglio, S.R., 2018. Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 188, pp.1-11.
- Brett M. Reid, Jennifer B. Permuth, Thomas A. Sellers., 2017. Epidemiology of ovarian cancer: a review, *Cancer Biol Med* 2017. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084
- Buys, S.S., Partridge, E., Black, A., Johnson, C.C., Lamerato, L., Isaacs, C., Reding, D.J., Greenlee, R.T., Yokochi, L.A., Kessel, B. and Crawford, E.D., 2011. Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) cancer screening randomized controlled trial. *Jama*, 305(22), pp.2295-2303.
- Darmanis, S., Nong, R.Y., Hammond, M., Gu, J., Alderborn, A., Vanelid, J., Siegbahn, A., Gustafsdottir, S., Ericsson, O., Landegren, U. and Kamali-Moghaddam, M., 2010. Sensitive plasma protein analysis by microparticle-based proximity ligation assays. *Molecular & cellular proteomics*, 9(2), pp.327-335.
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2016, National Cancer Institute. Bethesda, MD,

[0656]

https://seer.cancer.gov/csr/1975_2016/, based on November 2018 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2019.

- Im, H., Shao, H., Park, Y.I., Peterson, V.M., Castro, C.M., Weissleder, R. and Lee, H., 2014. Label-free detection and molecular profiling of exosomes with a nano-plasmonic sensor. *Nature biotechnology*, 32(5), p.490.
- Jeong, S., Park, J., Pathania, D., Castro, C.M., Weissleder, R. and Lee, H., 2016. Integrated magneto-electrochemical sensor for exosome analysis. *ACS nano*, 10(2), pp.1802-1809.
- Shao, H., Im, H., Castro, C.M., Breakefield, X., Weissleder, R. and Lee, H., 2018. New technologies for analysis of extracellular vesicles. *Chemical reviews*, 118(4), pp.1917-1950.
- Sun, L., Brentnall, A., Patel, S., Buist, D.S., Bowles, E.J., Evans, D.G.R., Eccles, D., Hopper, J., Li, S., Southey, M. and Duffy, S., 2019. A cost-effectiveness analysis of multigene testing for all patients with breast cancer. *JAMA oncology*.
- Torre, L.A., Trabert, B., DeSantis, C.E., Miller, K.D., Samimi, G., Runowicz, C.D., Gaudet, M.M., Jemal, A. and Siegel, R.L., 2018. Ovarian cancer statistics, 2018. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(4), pp.284-296.
- Ursula A. Matulonis, Anil K. Sood, Lesley Fallowfield, Brooke E. Howitt, Jalid Sehouli and Beth Y. Karlan. Ovarian Cancer. *Nature Reviews Disease Primers* 2016 Aug 25;2:16061. Doi: 10.1038/nrdp.2016.61

[0657]

[0658] 등가물

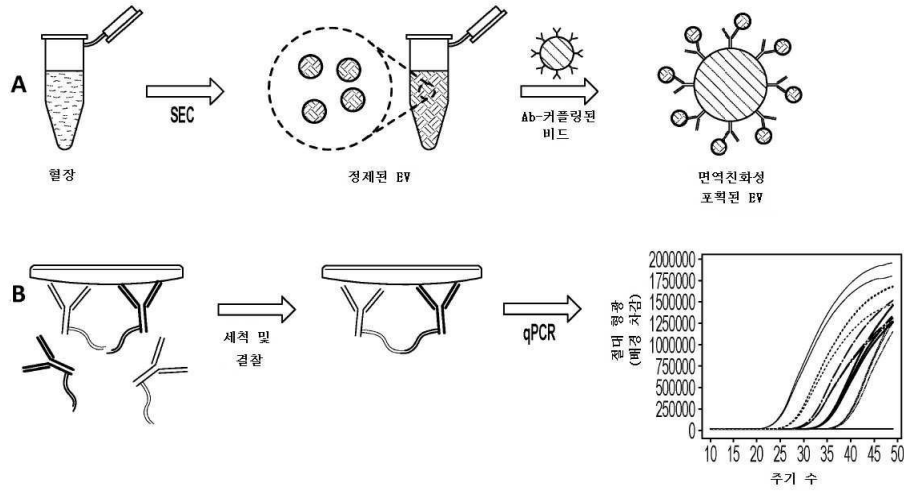
[0659]

당업자는 일상적인 실험을 사용하여 본 명세서에 기재된 본 발명의 특정 실시형태에 대한 다수의 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 달리 제시되지 않거나 모순이나 불일치가 발생할 것이라는 것이 당업자에게 명백하지 않는 한, 본 발명은 열거된 청구범위 중 하나 이상으로부터의 하나 이상의 제한, 요소, 조항, 설명 용어 등이 동일한 기준 청구범위(또는 관련되는 경우 다른 청구범위)에 종속된 또 다른 청구범위에 도입되는 모든 변형, 조합 및 순열을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본 발명의 임의의 실시형태 또는 양상은 본 명세서에서 특정 배제가 인용되는지 여부에 관계없이 청구범위에서 명시적으로 배제될 수 있음을 이해해야 한다. 본

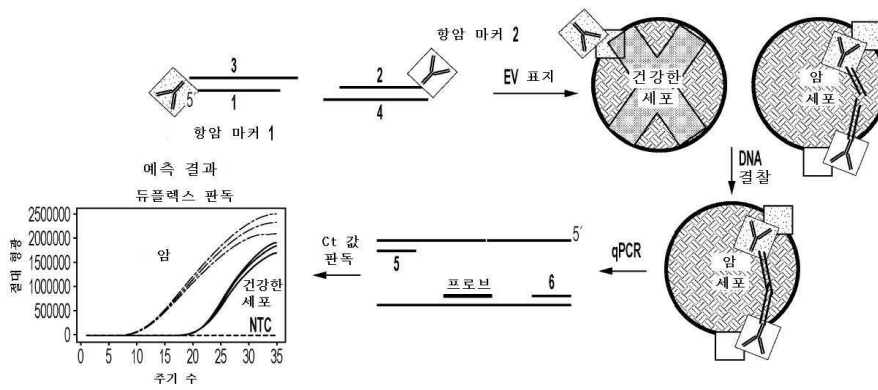
발명의 범주는 상기 설명으로 제한되도록 의도되지 않고, 오히려 하기 청구범위에 기재된 바와 같다.

