



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년06월28일
(11) 등록번호 10-1872457
(24) 등록일자 2018년06월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6883 (2018.01) C12Q 1/689 (2018.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6883 (2018.05)
C12Q 1/689 (2018.05)
(21) 출원번호 10-2018-0046321
(22) 출원일자 2018년04월20일
심사청구일자 2018년04월20일
(56) 선행기술조사문헌
KR101831416 B1
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
김영주
서울특별시 양천구 목동서로 38, 120동 902호(목동, 목동신시가자아파트1단지)
유영아
서울특별시 광진구 뚝섬로 510, 401호(자양동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 12 항

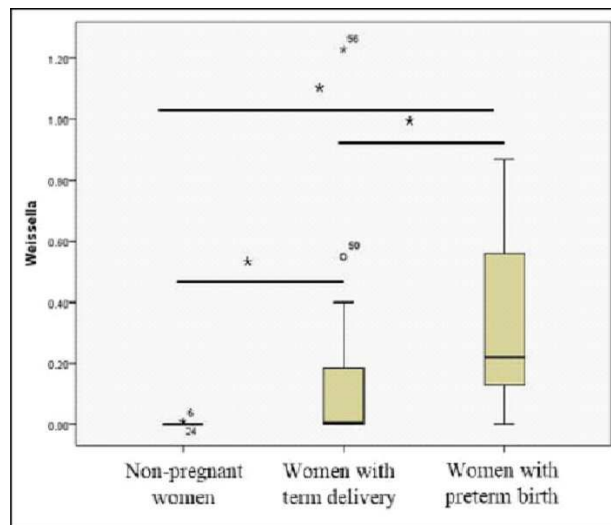
심사관 : 김승범

(54) 발명의 명칭 혈액 내 미생물 군집의 변화를 이용한 조산 위험성의 예측

(57) 요약

본 발명은 혈액 내 마이크로바이옴의 변화를 이용한 조산의 예측에 관한 것으로서, 더욱 자세하게는 산모의 혈액 내 바이셀라 속, 썬마세토지니움 속, 페칼리박테리움 속, 클로스트리디움 속, 또는 락토바실러스 속 균주를 검출함으로써 조산의 위험성 진단용 조성물을 제공하는 것이다.

대표도 - 도4a



- (52) CPC특허분류
C12Q 2531/113 (2013.01)
- (72) 발명자
이경주
서울특별시 서대문구 통일로26길 17, 101동 1401호(홍제동, 인왕산어울림아파트)
- 두지은**
경기도 용인시 수지구 정평로 63, 504동 1102호(풍덕천동)
- 권은진**
경상북도 경주시 초당길43번길 23, 가동 1005호(동천동, 동원아파트)
- 박미혜**
서울특별시 양천구 안양천로 1071, 이대목동병원 산부인과(목동)
- (56) 선행기술조사문헌
W02016000539 A1
W02015259728 A1
Scientific Reports, 4:5136 (2014)
Scientific Reports, 7:9212 (2017)
AIMS Microbiology, 2(1):55-68 (2016)
Journal of Clinical Microbiology, 32(1):176-186 (1994)
Clinical Chemistry, 63(11):1695-1704 (2017)
BMC Medicine, 14:91 (2016)
Placenta, 35(9):A63, P2.6-N (2014)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI14C0306010017

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 질환극복기술개발

연구과제명 조산과 태아손상 조기진단용 바이오마커 및 맞춤형 조산방지 약물치료법 개발

기 여 율 1/1

주관기관 이화여자대학교 산학협력단

연구기간 2017.06.01 ~ 2018.03.31

명세서

청구범위

청구항 1

산모의 혈액 시료에서 바이셀라(*Weissella*) 속 균주, 써마세토지니움(*Thermacetogenium*) 속 균주, 페칼리박테리움(*Faecalibacterium*) 속 균주, 및 클로스트리디움(*Clostridium*) 속 균주로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 미생물을 검출할 수 있는 제제를 포함하는, 산모의 조산 위험성 진단용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속 균주의 미생물을 검출할 수 있는 제제를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 균주를 검출할 수 있는 제제는 미생물에 특이적인 프라이머, 프로브, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 압타머 또는 항체인, 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 프라이머는 상기 균주의 16S rRNA를 증폭할 수 있는 프라이머인, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 조산 위험성 진단용 키트.

청구항 6

산모의 혈액으로부터 바이셀라(*Weissella*) 속 균주, 써마세토지니움(*Thermacetogenium*) 속 균주, 페칼리박테리움(*Faecalibacterium*) 속 균주, 및 클로스트리디움(*Clostridium*) 속 균주로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 미생물을 검출하는 단계를 포함하는, 조산 위험성 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 락토바실러스 속 균주의 미생물을 검출하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 8

제6항에 있어서,

(a) 산모의 혈액으로부터 게놈 DNA를 추출하는 단계,

(b) 상기 추출된 게놈 DNA에 바이셀라 속 균주, 써마세토지니움 속 균주, 페칼리박테리움 속 균주, 또는 클로스트리디움 속 균주에 특이적인 프라이머를 반응시키는 단계, 및

(c) 상기 반응물을 증폭시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 단계(c)는 중합효소반응을 통해 수행되는 것인, 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 단계(c)의 증폭산물의 양을 정상 출산 산모의 혈액으로부터 얻어진 게놈 DNA의 증폭산물과 비교하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 11

제6항에 있어서, 상기 산모의 혈액으로부터 검출된 바이셀라 속 균주, 썬마세토지니움 균주, 페칼리박테리움 속 균주, 또는 클로스트리디움 속 균주의 DNA의 증폭산물의 양이 정상 산모와 비교하여 더 증가한 경우, 조산의 위험성이 높은 것으로 평가하는, 방법.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 산모의 혈액으로부터 검출된 바이셀라 속 균주, 썬마세토지니움 균주, 클로스트리디움 속 균주, 및 페칼리박테리움 속 균주로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 균주의 DNA의 증폭산물의 양이 정상 산모와 비교하여 더 증가하고, 락토바실러스 속 균주의 게놈 DNA의 증폭산물의 양이 정상 산모와 비교하여 더 증가한 경우, 조산의 위험성이 높은 것으로 평가하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 산모의 혈액으로부터 마이크로바이옴 검출함으로써, 조산 위험성을 진단하기 위한 조성물, 진단 키트 및 진단 방법에 관한 것이다. 보다 상세하게, 본 발명은 산모의 혈액으로부터 바이셀라 (*Weissella*)속 균주, 썬마세토지니움(*Thermacetogenium*) 속 균주, 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속 균주, 또는 클로스트리디움(*Clostridium*) 속 균주를 검출함으로써 조산 위험성을 진단하기 위한 조성물, 진단 키트 및 진단 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 조산(preterm birth, PTB)은 일반적으로 임신 20주 내지 37주 사이에 분만하는 것을 의미하며, 조산으로 태어난 신생아는 전체 영아 사망자의 약 60%를 차지할 정도로 사망의 위험이 높고, 생존아의 경우에도 신경계 발달장애, 호흡기계 합병증, 출생 후 성장지연 등으로 신생아 집중치료가 필요하며, 더 나아가 심각한 장기적 또는 단기적 질환의 이환율이 높다. 조산의 약 70%는 자궁 내 감염 및 염증과 같은 다양한 병리학적 과정으로 인한 조기 진통(preterm labor, PTL) 및 조기 양막 파열(preterm premature rupture of membrane, PPRM)로 인해 발생한다. 하지만 조산과 관련된 기전은 아직 명확히 밝혀져 있지 않으며, 자연적 진통과 흔히 연관된 위험 인자는 생식기계감염, 다태 임신, 2,3 삼분기 출혈 및 이전의 조산기왕력 등이 있다.

[0004] 조산아의 생존율을 향상시키기 위한 최소한의 임신 주수는 27주 및 출생체중은 0.9 kg이고, 출생 신생아의 이환과 사망은 출생체중보다는 일차적으로 임신 주수, 즉 성숙도에 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 따라서 이른 주수에 조산의 징후가 왔을 때, 적절한 치료를 통하여 분만 주수를 지연시켜 신생아를 성숙도를 높이는 것은 산모와 신생아의 건강과 삶의 질과 비용에 중대한 관건이 된다.

[0005] 현재까지 조산의 치료를 위하여 조기진통의 산모에게 자궁수축 억제제 투여, 항생제 치료, 스테로이드제 및 프로그스테론 투여를 통해 진통을 억제하고 분만을 지연시켜왔다. 그러나, 이미 조기진통 및 조기 양막 파열이 발

생한 경우에는 자궁 내 감염 및 염증에 대한 항생제의 치료 효과는 매우 제한적이며 조산을 막을 수는 없는 것으로 알려져 있다. 또한 자궁경관 무력증의 산모인 경우 감염과 유산에 대한 상당한 위험이 있기 때문에 조기분만의 치료와 예방으로서 자궁경부봉축술을 시행하여 왔으나, 이것이 근본적인 치료는 될 수 없으며 단기간의 임신 연장에 도움이 되는 정도로 알려져 있다.

[0006] 따라서, 조기 양막 파열이나 조산의 증상이 나타난 이후에 치료를 수행하는 것보다는, 조산의 위험성을 미리 예측함으로써 조산 위험 산모군을 선별하고, 이들에 대한 적절한 관리를 통하여 조산을 방지하거나 효과적인 치료 방법을 개발하는 것이 필요하다. 또한, 조산의 시기가 빠를수록 신생아에게 후유증을 남길 가능성이 높고 후유증의 정도도 심하기 때문에 조산을 예측할 수 있다면 미숙아와 그로 인한 장애아의 발생률을 현저하게 줄일 수 있을 것으로 기대된다.

[0007] 조산을 예측하기 위한 일반적인 접근 방법은, 산부인과학적으로, 인구통계학적으로 및 여러 가지 증후군에 따라 특별한 주의를 기울여야 하는 여성군을 확인하는 것이었으나, 이러한 접근 방법은 그 방식이 민감하거나 특이적이지 않다는 문제가 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여, 갑작스런 조산이나 양막 파열을 예견하기 위한 생화학적인 표지자를 발견하기 위하여 많은 연구가 시행되어 왔고, 플라즈마 에스트라디올-17 베타(plasma estradiol-17 beta), 프로게스테론(progesterone), C-반응성 단백질(C-reactive protein)과 같은 물질들이 후보로 지명되었으나, 이 역시 그 정확도가 떨어지는 것으로 나타났다. 따라서, 보다 검출이 용이하고 민감도와 특이도가 높은 표지자의 개발이 필요하다.

[0008] 최근 유전자 서열분석 기술이 발달하면서, 인체 내 다양한 부위에서 인간 마이크로바이옴(microbiome)의 조사가 가능해졌으나, 지금까지 혈액 내 미생물 군집(마이크로바이옴)과 조산 위험성 간의 관련성을 규명하고 이를 조산 위험성 진단에 활용하고자 하는 목적의 연구는 거의 전무한 실정이다. 더욱이, 조기 진통 산모와 조기 양막 파열을 경험한 한국인 산모에서 혈액 내 미생물 특성화에 대한 비교연구는 수행된 적이 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 이에, 본 발명자들은 조산의 주요 원인인 조기 진통 또는 조기 양막 파열이 나타난 산모에서 혈액 내 미생물을 특성화하고 유전자 서열 분석을 사용하여 조산을 예측하는 혈액 내 미생물 군집을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0011] 본 발명에서는 산모의 혈액 내 마이크로바이옴을 분석하여 조산 위험성을 시사하는 조산의 예측 표지자를 발굴함으로써 조산의 예방에 기여하고자 한다.

[0012] 이를 위하여, 일 예는 혈액에서 바이셀라(Weissella)속 미생물을 검출할 수 있는 제제를 포함하는, 산모의 조산 위험성 진단용 조성물을 제공한다.

[0013] 다른 예는, 상기 조성물을 포함하는, 산모의 조산 위험성 진단용 키트를 제공한다.

