



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0036734
(43) 공개일자 2017년04월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2006.01) G06F 19/22 (2017.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6876 (2013.01)
G06F 19/22 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7004842
(22) 출원일자(국제) 2015년07월24일
심사청구일자 2017년02월22일
(85) 번역문제출일자 2017년02월21일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2015/085109
(87) 국제공개번호 WO 2016/011982
국제공개일자 2016년01월28일
(30) 우선권주장
201410359726.4 2014년07월25일 중국(CN)

(71) 출원인
비지아이 제노믹스 코퍼레이션 리미티드
중국, 광둥 518083, 선전, 얀티엔 디스트릭트, 넘버 21 홍안3 스트리트, 비지아이 파크, 빌딩 넘버 7, 7-14층
(72) 발명자
지양, 푸만
중국, 광둥 518083, 선전, 넘버 21 홍안3 스트리트, 비지아이 파크, 빌딩 넘버 7, 7-14층
위엔, 위잉
중국, 광둥 518083, 선전, 넘버 21 홍안3 스트리트, 비지아이 파크, 빌딩 넘버 7, 7-14층
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 티앤아이

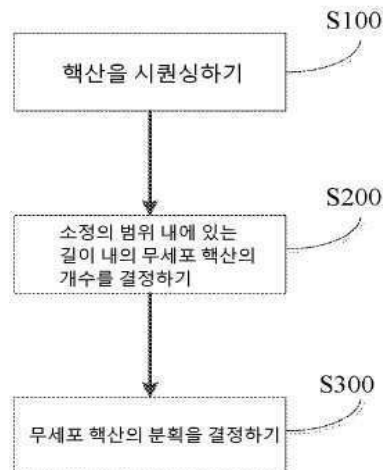
전체 청구항 수 : 총 76 항

(54) 발명의 명칭 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분해를 결정하기 위한 방법 및 장치 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명에서는 생물학적 샘플 중의 유리 핵산의 비율을 결정하기 위한 방법 및 장치, 및 이의 용도가 제공되는 것으로, 상기 방법은 (1) 복수의 시퀀싱 데이터에 대한 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 유리 핵산을 갖는 생물학적 샘플의 핵산을 시퀀싱하는 단계; (2) 상기 시퀀싱 결과에 기초하여 상기 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이를 갖는 핵산 분자의 개수를 결정하는 단계; 및 (3) 상기 소정의 범위 내에 있는 길이를 갖는 핵산 분자의 개수에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 유리 핵산의 비율을 결정하는 단계를 포함한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

왕, 웨이

중국, 광둥 518083, 선전, 넘버 21 홍안3
스트리트, 비지아이 파크, 빌딩 넘버 7, 7-14층

인, 예

중국, 광둥 518083, 선전, 넘버 21 홍안3
스트리트, 비지아이 파크, 빌딩 넘버 7, 7-14층

명세서

청구범위

청구항 1

생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법으로서,

복수의 시퀀싱 데이터(sequencing data)로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 상기 생물학적 샘플에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;

상기 시퀀싱 결과에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수를 결정하는 단계; 및

상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 생물학적 샘플에서 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하는 단계를 포함하는 생물학적 샘플에서 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 말초 혈액 샘플인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은,

임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산 또는 무세포 모계 핵산; 또는

종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산 또는 무세포 비종양-유래 핵산 중 하나로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산은 쌍 말단 시퀀싱(paired-end sequencing), 단일 말단 시퀀싱 또는 단일 분자 시퀀싱에 의해 시퀀싱되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 핵산은 DNA인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시퀀싱 결과에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수를 결정하는 단계는,

복수의 독자적으로 매핑된 리드(uniquely-mapped read)로 이루어진 데이터 세트를 구성하기 위해 참고 유전체에 대해 시퀀싱 결과를 배열하되, 상기 데이터 세트 중의 각각의 리드는 상기 참고 유전체의 위치에만 매핑될 수 있는 단계;

상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계; 및

상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수를 결정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계는,

상기 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이로서 상기 참고 유전체에 대해 각각의 독자적으로 매핑된 리드의 길이를 결정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제 6 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산이 상기 쌍 말단 시퀀싱에 의해 시퀀싱되는 경우에 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계는,

상기 쌍 말단 시퀀싱에서 획득된 각각의 독자적으로 매핑된 리드의 일 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 5'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하는 단계;

상기 쌍 말단 시퀀싱에서 획득된 동일한 독자적으로 매핑된 리드의 다른 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 3'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하는 단계; 및

상기 무세포 핵산의 5'-말단의 위치 및 상기 무세포 핵산의 3'-말단의 위치에 기초하여 상기 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제 1 항에 있어서, 상기 소정의 범위는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되며, 이때 상기 복수의 대조 샘플 각각에서 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 공지되어 있는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 상기 소정의 범위는 적어도 20개의 대조 샘플에 기초하여 결정되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제 9 항에 있어서, 상기 소정의 범위는,

(a) 상기 복수의 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계;

(b) 복수의 후보 길이 범위를 설정하고 각각의 후보 길이 범위에 존재하는 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 획득된 무세포 핵산의 백분율을 결정하는 단계;

(c) 각각의 후보 길이 범위에 존재하는 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 획득된 무세포 핵산의 백분율 및 상기 대조 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획에 기초하여 각각의 후보 길이 범위와 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획 사이의 상관 계수를 결정하는 단계; 및

(d) 상기 상관 계수에 기초하여 상기 소정의 범위로서 적어도 하나의 후보 길이 범위 또는 상기 후보 길이 범위의 조합을 결정하는 단계에 의해 결정되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 후보 길이 범위는 1bp 내지 20bp의 범위인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제 11 항에 있어서, 상기 복수의 후보 길이 범위는 1bp 내지 2bp의 단계 크기인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제 9 항에 있어서, 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하는 단계는,

상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 결정하는 단계; 및

소정의 함수에 따라 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하는 단계를 더 포함하되,

상기 소정의 함수는 상기 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제 14 항에 있어서, 상기 소정의 함수는,

(i) 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율을 결정하는 단계; 및

(ii) 상기 소정의 함수를 결정하기 위해 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율을 피팅(fitting)하는 단계에 의해 수득되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제 15 항에 있어서, 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율은 선형 피팅에 의해 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 피팅되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제 1 항에 있어서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 임신부의 말초 혈액 샘플로부터 수득된 무세포 태아 핵산이고, 상기 소정의 범위는 185bp 내지 204bp인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제 14 항에 있어서, 상기 소정의 함수는 $d = 0.0334 \cdot p + 1.6657$ 이며, 여기서 d 는 무세포 태아 핵산의 분획을 나타내고, p 는 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 나타내는 것을 특징으로 하는 방법.

제 9 항에 있어서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 공지되어 있는 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제 18 항에 있어서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 Y 염색체에 의해 결정되는 것으로 알려진 정상적인 남성 태아를 가진 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치로서,

복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 수득하기 위해 상기 생물학적 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성된 시퀀싱 장치;

상기 시퀀싱 장치에 연결되어 있으며, 상기 시퀀싱 결과에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수를 결정하도록 구성된 계수 장치; 및

상기 계수 장치에 연결되어 있으며, 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하도록 구성된 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치를 포함하는 장치.

청구항 21

제 20 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 말초 혈액 샘플인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 22

제 20 항에 있어서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은,

임산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산 또는 무세포 모계 핵산; 또는

종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 수득된

말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산 또는 무세포 비종양-유래 핵산 중 하나로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 23

제 20 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산은 쌍 말단 시퀀싱, 단일 말단 시퀀싱 또는 단일 분자 시퀀싱에 의해 시퀀싱되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 24

제 20 항에 있어서, 상기 핵산은 DNA인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 25

제 20 항 내지 제 24 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계수 장치는,

복수의 독자적으로 매핑된 리드로 이루어진 데이터 세트를 구성하기 위해 참고 유전체에 대해 시퀀싱 결과를 배열하되, 상기 데이터 세트 중의 각각의 리드는 상기 참고 유전체의 위치에만 매핑될 수 있도록 구성된 배열부;

상기 배열부에 연결되어 있으며, 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이를 결정하도록 구성된 제 1 길이 결정부; 및

상기 제 1 길이 결정부에 연결되어 있으며, 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수를 결정하도록 구성된 개수 결정부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 26

제 25 항에 있어서, 상기 제 1 길이 결정 장치는 상기 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이로서 상기 참고 유전체에 대해 독자적으로 매핑된 각각의 리드의 길이를 결정하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 27

제 25 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산이 상기 쌍 말단 시퀀싱에 의해 시퀀싱되는 경우에 상기 제 1 길이 결정부는,

상기 쌍 말단 시퀀싱에서 수득된 각각의 독자적으로 매핑된 리드의 일 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 5'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하도록 구성된 5'-말단 위치 결정 모듈;

상기 5'-말단 위치 결정 모듈에 연결되어 있으며, 상기 쌍 말단 시퀀싱에서 수득된 동일한 독자적으로 매핑된 리드의 다른 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 3'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하도록 구성된 3'-말단 위치 결정 모듈; 및

상기 3'-말단 위치 결정 모듈에 연결되어 있으며, 상기 무세포 핵산의 5'-말단의 위치 및 상기 무세포 핵산의 3'-말단의 위치에 기초하여 상기 무세포 핵산의 길이를 결정하도록 구성된 길이 산정 모듈을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 28

제 20 항에 있어서, 복수의 대조 샘플에 기초하여 상기 소정의 범위를 결정하도록 구성된 소정의 범위 결정 장치를 더 포함하되,

상기 복수의 대조 샘플 각각에서 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 공지되어 있고,

임의적으로는, 상기 소정의 범위는 적어도 20개의 대조 샘플에 기초하여 결정되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 29

제 28 항에 있어서, 상기 소정의 범위 결정 장치는,

상기 복수의 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 길이를 결정하도록 구성된 제 2 길이 결정부;

상기 제 2 길이 결정부에 연결되어 있으며, 복수의 후보 길이 범위를 설정하고 각각의 후보 길이 범위 내에 존

재하고 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율을 결정하도록 구성된 제 1 백분율을 결정부;

상기 제 1 백분율을 결정부에 연결되어 있으며, 각각의 후보 길이 범위 내에 존재하고 상기 복수의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율 및 상기 대조 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획에 기초하여 각각의 후보 길이 범위와 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획 사이의 상관 계수를 결정하도록 구성된 상관 계수 결정부; 및

상기 상관 계수 결정부에 연결되어 있으며, 상기 소정의 범위로서 가장 큰 상관 계수를 갖는 후보 길이 범위를 선택하도록 구성된 소정의 범위 결정부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 30

제 29 항에 있어서, 상기 후보 길이 범위는 1bp 내지 20bp의 범위이고,

임의적으로는, 상기 복수의 후보 길이 범위는 1bp 내지 2bp의 단계 크기인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 31

제 28 항에 있어서, 상기 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치는,

상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 소정의 범위 내에 존재하는 상기 무세포 핵산의 백분율을 결정하도록 구성된 제 2 백분율 결정부; 및

상기 제 2 백분율을 결정부에 연결되어 있으며, 소정의 함수에 따라 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하도록 구성된 무세포 핵산 분획의 산정부를 더 포함하되, 상기 소정의 함수는 상기 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 32

제 31 항에 있어서, 소정의 함수 결정 장치를 더 포함하되, 상기 소정의 함수 결정 장치는,

상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율을 결정하도록 구성된 제 3 백분율 결정부; 및

상기 제 3 백분율을 결정부에 연결되어 있으며, 상기 소정의 함수를 결정하기 위해 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 무세포 핵산의 백분율 및 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획을 피팅에 적용하도록 구성된 피팅부(fitting unit)를 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 33

제 32 항에 있어서, 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율은 선형 피팅에 의해 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 피팅되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 34

제 20 항에 있어서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 임신부의 말초 혈액 샘플로부터 수득된 무세포 태아 핵산이고, 상기 소정의 범위는 185bp 내지 204bp인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 35

제 31 항에 있어서, 상기 소정의 함수는 $d = 0.0334 \cdot p + 1.6657$ 이며, 여기서 d 는 무세포 태아 핵산의 분획을 나타내고, p 는 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 나타내는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 36

제 28 항에 있어서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 공지되어 있는 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 37

제 36 항에 있어서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 Y 염색체에 의해 결정되는 것으로 알려진 정상적인 남성 태아를 가진 임산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 38

쌍둥이의 성을 결정하기 위한 방법으로서,

복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 수득하기 위해 쌍둥이를 가진 임산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계;

상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 및

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 쌍둥이의 성을 결정하는 단계를 포함하는 쌍둥이의 성을 결정하기 위한 방법.