도면

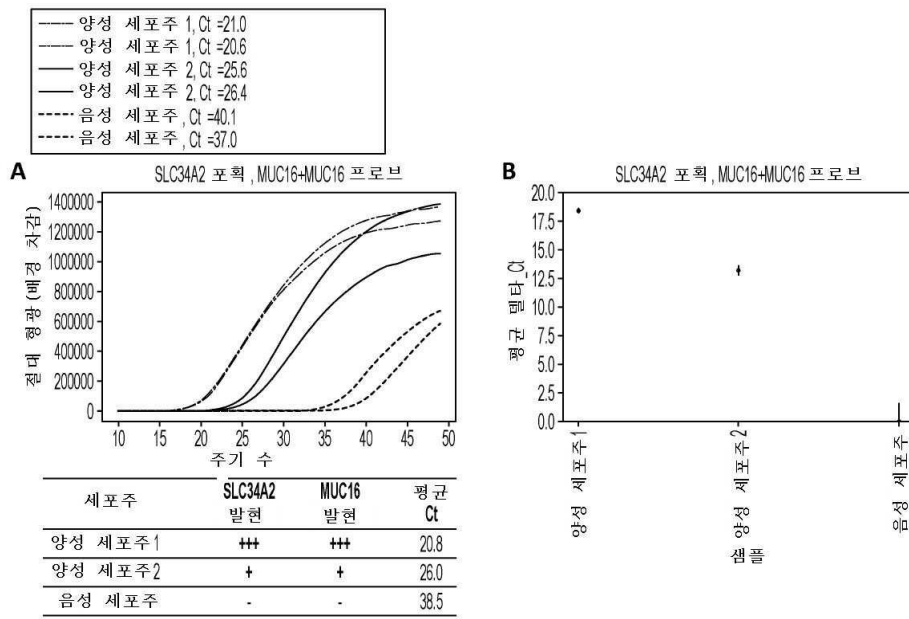
도면1



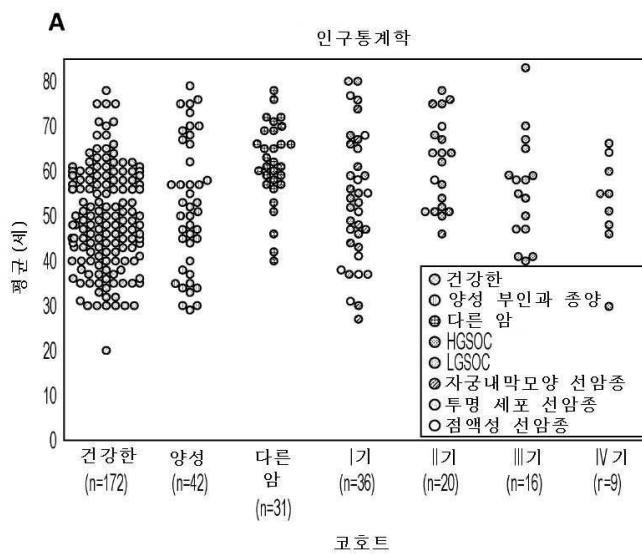
도면2



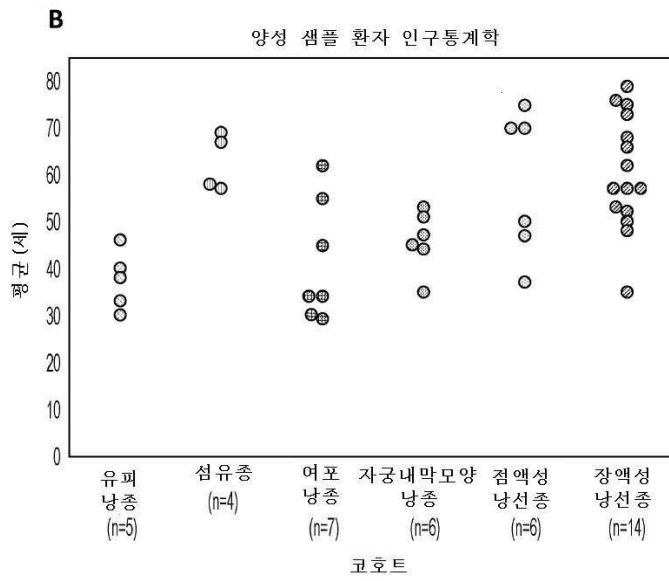
도면3



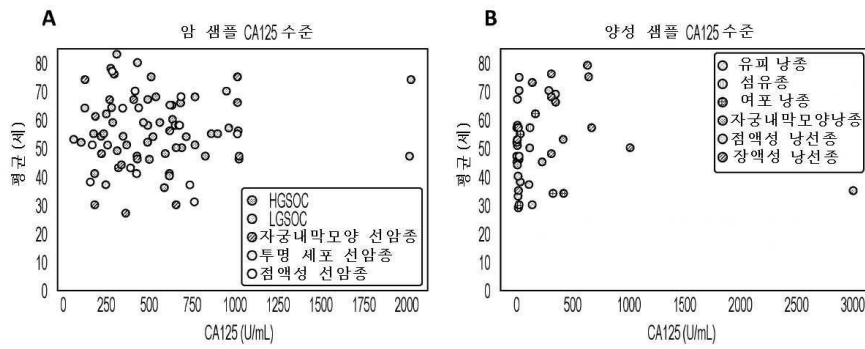
도면4a



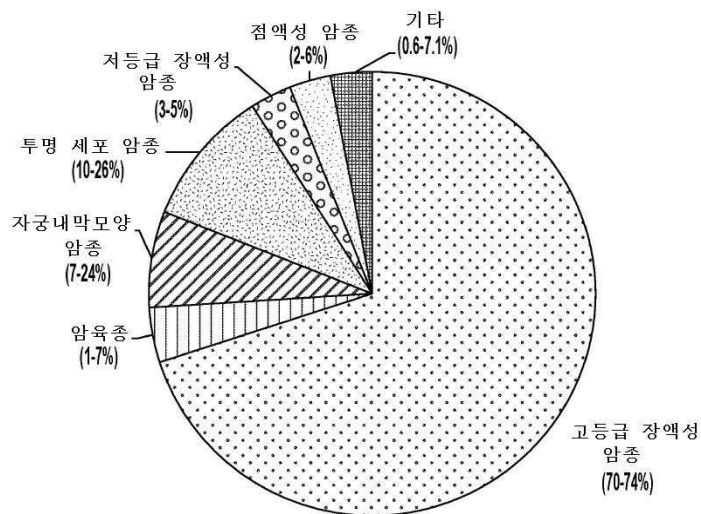
도면4b



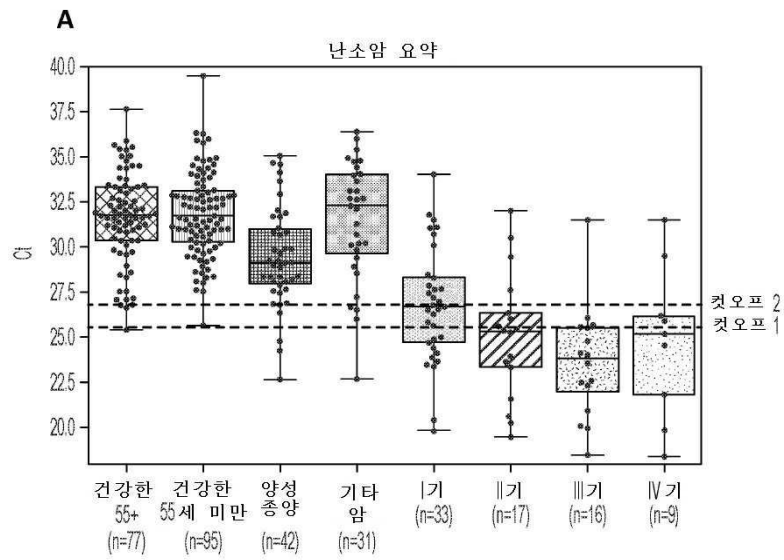
도면5



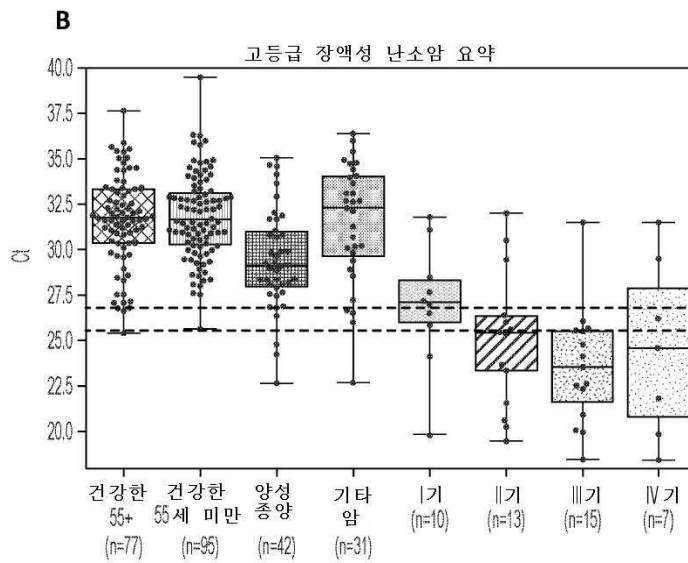
도면6



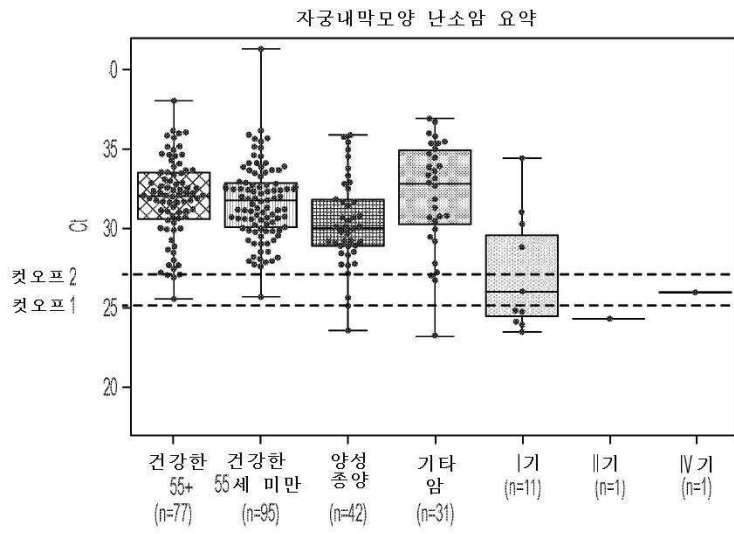
도면7a



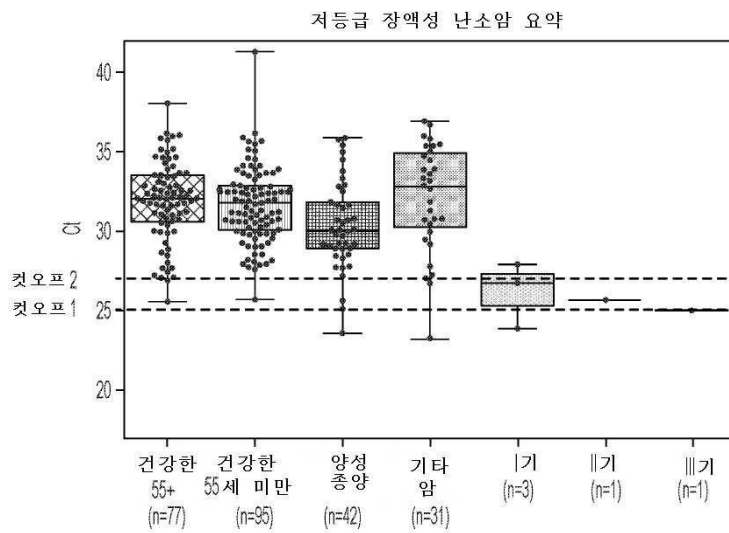
도면7b



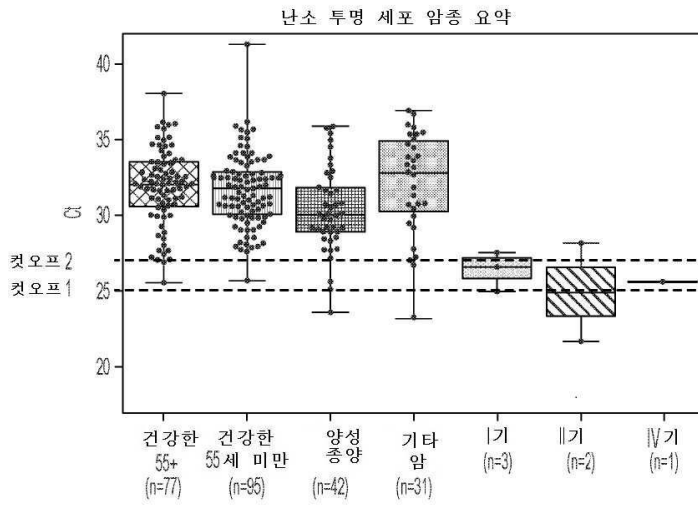
도면8



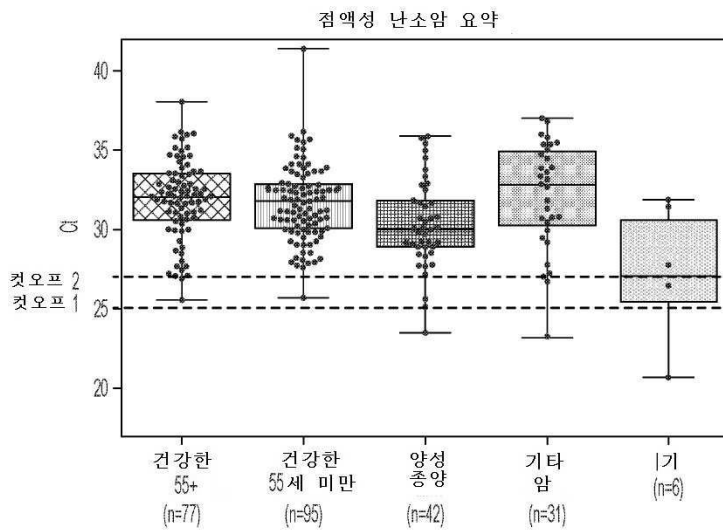
도면9



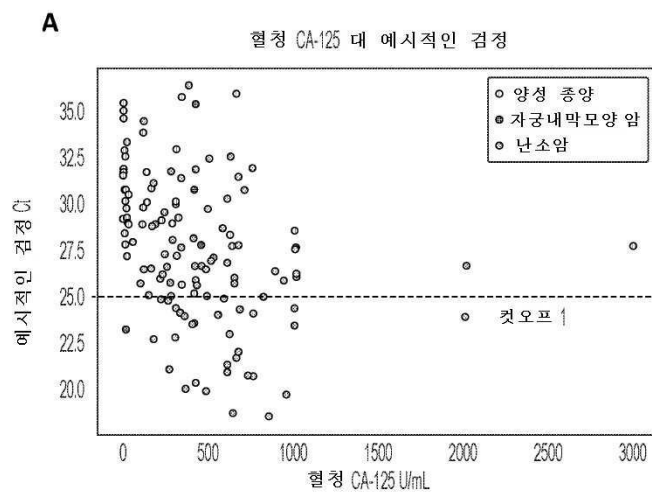
도면10



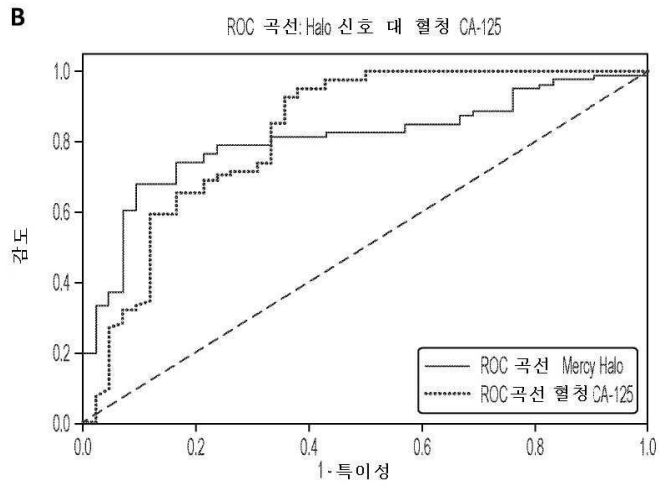
도면11



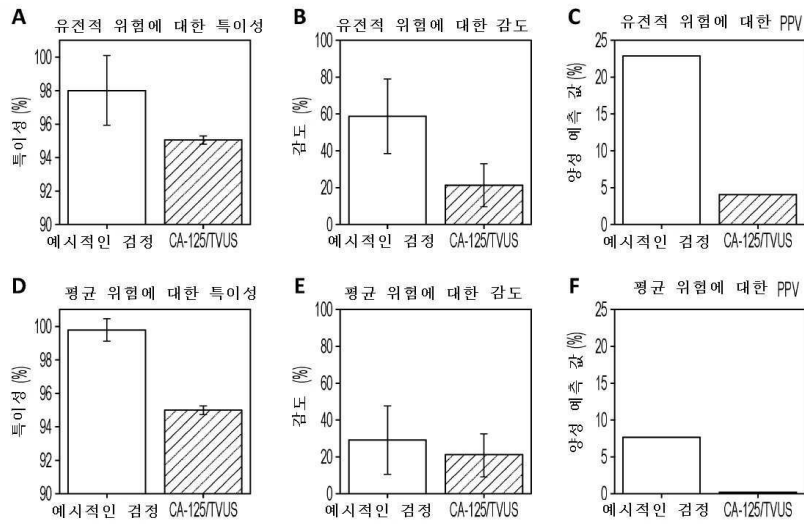
도면12a