[0014] 다른 예는, 산모의 혈액으로부터 바이셀라 속 미생물을 검출하는 단계를 포함하는, 조산 위험성 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0016] 일 양태로, 본 발명은 바이셀라(Weissella) 속 균주, 써마세토지니움(Thermacetogenium) 속 균주, 페칼리박테리움(*Faecalibacterium*) 속 균주, 및 클로스트리디움(*Clostridium*) 속 균주로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 미생물을 검출할 수 있는 제제를 포함하는, 산모의 조산 위험성 진단용 조성물에 관한 것이다.

[0017] 바람직하게, 본 발명의 진단용 조성물은 락토바실러스(*Lactobacillus*)속 균주의 미생물을 검출할 수 있는 제제를 추가로 포함할 수 있다.

[0018] 바람직하게, 본 발명에서 상기 미생물을 검출할 수 있는 제제는 미생물에 특이적인 프라이머, 프로브, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 압타머 또는 항체일 수 있다.

[0019] 보다 바람직하게, 상기 프라이머는 미생물의 16S rRNA (16S rDNA)를 증폭할 수 있는 프라이머 일 수 있다. 예를 들어, 상기 16S rRNA 을 증폭할 수 있는 프라이머는 서열번호 1 또는 서열번호 2의 서열로 이루어지는 프라이머 일 수 있다.

- [0020] 다른 양태로서, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 산모의 조산 위험성 진단용 키트에 관한 것이다.
- [0021] 또 다른 양태로서, 본 발명은 조산 위험성 진단에 필요한 정보를 제공하기 위하여, 산모의 혈액으로부터 바이셀라(*Weissella*) 속 균주, 썬마세토지니움(*Thermacetogenium*) 속 균주, 페칼리박테리움(*Faecalibacterium*) 속 균주, 및 클로스트리디움(*Clostridium*) 속 균주로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 미생물을 검출하는 단계를 포함하는, 조산의 위험성 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법이다.
- [0022] 바람직하게, 본 발명의 조산의 위험성 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법은, 락토바실러스 속 균주의 미생물을 검출하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0023] 또한 바람직하게, 상기 방법은
- [0024] (a) 산모의 혈액으로부터 게놈 DNA를 추출하는 단계,
- [0025] (b) 상기 추출된 게놈 DNA에 바이셀라 속 균주, 썬마세토지니움 속 균주, 페칼리박테리움 속 균주, 또는 클로스트리디움 속 균주에 특이적인 프라이머를 반응시키는 단계, 및
- [0026] (c) 상기 반응물을 증폭시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0027] 또한 바람직하게, 상기 단계(c)는 중합효소반응을 통해 수행되는 것일 수 있다.
- [0028] 또한 바람직하게, 상기 단계(c)는 증폭산물의 양을 정상 산모 혈액의 증폭산물 또는 임계값(cut-off) 과 비교하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0029] 또한 바람직하게, 상기 산모의 혈액으로부터 검출된 바이셀라 속 균주, 썬마세토지니움 속 균주, 페칼리박테리움 속 균주, 또는 클로스트리디움 속 균주의 DNA의 증폭산물의 양이 정상 산모와 비교하여 더 증가한 경우, 조산의 위험성이 높은 것으로 평가하는 방법일 수 있다.
- [0030] 또한 바람직하게, 상기 산모의 혈액으로부터 검출된 바이셀라 속 균주, 썬마세토지니움 속 균주, 클로스트리디움 속 균주, 페칼리박테리움 속 균주 및 락토바실러스 속 균주로 이루어지는 균주의 게놈 DNA의 증폭산물의 양이 정상 산모와 비교하여 더 증가한 경우, 조산의 위험성이 높은 것으로 평가하는 방법일 수 있다.
- [0032] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0033] 본 발명에서는 조기진통과 조기 양막 파열로 입원한 산모의 혈액 혈액에서 미생물 커뮤니티의 구성이 조산에 미치는 영향을 분석한 결과, 바이셀라(*Weissella*) 속의 증가, 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속의 증가, 페칼리박테리움(*Faecalibacterium*) 속의 증가, 썬마세토지니움 속의 증가, 및/또는 클로스트리디움(*Clostridium*) 속의 증가가 조산에 영향을 주는 것으로 확인하였다.
- [0034] 따라서, 본 발명에서는 산모의 혈액으로부터 바이셀라 속, 페칼리박테리움 속, 썬마세토지니움 속, 또는 클로스트리디움 속 미생물을 검출함으로써, 산모의 조산 위험성을 진단할 수 있으며, 이를 위하여 바이셀라 속, 페칼리박테리움 속, 썬마세토지니움 속, 또는 클로스트리디움 속 미생물을 검출하기 위한 조성물, 키트 및 방법을 제공한다. 바람직하게, 본 발명은 락토바실러스 속 미생물을 추가로 검출함으로써 산모의 조산 위험성을 진단할 수 있으며, 이를 위한 조성물, 키트 및 방법을 또한 제공한다.
- [0035] 본원에서 용어 “마이크로바이옴”은 인간의 몸속에서 함께 공존하고 있는 미생물들의 유전정보 전체를 일컫는 용어로, 본 발명에서 혈액 내 마이크로바이옴은 혈액 내에 존재하는 미생물들의 유전정보 전체를 의미한다.
- [0036] 본원에서 용어, "위험성 진단" 또는 " 위험성 예측"이란, 산모에 대하여 임신주수 37주 미만에서 조산을 할 가능성이 있는지, 37주 미만에서 조산의 가능성이 상대적으로 높은지, 또는 37주 미만에서 조산의 징후를 나타낼 가능성이 있는지 여부를 판별하는 것을 말한다. 본 발명은 산모들에 대하여 37주 미만의 조산 위험성이 높은 산모들을 특별하고 적절한 관리를 통하여 조산을 지연시키거나 방지하는 데 사용될 수 있다. 또한, 본 발명은 37주 미만의 조산을 조기에 진단하여 가장 적절한 치료 방식을 선택함으로써 치료 결정을 하기 위해 임상적으로 사용될 수 있다.
- [0037] 본원에서 "바이셀라"란, 분류학적으로 바이셀라 속에 속하는 종(*Species*)들로 구성된 미생물 또는 그 군집을 말한다. 본 발명에서 바이셀라는, 종래에 보고된 균주들 뿐 아니라, 종래에 보고된 바이셀라와 16S rRNA 서열 비교시 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 미생물들이 모두 본 발명의 범위에 포함된다.

- [0038] 본원에서 “썬마세토지니움”이란, 분류학적으로 썬마세토지니움 속에 속하는 종(Species)들로 구성된 미생물 또는 그 군집을 말한다. 본 발명에서 썬마세토지니움은, 종래에 보고된 균주들 뿐 아니라, 종래에 보고된 썬마세토지니움과 16S rRNA 서열 비교시 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 미생물들이 모두 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0039] 본원에서 "락토바실러스"란, 분류학적으로 락토바실러스 속에 속하는 종(Species)들로 구성된 미생물 또는 그 군집을 말한다. 본 발명에서 락토바실러스는, 종래에 보고된 균주들 뿐 아니라, 종래에 보고된 락토바실러스와 16S rRNA 서열 비교시 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 미생물들이 모두 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0040] 본원에서 "클로스트리디움"란, 분류학적으로 클로스트리디움 속에 속하는 종(Species)들로 구성된 미생물 또는 그 군집을 말한다. 본 발명에서 클로스트리디움은, 종래에 보고된 균주들 뿐 아니라, 종래에 보고된 클로스트리디움과 16S rRNA 서열 비교시 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 미생물들이 모두 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0041] 본원에서 "페칼리박테리움"란, 분류학적으로 페칼리박테리움 속에 속하는 종(Species)들로 구성된 미생물 또는 그 군집을 말한다. 본 발명에서 페칼리박테리움은, 종래에 보고된 균주들 뿐 아니라, 종래에 보고된 페칼리박테리움과 16S rRNA 서열 비교시 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 미생물들이 모두 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0042] 본원에서 용어, "검출할 수 있는 제제"란, 혈액 내에서 조산 위험성 진단 마커인 바이셀라, 락토바실러스, 클로스트리디움 및/또는 페칼리박테리움의 존재를 검출하기 위하여 사용될 수 있는 물질을 의미한다. 예를 들어, 바이셀라, 락토바실러스, 클로스트리디움 및/또는 페칼리박테리움에 특이적으로 존재하는 단백질, 핵산, 지질, 당지질, 당단백질 또는 당(단당류, 이당류, 올리고당류 등) 등과 같은 유기 생체 분자를 특이적으로 검출할 수 있는 프라이머, 프로브, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 압타머, 또는 항체 등이 될 수 있다.
- [0043] 바람직하게, 본 발명에서 검출할 수 있는 제제는 바이셀라, 락토바실러스, 썬마세토지니움, 클로스트리디움 및/또는 페칼리박테리움을 검출할 수 있는 프라이머 일 수 있다. 상기 프라이머는 바이셀라, 락토바실러스, 썬마세토지니움, 클로스트리디움 및/또는 페칼리박테리움의 게놈 서열을 특이적으로 검출하고 다른 미생물의 게놈 서열에는 특이적 결합을 하지 않는 것이 바람직하다. 보다 바람직하게, 바이셀라, 락토바실러스, 썬마세토지니움, 클로스트리디움 및 페칼리박테리움으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 미생물의 16S rRNA를 증폭할 수 있는 프라이머 일 수 있다.
- [0044] 본원에서 용어, "프라이머"란, 주형 가닥에 상보적인 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고, 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능하는 7개 내지 50개의 핵산서열을 의미한다. 프라이머는 보통 합성하지만 자연적으로 생성된 핵산에서 이용할 수도 있다. 프라이머의 서열은 반드시 주형의 서열과 정확히 같을 필요는 없으며, 충분히 상보적이어서 주형과 혼성화될 수 있으면 된다. 프라이머의 기본 성질을 변화시키지 않는 추가의 특징을 혼입할 수 있다. 혼입할 수 있는 추가의 특징의 예로 메틸화, 캡화, 하나 이상의 핵산을 동족체로의 치환 및 핵산간의 변형 등이 있으나, 이에 제한되지 않는다. 바람직하게, 본 발명의 프라이머는 바이셀라, 락토바실러스, 썬마세토지니움, 클로스트리디움 및/또는 페칼리박테리움 미생물의 16S rRNA를 증폭할 수 있는 프라이머일 수 있다.
- [0045] 본원에서 용어, "16S rRNA"란, 원핵생물 리보솜의 30S 소단위체를 구성하고 있는 rRNA로, 모든 종에 공통적인 보존 영역(conserved region)과 특정 종을 분류할 수 있는 초가변 영역(hypervariable region)이 존재하므로 염기서열분석을 통하여 미생물을 동정할 수 있다. 특히 동종 간에는 다양성이 거의 없는 반면에 타종 간에는 다양성이 나타나므로 16S rRNA의 서열을 비교하여 원핵생물을 유용하게 동정할 수 있다. 또한 16S rDNA는 16S rRNA를 코딩하는 유전자이므로, 16S rDNA를 활용하여 미생물을 동정할 수도 있다.
- [0046] 바람직한 일구현예로, 본 발명에서 상기 프라이머는 바이셀라 속, 락토바실러스 속, 썬마세토지니움 속, 클로스트리디움 속 및/또는 페칼리박테리움 속에 특이적인 16S rRNA (또는 16S rDNA) 서열을 증폭시키는 데 사용될 수 있으며, 서열 증폭 결과 원하는 생성물의 생성 여부를 통하여 바이셀라 속, 락토바실러스 속, 썬마세토지니움 속, 클로스트리디움 속 및/또는 페칼리박테리움 속의 존재를 검출할 수 있다. 프라이머를 이용한 서열 증폭 방법은 당업계에 알려진 다양한 방법들을 사용할 수 있다. 예를 들어, 중합효소 연쇄반응(PCR), 역전사-중합효소 연쇄반응(RT-PCR), 멀티플렉스 PCR, 터치다운(touchdown) PCR, 핫 스타트(hot start) PCR, 네스티드(nested) PCR, 부스터(booster) PCR, 실시간(real-time) PCR, 분별 디스플레이 PCR(differential display PCR: DD-PCR),

cDNA 말단의 신속 증폭(rapid amplification of cDNA ends: RACE), 인버스(inverse) 중합효소 연쇄반응, 벡토레트(vectorette) PCR, TAIL-PCR(thermal asymmetric interlaced PCR), 리가아제 연쇄 반응, 복구 연쇄 반응, 전사-중재 증폭, 자가 유지 염기서열 복제, 또는 타겟 염기서열의 선택적 증폭 반응을 이용할 수 있으나, 본 발명의 범위가 이에 제한되지는 않는다.