청구항 39

제 38 항에 있어서, 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정되는 것을 특징으로 하는 방법:

$$fra.chry = (chry.ER\% - Female.chry.ER\%) / (Man.chry.ER\% - Female.chry.ER\%) * 100\%$$

상기 식에서, *fra.chry*는 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고;

*chry.ER%*는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고;

*Female.chry.ER%*는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고;

*Man.chry.ER%*는 건강한 남성으로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다.

청구항 40

제 38 항에 있어서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 쌍둥이의 성을 결정하는 단계는,

(a) 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하는 단계; 및

(b) 상기 단계 (a)에서 결정된 비율을 소정의 제 1 역치 및 제 2 역치와 비교함으로써 상기 쌍둥이의 성을 결정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 41

제 40 항에 있어서, 상기 제 1 역치는 여성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임산부로부터 수득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 2 역치는 남성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임산부로부터 수득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 42

제 41 항에 있어서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 여성이고,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 2 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 남성이고,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치 또는 제 2 역치와 동일하거나 제 1 역치와 제 2 역치 사이에 있는 경우에 상기 쌍둥이는 남성 태아 및 여성 태아를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 43

제 42 항에 있어서, 상기 제 1 역치는 0.35이고, 상기 제 2 역치는 0.7인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 44

쌍둥이의 성을 결정하기 위한 시스템으로서,

제 21 항 내지 제 45 항 중 어느 한 항에 따른 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치이고, 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되며, 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치;

상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 2 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치; 및

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 쌍둥이의 성을 결정하도록 구성된 성 결정 장치를 포함하는 쌍둥이의 성을 결정하기 위한 시스템.

청구항 45

제 44 항에 있어서, 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정되는 것을 특징으로 하는 시스템:

$$fra.chry = (chry.ER\% - Female.chry.ER\%) / (Man.chry.ER\% - Female.chry.ER\%) * 100\%$$

상기 식에서, *fra.chry*는 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고;

*chry.ER%*는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고;

*Female.chry.ER%*는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고;

*Man.chry.ER%*는 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다.

청구항 46

제 44 항에 있어서, 상기 성 결정 장치는,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하도록 구성된 비율 결정부; 및

상기 쌍둥이의 성을 결정하기 위해 상기 비율 결정부에 의해 결정된 비율을 소정의 제 1 역치 및 제 2 역치와 비교하도록 구성된 비교부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 47

제 46 항에 있어서, 상기 제 1 역치는 여성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임산부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 2 역치는 남성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임산부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 48

제 47 항에 있어서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 여성이고,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 2 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 남성이고,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치 또는 제 2 역치와 동일하거나 제 1 역치와 제 2 역치 사이에 있는 경우에 상기 쌍둥이는 남성 태아 및 여성 태아를 포함하는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 49

제 48 항에 있어서, 상기 제 1 역치는 0.35이고, 상기 제 2 역치는 0.7인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 50

쌍둥이의 염색체 이수성(chromosome aneuploidy)을 검출하기 위한 방법으로서,

복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계;

상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 및

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하는 단계를 포함하는 쌍둥이의 염색체 이수성을 검출하기 위한 방법.

청구항 51

제 50 항에 있어서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정되는 것을 특징으로 하는 방법:

$$fra.chri = 2 * (chri.ER\% / adjust.chri.ER\% - 1) * 100\%$$

상기 식에서, *fra.chri*는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, *i*는 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 *i*는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고;

*chri.ER%*는 시퀀싱 결과에서 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고;

*adjust.chri.ER%*는 정상적인 쌍둥이를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다.

청구항 52

제 51 항에 있어서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하는 단계는,

(a) 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하는 단계; 및

(b) 단계 (a)에서 결정된 비율을 소정의 제 3 역치 및 제 4 역치와 비교함으로써 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 53

제 52 항에 있어서, 상기 제 3 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 4 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 54

제 53 항에 있어서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않고,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 4 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖고,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치 또는 제 4 역치와 동일하거나 제 3 역치와 제 4 역치 사이에 있는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 반면, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 55

제 54 항에 있어서, 상기 제 3 역치는 0.35이고, 상기 제 4 역치는 0.7인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 56

제 50 항에 있어서, 상기 소정의 염색체는 18번, 21번 및 23번 염색체로부터 선택된 적어도 하나인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 57

쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하는 시스템으로서,

제 21 항 내지 제 45 항 중 어느 한 항에 따른 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치이고, 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되며, 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치;

상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 3 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치; 및

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하도록 구성된 제 1 이수성 결정 장치를 포함하는 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하는 시스템.

청구항 58

제 57 항에 있어서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정되는 것을 특징으로 하는 시스템:

$$fra.chri = 2 * (chri.ER\% / adjust.chri.ER\% - 1) * 100\%$$

상기 식에서, $fra.chri$ 는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, i 는 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고;

$chri.ER\%$ 는 시퀀싱 결과에서 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고;

$adjust.chri.ER\%$ 는 정상적인 쌍둥이를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다.

청구항 59

제 58 항에 있어서, 상기 제 1 이수성 결정 장치는,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하도록 구성된 비율 결정부; 및

상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하기 위해 상기 비율 결정부에 의해 결정된 비율을 소정의 제 3 역치 및 제 4 역치와 비교하도록 구성된 비교부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 60

제 59 항에 있어서, 상기 제 3 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 4 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 61

제 60 항에 있어서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않고,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 4 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖고,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치 또는 제 4 역치와 동일하거나 제 3 역치와 제 4 역치 사이에 있는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 반면, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 62

제 61 항에 있어서, 상기 제 3 역치는 0.35이고, 상기 제 4 역치는 0.7인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 63

제 57 항에 있어서, 상기 소정의 염색체는 18번, 21번 및 23번 염색체로부터 선택된 적어도 하나인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 64

쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 방법으로서,

복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 수득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;

상기 시퀀싱 결과에서 i 번 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 개수의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 분획(x_i)을 결정하되, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수인 단계;

$T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$ (여기서, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, μ_i 는 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고, σ_i 는 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 표준편차를 나타냄)에 따라 상기 i 번 염색체의 T 점수를 결정하는 단계;

$L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$ (여기서, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a 는 자유도를 나타내고, fra 는 제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 결정된 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타냄)에 따라 상기 i 번 염색체의 L 점수를 결정하는 단계; 및

T 가 소정의 제 5 역치인 제 1 직선 및 L 이 소정의 제 6 역치인 제 2 직선으로 구획(zoning)함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L 을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하는 단계를 포함하되,

검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의

태아 둘 모두는 트리좀(trisome)을 갖는 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 트리좀을 갖는 것으로 결정되고, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 정상인 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 정상인 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않는 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 방법.

청구항 65

태아 키메라(fetal chimera)를 검출하기 위한 방법으로서,

복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 태아, 임의적으로는 남성 태아를 가진 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;

제 1 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하거나, 하기 식에 따라 Y 염색체에 의한 태아 분획($\text{fra.chrY}\%$)을 제 1 무세포 태아 DNA 분획으로서 추정하는 단계:

$$\text{fra.chrY} = (\text{chrY.ER}\% - \text{Female.chrY.ER}\%) / (\text{Man.chrY.ER}\% - \text{Female.chrY.ER}\%) * 100\%$$

(여기서, fra.chrY 는 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, $\text{chrY.ER}\%$ 는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $\text{Female.chrY.ER}\%$ 는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; $\text{Man.chrY.ER}\%$ 는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄);

상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 및

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지를 결정하는 단계를 포함하는 태아 키메라를 검출하기 위한 방법.

청구항 66

제 65 항에 있어서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 의해 결정되는 것을 특징으로 하는 방법:

$$\text{fra.chrY} = 2 * (\text{chrY.ER}\% / \text{adjust.chrY.ER}\% - 1) * 100\%$$

상기 식에서, fra.chrY 는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, i 는 상기 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고;

$\text{chrY.ER}\%$ 는 시퀀싱 결과에서 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고;

$\text{adjust.chrY.ER}\%$ 는 정상적인 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다.

청구항 67

제 66 항에 있어서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지를 결정하는 단계는,

(a) 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하는 단계; 및

(b) 단계 (a)에서 결정된 비율을 복수의 소정의 역치와 비교함으로써 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 키메라를 갖는지를 결정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 68

제 67 항에 있어서, 상기 복수의 소정의 역치는,

완전한 모노솜(monosome)인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 7 역치,

모노솜 키메라인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 8 역치,

정상적인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 9 역치, 및

완전한 트리솜인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 10 역치로부터 선택된 적어도 하나를 포함하되,

임의적으로는, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 모노솜이고;

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작지 않고 제 8 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 모노솜 키메라이고;

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 8 역치보다 크고 제 9 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 정상이고;

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 9 역치보다 작지 않고 제 10 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 트리솜 키메라이고;

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 10 역치보다 큰 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 트리솜인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 69

제 68 항에 있어서, 상기 제 7 역치는 -1보다 크고 0보다 작으며, 임의적으로는 -0.85이고;

상기 제 8 역치는 상기 제 7 역치보다 크고 0보다 작으며, 임의적으로는 -0.3이고;

상기 제 9 역치는 0보다 크고 1보다 작으며, 임의적으로는 0.3이고;

상기 제 10 역치는 상기 제 9 역치보다 크고 1보다 작으며, 임의적으로는 0.85인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 70

태아 키메라를 검출하기 위한 시스템으로서,

제 21 항 내지 제 45 항 중 어느 한 항에 따른 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치이고, 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 태아를 가진 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되며, 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성되거나 하기 식에 따라 Y 염색체에 의한 태아 분획($fra.chrY\%$)을 제 1 무세포 태아 DNA 분획으로서 추정하도록 구성된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치:

$$fra.chrY = (chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) / (Man.chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) * 100\%$$

(여기서, $fra.chrY$ 는 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, $chrY.ER\%$ 는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $Female.chrY.ER\%$ 는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; $Man.chrY.ER\%$ 는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄);

상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을

결정하도록 구성된 제 3 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치; 및

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지를 결정하도록 구성된 키메라 결정 장치를 포함하는 태아 키메라를 검출하기 위한 시스템.

청구항 71

제 70 항에 있어서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정되는 것을 특징으로 하는 시스템:

$$fra.chri = 2 * (chri.ER\% / adjust.chri.ER\% - 1) * 100\%$$

상기 식에서, *fra.chri*는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, *i*는 상기 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 *i*는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고;

*chri.ER%*는 시퀀싱 결과에서 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고;

*adjust.chri.ER%*는 정상적인 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다.