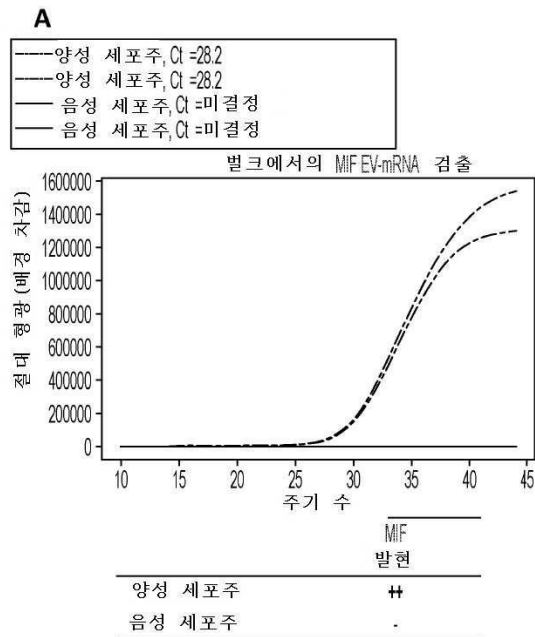
도면12b



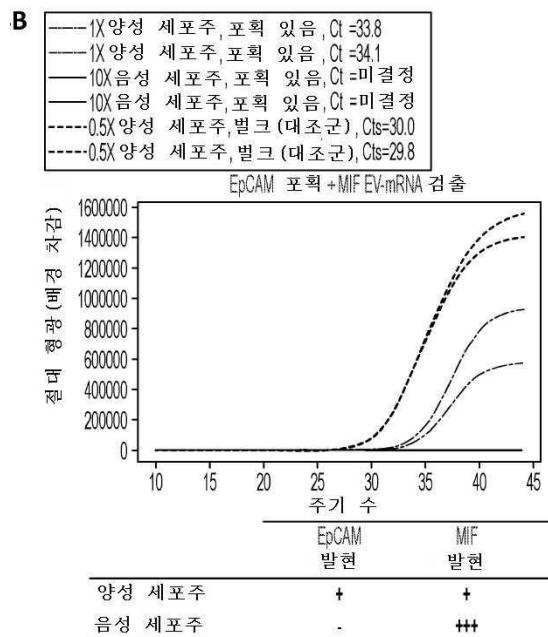
도면13



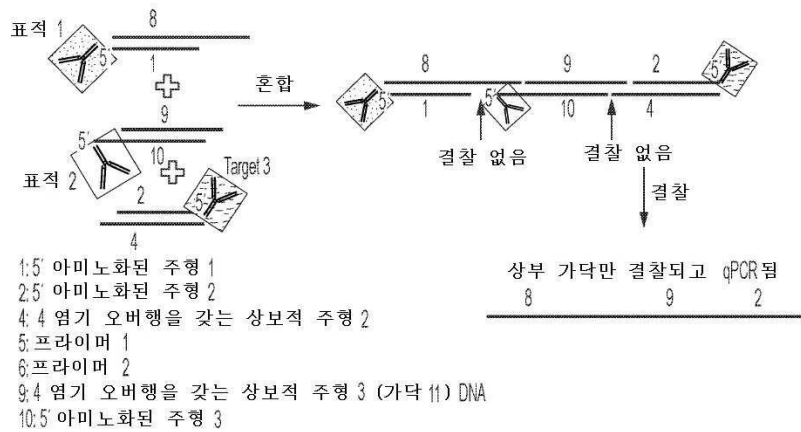
도면14a



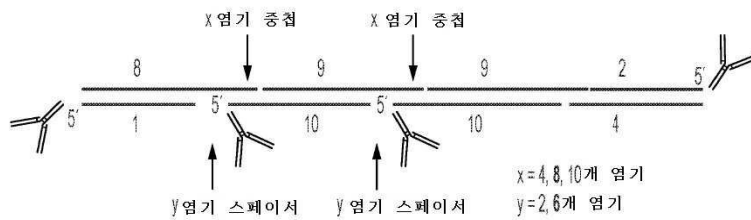
도면14b



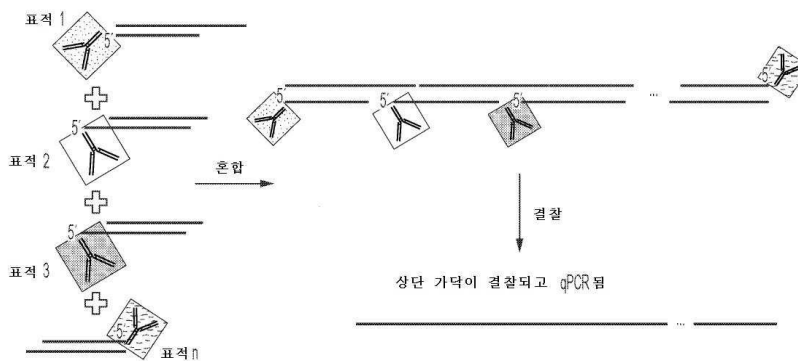
도면15



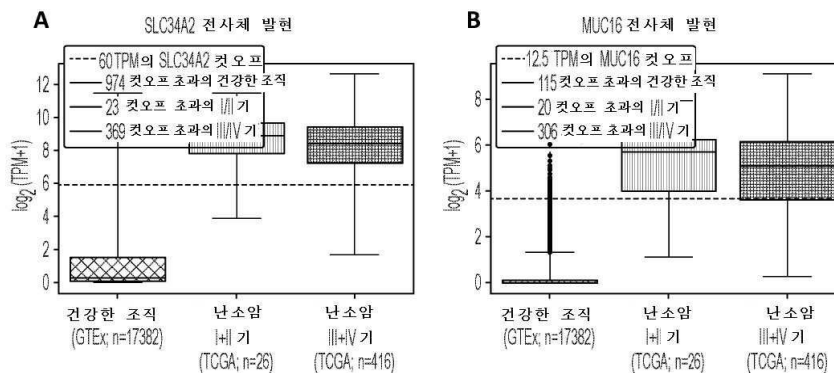
도면16



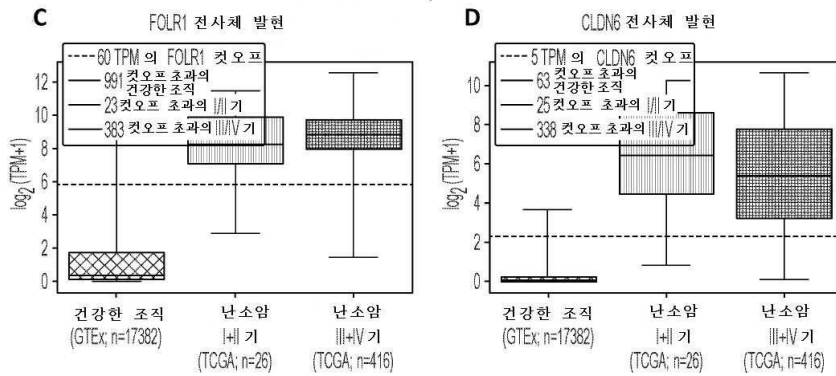
도면17



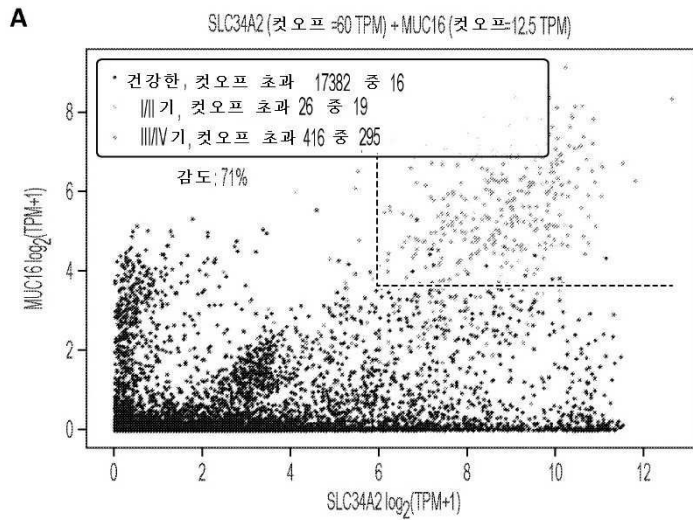
도면18ab



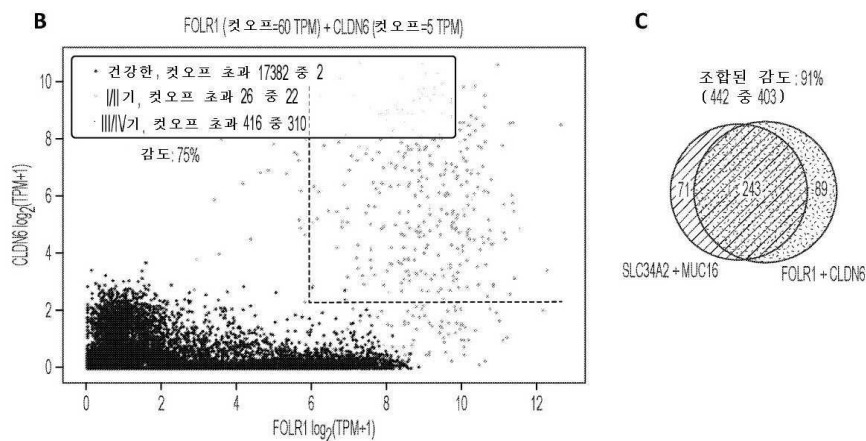
도면18cd



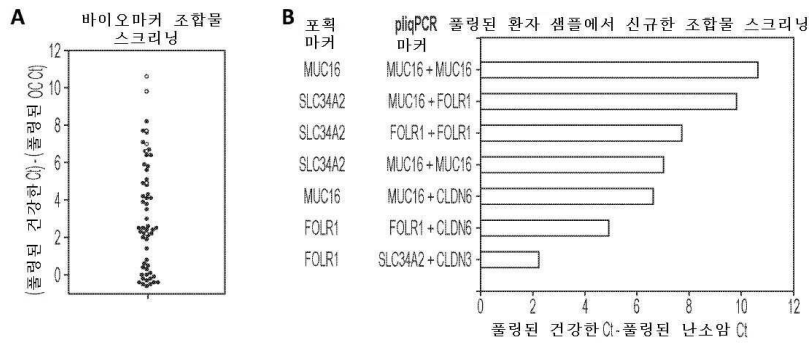
도면19a



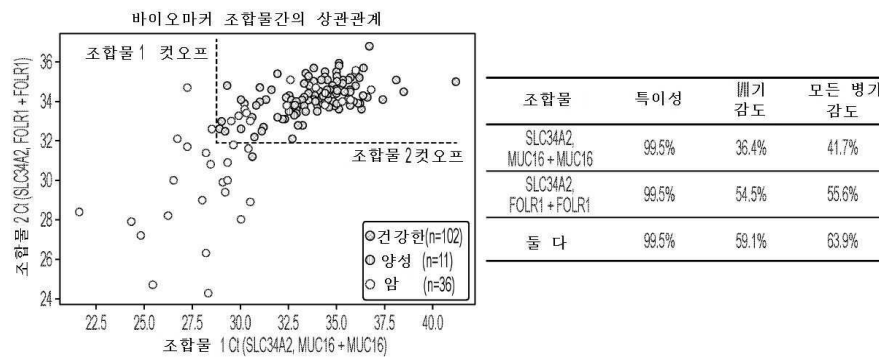
도면19bc



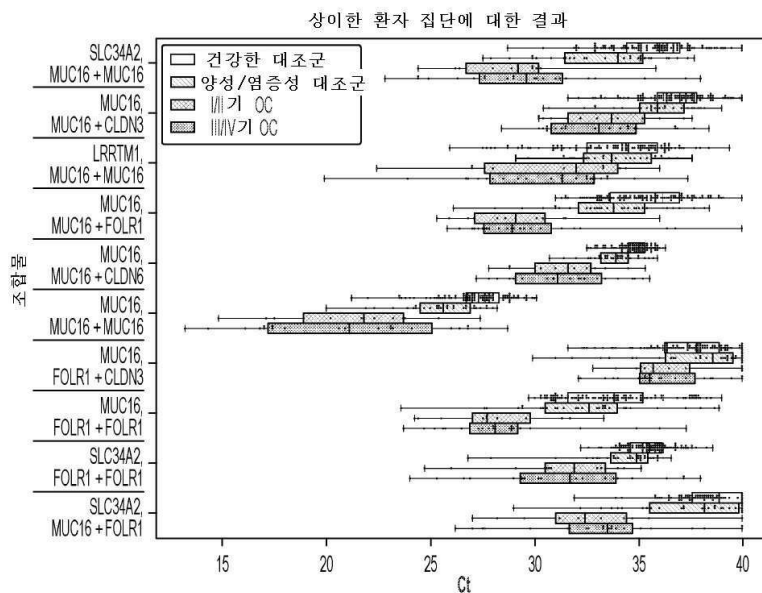
도면20ab



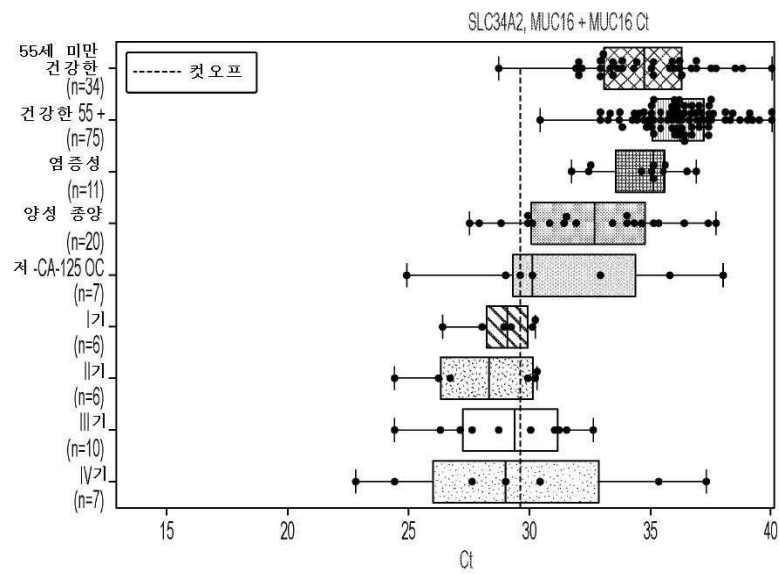
도면21



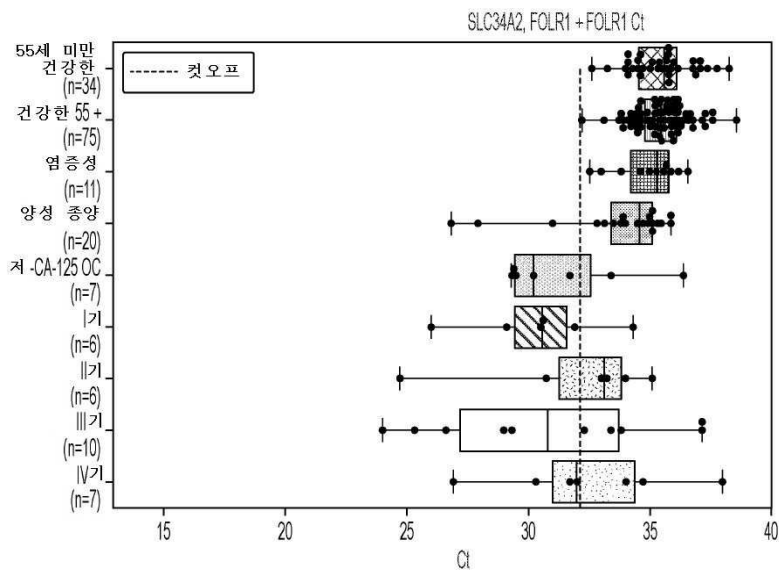