[0047] 또한, 본 발명에서 미생물 검출 제제는, 항체일 수 있으며, 항원-항체 반응을 기반으로 한 면역학적 방법을 사용하여 해당 미생물을 검출할 수 있다. 이를 위한 분석 방법으로는 웨스턴 블랏, ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사면역확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역 확산법, 로케이트(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법(Immunoprecipitation assay), 보체고정분석법 (Complement Fixation Assay), FACS(Fluorescence activated cell sorter), 또는 단백질 칩(protein chip) 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0048] 그 외, 당업계에 널리 사용되는 분자 및 면역학적 방법이 본 발명의 미생물을 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0049] 본 발명의 상기 미생물 검출 제제를 포함하는 진단용 조성물은, 진단 키트 형태로 구현되어 제공될 수 있다. 본 발명의 키트는 해당 미생물을 검출하기 위한 프라이머, 프로브, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 압타머, 또는 항체 등의 검출 제제를 포함할 뿐만 아니라, 분석 방법에 적합한 1종 이상의 다른 구성성분 조성물, 용액, 또는 장치가 포함될 수 있다.

[0050] 구체적인 일례로, 본 발명에서 바이셀라 속, 락토바실러스 속, 썬마세토지니움 속, 클로스트리디움 속 및/또는 페칼리박테리움 속에 특이적인 프라이머를 포함하는 키트는, PCR 등의 증폭 반응을 수행하기 위한 필수 요소들을 포함하는 키트 일 수 있다. 예를 들어, 상기 PCR 용 키트는 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액, 데옥시뉴클레오타이드(dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-수(DEPC-water), 또는 멸균수 등을 포함할 수 있다.

[0051] 또한, 본 발명은 산모의 혈액으로부터 바이셀라 속, 썬마세토지니움 속, 클로스트리디움 속 및/또는 페칼리박테리움 속 미생물을 검출함으로써, 산모의 조산 위험성을 진단하는 방법을 제공한다.

[0052] 달리 말하면, 본 발명은 산모의 조산 위험성의 진단에 필요한 정보를 제공하기 위하여, 산모의 혈액으로부터 바이셀라 속, 썬마세토지니움 속, 클로스트리디움 속 및/또는 페칼리박테리움 속 미생물을 검출하는 방법을 제공한다. 또는, 산모의 혈액으로부터 바이셀라 속, 썬마세토지니움 속, 클로스트리디움 속 및/또는 페칼리박테리움 속 미생물을 검출하는 단계를 포함하는, 조산 위험성 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0053] 바람직하게, 상기 방법은 락토바실러스 속 미생물을 검출하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0054] 바람직한 일례로, 상기 방법은 다음의 단계를 포함하여 구현될 수 있다:

[0055] (a) 산모의 혈액으로부터 게놈 DNA를 추출하는 단계,

[0056] (b) 상기 추출된 게놈 DNA 에 바이셀라 속, 락토바실러스 속, 페칼리박테리움 속 및/또는 클로스트리디움 속 미생물에 특이적인 프라이머를 반응시키는 단계, 및

[0057] (c) 상기 반응물을 증폭시키는 단계.

[0058] 상기 단계 (b) 에서 산모의 혈액으로부터 게놈 DNA의 추출은 당업계에 알려진 일반적인 기술을 적용하여 수행할 수 있으며, 바이셀라 속, 락토바실러스 속, 페칼리박테리움 속 및/또는 클로스트리디움 속 미생물에 특이적인 프라이머는 위에서 설명한 바와 같다.

[0059] 상기 단계 (c)에서 반응물을 증폭시키는 방법은 당업계에 알려진 일반적인 증폭 기술들, 예를 들어 중합효소 연쇄반응, 역전사-중합효소 연쇄반응, 멀티플렉스 PCR, 터치다운 PCR, 핫 스타트 PCR, 네스티드 PCR, 부스터 PCR, 실시간 PCR, 분별 디스플레이 PCR, cDNA 말단의 신속 증폭, 인버스 PCR, 벡토레트 PCR, TAIL-PCR, 리가아제 연쇄 반응, 복구 연쇄 반응, 전사-중재 증폭, 자가 유지 염기서열 복제, 타겟 염기서열의 선택적 증폭 반응을 이용할 수 있으나, 본 발명의 범위가 이에 제한되지는 않는다.

[0060] 상기 단계 (c)에서, 반응물의 증폭 산물의 양을 정상 산모 혈액의 증폭산물 또는 임계값(cut-off) 과 비교하는 단계를 추가로 수행할 수 있으며, 산모 혈액에서 바이셀라의 증폭 산물이 정상 산모 혈액의 증폭산물 또는 임계값(cut-off) 과 비교하여 유의적으로 증가되었다고 판단될 경우, 해당 산모는 조산 위험성이 높은 것으로 판단할 수 있다.

[0061] 또한, 상기 방법은 락토바실러스 속 미생물을 검출하는 단계를 추가로 포함할 수 있으며, 정상 산모 혈액의 증폭산물 또는 임계값(cut-off) 과 비교하여 산모 혈액에서 락토바실러스 속의 증폭 산물이 유의적으로 증가되었다고 판단될 경우, 해당 산모는 조산 위험성이 높은 것으로 판단할 수 있다.

[0062] 본 발명에서 미생물의 비율은 시료 내 전체 마이크로바이옴의 16s rRNA 시퀀스 증폭산물량 중 해당 미생물의 16s rRNA 시퀀스 증폭량이 차지하는 것을 의미하며, 예를 들어 16s rRNA 시퀀스 증폭량을 나타내는 증폭 산물의 중량% (w/w%), 또는 증폭산물의 카피수 비율(copy number) 등으로 표시될 수 있다.

발명의 효과

[0064] 본 발명은 조성물은 조산 위험성의 진단을 위한 미생물 바이오마커를 제공하며, 이를 이용하면 간단한 혈액 채취를 통하여 조산 위험성의 신속 검출이 가능하고, 이를 위한 신속 진단 키트의 개발이 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0066] 도 1a는 비임신 여성, 정상 출산 여성 및 PTB 여성의 미생물 다양성을 주성분 분석(Principal coordinate analysis)으로 나타낸 것이다.

도 1b는 비임신 여성, 정상 출산 여성 및 PTB 여성의 미생물 다양성을 제1성분과 제2성분을 축으로 하는 2차원 산점도(two-dimensional scatter plot)로 나타낸 것이다.

도 1c는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 미생물 다양성을 hitmap으로 나타낸 것이다.

도 2a는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 16s 메타게놈 리드의 수를 나타낸 것이다.

도 2b는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 샤논 인덱스(Shannon index)를 나타낸 것이다.

도 3a는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 미생물 조성의 차이점을 문(phyla) 수준에서 나타낸 것이다.

도 3b는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 미생물 조성의 차이점을 강(class) 수준에서 나타낸 것이다.

도 4a는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 바이셀라 속 균주의 비율을 나타낸 것이다.

도 4b는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 락토바실러스 속 균주의 비율을 나타낸 것이다.

도 4c는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 클로스트리디움 속 균주의 비율을 나타낸 것이다.

도 4d는 비임신 여성, 정상 출산 여성 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 써마세토지니움 속 균주의 비율을 나타낸 것이다.

도 4e는 비임신여성, 정상 출산 여성 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 WD2101 균주의 비율을 나타낸 것이다.

도 4f는 비임신여성, 정상 출산 여성 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 TM7 균주의 비율을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0067] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0069] 실시예 1: 실험 재료의 선정

[0070] 비임신 여성, 정상적인 출산을 한 산모, 및 조산을 한 산모의 혈액 내 마이크로바이옴 분석을 위해, 이화여자대학교 목동병원에 입원한 비 임신 여성 41명, 정상적인 출산을 한 산모 20명, 조산을 한 산모 21명을 선정하였다. 정상적인 출산을 한 산모 그룹은 임신 37주 후에 만기 출산 산모로 선정하였다. 임신 여성이 진통 또는 양막 파수 증상을 보일 때, 모체혈액을 EDTA가 들어있는 튜브에 넣어 혈장을 분리하여 -70℃ 온도에 보관하였다.

[0071] 25-42주 단생아 출산인 경우의 데이터만을 사용하였고, 다태아분만, 사산, 기형아 출산, 만성 고혈압,

전치태반, 및 태반 조기박리의 경우는 제외하였다.

[0072] 비임신 여성은 통상적인 건강검진 과정에 따라 임신 관련 질환을 앓지 않는 건강한 여성으로 선별하였다.

[0073] 본 연구는 이화 여자 대학교 목동 병원(인증서 번호 ECT 06-127-7)의 임상시험윤리위원회에서 실험의 모든 절차와 과정을 승인을 받았고, 임상시험윤리위원회의 가이드라인을 따라 실험을 수행하였다. 모든 참가자에게 사전 동의를 받았다.

[0075] 실시예 2: DNA 추출 및 16S rRNA 시퀀싱

[0076] PowerMax Soil DNA Isolation Kit (MOBIO, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 제조자의 프로토콜에 따라 실시예 1의 혈액 샘플에서 박테리아 DNA를 추출하였다.

[0077] 박테리아 게놈 DNA에서 16S rRNA 유전자 V3-V4 초가변 영역 (519F-816R)은 Illumina 16S 메타 게놈 시퀀싱 라이브러리 프로토콜 (Illumina, San Diego, CA, USA)에 따라 증폭하였다. 증폭에 사용된 바코드 융합 프라이머 서열은 다음과 같다

[0078] 16S_V3_F 프라이머 (서열번호 1)

[0079] 5' -TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3' '

[0080] 16S_V4_R 프라이머 (서열번호 2)

[0081] 5' -GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3.

[0083] PCR 생성물을 사용하여 MiSeq System guide (Illumina)에 따라 라이브러리를 준비하였고, QIAxpert (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 정량화하였다. PCR생성물 추출 및 정량 후, MiSeq (Illumina)를 이용하여 제조사의 프로토콜에 따라 각 샘플을 동일 물비율로 조사하고 서열을 분석하였다.

[0085] 실시예 3: 미생물 조성 분석

[0086] 실시예 2에서 얻어진 서열정보를 MiSeq (Illumina)를 이용하여 바코드 알고리즘과 프라이머 서열에 따라 가공하였다. 분류학적 분석은 프로파일링 프로그램 program MDx-Pro ver.1 (MD Healthcare, Seoul, Korea)을 이용하여 수행하였다.

[0087] 서열번호분석 결과, 리드 길이 (=300 bp) 및 품질 점수(average Phred score = 20)을 확인한 후에, 고품질 서열리드(high quality read)를 선택하였다. 운영 분류학 단위는 시퀀스 클러스터링 알고리즘 CD-HIT를 사용하여 클러스터되었습니다. 그 뒤에, GreenGenes 8.15.13의 16sRNA 서열 데이터베이스에 따라 UCLST 및 QIIME를 이용하여 분류학적 분석을 수행하였다. 서열 유사성에 기초하여, 모든 16sRNA 서열을 분류학적으로 분류하였다. 도 4a 내지 4f는 비임신 여성, 정상 출산 여성 및 PTB 여성의 혈액 내 6종의 세균 군집 조성을 누적 막대 그래프로 표시한 것이다. 데이터베이스에 없거나 중복서열에 의해 case cluster가 속 수준으로 할당되지 못한 경우, 분류군은 괄호 안에 표시된 더 높은 단계로 배정하였다. 데이터는 선형 정규화에 의해 평균이 0이고 표준편차가 1로 정규화되었다. Matlab을 이용하여 주성분 분석(Principal coordinate analysis) 및 제1성분과 제2성분을 축으로 하는 2차원 산점도(two-dimensional scatter plot)를 계산하고 도시하였다. 또한, R 패키지의 계층적 클러스터링(hierarchical clustering)을 적용하여 유사한 박테리아 조성을 가진 샘플 그룹을 확인했다.