청구항 72

제 71 항에 있어서, 상기 키메라 결정 장치는,

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하도록 구성된 비율 결정부; 및

상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 키메라를 갖는지를 결정하기 위해 상기 비율 결정부에 의해 결정된 상기 비율을 복수의 소정의 역치와 비교하도록 구성된 비교부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 73

제 72 항에 있어서, 상기 복수의 소정의 역치는,

완전한 모노좀인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 7 역치,

모노좀 키메라인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 8 역치,

정상적인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 9 역치, 및

완전한 트리좀인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 10 역치로부터 선택된 적어도 하나를 포함하되,

임의적으로는, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 모노좀이고;

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작지 않고 제 8 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 모노좀 키메라이고;

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 8 역치보다 크고 제 9 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 정상이고;

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 9 역치보다 작지 않고 제 10 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 트리좀 키메라이고;

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 10 역치보다 큰 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 트리좀인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 74

제 73 항에 있어서, 상기 제 7 역치는 -1보다 크고 0보다 작으며, 임의적으로는 -0.85이고;

상기 제 8 역치는 상기 제 7 역치보다는 크고 0보다는 작으며, 임의적으로는 -0.3이고;

상기 제 9 역치는 0보다는 크고 1보다는 작으며, 임의적으로는 0.3이고;

상기 제 10 역치는 상기 제 9 역치보다는 크고 1보다는 작으며, 임의적으로는 0.85인 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 75

태아 키메라를 검출하기 위한 방법으로서,

복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 태아를 가진 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;

상기 시퀀싱 결과에서 i 번 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 개수의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 분획(x_i)을 결정하되, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수인 단계;

$T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$ (여기서, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, μ_i 는 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체의 시퀀싱 데이터의 i 의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 평균값을 나타내고, σ_i 는 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체의 시퀀싱 데이터의 i 의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 표준편차를 나타냄)에 따라 상기 i 번 염색체의 T 점수를 결정하는 단계;

$L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$ (여기서, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a 는 자유도를 나타내고, fra 는 제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 결정된 무세포 태아 DNA 분획 또는 Y 염색체에 의해 추정된 태아 분획($fra.chrY\%$)을 나타내며, $fra.chrY = (chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) / (Man.chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) * 100\%$ (여기서, $fra.chrY$ 는 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, $chrY.ER\%$ 는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 상기 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $Female.chrY.ER\%$ 는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 i 의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; $Man.chrY.ER\%$ 는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 i 의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄)에 따라 상기 i 번 염색체의 L 점수를 결정하는 단계;

상기 T 점수가 0보다 큰 경우 T 가 소정의 제 11 역치인 제 3 직선 및 L 이 소정의 제 12 역치인 제 4 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L 을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하되,

검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 완전한 모노솜 또는 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 정상인 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않는 단계; 및

상기 T 점수가 0보다 큰 경우 T 가 소정의 제 13 역치인 제 1 직선 및 L 이 소정의 제 14 역치인 제 2 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L 을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하되,

검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 완전한 트리솜 또는 트리솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 트리존 키메라를 갖는 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 정상인 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않고;

임의적으로는, 상기 제 11 역치 및 제 13 역치는 각각 독립적으로 3이고, 상기 제 12 역치 및 제 14 역치는 각각 독립적으로 1인 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 76

쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 시스템으로서,

복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되고, 상기 시퀀싱 결과에서 i번 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 개수의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 분획(x_i)을 결정하되, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수인 x_i 값 결정 장치;

$T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$ (여기서, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, μ_i 는 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고, σ_i 는 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 표준편차를 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 T 점수를 결정하도록 구성된 T 점수 결정 장치;

$L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$ (여기서, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a는 자유도를 나타내고, fra는 제 1 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 결정된 무세포 태아 DNA 분획을 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 L 점수를 결정하도록 구성된 L 점수 결정 장치; 및

T가 소정의 제 5 역치인 제 5 직선 및 L이 소정의 제 6 역치인 제 6 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하도록 구성된 제 2 이수성 결정 장치를 포함하되,

검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 트리존을 갖는 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 트리존을 갖는 것으로 결정되고 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 정상적인 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 정상적인 것으로 결정되고;

검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않는 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 시스템.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생명공학 분야에 관한 것으로, 특히 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법 및 장치, 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 1977년 이후, 연구원들은 종양을 앓고 있는 환자의 말초 혈액에서 암-유래 DNA를 성공적으로 발견하였으며, 또한 임산부로부터의 혈장에서 무세포 태아 DNA(cff-DNA)의 존재를 확인하였다. 종양을 앓고 있는 환자의 말초 혈액에서 암-유래 DNA의 검출 또는 추정 및 임산부로부터의 혈장 중의 무세포 태아 DNA 분획의 검출 및 추정, 즉 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산 분획의 결정은 매우 큰 의미를 갖는다.

[0003] 그러나 생물학적 샘플에서 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 현재의 방법은 여전히 개선되어야 한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명의 실시형태는 당해 기술분야에 존재하는 문제점들 중 적어도 하나를 적어도 어느 정도 해결하기 위한 것이다. 이를 위해, 본 발명의 목적은 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 정확하고 효율적으로 결정할 수 있는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0005] 본 발명의 기술적 해결은 하기 발견을 통해 달성되는 것으로 주지되어야 한다.

[0006] 현재, 말초 혈액 중의 무세포 태아 DNA 분획의 분획을 추정하기 위한 2개의 주요 동향이 있다: 1) 모계 말초 혈액으로부터의 단핵 세포 중의 모계 DNA 단편 및 무세포 태아 DNA 단편의 특정 마커의 메틸화에 대한 상이한 반응을 이용하기; 및 2) 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP) 부위들 사이의 차이에 기초하여 복수의 대표적인 SNP 부위를 선택하기. 상기 방법 둘 모두는 특정 한계점이 있다: 방법 1)은 다량의 혈장을 필요로 하고, 방법 2)는 탐침 포획 및 높은 시퀀싱 깊이(sequencing depth)를 필요로 하거나, 모계 정보를 획득할 필요성이 있다. 그러나 무세포 태아 DNA 분획이 낮은 범위의 깊이로 전체 유전체 시퀀싱하에 추정된다는 어떠한 보고도 지금까지 공개된 적 없다. 연구에 따르면, 모계 혈액 순환 중인 무세포 태아 DNA 단편(이의 대부분이 313bp보다 짧음)은 일반적으로 무세포 모계 DNA 단편보다 짧은 것으로 나타났다. 이러한 자극으로 인해, 본 발명자들은 임산부의 혈장의 시퀀싱에 기초하여 무세포 태아 DNA 분획을 추정하는 과정을 발명하였으며, 이의 방법은 응용이 광범위하며, 상이한 공급원으로부터의 무세포 DNA에 적용될 수 있다. 예를 들어, 이러한 방법은 종양을 앓고 있는 환자의 말초 혈액에서 암-유래 DNA 분획을 추정하기 위해 사용될 수도 있다.

[0007] 제 1 양태에서, 본 발명은 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 상기 생물학적 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계; 상기 시퀀싱 결과에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수를 결정하는 단계; 및 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하는 단계를 포함한다. 놀랍게도, 본 발명자들은 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획, 특히 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산의 분획, 또는 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산의 분획이 본 발명의 방법에 의해 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다는 것을 발견하였다.

[0008] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플은 말초 혈액 샘플이다.

[0009] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 하기 중 하나로부터 선택된다: 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산 또는 모계 무세포 핵산, 또는 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝(tumor screening)에 적용되는 개체로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산 또는 무세포 비종양-유래 핵산. 따라서 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 무세포 태아 핵산의 분획 또는 종양을 앓고 있는 개체로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산의 분획은 용이하게 결정될 수 있다.

[0010] 본 발명의 몇몇 특정 실시형태에서, 상기 무세포 핵산은 DNA이다.

[0011] 본 발명의 실시형태에서, 상기 시퀀싱 결과는 상기 무세포 핵산의 길이를 포함한다.

[0012] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산은 쌍 말단 시퀀싱(paired-end sequencing), 단일 말단 시퀀싱 또는 단일 분자 시퀀싱에 의해 시퀀싱된다. 따라서 상기 무세포 핵산의 길이는 용이하게 획득될

수 있으며, 이는 후속적인 단계에 도움이 된다.

- [0013] 본 발명의 실시형태에서, 상기 무세포 핵산은 DNA이다.
- [0014] 본 발명의 실시형태에서, 상기 시퀀싱 결과에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수를 결정하는 단계는 복수의 독자적으로 매핑된 리드(uniquely-mapped read)로 이루어진 데이터 세트를 구성하기 위해 참고 유전체에 대해 시퀀싱 결과를 배열하되, 상기 데이터 세트 중의 각각의 리드는 상기 참고 유전체의 위치에만 매핑될 수 있는 단계; 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계; 및 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수를 결정하는 단계를 더 포함한다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수는 용이하게 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0015] 본 발명의 실시형태에서, 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계는 상기 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이로서 상기 참고 유전체에 대해 각각의 독자적으로 매핑된 리드의 길이를 결정하는 단계를 더 포함한다. 따라서 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이는 정확하게 결정될 수 있다.
- [0016] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산이 상기 쌍 말단 시퀀싱에 의해 시퀀싱되는 경우에 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계는 상기 쌍 말단 시퀀싱에서 수득된 각각의 독자적으로 매핑된 리드의 일 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 5'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하는 단계; 상기 쌍 말단 시퀀싱에서 수득된 동일한 독자적으로 매핑된 리드의 다른 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 3'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하는 단계; 및 상기 무세포 핵산의 5'-말단의 위치 및 상기 무세포 핵산의 3'-말단의 위치에 기초하여 상기 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계를 포함한다. 따라서 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이는 정확하게 결정될 수 있다.
- [0017] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되며, 이때 상기 복수의 대조 샘플 각각에서 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 공지되어 있다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하고 신뢰 가능한 결과로 결정될 수 있다.
- [0018] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위는 적어도 20개의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0019] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위는 하기 단계에 의해 결정된다: (a) 상기 복수의 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 길이를 결정하는 단계; (b) 복수의 후보 길이 범위를 설정하고 각각의 후보 길이 범위에 존재하는 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 수득된 무세포 핵산의 백분율을 결정하는 단계; (c) 각각의 후보 길이 범위에 존재하는 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 수득된 무세포 핵산의 백분율 및 상기 대조 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획에 기초하여 각각의 후보 길이 범위와 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획 사이의 상관 계수를 결정하는 단계; 및 (d) 상기 소정의 범위로서 가장 큰 상관 계수를 갖는 후보 길이 범위를 결정하는 단계. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다.
- [0020] 본 발명의 실시형태에서, 상기 후보 길이 범위는 5bp 내지 20bp의 범위이다.
- [0021] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하는 단계는,
- [0022] 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 결정하는 단계; 및
- [0023] 소정의 함수에 따라 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하는 단계를 더 포함하되, 상기 소정의 함수는 상기 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0024] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 함수는 하기 단계에 의해 수득된다:
- [0025] (i) 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율을 결정하는 단