도면22



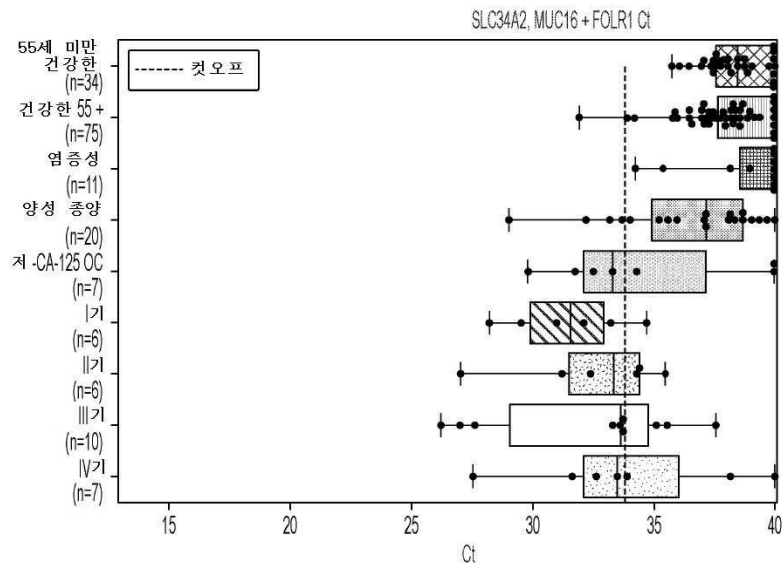
도면23



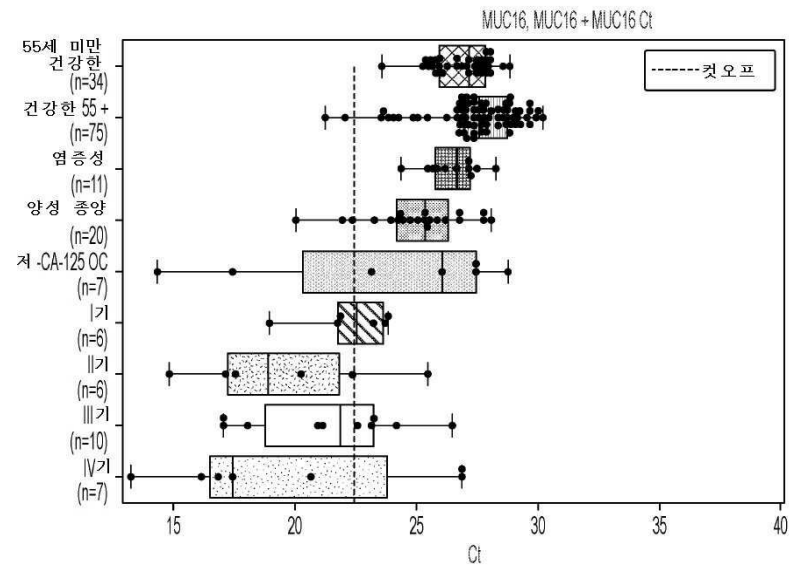
도면24



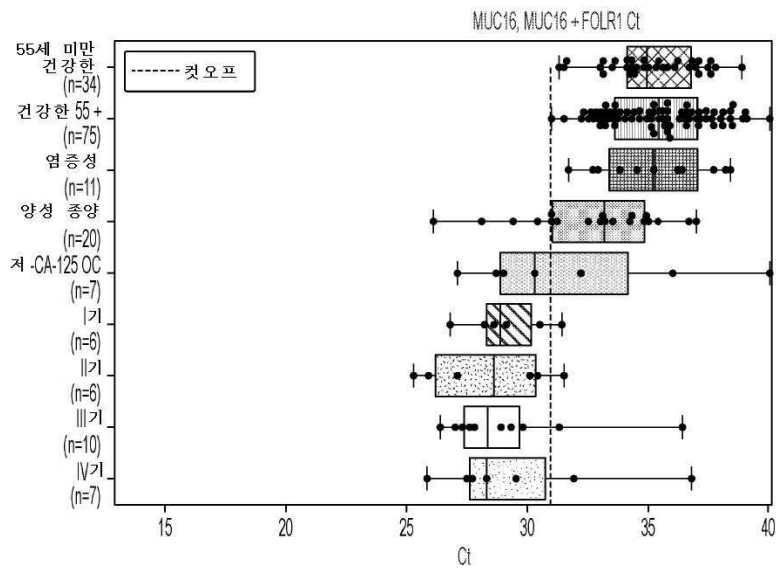
도면25



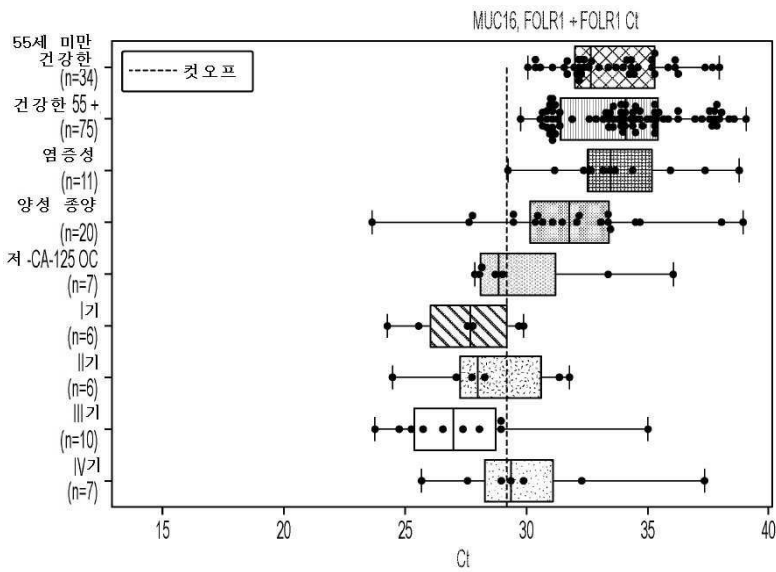
도면26



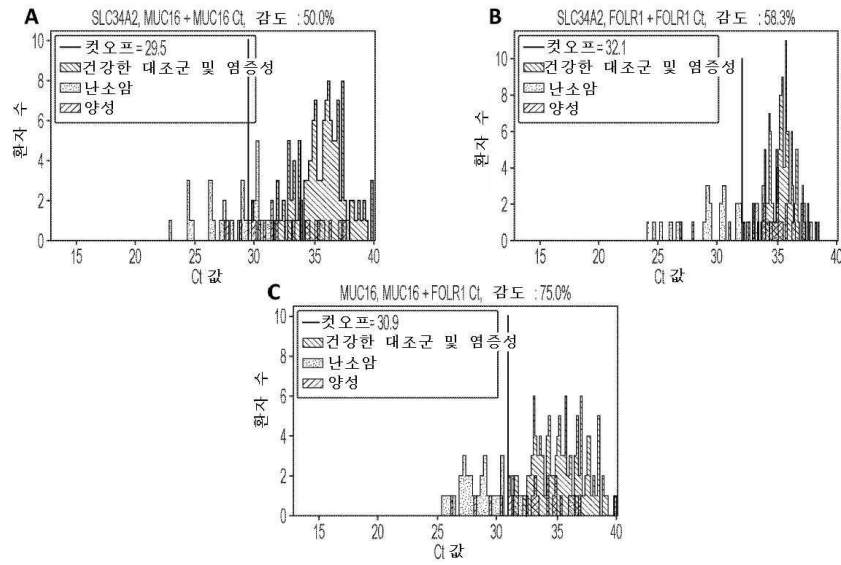
도면27



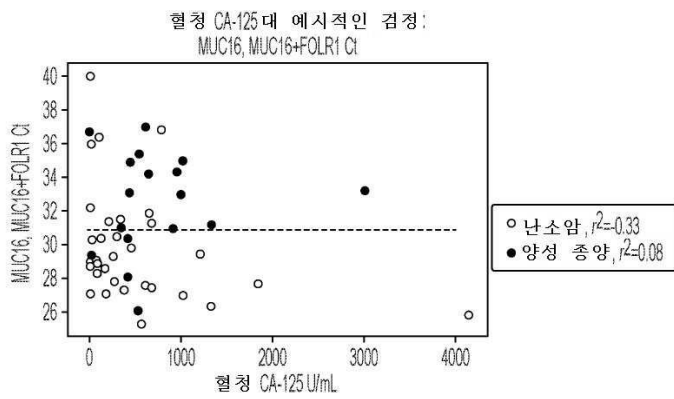
도면28



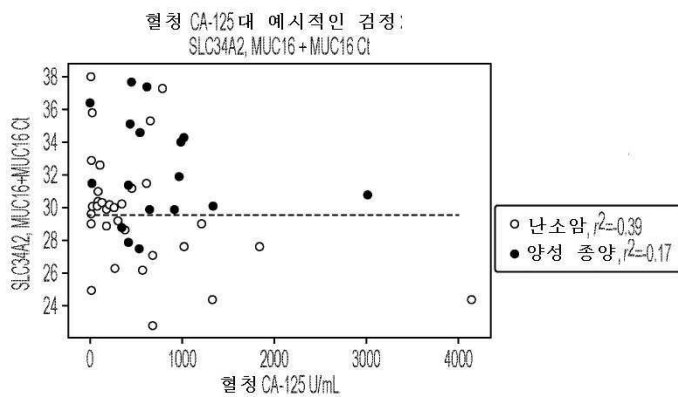
도면29



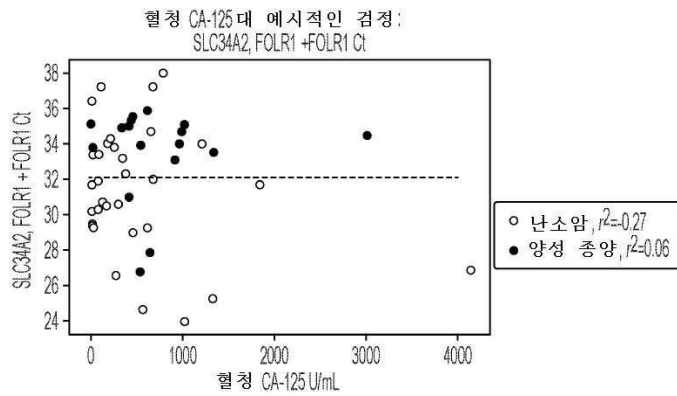
도면30



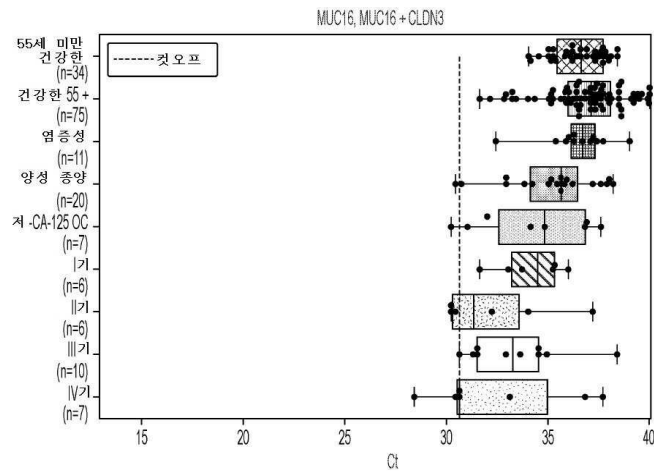
도면31



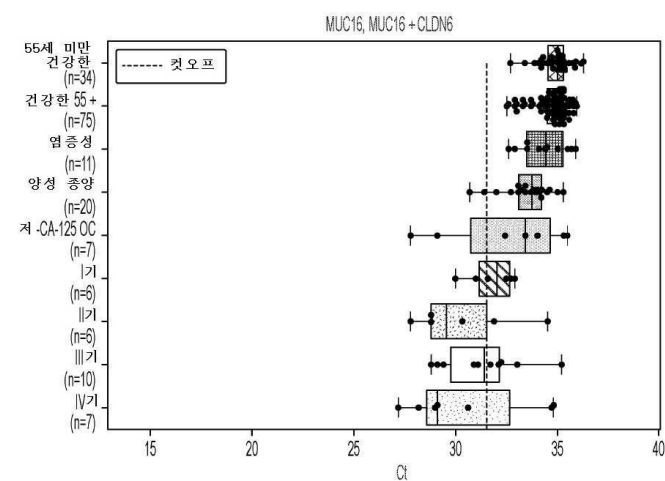
도면32



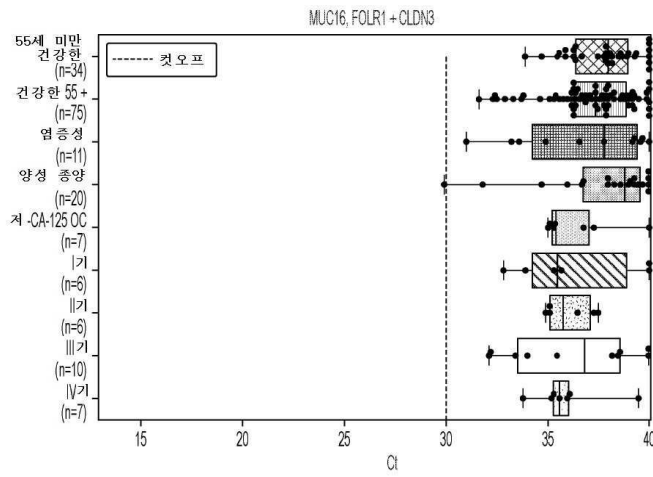
도면33



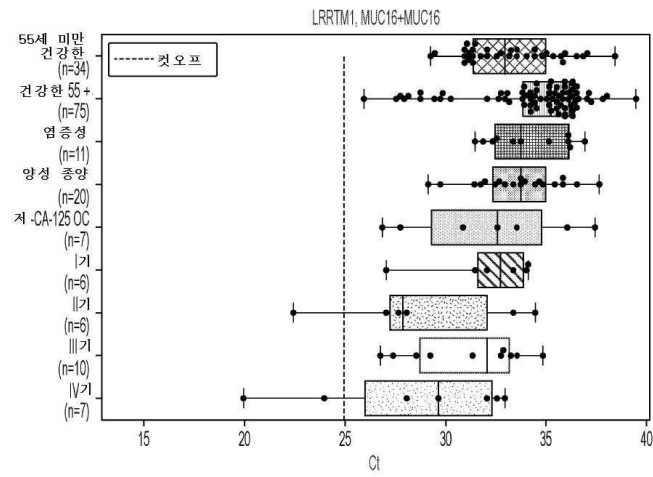
도면34



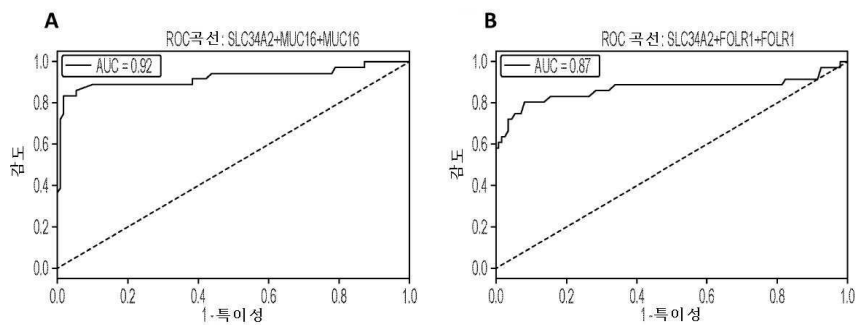
도면35



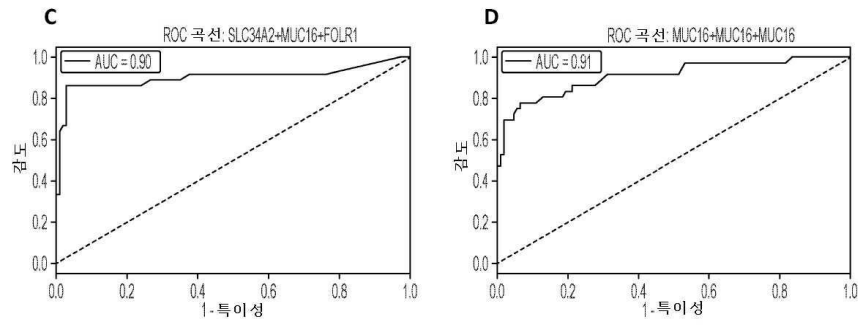
도면36