[0089] 실시예 4: 통계 분석

[0090] 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었다. PTB 여성과 정상적인 출산을 한 여성의 나이, 산모의 특성, 출산 결과 등의 기본적인 특성을 Student *t*-test를 이용하여 비교하였다.

[0091] Shannon index의 유의한 차이에 따라, 크루스칼-왈리스 검정(Kruskal-Wallis test)을 이용하여 PTB 여성, 정상 출산 여성 및 비임신 여성으로 구성된 세 그룹간의 클러스터링 특성(clustering characteristics)을 분석하였고, Mann Whitney test를 이용하여 정상적인 출산을 한 여성과 PTB 여성을 비교하였다. 통계 분석은 SAS software (Version 9.3; SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 수행하였다. p-value가 0.05보다 작은 경우만 통계적으로 유의미하다고 간주하였다.

[0093] [실험결과]

[0094] 1. 피험자의 일반적인 특성

[0095] 비임신 여성은 건강한 평균 36세의 여성들이었다. 임신여성의 일반적인 특징은 표 1과 같다.

표 1

	Women with term delivery (N = 20)	Women with preterm delivery (N = 21)	p-value
Mothers			
Age (years)	31.60 ± 2.91	30.91 ± 4.37	0.55
BMI (kg/m ²)	26.81 ± 3.13	26.12 ± 4.67	0.59
Parity, n (%)			
Nulliparous	10 (50.0)	9 (42.9)	0.71
Multiparous	10 (50.0)	12 (57.1)	
Mode of delivery, n (%)			
Vaginal	13 (65.0)	16 (76.2)	0.43
C-section	7 (35.0)	5 (23.8)	
Education (years)			
≤12	5 (26.3)	10 (52.6)	0.10
>12	14 (73.7)	9 (47.4)	
Infants			
Gestational age (weeks)	39.65 ± 1.04 ^a	29.67 ± 3.58	<0.0001
Sex, n (%)			
Male	11 (55.0)	12 (57.1)	0.89
Female	9 (45.0)	9 (42.9)	
Weight (kg)	3.36 ± 0.36 ^a	1.48 ± 0.60	<0.0001
AS at 1 min	9.65 ± 0.59 ^a	6.33 ± 3.06	<0.0001
AS at 5 min	10.00 ± 0.00 ^a	7.48 ± 3.12	0.001

Data are expressed as means ± SD or number (%). ^a p-values were calculated by Student *t*-test. BMI, body mass index; C-section, caesarean section; AS, Apgar score.

[0096]

[0097]

정상적인 출산을 한 여성 그룹의 평균 나이는 31.6세였고, 조산여성 그룹의 평균 나이는 30.9세였다. 조산 그룹이 출산 시 재태기간, 신생아 체중, Apgar-score(아프가 점수)가 현저하게 낮았다(p<0.05).

[0099]

2. 미생물 군집 다양성

[0100]

high-throughput metagenomic sequencing을 이용하여 혈액 속의 박테리아 DNA의 분류학적 다양성 및 프로파일을 분석하였다. 조작분류단위(operational taxonomic units) 및 분류 할당(taxonomic assignment)의 클러스터링 후, 비임신 여성(n = 41), 정상적인 출산을 한 여성(n = 20), 및 PTB 여성(n= 21)의 혈액 내 미생물 조성의 특성을 비교하였다.

[0101]

유사한 세균 조성을 보여주는 주성분 분석(principal coordinates analysis) 그래프 및 계층적 군집분석(hierarchical cluster analysis) 결과는, 정상 출산 여성 및 PTB 여성을 포함하는 임신 여성과 비임신 여성 사이에 차이를 나타냈으나, 정상 출산 여성 및 PTB 여성의 혈액 내 미생물 군집 차이 정도를 구별하기 어려웠다(도 1a, 1b, 1c).

[0102]

그러나, 메타게놈 서열 판독(metagenomic sequence read)의 평균을 분석했을 때, PTB 여성은 비임신 여성 및 정상 출산 여성에 비해 현저하게 높았다(p< 0.05)(도 2a). 또한, 정상 출산 여성의 경우 가장 낮은 Shannon index를 보여, 미생물 커뮤니티의 다양성이 가장 높은 것을 알 수 있었다(p < 0.05) (도 2b).

[0104]

3. PTB 여성의 혈액 내 미생물 군집 조성은 정상 출산 여성과 상이함

[0105]

세 그룹 간의 미생물 조성 특징을 확인하기 위해, 1% 이상 나타난 문(phylum)을 원 그래프(pie graph)로 나타내었다(도 3a). 모든 그룹에서 *Firmicutes* 문(phylum), *Bacteroidetes* 문, *Proteobacteria* 문, 및 *Actinobacteria* 문이 풍부하게 나타났다. *Archaea*에 속하는 *Crenarchaeota* 문 및 *Euryarchaeota* 문 은 비임신 여성보다 임신 여성에서 더 풍부하게 나타났다(p < 0.001). *Firmicutes* 문과 *Bacteroidetes* 문은 조산여성과 비임신 여성보다 만기 출산 여성에서 더 적었고(p < 0.001), *Proteobacteria* 문은 비임신 여성과 만기출산여성보다 조산여성에서 더 적게 나타났다(p < 0.001). 도 3b에서 알 수 있듯이, 강(class) 수준에서는 세 그룹 간 큰 차이가 있었다. *Bacilli* 강은 비임신 여성보다 임신여성에서 더욱 풍부하였다(p < 0.001). PTB여성의 경우, *Proteobacteria* 문

의 수준은 더 적게 나타났음에도 불구하고, *Alphaproteobacteria* 강의 경우, 정상 출산 여성보다 PTB 여성에서 더욱 풍부하게 나타났다($p < 0.001$). 그러나, *Betaproteobacteria* 강 및 *Gammaproteobacteria* 강은 PTB 여성에서 더욱 적게 나타났다($p < 0.001$).

[0106] 0.1% 이상 출현한 미생물까지 더욱 자세하게 살펴보면, 표 2에서 볼 수 있듯이, *Fusobacterium* 및 *Propionibacterium*를 포함한 17개 속(genera)이 비임신 여성보다 임신 여성에서 더욱 풍부하게 나타났으며, *Bifidobacterium*를 포함한 25개 속은 임신여성에서 더 적게 나타났다($p < 0.05$).

[0107] 표 3에서 볼 수 있듯이, *Pseudomonas* 및 *Delftia* 는 임신 여성에서 더 많이 나타났다.

[0108] 표 4에서 볼 수 있듯이, *Bacteroides*, *Ruminococcus*를 포함한 6개 속이 비임신 여성과 PTB여성에서 더 풍부하게 나타났다($p < 0.01$). 또한, *Rothia* 및 *Lautropia*를 포함한 3개 속이 비임신여성과 PTB여성에서 더 적게 나타났다.

[0109] 표 5에서 볼 수 있듯이, *Lactobacillus* 속, *Weissella* 속, *Clostridium* 속, *Thermacetogenium* 속, WD2101 목, TM7-1 강이 PTB여성에서 큰 증가를 보였다($p < 0.01$). 이 중 *Lactobacillus* 속, *Weissella* 속, *Clostridium* 속, 및 *Thermacetogenium* 속의 4개 속은 *Firmicutes* phylum에 속하였고, *Lactobacillus* 속 및 *Weissella* 속은 *Bacilli* 강(class) 이며, *Clostridium* 속 및 *Thermacetogenium* 속은 *Clostridia* 강(class)이다($p < 0.001$). 또한, 잠재적 병원성 TM7-1은 PTB 여성에서 증가하였다($p < 0.001$).

표 2

[0110]

Phylotypes	Non-pregnant women		Preterm delivered women		Term delivered women		p value
	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	
<i>An Enrichment of phylotypes in blood samples of pregnant women</i>							
k__Archaea;p__Crenarchaeota;c__MCG	0.0010	0.0062	0.3704	0.4282	0.2044	0.2386	0.0000
k__Archaea;p__Crenarchaeota;c__MCG;o__pGrfC26	0.0011	0.0070	1.2940	0.7923	1.6515	1.4430	0.0000
k__Archaea;p__Crenarchaeota;c__Thaumarchaeota;o__Cenarchaeales;f__Cenarchaeaceae;g__Nitrosopumilus	0.0005	0.0034	0.6386	0.5444	0.9204	1.1164	0.0000
k__Archaea;p__Crenarchaeota;c__Thaumarchaeota;o__Cenarchaeales;f__SAGMA-X	0.0000	0.0003	0.8260	0.7653	0.7512	0.8821	0.0000
k__Archaea;p__Euryarchaeota;c__Methanobacteria;o__Methanobacteriales;f__Methanobacteriaceae;g__Methanobacterium	0.0424	0.0766	0.3281	0.3313	0.3174	0.3720	0.0000
k__Archaea;p__Euryarchaeota;c__Methanomicrobia;o__Methanosarcinales;f__ANME-2a-2b	0.0000	0.0000	0.9386	0.6009	1.0087	1.4770	0.0000
k__Archaea;p__Euryarchaeota;c__Methanomicrobia;o__Methanosarcinales;f__ANME-2D	0.0000	0.0000	0.4137	0.3097	0.5512	0.6327	0.0000
k__Archaea;p__Euryarchaeota;c__Methanomicrobia;o__Methanosarcinales;f__Methanosaetaceae;g__Methanosaeta	0.0911	0.1616	0.5391	0.4198	0.3157	0.2954	0.0000
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Corynebacteriaceae;g__Corynebacterium	1.7318	6.7509	2.9806	1.2914	2.5090	1.8558	0.0000
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Propionibacteriaceae;g__Propionibacterium	1.3194	2.5347	5.1811	1.5418	4.1784	2.2459	0.0000
k__Bacteria;p__Cyanobacteria;c__Chloroplast;o__Stramenopiles;f__g__	0.0461	0.0745	0.2501	0.3237	0.2205	0.4134	0.0124
k__Bacteria;p__Cyanobacteria;c__Chloroplast;o__Streptophyta	0.3818	0.8386	3.0669	1.4653	1.9649	1.8149	0.0000

k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae;g_Staphylococcus	0.1887	0.2802	1.6973	0.8316	2.2843	1.4521	0.0000
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Fusobacteriaceae;g_Fusobacterium	0.0038	0.0160	0.2431	0.2530	0.3789	0.5883	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria;Other	0.0521	0.1336	0.7450	0.5283	0.4030	0.5153	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae	0.2457	0.2165	0.6050	0.3560	1.0894	1.1506	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Neisseriales;f_Neisseriaceae;g_Neisseria	0.0133	0.0383	0.0730	0.1125	0.5443	2.2490	0.0012
Unassigned	4.0873	1.2345	24.6875	11.5106	36.8536	20.8460	0.0000
<i>Low abundance of phylotypes in blood samples of pregnant women</i>							
k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteriia;o_Acidobacteriales;f_Koribacteraceae;g_Koribacteraceae	0.3573	0.2538	0.0459	0.0884	0.0249	0.0823	0.0000
k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Da052;o_Ellin6513;f_g	0.2186	0.1833	0.0300	0.0732	0.0221	0.0950	0.0000
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_C111;g	0.2277	0.1814	0.0792	0.1236	0.0436	0.1326	0.0000
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_EB1017;g	0.2462	0.2136	0.0430	0.0870	0.1281	0.3196	0.0000
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_g	0.4081	0.2991	0.1778	0.1901	0.1708	0.5354	0.0000
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_Bifidobacterium	3.1407	2.3639	0.5443	0.4067	0.6145	0.9518	0.0000
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_Coriobacteriaceae	0.5639	0.3363	0.0475	0.0854	0.0102	0.0336	0.0000
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_Collinsella	2.0090	1.6569	0.0048	0.0218	0.0000	0.0000	0.0000
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_[Saprospirae];o_[Saprospirales];f_Chitinophagaceae;g_Chitinophagaceae	0.5011	0.3170	0.2628	0.2869	0.2615	0.4521	0.0040
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_S24-7;g	5.0790	3.4588	0.0529	0.0682	0.1141	0.2902	0.0000
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales;f_Anaerolineaceae;g_T78	0.3883	0.6213	0.0386	0.0933	0.0148	0.0442	0.0000
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ellin6529;o_g;f_g	0.4352	0.2960	0.1373	0.1184	0.0951	0.1439	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus	0.4561	0.4775	0.2071	0.1996	0.2300	0.2797	0.0033
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Lysinibacillus	0.2843	0.3263	0.0896	0.1092	0.1823	0.3990	0.0003
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Enterococcaceae;g_Enterococcus	0.8784	0.7591	0.0540	0.0826	0.2357	0.5498	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Faecalibacterium	0.7946	0.9045	0.1065	0.1175	0.0717	0.1974	0.0000

k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_Allobaculum	1.8151	1.4577	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Ellin329;f_ ;g_	0.2252	0.1782	0.1092	0.1784	0.0168	0.0411	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Rhodoplas	0.6332	0.3548	0.2697	0.3348	0.1923	0.3555	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Rhizobium	0.8360	0.7578	0.0234	0.0688	0.0003	0.0007	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_	0.4318	0.3492	0.0532	0.1077	0.0900	0.3633	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_	0.4346	0.2803	0.1810	0.1818	0.4484	0.7039	0.0007
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfuromonadales;f_Geobacteraceae;g_Geobacter	0.3151	0.5503	0.0046	0.0198	0.0036	0.0121	0.0000
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_Entomoplasmatales;f_ ;g_	0.3772	0.3804	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_[Methylacidiphilae];o_Methylacidiphilales;f_Methylacidiphilaceae;g_Candidatus Methylacidiphilum	0.4062	0.3515	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