계; 및

- [0026] (ii) 상기 소정의 함수를 결정하기 위해 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율을 피팅(fitting)하는 단계. 따라서 상기 소정의 함수는 정확하고 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 후속적인 단계에 도움이 된다.
- [0027] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율은 선형 피팅에 의해 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 피팅된다.
- [0028] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 임산부의 말초 혈액 샘플로부터 수득된 무세포 태아 핵산이고, 상기 소정의 범위는 185bp 내지 204bp이다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 상기 소정의 범위에 기초하여 정확하게 결정될 수 있다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 함수는 $d = 0.0334 * p + 1.6657$ 이며, 여기서 d는 무세포 태아 핵산의 분획을 나타내고, p는 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 나타낸다. 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 상기 소정의 함수에 기초하여 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0029] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 공지되어 있는 임산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플이다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하게 결정된다.
- [0030] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 Y 염색체에 의해 결정되는 것으로 알려진 정상적인 남성 태아를 가진 임산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플이다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하게 결정된다.
- [0031] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 분획은 Y 염색체에 의해 추정되는 무세포 태아 DNA 분획이다. 따라서 상기 소정의 범위는 상기 대조 샘플의 무세포 핵산의 분획을 효율적으로 이용함으로써 결정될 수 있으며, 이어 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수 및 검출 하에 있는 임산부로부터 수득된 샘플 중의 무세포 태아 DNA 분획은 추가로 결정될 수 있다.
- [0032] 제 2 양태에서, 본 발명은 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치를 더 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 장치는 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 수득하기 위해 상기 생물학적 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성된 시퀀싱 장치; 상기 시퀀싱 장치에 연결되어 있으며, 상기 시퀀싱 결과에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수를 결정하도록 구성된 계수 장치; 및 상기 계수 장치에 연결되어 있으며, 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하도록 구성된 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치를 포함한다. 놀랍게도 본 발명자들은 본 발명의 장치가 상기에 개시된 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법을 수행하기에 적합하며, 상기 방법에 의해 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획, 특히 임산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산의 분획, 또는 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산의 분획이 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0033] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플은 말초 혈액 샘플이다.
- [0034] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 하기 중 하나로부터 선택된다: 임산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산 또는 무세포 모계 핵산, 또는 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산 또는 무세포 비종양-유래 핵산. 따라서 임산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산의 분획, 또는 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산의 분획이 용이하게 결정될 수 있다.
- [0035] 본 발명의 실시형태에서, 상기 핵산은 DNA이다.
- [0036] 본 발명의 실시형태에서, 상기 시퀀싱 결과는 상기 무세포 핵산의 길이를 포함한다.
- [0037] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산은 쌍 말단 시퀀싱, 단일 말단 시퀀싱 또는 단일 분자 시퀀싱에 의해 시퀀싱된다. 따라서 상기 무세포 핵산의 길이는 용이하게 수득될 수 있으며, 이는 후속적인

단계에 도움이 된다.

- [0038] 본 발명의 실시형태에서, 상기 계수 장치는 복수의 독자적으로 매핑된 리드로 이루어진 데이터 세트를 구성하기 위해 참고 유전체에 대해 시퀀싱 결과를 배열하되, 상기 데이터 세트 중의 각각의 리드는 상기 참고 유전체의 위치에만 매핑될 수 있도록 구성된 배열부; 상기 배열부에 연결되어 있으며, 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이를 결정하도록 구성된 제 1 길이 결정부; 및 상기 제 1 길이 결정부에 연결되어 있으며, 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수를 결정하도록 구성된 개수 결정부를 더 포함한다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 상기 무세포 핵산의 개수는 용이하게 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0039] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 길이 결정 장치는 상기 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이로서 상기 참고 유전체에 대해 독자적으로 매핑된 각각의 리드의 길이를 결정하도록 구성된다. 따라서 상기 데이터 세트의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이는 정확하게 결정될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산이 상기 쌍 말단 시퀀싱에 의해 시퀀싱되는 경우에 상기 제 1 길이 결정부는 상기 쌍 말단 시퀀싱에서 수득된 각각의 독자적으로 매핑된 리드의 일 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 5'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하도록 구성된 5'-말단 위치 결정 모듈; 상기 5'-말단 위치 결정 모듈에 연결되어 있으며, 상기 쌍 말단 시퀀싱에서 수득된 동일한 독자적으로 매핑된 리드의 다른 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 3'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하도록 구성된 3'-말단 위치 결정 모듈; 및 상기 3'-말단 위치 결정 모듈에 연결되어 있으며, 상기 무세포 핵산의 5'-말단의 위치 및 상기 무세포 핵산의 3'-말단의 위치에 기초하여 상기 무세포 핵산의 길이를 결정하도록 구성된 길이 산정 모듈을 더 포함한다. 따라서 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이는 정확하게 결정될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 실시형태에서, 상기 장치는 복수의 대조 샘플에 기초하여 상기 소정의 범위를 결정하도록 구성된 소정의 범위 결정 장치를 더 포함하되, 상기 복수의 대조 샘플 각각에서 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 공지되어 있고, 임의적으로는, 상기 소정의 범위는 적어도 20개의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0042] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위 결정 장치는 상기 복수의 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 길이를 결정하도록 구성된 제 2 길이 결정부; 상기 제 2 길이 결정부에 연결되어 있으며, 복수의 후보 길이 범위를 설정하고 각각의 후보 길이 범위 내에 존재하고 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율을 결정하도록 구성된 제 1 백분율 결정부; 상기 제 1 백분율 결정부에 연결되어 있으며, 각각의 후보 길이 범위 내에 존재하고 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율 및 상기 대조 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획에 기초하여 각각의 후보 길이 범위와 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획 사이의 상관 계수를 결정하도록 구성된 상관 계수 결정부; 및 상기 상관 계수 결정부에 연결되어 있으며, 상기 소정의 범위로서 가장 큰 상관 계수를 갖는 후보 길이 범위를 선택하도록 구성된 소정의 범위 결정부를 더 포함한다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 실시형태에서, 상기 후보 길이 범위는 1bp 내지 20bp의 범위이다.
- [0044] 본 발명의 실시형태에서, 상기 복수의 후보 길이 범위는 1bp 내지 2bp의 단계 크기이다.
- [0045] 본 발명의 실시형태에서, 상기 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치는 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 소정의 범위 내에 존재하는 상기 무세포 핵산의 백분율을 결정하도록 구성된 제 2 백분율 결정부; 및 상기 제 2 백분율 결정부에 연결되어 있으며, 소정의 함수에 따라 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하도록 구성된 무세포 핵산 분획의 산정부를 더 포함하되, 상기 소정의 함수는 상기 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0046] 본 발명의 실시형태에서, 상기 장치는 소정의 함수 결정 장치를 더 포함하며, 이때 상기 소정의 함수 결정 장치는 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율을 결정하도록 구성된 제 3 백분율 결정부; 및 상기 제 3 백분율 결정부에 연결되어 있으며, 상기 소정의 함수를 결정하기 위해 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 무세포 핵산의 백분율을 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 피팅하도록 구성된 피팅부(fitting unit)를 포함한다. 따라서 상

기 소정의 함수는 정확하고 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 후속적인 단계에 도움이 된다.

- [0047] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 상기 무세포 핵산의 백분율은 선형 피팅에 의해 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 피팅된다.
- [0048] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 임신부의 말초 혈액 샘플로부터 수득된 무세포 태아 핵산이고, 상기 소정의 범위는 185bp 내지 204bp이다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 상기 소정의 범위에 기초하여 정확하게 결정될 수 있다.
- [0049] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 함수는 $d = 0.0334 * p + 1.6657$ 이며, 여기서 d는 무세포 태아 핵산의 분획을 나타내고, p는 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 나타낸다. 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 상기 소정의 범위에 기초하여 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0050] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 공지되어 있는 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플이다.
- [0051] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 Y 염색체에 의해 결정되는 것으로 알려진 정상적인 남성 태아를 가진 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플이다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하게 결정된다.
- [0052] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 분획은 Y 염색체에 의한 추정치에 적합한 장치에 의해 결정되는 무세포 태아 DNA 분획이다. 따라서 상기 소정의 범위는 상기 대조 샘플의 무세포 핵산의 분획을 효율적으로 이용함으로써 결정될 수 있으며, 이어 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수 및 검출 하에 있는 임신부로부터 수득된 샘플 중의 무세포 태아 DNA 분획은 추가로 결정될 수 있다.
- [0053] 본 발명에 따른 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법 및 장치는 적어도 하기 이점을 갖는 것으로 주지되어야 한다.
- [0054] 1) 보편성: 품질 관리를 충족시키는 모든 샘플 중의 무세포 태아(특히 여성 태아) DNA 분획을 추정할 수 있다.
- [0055] 2) NIPT 검출의 정확성을 개선시킬 수 있다.
- [0056] 3) 운용 간편성: 상기 무세포 태아 DNA 분획을 오프라인 데이터를 이용하여 단순하게는 직접 추정할 수 있다.
- [0057] 제 3 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 성(sexuality)을 결정하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 수득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계; 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위해 상술한 방법에 의해 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 및 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 쌍둥이의 성을 결정하는 단계를 포함한다. 놀랍게도, 본 발명자들은 임신부의 쌍둥이의 성이 본 발명의 방법에 의해 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0058] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정된다:
- [0059]
$$fra.chry = (chry.ER\% - Female.chry.ER\%) / (Man.chry.ER\% - Female.chry.ER\%) * 100\%$$
- [0060] 상기 식에서, *fra.chry*는 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고; *chry.ER%*는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *Female.chry.ER%*는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; *Man.chry.ER%*는 건강한 남성으로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다.
- [0061] 따라서 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 정확하게 결정될 수 있다.
- [0062] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 쌍둥이의 성을 결정하는 단계는 (a) 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하는 단계; 및 (b) 상기 단계 (a)에서 결정된 비율을 소정의 제 1 역치 및 제 2 역치와 비교함으로써

써 상기 쌍둥이의 성을 결정하는 단계를 더 포함한다. 따라서 상기 쌍둥이의 성은 효율적으로 결정될 수 있다.

- [0063] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 역치는 여성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 2 역치는 남성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0064] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 여성이고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 2 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 남성이고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치 또는 제 2 역치와 동일하거나 제 1 역치와 제 2 역치 사이에 있는 경우에 상기 쌍둥이는 남성 태아 및 여성 태아를 포함한다.
- [0065] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 역치는 0.35이고, 상기 제 2 역치는 0.7이다.
- [0066] 제 4 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 성을 결정하기 위한 시스템을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 시스템은,
- [0067] 상술한 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치이고, 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되며, 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치;
- [0068] 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 2 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치; 및
- [0069] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 쌍둥이의 성을 결정하도록 구성된 성 결정 장치를 포함한다.
- [0070] 놀랍게도, 본 발명자들은 임신부의 쌍둥이의 성이 본 발명의 시스템에 의해 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0071] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정된다:
- [0072]
$$fra.chry = (chry.ER\% - Female.chry.ER\%) / (Man.chry.ER\% - Female.chry.ER\%) * 100\%$$
- [0073] 상기 식에서, *fra.chry*는 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고; *chry.ER%*는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *Female.chry.ER%*는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; *Man.chry.ER%*는 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다. 따라서 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 정확하게 결정될 수 있다.
- [0074] 본 발명의 실시형태에서, 상기 성 결정 장치는 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하도록 구성된 비율 결정부; 및 상기 쌍둥이의 성을 결정하기 위해 상기 비율 결정부에 의해 결정된 비율을 소정의 제 1 역치 및 제 2 역치와 비교하도록 구성된 비교부를 더 포함한다. 따라서 상기 쌍둥이의 성은 효율적으로 결정될 수 있다.
- [0075] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 역치는 여성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 2 역치는 남성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0076] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 여성이고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 2 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 남성이고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치 또는 제 2 역치와 동일하거나 제 1 역치와 제 2 역치 사이에 있는 경우에 상기 쌍둥이는 남성 태아 및 여성 태아를 포함한다.
- [0077] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 역치는 0.35이고, 상기 제 2 역치는 0.7이다.
- [0078] 제 5 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 염색체 이수성(chromosome aneuploidy)을 검출하기 위한 방법을 제공한다.