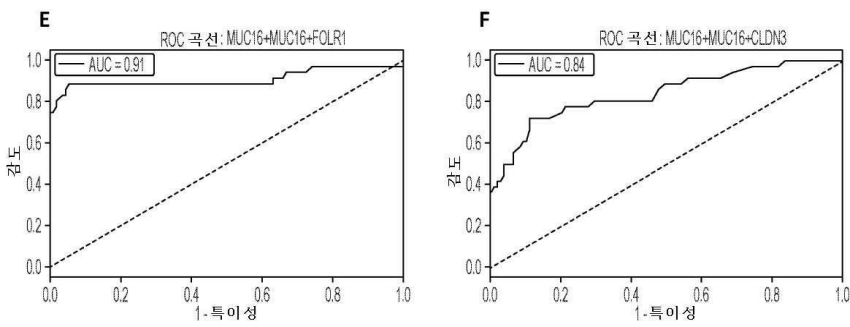
도면37ab



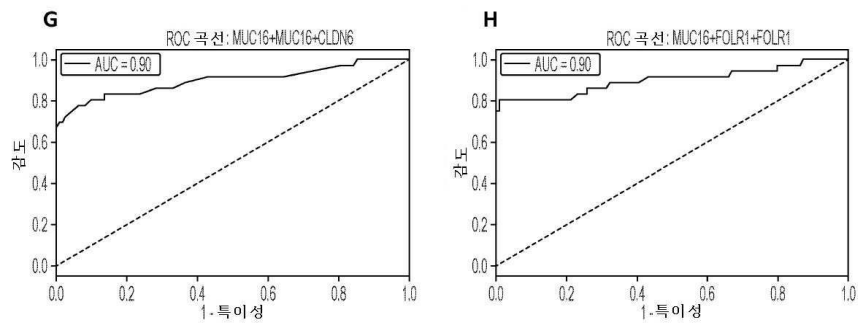
도면37cd



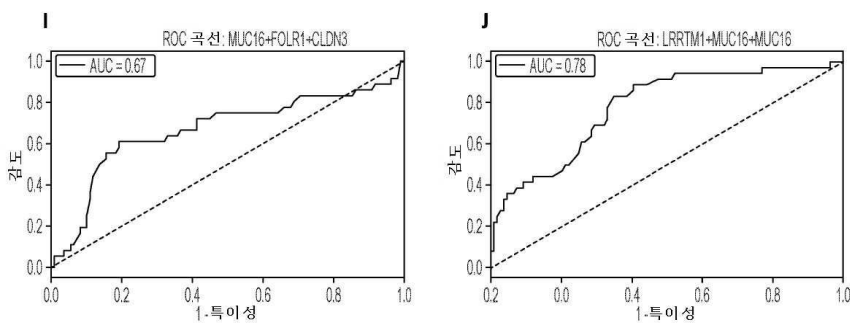
도면37ef



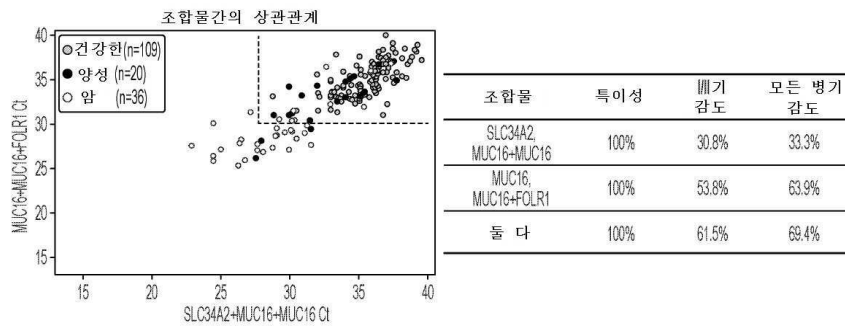
도면37gh



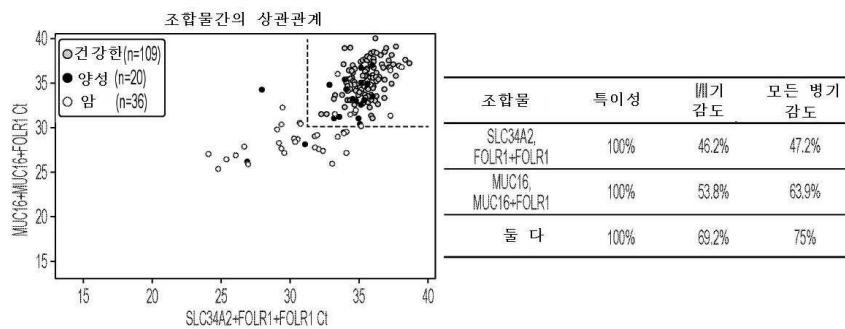
도면37ij



도면38



도면39



서열 목록

<110> MERCY BIOANALYTICS, INC.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR DETECTION OF OVARIAN CANCER

<130> WO/2021/146659

<140> PCT/US2021/013776

<141> 2021-01-16

<150> US 63/049,063

<151> 2020-07-07

<150> US 62/962,711

<151> 2020-01-17

<160> 17

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 1
cagctcgaca cagcagtcgt taatcgtcgc tgctaccctt gacatccgtg actggctaga 60

cagaggtgt 69