표 3

[0111]

Phylotypes	Non-pregnant women		Preterm delivered women		Term delivered women		p value
	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	
<i>An Enrichment of phylotypes in blood samples of term delivered women</i>							
k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonadaceae;g__Pseudomonas	0.4142	0.2593	1.0945	0.5858	4.3279	3.3250	0.0000
k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g__Delftia	0.5752	0.6053	0.8264	0.3741	3.0679	2.3863	0.0000
<i>Low abundance of phylotypes in blood samples of term delivered women</i>							
k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Acidobacteria-6;o__ii1-15	0.4912	0.2900	0.1816	0.1585	0.0824	0.1947	0.0000
k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Solibacteres;o__Solibacterales;f__Solibacteraceae;g__Candidatus Solibacter	0.3557	0.2264	0.1988	0.1991	0.0484	0.1701	0.0000
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Thermoleophilia;o__Gaiellales;f__Gaiellaceae	0.5513	0.2899	0.0905	0.0887	0.0420	0.1209	0.0000
k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__Bacteroidia;o__Bacteroidales	0.7320	0.5199	0.4142	0.5777	0.2507	0.4504	0.0001
k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__Bacteroidia;o__Bacteroidales;f__Porphyromonadaceae;g__Parabacteroides	0.5481	0.4746	0.1509	0.1758	0.0495	0.1556	0.0000
k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__Bacteroidia;o__Bacteroidales;f__Prevotellaceae;g__Prevotella	0.8695	0.4109	0.4197	0.2892	0.3897	0.6860	0.0000

k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae	0.9178	0.9229	0.2460	0.1610	0.1100	0.2355	0.0000
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Flavobacterium	0.2488	0.2476	0.0933	0.1185	0.0441	0.1319	0.0000
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_JG30-KF-AS9	0.2570	0.1936	0.0838	0.1310	0.0000	0.0000	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales	7.8066	3.6059	2.6156	0.9292	1.4241	1.2970	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_	3.3558	1.3433	0.6128	0.4883	0.3641	0.5321	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_[Ruminococcus]	0.4195	0.3136	0.2678	0.3830	0.0807	0.2309	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Blautia	0.4189	0.3470	0.0708	0.1157	0.0190	0.0838	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Coprococcus	0.5752	0.3781	0.1295	0.1483	0.0639	0.1865	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnospira	0.2295	0.2505	0.0327	0.0698	0.0072	0.0321	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;Other	0.2650	0.2400	0.0841	0.0936	0.0032	0.0041	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_	3.4054	1.7340	2.1825	0.6248	1.1830	1.0543	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Oscillospira	2.0946	1.2227	0.9134	0.3301	0.2916	0.5739	0.0000
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae	0.3296	0.2979	0.1298	0.1261	0.0046	0.0200	0.0000
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetia;o_Gemmatales;f_Gemmataceae	0.3596	0.2773	0.1468	0.1752	0.0296	0.0791	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales	0.4190	0.2449	0.0641	0.0852	0.0173	0.0553	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae	2.7008	1.7836	0.2924	0.1894	0.1787	0.4539	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Pseudomonadaceae	0.3904	0.2961	0.1958	0.1737	0.0333	0.0507	0.0000
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Sinobacteraceae	0.2034	0.1906	0.1074	0.1212	0.0868	0.2180	0.0011
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_[Spartobacteria];o_[Chthoniobacteriales];f_[Chthoniobacteraceae];g_DA101	0.5567	0.3660	0.3102	0.1895	0.1411	0.2104	0.0000
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiales;f_Verrucomicrobiaceae;g_Akkermansia	0.2839	0.3117	0.0793	0.1583	0.0074	0.0255	0.0000

표 4

[0112]

Phylotypes	Non-pregnant women		Preterm delivered women		Term delivered women		p value
	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	
<i>An Enrichment of phylotypes in non-pregnant women and preterm delivered pregnant women</i>							
k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Solibacteres;o__Solibacterales	0.2657	0.2177	0.2008	0.3153	0.0457	0.1651	0.0000
k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__Bacteroidia;o__Bacteroidales;f__Bacteroidaceae;g__Bacteroides	9.6044	5.9431	9.8477	2.2891	4.1241	2.8917	0.0000
k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Ruminococcaceae;g__Ruminococcus	0.9052	0.4308	0.9408	0.3488	0.4985	0.6471	0.0024
k__Bacteria;p__OD1;c__ZB2	0.1457	0.1724	0.2298	0.3004	0.0460	0.1170	0.0017
k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__Planctomycetia;o__Gemmatales;f__Isosphaeraceae	0.1904	0.1574	0.1768	0.2378	0.0731	0.1689	0.0015
k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__Planctomycetia;o__Pirellulales;f__Pirellulaceae	0.2384	0.2062	0.1980	0.2390	0.1357	0.3837	0.0034
<i>Low abundance of phylotypes in non-pregnant women and preterm delivered pregnant women</i>							
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Micrococcaceae;g__Rothia	0.0051	0.0139	0.0295	0.0797	0.5515	2.1427	0.0002
k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Burkholderiaceae;g__Lautropia	0.0015	0.0052	0.0021	0.0044	1.0982	4.8506	0.0000
k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae	0.2053	0.1992	0.2495	0.2096	1.3036	1.1821	0.0000

표 5

[0113]

Phylotypes	Non-pregnant women		Preterm delivered women		Term delivered women		p value
	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	
k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae;g__Lactobacillus	1.6006	2.6890	3.4836	1.3976	1.6499	1.1057	0.0000
k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Leuconostocaceae;g__Weissella	0.0004	0.0015	0.3377	0.2606	0.1507	0.2974	0.0000
k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Clostridiaceae;g__Clostridium	0.1148	0.1488	0.6855	0.4927	0.3015	0.3833	0.0000
k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Thermoanaerobacterales;f__Thermoanaerobacteraceae;g__Thermacetogenium	0.0000	0.0000	0.3886	0.3090	0.1163	0.2317	0.0000
k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__Phycisphaerae;o__WD2101;f__g__	0.5722	0.3452	0.7884	0.4805	0.3282	0.5364	0.0007
k__Bacteria;p__TM7;c__TM7-1;o__f__g__	0.1351	0.1225	0.3784	0.2754	0.0686	0.1685	0.0000

[0114]

4. 실험 결론

[0115]

본 발명은 PTB 여성, 비임신 여성, 임신 여성의 혈액 내 미생물 특성을 규명하였다. 또한, 본 발명은 임신기간 중의 혈액 내 미생물 조성 및 체계를 처음으로 규명하였다. 비록 만기 출산 여성과 PTB 여성 간의 개인별 미생물 군집의 조성은 유사했지만, PTB 여성 혈액의 미생물 군집의 구성은 만기 출산 여성 및 비임신 여성과 상이했

다. *Firmicutes* 문 군주, *Bacteoidetes* 문 군주, *Proteobacteria* 문 군주, 및 *Actinobacteria* 문 군주는 모든 그룹에서 많이 나타났지만, *Archaea* 계 군주에 속하는 *Crenarchaeota* 문 군주 및 *Euryarchaeota* 문 군주는 비임신 여성보다 임신 여성에서 더 풍부하게 나타났다. 특히, PTB 여성에서, *Proteobacteria*는 매우 작게 나타났고, *Lactobacillus*, *Weissella*, 및 potential pathogenic TM7은 높은 함량을 나타냈다.

[0116] 도 3a는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 미생물 함량을 문(phyla) 수준에서 나타낸 그래프이다. 도 3b는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 미생물 함량을 강(class) 수준에서 나타낸 그래프이다.

[0117] 건강한 임신을 위해서, 체내의 모든 기간 내의 미생물군은 신진 대사 변화와 면역학적 적응에 따라 큰 변화를 받는다. 그러나, 박테리아 감염은 탈락막(decidua), 태반, 및 태아 막 등의 임신 조직에 영향을 미쳐 임신부와 태아를 위협할 수 있다. 게다가, 임신 30주 이전에 발생하는 조기 출산의 80%는 박테리아 감염으로 발생한다. 주요한 감염 경로는 다음과 같다: (1) 하부 요로를 통해 자궁으로 감염, (2) 복막강에서 자궁으로 내려온 감염, (3) 모성순환에 의한 감염.

[0118] 건강한 사람의 혈액은 미생물이 서식할 수 없는 멸균 상태인 것으로 생각되고는 한다. 그러나, 혈액 미생물의 존재는 다양한 전염성 및 비전염성 질병과 관련있다. 연구에 따르면, 건강한 남성 및 여성의 혈액에 존재하는 대부분의 박테리아 DNA는, 연막(buffy coat)(평균 93.74%) 및 적혈구(6.23%)에 존재한다. 혈액 내 미생물은 주로 위장관이나 구강으로부터 옮겨올 수 있으며, 미생물이 pathogenic한 상태로의 변화하는 것을 '장내 불균형(dysbiosis)'라 한다. 혈액 내 미생물의 불균형은 제2당뇨병 및 심혈관 질환과 관련있다. 또한, 혈액 내로의 구강 세균의 전이는 치주 질환에서 유래한 심내막염 및 심근 및/또는 뇌경색, 특히 조기 출생한 환자와 관련이 있다.

[0119] 본 발명에 의하면, 혈액 내 미생물 커뮤니티의 다양성은 비임신 여성에 비해 정상 출산 여성 및 PTB 여성에서 감소하였으나, 메타게놈 서열 판독 결과는 PTB 여성에서 가장 높은 수준을 나타내었다. 이는, 세 그룹 간 혈액의 개인 간 변이는 유사하더라도, PTB 여성의 혈액 내 마이크로바이옴은 만기출산 여성(정상 출산 여성) 및 비임신 여성과 다르다는 것을 의미한다. 정상 출산 여성의 혈액 샘플에서는, *Firmicutes* 와 *Bacteoidetes*는 가장 낮았고, *Proteobacteria*는 증가된 수준을 보였다.

[0120] *Proteobacteria* 및 *Actinobacteria*가 임신 후기(third trimester)에 증가되는 것이 대부분의 경우에 확인되었다. 특히, 임신 후기에 *Proteobacteria*의 증가는 inflammation-associated dysbioses 하에서 반복적으로 관찰되었다. 이는, 임신은 질병이 아님에도 불구하고, 임신 중 장내 미생물의 혈액 microbiota로 이동하는 것을 암시한다.