본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은,

- [0079] 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;
- [0080] 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위해 상술한 방법에 의해 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계;
- [0081] 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 및
- [0082] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하는 단계를 포함한다.
- [0083] 따라서 상기 쌍둥이의 염색체 이수성은 정확하고 효율적으로 검출될 수 있다.
- [0084] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정된다:
- [0085]
$$fra.chri = 2 * (chri.ER\% / adjust.chri.ER\% - 1) * 100\%$$
- [0086] 상기 식에서, $fra.chri$ 는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, i 는 상기 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고; $chri.ER\%$ 는 시퀀싱 결과에서 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $adjust.chri.ER\%$ 는 정상적인 쌍둥이를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다.
- [0087] 따라서 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 정확하게 결정될 수 있다.
- [0088] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하는 단계는 (a) 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하는 단계; 및 (b) 단계 (a)에서 결정된 비율을 소정의 제 3 역치 및 제 4 역치와 비교함으로써 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하는 단계를 더 포함한다. 따라서 상기 쌍둥이의 염색체 이수성은 효율적으로 검출될 수 있다.
- [0089] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 4 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0090] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 4 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치 또는 제 4 역치와 동일하거나 제 3 역치와 제 4 역치 사이에 있는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 반면, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는다.
- [0091] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 역치는 0.35이고, 상기 제 4 역치는 0.7이다.
- [0092] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 염색체는 18번, 21번 및 23번 염색체로부터 선택된 적어도 하나이다.
- [0093] 제 6 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 시스템을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 시스템은,
- [0094] 상술한 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치이고, 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되며, 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치;

- [0095] 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 3 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치; 및
- [0096] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하도록 구성된 제 1 이수성 결정 장치를 포함한다. 놀랍게도, 본 발명자들은 상기 쌍둥이의 염색체 이수성이 본 발명에 따른 시스템에 의해 정확하고 효율적으로 검출될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0097] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정된다:
- [0098]
$$fra.chri = 2 * (chri.ER\% / adjust.chri.ER\% - 1) * 100\%$$
- [0099] 상기 식에서, $fra.chri$ 는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, i 는 상기 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고; $chri.ER\%$ 는 시퀀싱 결과에서 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $adjust.chri.ER\%$ 는 정상적인 쌍둥이를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다. 따라서 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 정확하게 결정될 수 있다.
- [0100] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 이수성 결정 장치는,
- [0101] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하도록 구성된 비율 결정부; 및
- [0102] 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하기 위해 상기 비율 결정부에 의해 결정된 비율을 소정의 제 3 역치 및 제 4 역치와 비교하도록 구성된 비교부를 더 포함한다. 따라서 상기 쌍둥이의 염색체 이수성은 효율적으로 검출될 수 있다.
- [0103] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 4 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0104] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 4 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치 또는 제 4 역치와 동일하거나 제 3 역치와 제 4 역치 사이에 있는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 반면, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는다. 따라서 상기 쌍둥이의 염색체 이수성은 효율적으로 검출될 수 있다.
- [0105] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 역치는 0.35이고, 상기 제 4 역치는 0.7이다.
- [0106] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 염색체는 18번, 21번 및 23번 염색체로부터 선택된 적어도 하나이다.
- [0107] 제 7 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은,
- [0108] 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 수득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;
- [0109] 상기 시퀀싱 결과에서 i 번 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 개수의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 분획(x_i)을 결정하되, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수인 단계;
- [0110] $T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$ (여기서, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, μ_i 는 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고, σ_i 는 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체

의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 표준편차를 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 T 점수를 결정하는 단계;

[0111] $L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$ (여기서, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a는 자유도를 나타내고, fra는 Y 염색체에 의해 추정된 생물학적 샘플 또는 태아 분획(fra.chrY%) 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위해 상술한 방법에 의해 결정된 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, $fra.chrY = (chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) / (Man.chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) * 100\%$ (여기서, fra.chrY는 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, chrY.ER%는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 상기 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; Female.chrY.ER%는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; Man.chrY.ER%는 소정의 건강한 남성으로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 L 점수를 결정하는 단계; 및

[0112] T가 소정의 제 5 역치인 제 1 직선 및 L이 소정의 제 6 역치인 제 2 직선으로 구획(zoning)함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하는 단계를 포함하되, 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 트리좀(trisome)을 갖는 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 트리좀을 갖는 것으로 결정되고, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 정상인 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 정상인 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않는다. 놀랍게도, 본 발명자들은 임신부의 쌍둥이의 염색체 이수성의 검출 및 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지의 결정은 본 발명에 따른 상기 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하는 방법에 의해 정확하고 효율적으로 달성될 수 있다는 것을 발견하였다.

[0113] 제 8 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 시스템을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 시스템은,

[0114] 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 수득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되고, 상기 시퀀싱 결과에서 i번 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 개수의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 분획(x_i)을 결정하되, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수인 x_i 값 결정 장치;

[0115] $T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$ (여기서, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, μ_i 는 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고, σ_i 는 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 표준편차를 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 T 점수를 결정하도록 구성된 T 점수 결정 장치;

[0116] $L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$ (여기서, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a는 자유도를 나타내고, fra는 상술한 방법에 의해 결정된 무세포 태아 DNA 분획 또는 Y 염색체에 의해 추정된 태아 분획(fra.chrY%)을 나타내며, $fra.chrY = (chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) / (Man.chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) * 100\%$ (여기서, fra.chrY는 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, chrY.ER%는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 상기 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; Female.chrY.ER%는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; Man.chrY.ER%는 소정의 건강한 남성으로부터 수득된 말초

혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 L 점수를 결정하도록 구성된 L 점수 결정 장치; 및

- [0117] T가 소정의 제 5 역치인 제 1 직선 및 L이 소정의 제 6 역치인 제 2 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하도록 구성된 제 2 이수성 결정 장치를 포함하되, 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 트리존을 갖는 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 트리존을 갖는 것으로 결정되고, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 정상인 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 정상인 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않는다. 놀랍게도, 본 발명자들은 임신부의 쌍둥이의 염색체 이수성의 검출 및 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지의 결정은 본 발명에 따른 상기 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하는 시스템에 의해 정확하고 효율적으로 달성될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0118] 제 9 양태에서, 본 발명은 태아 키메라(fetal chimera)를 검출하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은,
- [0119] 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 태아, 임의적으로는 남성 태아를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;
- [0120] 상술한 방법에 의해 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하거나, 하기 식에 따라 Y 염색체에 의한 태아 분획(fra.chrY%)을 제 1 무세포 태아 DNA 분획으로서 추정하는 단계:
- [0121]
$$fra.chrY = (chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) / (Man.chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) * 100\%$$
- [0122] (여기서, *fra.chrY*는 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, *chrY.ER%*는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *Female.chrY.ER%*는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; *Man.chrY.ER%*는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄);
- [0123] 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 및
- [0124] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지를 결정하는 단계를 포함한다.
- [0125] 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 정확하게 분석될 수 있다.
- [0126] 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은 하기의 추가적인 기술적 특징을 더 가질 수 있다:
- [0127] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 의해 결정된다:
- [0128]
$$fra.chrX = 2 * (chrX.ER\% / adjust.chrX.ER\% - 1) * 100\%$$
- [0129] 상기 식에서, *fra.chrX*는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, *i*는 상기 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 *i*는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고; *chrX.ER%*는 상기 시퀀싱 결과에서 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *adjust.chrX.ER%*는 정상적인 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다. 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.
- [0130] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지를 결정하는 단계는 (a) 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하는 단계; 및 (b) 단계 (a)에서 결

정된 비율을 복수의 소정의 역치와 비교함으로써 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 키메라를 갖는지를 결정하는 단계를 더 포함한다. 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.

- [0131] 본 발명의 실시형태에서, 상기 복수의 소정의 역치는,
- [0132] 완전한 모노솜(monosome)인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 7 역치,
- [0133] 모노솜 키메라인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 8 역치,
- [0134] 정상적인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 9 역치, 및
- [0135] 완전한 트리솜인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 10 역치로부터 선택된 적어도 하나를 포함한다.
- [0136] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 모노솜이고;
- [0137] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작지 않고 제 8 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 모노솜 키메라이고;
- [0138] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 8 역치보다 크고 제 9 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 정상이고;
- [0139] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 9 역치보다 작지 않고 제 10 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 트리솜 키메라이고;
- [0140] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 10 역치보다 큰 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 트리솜이다.
- [0141] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 7 역치는 적어도 -1이고 0보다 작으며, 임의적으로는 -0.85이고;
- [0142] 상기 제 8 역치는 상기 제 7 역치보다 크고 0보다 작으며, 임의적으로는 -0.3이고;
- [0143] 상기 제 9 역치는 0보다 크고 1보다 작으며, 임의적으로는 0.3이고;
- [0144] 상기 제 10 역치는 상기 제 9 역치보다 크고 1보다 작으며, 임의적으로는 0.85이다. 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.
- [0145] 제 10 양태에서, 본 발명은 태아 키메라를 검출하기 위한 시스템을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 시스템은,
- [0146] 상술한 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치이고, 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 태아를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되며, 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성되거나 하기 식에 따라 Y 염색체에 의한 태아 분획(fra.chrY%)을 제 1 무세포 태아 DNA 분획으로서 추정하도록 구성된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치:
- [0147]
$$fra.chrY = (chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) / (Man.chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) * 100\%$$
- [0148] (여기서, *fra.chrY*는 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, *chrY.ER%*는 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *Female.chrY.ER%*는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; *Man.chrY.ER%*는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄);
- [0149] 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 3 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치; 및
- [0150] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 태아가

상기 소정의 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지를 결정하도록 구성된 키메라 결정 장치를 포함한다.

- [0151] 본 발명의 실시형태에 따라, 상술한 태아 키메라를 결정하기 위한 방법은 상기 시스템에 의해 효율적으로 수행될 수 있어, 상기 검출 하에 있는 태아가 태아 키메라를 갖는지의 여부는 효율적으로 분석될 수 있다.
- [0152] 본 발명의 실시형태에서, 상기 태아 키메라를 결정하기 위한 시스템은 하기의 부가적인 기술적 특징을 더 포함할 수 있다.
- [0153] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 의해 결정된다:
- [0154]
$$fra.chri = 2 * (chri.ER\% / adjust.chri.ER\% - 1) * 100\%$$
- [0155] 상기 식에서, *fra.chri*는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, *i*는 상기 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 *i*는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고; *chri.ER%*는 시퀀싱 결과에서 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *adjust.chri.ER%*는 정상적인 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 입산부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다. 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.
- [0156] 본 발명의 실시형태에서, 상기 키메라 결정 장치는,
- [0157] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하도록 구성된 비율 결정부; 및
- [0158] 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 키메라를 갖는지를 결정하기 위해 상기 비율 결정부에 의해 결정된 상기 비율을 복수의 소정의 역치와 비교하도록 구성된 비교부를 포함한다.
- [0159] 본 발명의 실시형태에서, 상기 복수의 소정의 역치는,
- [0160] 완전한 모노존인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 7 역치,
- [0161] 모노존 키메라인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 8 역치,
- [0162] 정상적인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 9 역치, 및
- [0163] 완전한 트리존인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 10 역치로부터 선택된 적어도 하나를 포함한다.
- [0164] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 모노존이고;
- [0165] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작지 않고 제 8 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 모노존 키메라이고;
- [0166] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 8 역치보다 크고 제 9 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 정상이고;
- [0167] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 9 역치보다 작지 않고 제 10 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 트리존 키메라이고;
- [0168] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 10 역치보다 큰 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 트리존이다.
- [0169] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 7 역치는 -1보다 크고 0보다 작으며, 임의적으로는 -0.85이고;
- [0170] 상기 제 8 역치는 상기 제 7 역치보다는 크고 0보다는 작으며, 임의적으로는 -0.3이고;
- [0171] 상기 제 9 역치는 0보다는 크고 1보다는 작으며, 임의적으로는 0.3이고;
- [0172] 상기 제 10 역치는 상기 제 9 역치보다는 크고 1보다는 작으며, 임의적으로는 0.85이다.
- [0173] 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.