<210> 2
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 2
gacctgacct acagtgacca tagccttgcc tgattagcca ctgtccagtt tggctcctgg 60
tctcactag 69
<210> 3
<211> 73
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 3
gagtacacct ctgtctagcc agtcacggat gtcaagggtg gcagcgacga ttaacgactg 60
ctgtgtcaga ctg 73
<210> 4
<211> 73
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 4
actcctagtg agaccaggag ccaaactgga cagtggtctaa tcaggcaagg ctatgggtcac 60
tgtaggtcag gtc 73
<210> 5
<211> 20
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 5

cagtctgaca cagcagtcgt 20

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 6

gacctgacct acagtgacca 20

<210> 7

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

probe

<400> 7

agaggtgtac tcctagtgag a 21

<210> 8

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 8

cagtctgact caccactcgt taatcgtcgc tgctaccctt gacatccgtg actggctaga 60

cagaggtgt 69

<210> 9

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 9

caccagacct acgaagtcca tagccttgcc tgattagcca ctgtccagtt tggctcctgg 60

tctcactag 69

<210> 10

<211> 73

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 10

gagtacacct ctgtctagcc agtcacggat gtcaagggtg gcagcgacga ttaacgagtg 60

gtgagtcaga ctg 73

<210> 11

<211

> 73

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 11

actcctagtg agaccaggag ccaaactgga cagtggctaa tcaggcaagg ctatggactt 60

cgtaggtctg gtg 73

<210> 12

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 12

cagtctgact caccactcgt 20

<210> 13
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 13
 caccagacct acgaagtcca 20
 <210> 14
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 14
 cagtctgaca cagcagtcgt gactggctag acagaggtgt 40
 <210> 15
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 15
 gacctgacct acagtgacca ttggctcctg gtctcactag 40
 <210> 16
 <211> 44
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 16
 gagtacacct ctgtctagcc agtcacgact gctgtgtcag actg 44
 <210> 17
 <211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 17

actcctagtg agaccaggag ccaatgggtca ctgtaggtca gggtc

44