[0121] 본 발명에 따르면, *Clostridia* 강 군주 및 *Bacteroidia* 강 군주는, 정상 출산 여성보다 PTB 여성과 비임신 여성의 혈액에서 크게 증가하였다. 또한, *Clostridia* 강에 속하는 *Faecalibacterium* 속(genera) 군주 및 *Clostridium* 속군주는 비임신 여성 및 PTB 여성에서 우세하였지만, 이들 미생물은 정상 출산 여성에서는 더 적었다.

[0122] 도 4a 내지 4f는 비임신 여성, 정상 출산 여성, 및 PTB 여성의 혈액 시료 내 각 미생물의 비율을 비교한 것이다.

[0123] *Clostridium* 속 군주는 사람의 비혐기성 장관 및 자궁경부 균총을 구성하는 중요한 일원이다. 인간 *clostridia* 감염은 내생 또는 외생 감염으로부터 일어날 수 있고, *clostridial* histiotoxic 증후군과 같은 질병을 일으킬 수 있다. *Bacteroidia* 강(class)은 하나의 목(order)만을 포함하고, *Bacteroides* spp.는 잠재적인 병원체를 배제하여 그 숙주에게 이점을 제공한다. 그러나, *B. fragilis* 및 *B. thetaiotaomicron*와 같은 *Bacteroides*강 군주는 기회 감염(opportunistic infection)을 야기하는 병원체로, 복강 감염, 베타-락탐계 항생제를 불활성화시킬 수 있고, 조산과 관련되어 있다. 또한, TM7 문(phylum)은 만산 여성보다 조산(PTB) 여성의 혈액에서 증가하였다. TM7 문은 종종 염증성 장 질환, 치주질환 등의 인간의 염증성 점막 질환과 관련이 있다.

[0124] 본 발명은 *Lactobacillus* 속 군주 및 *Weissella* 속 군주가 정상 출산 여성보다 PTB 여성의 혈액에 더 많은 것을 밝혀내었다. 그러나, 본 발명자의 이전 연구에서 정상 출산 그룹에 비해 조산 그룹에서 질내 환경에서 *Lactobacillus* 및 *Weissella*의 감소는 조산과 관련이 있었다.

[0125] 본 발명은 PTB 여성과 정상 출산 여성의 혈액 내 마이크로바이옴의 특성을 분석하였다. 그 결과, 임신한 여성의 혈액 내 마이크로바이옴은 질병과 관련된 미생물 불균형을 보여주며, 더욱이 정상 출산 여성의 혈액 내 마이크로바이옴은 건강한 상태와 관련된 마이크로바이옴을 포함하고 있는 반면에, PTB 여성의 혈액 내 마이크로바이옴

은 여러 가지 병원성 마이크로바이옴을 증가된 양으로 존재함을 확인하였다.

[0126] 표 6은 비임신여성, PTB여성, 정상 출산 여성의 혈액 내 미생물 함량을 종(genus) 수준에서 나타낸 것이다.

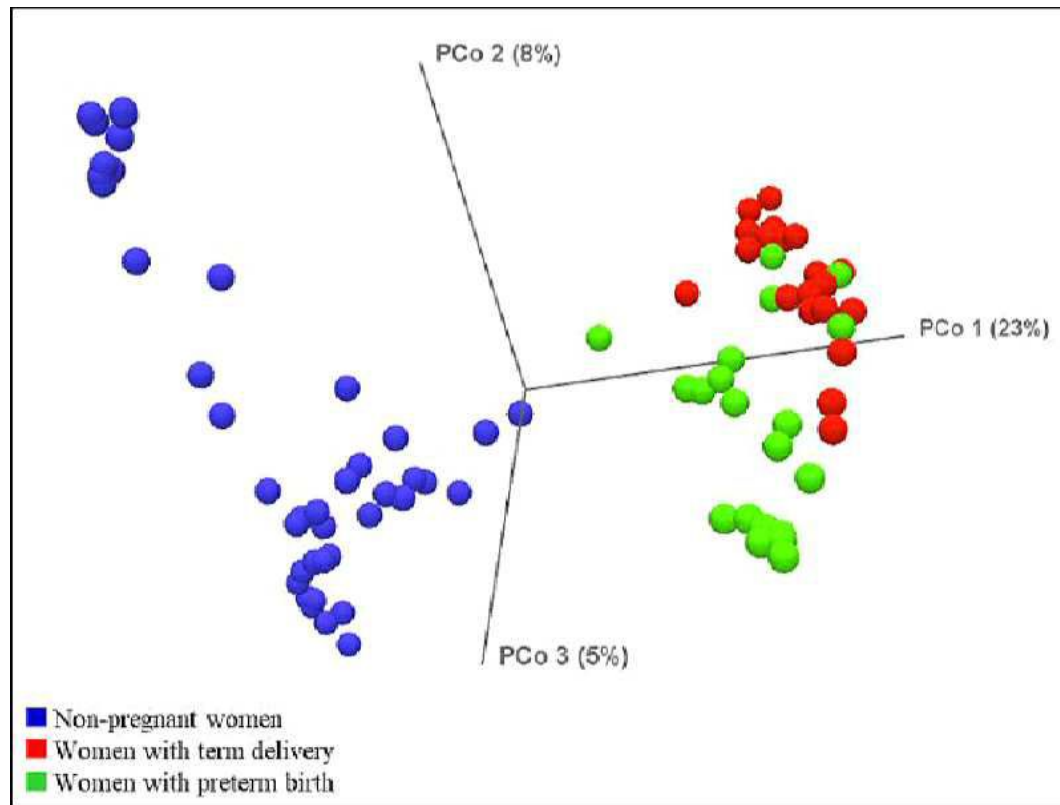
표 6

[0128]

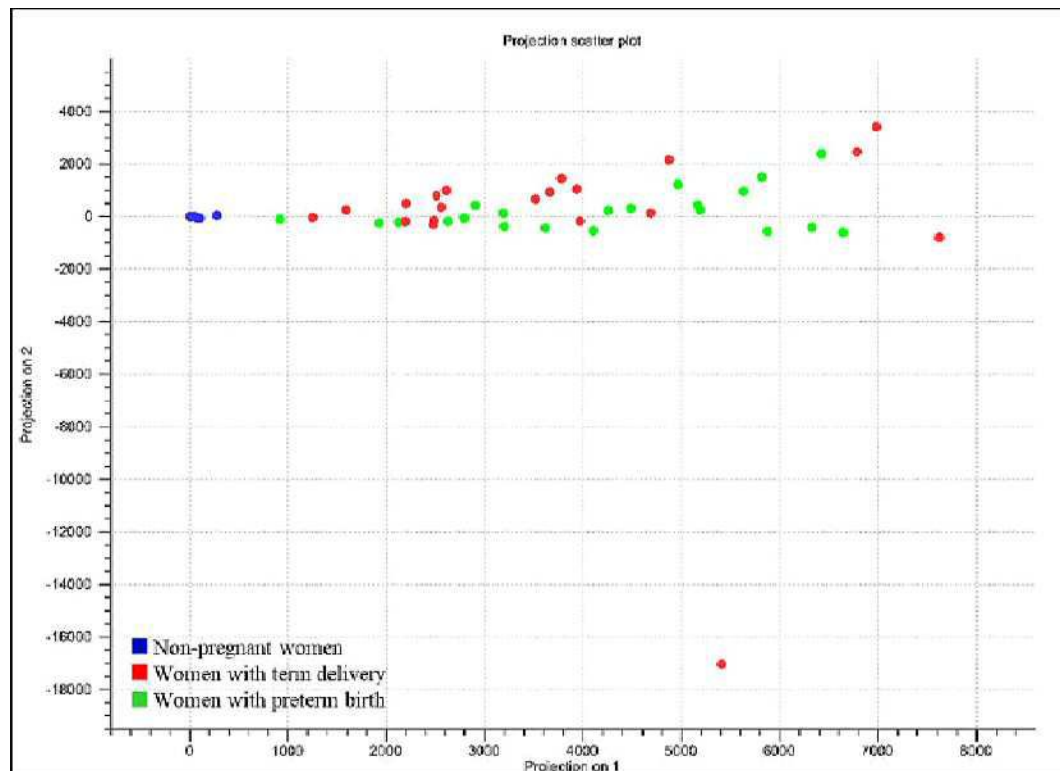
종(genus)	비임신여성		PTB여성		정상출산여성		p value
	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	Mean (%)	SD	
Nitrosopumilus	0.0005	0.0034	0.6386	0.5444	0.9204	1.1164	0.0000
Methanobacterium	0.0424	0.0766	0.3281	0.3313	0.3174	0.3720	0.0000
Methanosaeta	0.0911	0.1616	0.5391	0.4198	0.3157	0.2954	0.0000
Corynebacterium	1.7318	6.7509	2.9806	1.2914	2.5090	1.8558	0.0000
Propionibacterium	1.3194	2.5347	5.1811	1.5418	4.1784	2.2459	0.0000
Staphylococcus	0.1887	0.2802	1.6973	0.8316	2.2843	1.4521	0.0000
Fusobacterium	0.0038	0.0160	0.2431	0.2530	0.3789	0.5883	0.0000
Neisseria	0.0133	0.0383	0.0730	0.1125	0.5443	2.2490	0.0012
Bifidobacterium	3.1407	2.3639	0.5443	0.4067	0.6145	0.9518	0.0000
Collinsella	2.0090	1.6569	0.0048	0.0218	0.0000	0.0000	0.0000
Bacillus	0.4561	0.4775	0.2071	0.1996	0.2300	0.2797	0.0033
Lysinibacillus	0.2843	0.3263	0.0896	0.1092	0.1823	0.3990	0.0003
Enterococcus	0.8784	0.7591	0.0540	0.0826	0.2357	0.5498	0.0000
Faecalibacterium	0.7946	0.9045	0.1065	0.1175	0.0717	0.1974	0.0000
Allobaculum	1.8151	1.4577	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Rhodoplanes	0.6332	0.3548	0.2697	0.3348	0.1923	0.3555	0.0000
Rhizobium	0.8360	0.7578	0.0234	0.0688	0.0003	0.0007	0.0000
Geobacter	0.3151	0.5503	0.0046	0.0198	0.0036	0.0121	0.0000
Candidatus Methylophilum	0.4062	0.3515	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Pseudomonas	0.4142	0.2593	1.0945	0.5858	4.3279	3.3250	0.0000
Delftia	0.5752	0.6053	0.8264	0.3741	3.0679	2.3863	0.0000
Candidatus Solibacter	0.3557	0.2264	0.1988	0.1991	0.0484	0.1701	0.0000
Parabacteroides	0.5481	0.4746	0.1509	0.1758	0.0495	0.1556	0.0000
Prevotella	0.8695	0.4109	0.4197	0.2892	0.3897	0.6860	0.0000
Flavobacterium	0.2488	0.2476	0.0933	0.1185	0.0441	0.1319	0.0000
Blautia	0.4189	0.3470	0.0708	0.1157	0.0190	0.0838	0.0000
Coprococcus	0.5752	0.3781	0.1295	0.1483	0.0639	0.1865	0.0000
Lachnospira	0.2295	0.2505	0.0327	0.0698	0.0072	0.0321	0.0000
Oscillospira	2.0946	1.2227	0.9134	0.3301	0.2916	0.5739	0.0000
Bacteroides	9.6044	5.9431	9.8477	2.2891	4.1241	2.8917	0.0000
Ruminococcus	0.9052	0.4308	0.9408	0.3488	0.4985	0.6471	0.0024
Rothia	0.0051	0.0139	0.0295	0.0797	0.5515	2.1427	0.0002
Lautropia	0.0015	0.0052	0.0021	0.0044	1.0982	4.8506	0.0000
Lactobacillus	1.6006	2.6890	3.4836	1.3976	1.6499	1.1057	0.0000
Weissella	0.0004	0.0015	0.3377	0.2606	0.1507	0.2974	0.0000
Clostridium	0.1148	0.1488	0.6855	0.4927	0.3015	0.3833	0.0000
Thermacetogenium	0.0000	0.0000	0.3886	0.3090	0.1163	0.2317	0.0000