- [0174] 제 11 양태에서, 본 발명은 태아 키메라를 검출하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은,
- [0175] 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 태아를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;
- [0176] 상기 시퀀싱 결과에서 i 번 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 개수의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 분획(x_i)을 결정하되, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수인 단계;
- [0177] $T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$ (여기서, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, μ_i 는 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 평균값을 나타내고, σ_i 는 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 표준편차를 나타냄)에 따라 상기 i 번 염색체의 T 점수를 결정하는 단계;
- [0178] $L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$ (여기서, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a 는 자유도를 나타내고, fra 는 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위해 상술한 방법들에 의해 결정된 무세포 태아 DNA 분획을 나타냄)에 따라 상기 i 번 염색체의 L 점수를 결정하는 단계;
- [0179] 상기 T 점수가 0보다 크지 않은 경우 T 가 소정의 제 11 역치인 제 3 직선 및 L 이 소정의 제 12 역치인 제 4 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L 을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하되,
- [0180] 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 완전한 모노솜 또는 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;
- [0181] 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;
- [0182] 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 정상인 것으로 결정되고;
- [0183] 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않는 단계;
- [0184] 상기 T 점수가 0보다 큰 경우 T 가 소정의 제 13 역치인 제 5 직선 및 L 이 소정의 제 14 역치인 제 6 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L 을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하되,
- [0185] 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 완전한 트리솜 또는 트리솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;
- [0186] 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 트리솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;
- [0187] 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 정상인 것으로 결정되고;
- [0188] 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않고;
- [0189] 임의적으로는, 상기 제 11 역치 및 제 13 역치는 각각 독립적으로 3이고, 상기 제 12 역치 및 제 14 역치는 각각 독립적으로 1인 단계를 포함한다.
- [0190] 따라서 상기 태아 키메라의 상태는 효율적으로 분석될 수 있다.
- [0191] 본 발명의 실시형태의 추가적인 양태 및 이점은 하기 설명에서 부분적으로 예시되거나, 하기 설명으로부터 부분적으로 자명하게 되거나, 본 발명의 실시형태의 원리로부터 교시될 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0192] 본 발명의 실시형태의 이들 및 기타 양태 및 이점은 도면은 참고하여 이루어진 하기 설명으로부터 자명하게 될 것이고, 상기 설명으로부터 더욱 용이하게 이해될 것이다. 하기 도면에서:
- 도 1은 본 발명의 실시형태에 따라 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법을 나타낸 순서도이고;
- 도 2는 본 발명의 실시형태에 따라 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수를 결정하기 위한 방법을 나타낸 순서도이고;
- 도 3은 본 발명의 실시형태에 따라 무세포 핵산의 길이를 결정하기 위한 방법을 나타낸 순서도이고;
- 도 4는 본 발명의 실시형태에 따라 소정의 범위를 결정하기 위한 방법을 나타낸 순서도이고;
- 도 5는 본 발명의 실시형태에 따라 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법을 나타낸 순서도이고;
- 도 6은 본 발명의 실시형태에 따라 소정의 함수를 결정하기 위한 방법을 나타낸 순서도이고;
- 도 7은 본 발명의 실시형태에 따른 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치의 구조도이고;
- 도 8은 본 발명의 실시형태에 따른 계수 장치의 구조도이고;
- 도 9는 본 발명의 실시형태에 따른 제 1 길이 결정부의 구조도이고;
- 도 10은 본 발명의 실시형태에 따른 소정의 범위 결정 장치의 구조도이고;
- 도 11은 본 발명의 실시형태에 따른 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치의 구조도이고;
- 도 12는 본 발명의 실시형태에 따른 소정의 함수 결정 장치의 구조도이고;
- 도 13은 본 발명의 실시형태에 따라 정상적인 남성 태아를 가진 것으로 알려진 37명의 임신부로부터 수득된 각각의 샘플에 대해 185bp 내지 204bp 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율과 Y 염색체에 의해 추정되는 무세포 태아 DNA 분획 사이의 상관 계수의 선형 피팅 도면이고;
- 도 14 내지 도 16은 본 발명의 실시형태에 따라 검출 하에 있는 1개의 샘플의 L 점수 및 L 점수에 대한 4-사분면 도표이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0193] 본 발명의 실시형태는 하기에서 상세하게 개시될 것이며, 이들 실시형태는 설명적이고 예시적이며, 일반적으로 본 발명을 설명하기 위해 사용되며, 따라서 본 발명을 한정하는 것으로 이해되어서는 안 된다.
- [0194] **생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법**
- [0195] 본 발명의 제 1 양태의 실시형태에 따르면, 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법이 제공된다. 놀랍게도, 본 발명자들은 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획, 특히 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 태아 핵산의 분획 또는 종양을 앓고 있는 개체로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 종양-유래 핵산의 분획이 본 발명의 방법에 의해 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0196] 본원에서 사용된 "생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획"이란 표현은 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 총 개수에 대한 특정 공급원으로부터의 무세포 핵산의 개수의 분획을 지칭하는 것으로 주지되어야 한다. 예를 들어, 상기 생물학적 샘플이 임신부로부터 수득된 말초 혈액인 경우, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 무세포 태아 핵산이고, "생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획", 즉 무세포 태아 핵산의 분획은 상기 임신부로부터 수득된 말초 혈액 중의 무세포 핵산의 총 개수에 대한 무세포 태아 핵산의 개수의 분획을 의미하며, 이는 종종 "임산부로부터 수득된 말초 혈액 중의 무세포 태아 DNA 분획" 또는 무세포 태아 DNA 분획으로도 공지될 수 있다. 다른 예로서, 상기 생물학적 샘플이 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 수득된 말초 혈

액 샘플인 경우, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 무세포 종양-유래 핵산이고, "생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획", 즉 무세포 종양-유래 핵산의 분획은 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 핵산의 총 개수에 대한 무세포 종양-유래 핵산의 개수의 분획을 의미한다. 본 발명의 실시형태에 따르면 도 1을 참고하면, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다.

[0197] **S100: 핵산을 시퀀싱하기**

[0198] 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산은 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 시퀀싱된다.

[0199] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플은 말초 혈액 샘플이다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산, 또는 무세포 종양-유래 핵산이다. 따라서 상기 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산의 분획, 또는 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산의 분획은 용이하게 결정될 수 있다. 본 발명의 몇몇 특정 실시형태에서, 상기 무세포 핵산은 DNA이다. 본원에서 사용된 "시퀀싱 데이터"란 용어는 시퀀싱에 적용된 핵산에 상응하는 "서열 리드"를 지칭하는 것으로 주지되어야 한다.

[0200] 본 발명의 실시형태에서, 상기 시퀀싱 결과는 상기 무세포 핵산의 길이를 포함한다.

[0201] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산은 쌍 말단 시퀀싱, 단일 말단 시퀀싱 또는 단일 분자 시퀀싱에 의해 시퀀싱된다. 따라서 상기 무세포 핵산의 길이는 용이하게 획득될 수 있으며, 이는 후속적인 단계에 도움이 된다.

[0202] **S200: 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수를 결정하기**

[0203] 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수는 상기 시퀀싱 결과에 기초하여 결정된다.

[0204] 본원에서 사용된 "길이"란 용어는 염기쌍(bp) 단위의 "핵산(리드)의 길이"를 지칭하는 것으로 주지되어야 한다.

[0205] 본 발명의 실시형태에서 도 2를 참고하면, S200은 하기와 같은 단계를 더 포함한다:

[0206] S210: 참고 유전체에 대해 상기 시퀀싱 결과를 배열한다. 구체적으로는, 상기 시퀀싱 결과는 복수의 독자적으로 매핑된 리드로 이루어진 데이터 세트를 구성하기 위해 참고 유전체에 대해 배열되며, 이때 상기 데이터 세트 중의 각각의 리드는 상기 참고 유전체의 위치에만 매핑될 수 있으며; 바람직하게는 잘못 매핑된 리드가 없거나, 최대 하나의 잘못 매핑된 리드 또는 최대 2개의 잘못 매핑된 리드가 존재한다.

[0207] S220: 상기 무세포 핵산의 길이를 결정한다. 구체적으로는, 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이가 결정된다.

[0208] S230: 상기 소정의 범위 내에 있는 무세포 핵산의 개수를 결정한다. 구체적으로는, 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수가 결정된다.

[0209] 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수는 용이하게 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.

[0210] 본 발명의 실시형태에서, S220에서는 상기 참고 유전체에 독자적으로 매핑된 각각의 리드의 길이는 상기 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이로서 결정된다. 따라서 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이는 정확하게 결정될 수 있다.

[0211] 본 발명의 실시형태에서, 도 3을 참고하여 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산이 쌍 말단 시퀀싱에 의해 시퀀싱되는 경우, S220은 하기 단계를 포함한다.

[0212] S2210: 상기 무세포 핵산의 5'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정한다. 구체적으로는, 상기 쌍 말단 시퀀싱에서 획득된 각각의 독자적으로 매핑된 리드의 일 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 5'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치가 결정된다.

[0213] S2220: 상기 무세포 핵산의 3'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정한다. 구체적으로는, 상기 쌍 말단 시퀀싱에서 획득된 동일한 독자적으로 매핑된 리드의 다른 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기

무세포 핵산의 3'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치가 결정된다.

- [0214] S2230: 상기 무세포 핵산의 길이를 결정한다. 구체적으로는, 상기 무세포 핵산의 길이는 상기 무세포 핵산의 5'-말단의 위치 및 상기 무세포 핵산의 3'-말단의 위치에 기초하여 결정된다.
- [0215] 따라서 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이는 정확하게 결정될 수 있다.
- [0216] **S300: 무세포 핵산의 분해를 결정하기**
- [0217] 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분해가 결정된다.
- [0218] 게다가, 본 발명에 따른 방법은 상기 소정의 범위를 결정하는 단계(S400, 도면에 도시하지 않음)를 더 포함한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되며, 상기 복수의 대조 샘플 각각에서 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분해는 공지되어 있다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하고 신뢰 가능한 결과로 결정될 수 있다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위는 적어도 20 개의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0219] 본 발명의 실시형태에서 도 4를 참고하면, S400은 하기 단계를 포함한다.
- [0220] S410: 상기 복수의 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 길이를 결정한다.
- [0221] S420: 각각의 후보 길이 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 결정한다. 구체적으로는, 복수의 후보 길이 범위가 설정되고, 각각의 후보 길이 범위 내에 존재하고 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 획득된 무세포 핵산의 백분율이 결정된다.
- [0222] S430: 상관 계수를 결정한다. 구체적으로는, 각각의 후보 길이 범위 내에 존재하고 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 획득된 무세포 핵산의 백분율, 및 상기 대조 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분해에 기초하여 각각의 후보 길이 범위와 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분해 사이의 상관 계수가 결정되고;
- [0223] S440: 상기 소정의 범위를 결정한다. 구체적으로는, 가장 큰 상관 계수를 갖는 후보 길이 범위가 상기 소정의 범위로서 결정된다.
- [0224] 따라서 상기 소정의 범위는 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다.
- [0225] 본 발명의 실시형태에서, 상기 후보 길이 범위는 1bp 내지 20bp 범위이다.
- [0226] 본 발명의 실시형태에서, 상기 복수의 후보 길이 범위는 1bp 내지 2bp의 단계 크기이다.
- [0227] 본 발명의 실시형태에서 도 5를 참고하면, S300은 하기 단계를 더 포함한다.
- [0228] S310: 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 결정한다. 구체적으로는, 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율은 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 결정된다.
- [0229] S320: 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분해를 결정한다. 구체적으로는, 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분해는 소정의 함수에 따라 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율에 기초하여 결정되며, 이때 상기 소정의 함수는 상기 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0230] 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분해는 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0231] 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은 상기 소정의 함수를 결정하는 단계(S500, 도면에 도시하지 않음)를 더 포함한다.
- [0232] 본 발명의 몇몇 특정 실시형태에서 도 6을 참고하면, S500은 하기 단계를 포함한다.
- [0233] S510: 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 획득된 무세포 핵산의 백분율을 결정한다.
- [0234] S520: 상기 소정의 함수를 결정하기 위해 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 획득된 무세포

포 핵산의 백분율을 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 피팅한다.

- [0235] 따라서 상기 소정의 함수는 정확하고 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 후속적인 단계에 도움이 된다.
- [0236] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 수득된 무세포 핵산의 백분율은 선형 피팅에 의해 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 피팅된다.
- [0237] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 임신부의 말초 혈액 샘플로부터 수득된 무세포 태아 핵산이고, 상기 소정의 범위는 185bp 내지 204bp이다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 상기 소정의 범위에 기초하여 정확하게 결정될 수 있다.
- [0238] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 함수는 $d = 0.0334 \cdot p + 1.6657$ 이며, 여기서 d 는 무세포 태아 핵산의 분획을 나타내고, p 는 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 나타낸다. 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 상기 소정의 함수에 기초하여 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0239] "소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율"이란 표현은 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 총 개수에 대한 특정한 소정의 길이 범위 내에 분포하는 무세포 핵산의 개수의 백분율을 지칭하는 것으로 주지되어야 한다.
- [0240] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 공지되어 있는 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플이다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하게 결정된다.
- [0241] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 Y 염색체에 의해 결정되는 것으로 알려진 정상적인 남성 태아를 가진 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플이다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하게 결정된다.
- [0242] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 정상적인 태아를 가진 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플이다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하게 결정된다.
- [0243] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 분획은 Y 염색체에 의해 추정되는 무세포 태아 DNA 분획이다. 따라서 상기 소정의 범위는 상기 대조 샘플의 무세포 핵산의 분획을 효율적으로 이용하여 결정될 수 있으며, 이어 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수 및 검출 하에 있는 임신부로부터 수득된 샘플 중의 무세포 태아 DNA 분획은 추가로 결정될 수 있다.
- [0244] 본 발명의 기타 실시형태에서, 상기 방법은 하기 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0245] 1) 전체 유전체 시퀀싱(WGS): 상기 검출 하에 있는 샘플은 고효율 플랫폼(high-throughput platform)을 이용하여 전체 유전체 시퀀싱에 적용한다. 상대적으로 짧고 오직 소량만이 300bp의 길이를 초과하는 혈장 중의 무세포 태아 DNA는 모든 무세포 태아 DNA의 길이가 수득될 필요성이 있기 때문에 단일 말단 시퀀싱 또는 쌍 말단 시퀀싱에 의해 시퀀싱되며, 전체 무세포 DNA 분자는 존재하는 경우 단일 말단 시퀀싱에 의해 시퀀싱되도록 요구된다.
- [0246] 2) 자적으로 매핑된 리드를 수득한다: 테스트 샘플의 리드는 참고 유전체 서열에 대해 배열된다.
- [0247] 3) 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 대한 배열 정보에 기초하여 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 DNA의 길이를 수득한다.
- [0248] 4) 밀접한 상관관계를 갖는 하나 이상의 범위를 선택한다: 밀접한 상관관계를 갖는 하나 이상의 범위는 DNA 분자의 길이 분포에 따라 선택된다.
- [0249] 5) 함수식(function formula)을 수득한다: 단계 4)에서 수득된 밀접한 상관관계를 갖는 하나 이상의 범위 내에 존재하는 DNA의 백분율과 공지된 무세포 태아 DNA 분획 사이의 함수식이 수득된다.
- [0250] 6) 상기 하나 이상의 선택된 범위 내에 존재하는 DNA의 백분율, 즉 상기 하나 이상의 길이 범위 내에 존재하는 DNA의 백분율을 수득한다.
- [0251] 7) 상기 함수식, 및 상기 하나 이상의 길이 범위 내에 존재하는 상기 검출 하에 있는 샘플 중의 DNA의 백분율에 기초하여 상기 검출 하에 있는 샘플의 무세포 태아 DNA 분획을 수득한다.
- [0252] 구체적으로는, 단계 4)는 하기 단계를 포함한다:

- [0253] I. 대조 샘플, 즉 상기 무세포 태아 DNA 분획이 공지되어 있는 샘플을 선택한다.
- [0254] II. 상기 모든 샘플을 WGS 시퀀싱에 적용하고, 상기 리드를 염색체에 독자적으로 배열함으로써 수득된 독자적 배열 정보를 이용하여 각각의 독자적으로 배열된 리드에 의해 나타난 DNA 분자의 길이 정보를 수득한다.
- [0255] III. 0bp 내지 Mbp(여기서, M은 최대 길이 값을 나타내고, 무세포 DNA 분자는 최고 400bp의 길이를 가질 수 있음)으로부터 선택된 길이를 갖는 DNA 분자의 개수는 상기 모든 대조 샘플에 대해 수득된다.
- [0256] IV. 특정한 단계 크기에 따라 특정한 윈도우 길이 내의 윈도우의 이동을 통해 복수의 윈도우(window) 범위(길이 범위)를 수득하고, 각각의 윈도우 범위 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율, 즉 각각의 길이 범위 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율을 산정한다. 각각의 윈도우 범위 내에 존재하는 DNA 분자의 개수, 즉 DNA 분자의 총 개수로 나눈 각각의 길이 범위 내에 분포하는 DNA 분자의 개수는 각각의 윈도우 범위 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율로서 정의되는 것으로 주지되어야 한다. 예를 들어, 1bp, 5bp, 10bp 또는 15bp는 상기 윈도우로서 간주될 수 있으며, 1bp 내지 상기 윈도우 길이로부터 선택된 임의의 크기는 단계 크기로서 간주될 수 있다. 구체적으로는, 일례로서 5bp가 상기 윈도우로서 간주되고 2bp가 단계 크기로서 간주되는 경우, [1bp, 5bp], [2bp, 6bp], [4bp, 8bp], [6bp, 10bp] 등에서의 DNA 분자의 분포가 수득될 수 있다. 다른 예로서, 5bp가 상기 윈도우로서 간주되고 5bp가 단계 크기로서 간주되는 경우, [1bp, 5bp], [6bp, 10bp], [11bp, 15bp] 등에서의 DNA 분자의 분포가 수득될 수 있다. 앞서 개시된 "DNA 분자의 총 개수"는 상이한 길이를 갖는 모든 DNA 분자의 총 개수를 지칭한다.
- [0257] V. 존재하는 DNA 분자의 백분율이 공지되어 있는 무세포 태아 DNA 분획과 상관관계가 매우 높은 하나의 윈도우 범위 또는 윈도우 범위의 조합(즉 하나의 길이 범위 또는 복수의 길이 범위)을 발견하고, 함수식을 확립한다.
- [0258] **생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치**
- [0259] 제 2 양태에서, 본 발명은 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치를 추가로 제공한다. 놀랍게도, 본 발명자들은 본 발명의 장치가 앞서 개시된 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법을 수행하기에 적합하며, 상기 장치에 의해 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획, 특히 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산의 분획, 또는 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산의 분획이 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0260] 본 발명의 실시형태에서 도 7을 참고하면, 상기 장치는 시퀀싱 장치(100), 계수 장치(200) 및 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치(300)를 포함한다.
- [0261] 구체적으로는, 상기 시퀀싱 장치(100)는 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 수득하기 위해 상기 생물학적 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성된다. 상기 계수 장치(200)는 상기 시퀀싱 장치(100)에 연결되어 있으며, 상기 시퀀싱 결과에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수를 결정하도록 구성된다. 상기 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치(300)는 상기 계수 장치(200)에 연결되어 있으며, 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하도록 구성된다.
- [0262] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플의 유형은 특별히 제한되지 않는다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플은 말초 혈액 샘플이다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 하기 중의 하나로부터 선택된다: 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산 또는 무세포 모계 핵산, 또는 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산 또는 무세포 비종양-유래 핵산. 따라서 상기 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 핵산의 분획, 또는 종양을 앓고 있거나 종양을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체 또는 종양 스크리닝에 적용되는 개체로부터 수득된 상기 말초 혈액 샘플 중의 무세포 종양-유래 핵산의 분획은 용이하게 결정될 수 있다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 핵산은 DNA이다.
- [0263] 본 발명의 실시형태에서, 상기 시퀀싱 결과는 상기 무세포 핵산의 길이를 포함한다.
- [0264] 본 발명의 실시형태에서, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산은 쌍 말단 시퀀싱, 단일 말단 시퀀싱 또는 단일 분자 시퀀싱에 의해 시퀀싱된다. 따라서 상기 무세포 핵산의 길이는 용이하게 수득될 수 있으며, 이는 후속적인 단계에 도움이 된다.