도면

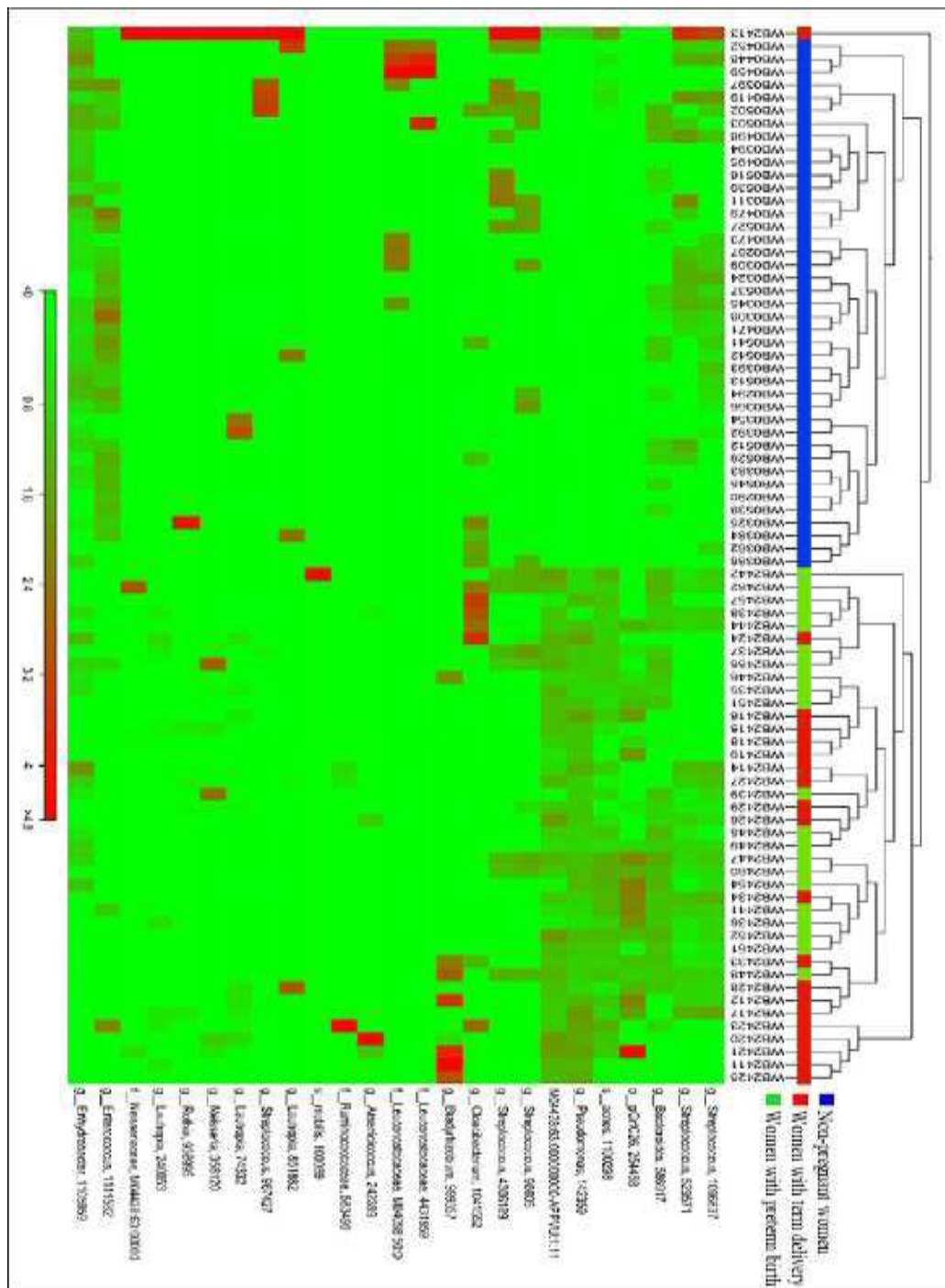
도면1a



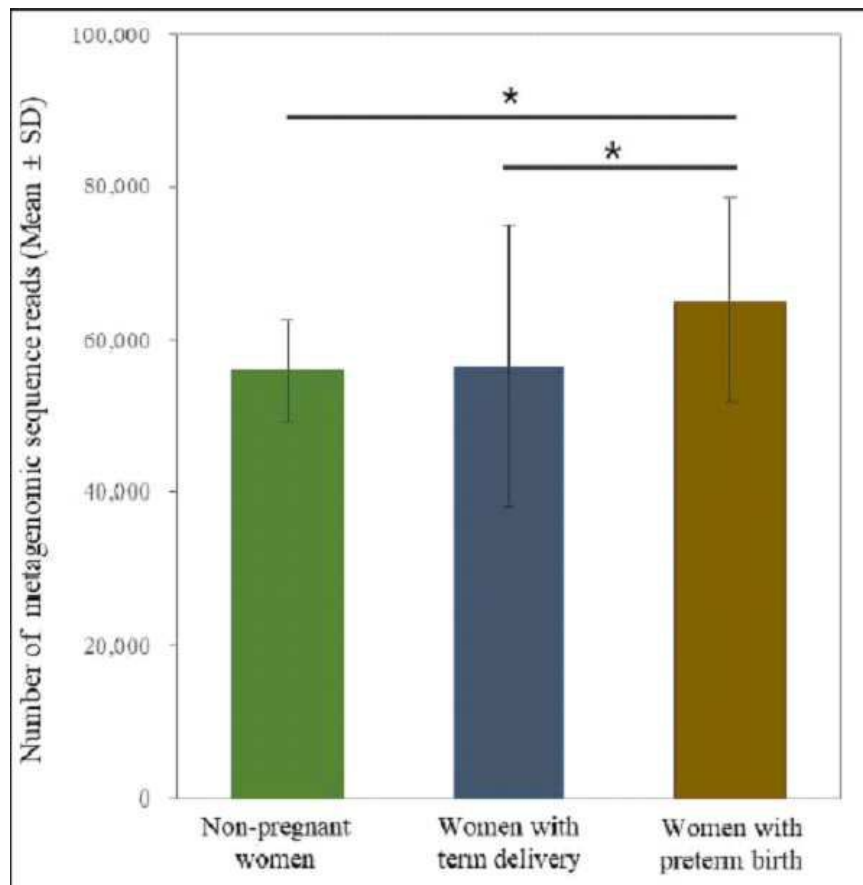
도면1b



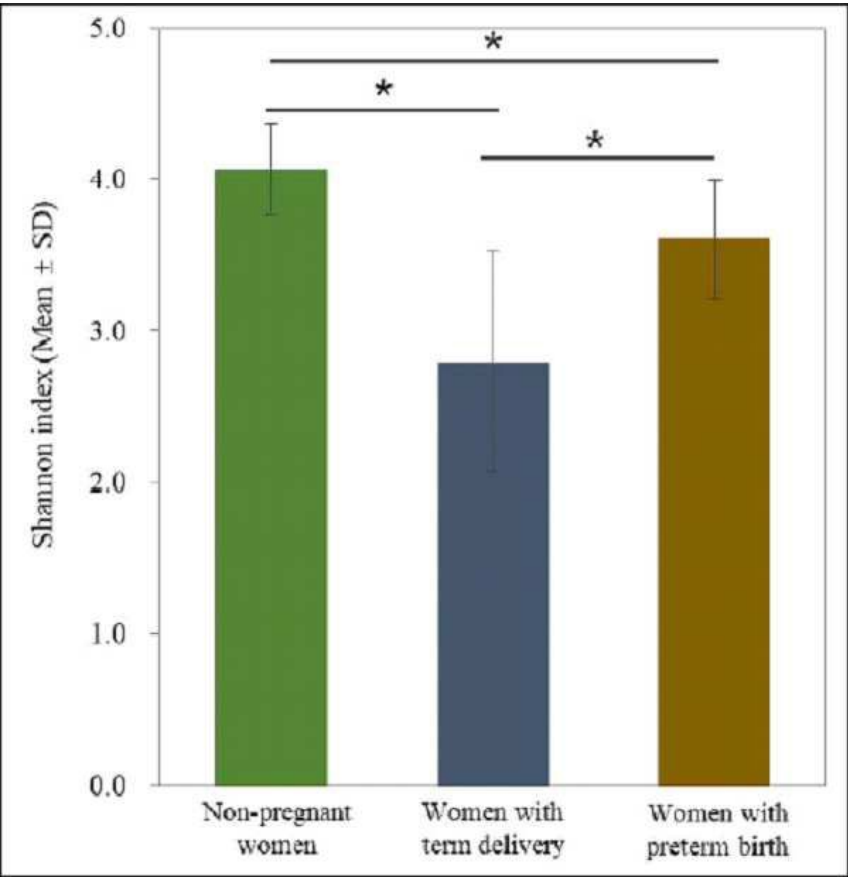
도면1c



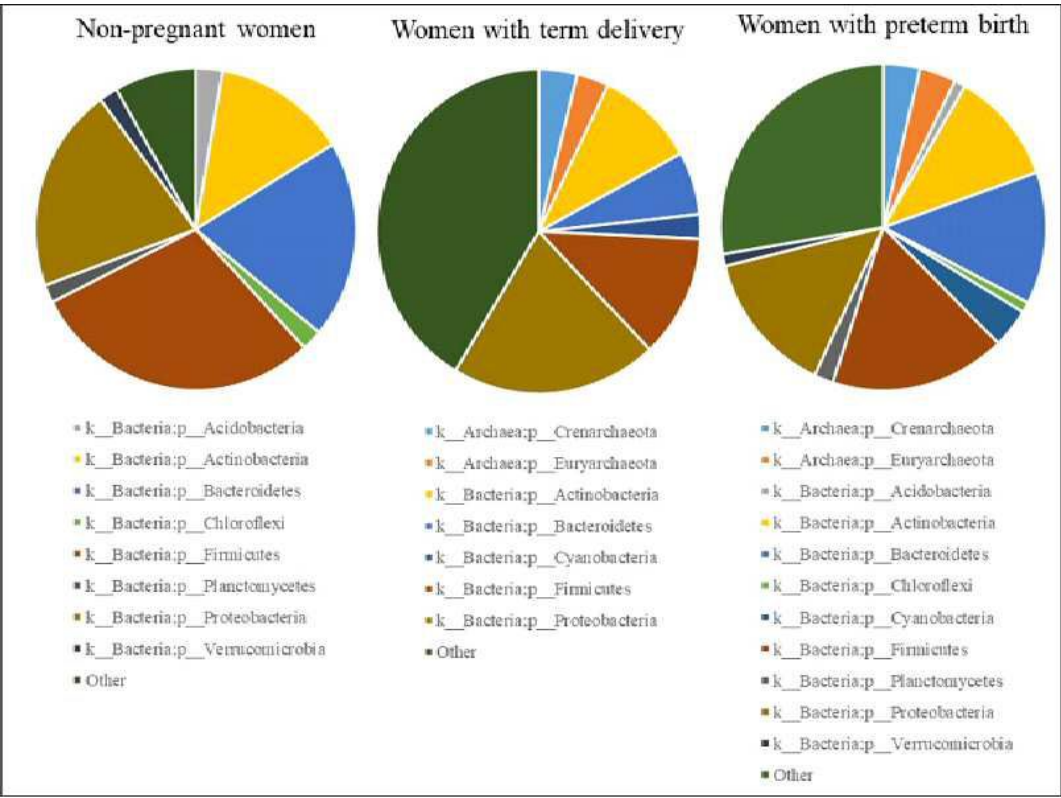
도면2a



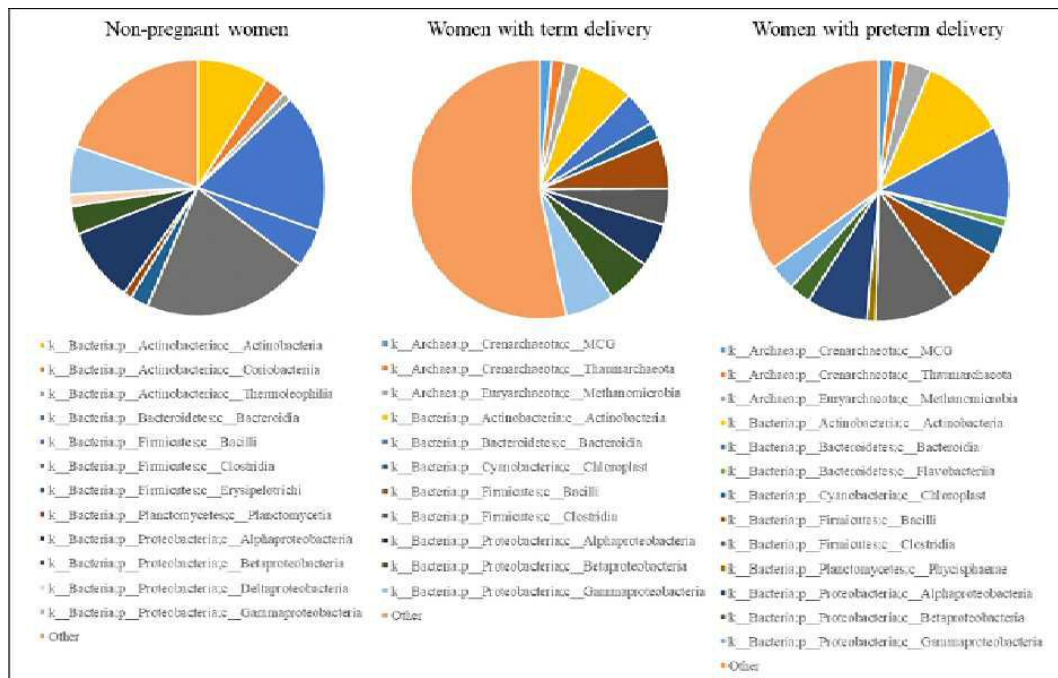
도면2b



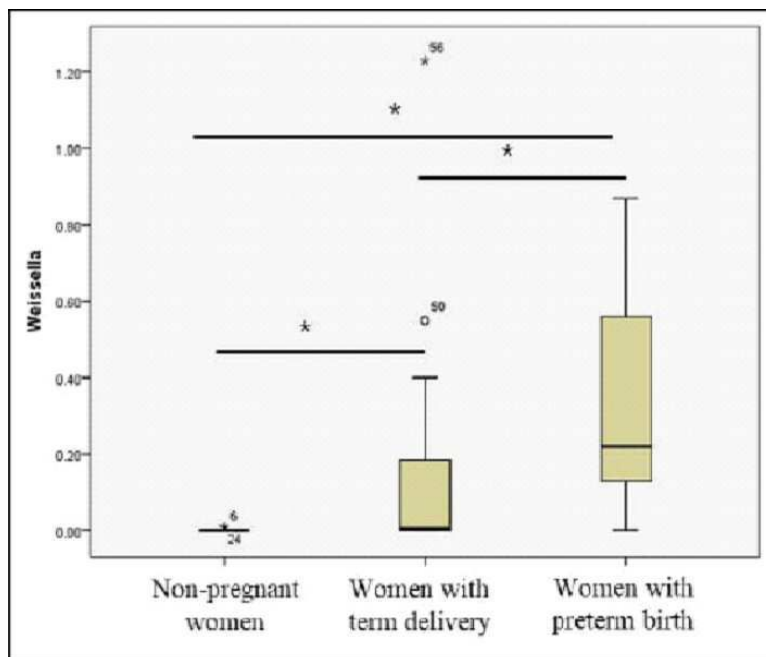
도면3a



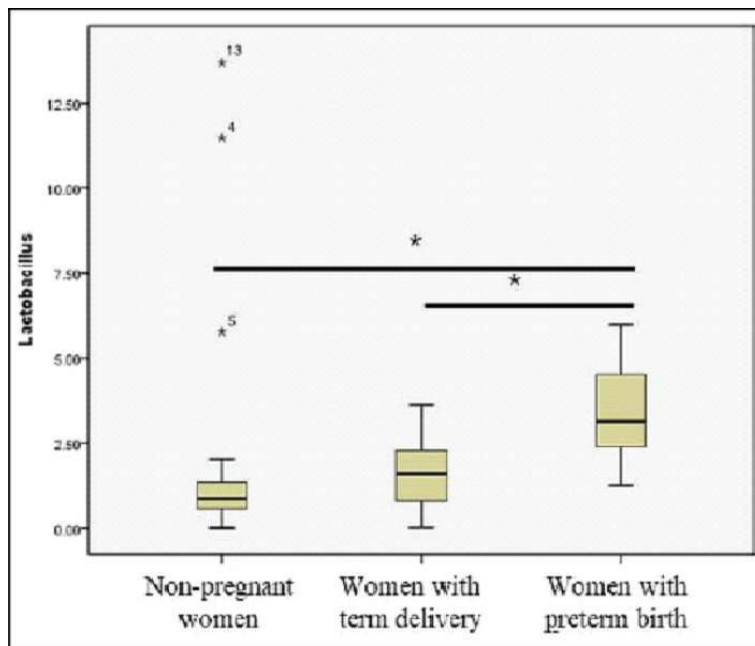
도면3b



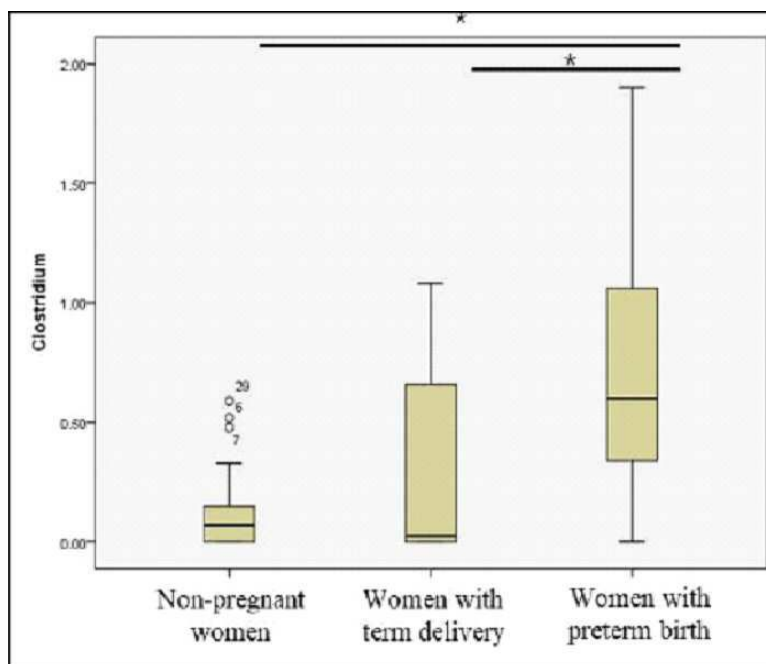
도면4a



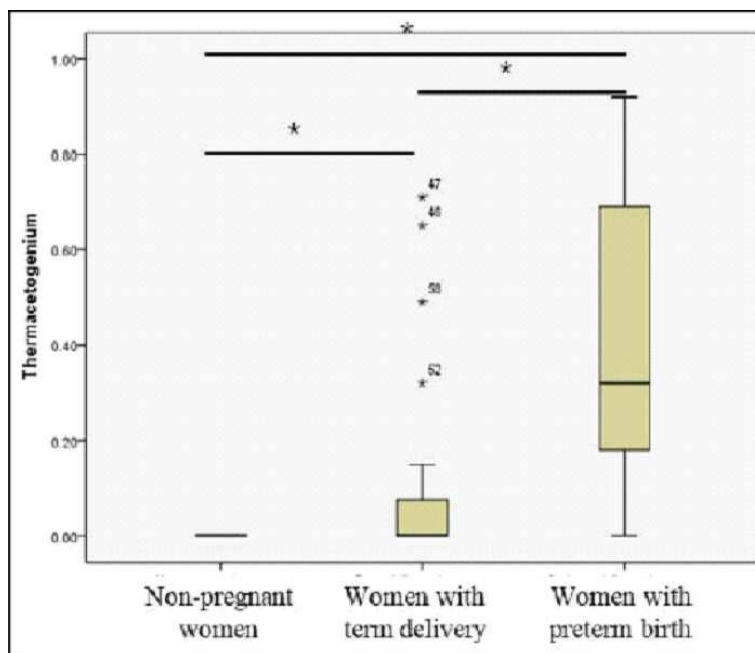
도면4b



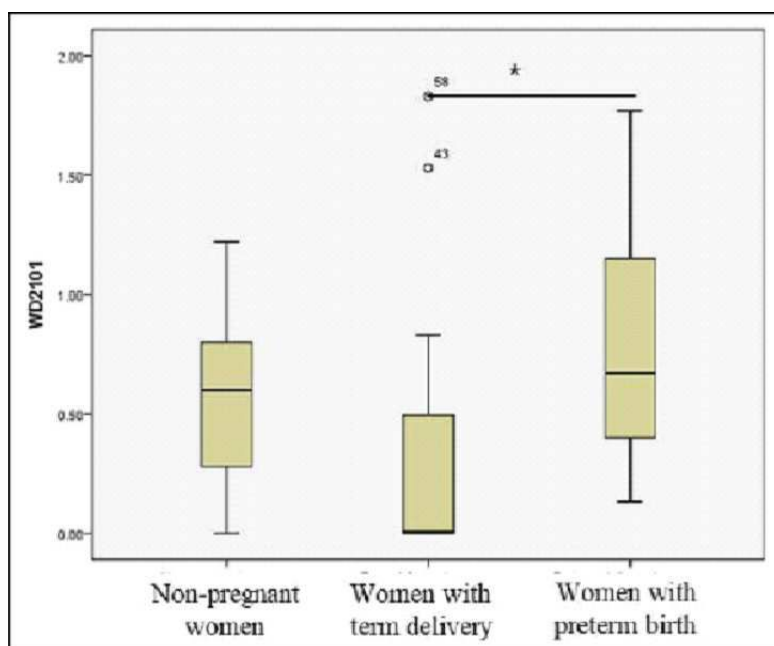
도면4c



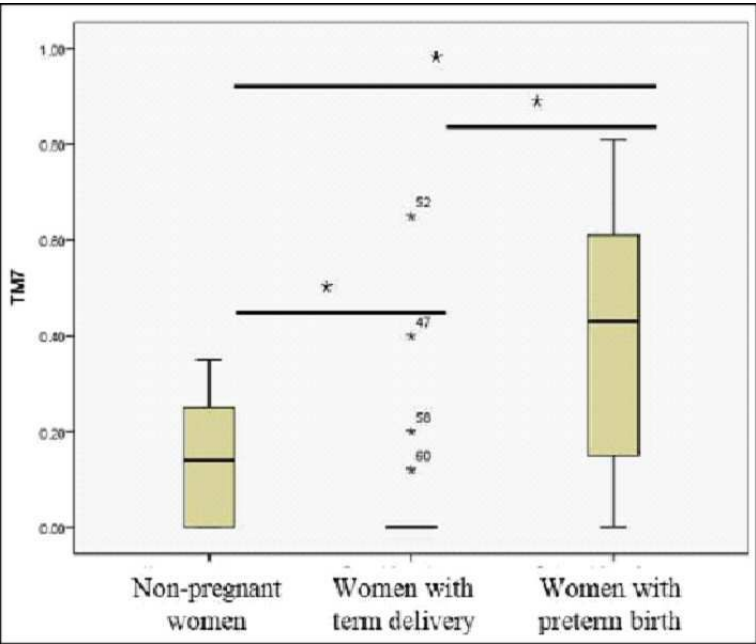
도면4d



도면4e



도면4f



서열 목록

- <110> Ewha University - Industry Collaboration Foundation
- <120> Prediction of a risk of preterm delivery using differential microbial community in a blood sample
- <130> DPP20180166KR
- <160> 2
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 50
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> 16S_V3_F primer
- <400> 1
- tcgtcggcag cgtcagatgt gtataagaga cagcctacgg gnggcwgcag 50
- <210> 2
- <211> 55
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> 16S_V4_R primer
- <400> 2

gtctcgtggg ctcgagatg tgtataagag acaggactac hvgggtatct aatcc

55