- [0265] 본 발명의 실시형태에서 도 8을 참고하면, 상기 계수 장치(200)는 배열부(210), 제 1 길이 결정부(220) 및 개수 결정부(230)를 더 포함한다. 구체적으로는, 상기 배열부(210)는 복수의 독자적으로 매핑된 리드로 이루어진 데이터 세트를 구성하기 위해 참고 유전체에 대해 시퀀싱 결과를 배열하도록 구성되며, 이때 상기 데이터 세트 중의 각각의 리드는 상기 참고 유전체의 위치에만 매핑될 수 있다. 상기 제 1 길이 결정부(220)는 상기 배열부(210)에 연결되어 있으며, 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이를 결정하도록 구성된다. 상기 개수 결정부(230)는 상기 제 1 길이 결정부(220)에 연결되어 있으며, 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수를 결정하도록 구성된다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수는 용이하게 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0266] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 길이 결정 장치(220)는 상기 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이로서 상기 참고 유전체에 독자적으로 매핑된 각각의 리드의 길이를 결정하도록 구성된다. 따라서 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이는 정확하게 결정될 수 있다.
- [0267] 본 발명의 실시형태에서 도 9를 참고하면, 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산이 쌍 말단 시퀀싱에 의해 시퀀싱되는 경우, 상기 제 1 길이 결정부(220)는 5'-말단 위치 결정 모듈(2210), 3'-말단 위치 결정 모듈(2220) 및 길이 산정 모듈(2230)을 더 포함한다. 구체적으로는, 상기 5'-말단 위치 결정 모듈(2210)은 상기 쌍 말단 시퀀싱에서 수득된 각각의 독자적으로 매핑된 리드의 일 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 5'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하도록 구성된다. 상기 3'-말단 위치 결정 모듈(2220)은 상기 5'-말단 위치 결정 모듈(2210)에 연결되어 있으며, 상기 쌍 말단 시퀀싱에서 수득된 동일한 독자적으로 매핑된 리드의 다른 말단에서의 시퀀싱 데이터에 기초하여 상기 무세포 핵산의 3'-말단에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 위치를 결정하도록 구성된다. 상기 길이 산정 모듈(2230)은 상기 3'-말단 위치 결정 모듈(2220)에 연결되어 있으며, 상기 무세포 핵산의 5'-말단의 위치 및 상기 무세포 핵산의 3'-말단의 위치에 기초하여 상기 무세포 핵산의 길이를 결정하도록 구성된다. 따라서 상기 데이터 세트 중의 각각의 독자적으로 매핑된 리드에 상응하는 무세포 핵산의 길이는 정확하게 결정될 수 있다.
- [0268] 본 발명의 실시형태에서, 상기 장치는 복수의 대조 샘플에 기초하여 상기 소정의 범위를 결정하도록 구성된 소정의 범위 결정 장치(400)를 더 포함하며, 이때 상기 복수의 대조 샘플 각각에서 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 공지되어 있으며, 임의적으로는 상기 소정의 범위는 적어도 20개의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0269] 본 발명의 실시형태에서 도 10을 참고하면, 상기 소정의 범위 결정 장치(400)는 제 2 길이 결정부(410), 제 1 백분율 결정부(420), 상관 계수 결정부(430) 및 소정의 범위 결정부(440)를 더 포함한다. 구체적으로는, 상기 제 2 길이 결정부(410)는 상기 복수의 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 길이를 결정하도록 구성된다. 상기 제 1 백분율 결정부(420)는 상기 제 2 길이 결정부(410)에 연결되어 있으며, 복수의 후보 길이 범위를 설정하고 각각의 후보 길이 범위 내에 존재하고 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 수득된 무세포 핵산의 백분율을 결정하도록 구성된다. 상기 상관 계수 결정부(430)는 상기 제 1 백분율 결정부(420)에 연결되어 있으며, 각각의 후보 길이 범위 내에 존재하고 상기 복수의 대조 샘플 각각으로부터 수득된 무세포 핵산의 백분율, 및 상기 대조 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획에 기초하여 각각의 후보 길이 범위와 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획 사이의 상관 계수를 결정하도록 구성된다. 상기 소정의 범위 결정부(440)는 상기 상관 계수 결정부(430)에 연결되어 있으며, 가장 큰 상관 계수를 갖는 후보 길이 범위를 상기 소정의 범위로서 선택하도록 구성된다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다.
- [0270] 본 발명의 실시형태에서, 상기 후보 길이 범위는 1bp 내지 20bp의 범위이다.
- [0271] 본 발명의 실시형태에서, 상기 복수의 후보 길이 범위는 1bp 내지 2bp의 단계 크기이다.
- [0272] 본 발명의 실시형태에서 도 11을 참고하면, 상기 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치(300)는 제 2 백분율 결정부(310) 및 무세포 핵산 분획의 산정부(320)를 더 포함한다. 구체적으로는, 상기 제 2 백분율 결정부(310)는 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수에 기초하여 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 결정하도록 구성된다. 상기 무세포 핵산 분획의 산정부(320)는 상기 제 2 백분율 결정부(310)에 연결되어 있으며, 소정의 함수에 따라 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율에 기초하여 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하도록 구성되며, 이때 상기 소정의 함수는 상기 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현

성을 초래한다.

- [0273] 본 발명의 실시형태에서, 상기 장치는 소정의 함수 결정 장치(500)를 더 포함한다. 도 12를 참고하면, 상기 소정의 함수 결정 장치(500)는 제 3 백분율 결정부(510) 및 피팅부(520)를 포함한다. 구체적으로는, 상기 제 3 백분율 결정부(510)는 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 획득된 무세포 핵산의 백분율을 결정하도록 구성된다. 상기 피팅부(520)는 상기 제 3 백분율 결정부(510)에 연결되어 있으며, 상기 소정의 함수를 결정하기 위해 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 획득된 무세포 핵산의 백분율을 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 피팅하도록 구성된다. 따라서 상기 소정의 함수는 정확하고 신뢰 가능하게 결정될 수 있으며, 이는 후속적인 단계에 도움이 된다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 범위 내에 존재하고 각각의 대조 샘플로부터 획득된 무세포 핵산의 백분율은 선형 피팅에 의해 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 공지된 분획으로 피팅된다.
- [0274] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산은 임신부의 말초 혈액 샘플로부터 획득된 무세포 태아 핵산이고, 상기 소정의 범위는 185bp 내지 204bp이다. 따라서 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 상기 소정의 범위가 기초하여 정확하게 결정될 수 있다.
- [0275] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 함수는 $d = 0.0334 * p + 1.6657$ 이며, 여기서 d는 무세포 태아 핵산의 분획을 나타내고, p는 상기 소정의 범위 내에 존재하는 무세포 핵산의 백분율을 나타낸다. 상기 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획은 상기 소정의 함수에 기초하여 효율적으로 결정될 수 있으며, 이는 정확하고 신뢰 가능한 결과 및 양호한 재현성을 초래한다.
- [0276] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 공지되어 있는 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플이다.
- [0277] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 상기 무세포 태아 핵산의 분획이 Y 염색체에 의해 결정되는 것으로 알려진 정상적인 남성 태아를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플이다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하게 결정된다.
- [0278] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플은 정상적인 남성 태아를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플이다. 따라서 상기 소정의 범위는 정확하게 결정된다.
- [0279] 본 발명의 실시형태에서, 상기 대조 샘플 중의 무세포 핵산의 분획은 Y 염색체에 의한 추정에 적합한 장치에 의해 결정되는 무세포 태아 DNA 분획이다. 따라서 상기 소정의 범위는 상기 대조 샘플의 무세포 핵산의 분획을 효율적으로 이용함으로써 결정될 수 있으며, 이어 상기 소정의 범위 내에 있는 길이 내의 무세포 핵산의 개수 및 검출 하에 있는 임신부로부터 획득된 샘플 중의 무세포 태아 DNA 분획은 추가로 결정될 수 있다.
- [0280] **쌍둥이의 성을 결정하기 위한 방법 및 시스템**
- [0281] 제 3 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 성을 결정하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계; 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위해 상술한 방법에 의해 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 및 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 쌍둥이의 성을 결정하는 단계를 포함한다. 놀랍게도, 본 발명자들은 임신부의 쌍둥이의 성이 본 발명의 방법에 의해 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0282] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정된다:
- [0283]
$$fra.chry = (chry.ER\% - Female.chry.ER\%) / (Man.chry.ER\% - Female.chry.ER\%) * 100\%$$
- [0284] 상기 식에서, *fra.chry*는 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고; *chry.ER%*는 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *Female.chry.ER%*는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; *Man.chry.ER%*는 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다.

- [0285] 따라서 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 정확하게 결정될 수 있다.
- [0286] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 쌍둥이의 성을 결정하는 단계는 (a) 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하는 단계; 및 (b) 상기 단계 (a)에서 결정된 비율을 소정의 제 1 역치 및 제 2 역치와 비교함으로써 상기 쌍둥이의 성을 결정하는 단계를 더 포함한다. 따라서 상기 쌍둥이의 성은 효율적으로 결정될 수 있다.
- [0287] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 역치는 여성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임산부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 2 역치는 남성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임산부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0288] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 여성이고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 2 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 남성이고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치 또는 제 2 역치와 동일하거나 제 1 역치와 제 2 역치 사이에 있는 경우에 상기 쌍둥이는 남성 태아 및 여성 태아를 포함한다.
- [0289] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 역치는 0.35이고, 상기 제 2 역치는 0.7이다.
- [0290] 제 4 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 성을 결정하기 위한 시스템을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 시스템은,
- [0291] 상술한 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치이고, 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되며, 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치;
- [0292] 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 2 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치; 및
- [0293] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 쌍둥이의 성을 결정하도록 구성된 성 결정 장치를 포함한다.
- [0294] 놀랍게도, 본 발명자들은 임산부의 쌍둥이의 성은 본 발명의 시스템에 의해 정확하고 효율적으로 결정될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0295] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정된다:
- [0296]
$$fra.chry = (chry.ER\% - Female.chry.ER\%) / (Man.chry.ER\% - Female.chry.ER\%) * 100\%$$
- [0297] 상기 식에서, *fra.chry*는 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고; *chry.ER%*는 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *Female.chry.ER%*는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; *Man.chry.ER%*는 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다. 따라서 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획은 정확하게 결정될 수 있다.
- [0298] 본 발명의 실시형태에서, 상기 성 결정 장치는 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하도록 구성된 비율 결정부; 및 상기 쌍둥이의 성을 결정하기 위해 상기 비율 결정부에 의해 결정된 비율을 소정의 제 1 역치 및 제 2 역치와 비교하도록 구성된 비교부를 더 포함한다. 따라서 상기 쌍둥이의 성은 효율적으로 결정될 수 있다.
- [0299] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 역치는 여성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임산부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 2 역치는 남성 쌍둥이를 가진 것으로 알려진 임산부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.
- [0300] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 여성이고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기

제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 2 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 남성이고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 2 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 1 역치 또는 제 2 역치와 동일하거나 제 1 역치와 제 2 역치 사이에 있는 경우에 상기 쌍둥이는 남성 태아 및 여성 태아를 포함한다.

[0301] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 역치는 0.35이고, 상기 제 2 역치는 0.7이다.

[0302] **쌍둥이의 염색체 이수성을 검출하기 위한 방법 및 시스템**

[0303] 제 5 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 염색체 이수성을 검출하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은,

[0304] 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;

[0305] 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위해 상술한 방법에 의해 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 또는 하기 식에 따라 Y 염색체에 의한 태아 분획(fra.chrY%)을 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획으로서 추정하는 단계:

$$[0306] \quad fra.chrY = (chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) / (Man.chrY.ER\% - Female.chrY.ER\%) * 100\%$$

[0307] (여기서, *fra.chrY*는 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고; *chrY.ER%*는 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *Female.chrY.ER%*는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; *Man.chrY.ER%*는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄);

[0308] 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 및

[0309] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하는 단계를 포함한다.

[0310] 따라서 상기 쌍둥이의 염색체 이수성은 정확하고 효율적으로 검출될 수 있다.

[0311] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정된다:

$$[0312] \quad fra.chrX = 2 * (chrX.ER\% / adjust.chrX.ER\% - 1) * 100\%$$

[0313] 상기 식에서, *fra.chrX*는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, *i*는 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 *i*는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고; *chrX.ER%*는 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *adjust.chrX.ER%*는 정상적인 쌍둥이를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다. 따라서 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 정확하게 결정될 수 있다.

[0314] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하는 단계는 (a) 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하는 단계; 및 (b) 단계 (a)에서 결정된 비율을 소정의 제 3 역치 및 제 4 역치와 비교함으로써 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하는 단계를 더 포함한다. 따라서 상기 쌍둥이의 염색체 이수성은 효율적으로 검출될 수 있다.

[0315] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 4 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.

[0316] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제

3 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 4 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치 또는 제 4 역치와 동일하거나 제 3 역치와 제 4 역치 사이에 있는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 반면, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는다.

[0317] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 역치는 0.35이고, 상기 제 4 역치는 0.7이다.

[0318] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 염색체는 18번, 21번 및 23번 염색체로부터 선택된 적어도 하나이다.

[0319] 제 6 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 시스템을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 시스템은,

[0320] 상술한 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치이고, 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되며, 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하거나 하기 식에 따라 Y 염색체에 의한 태아 분획(fra.chrY)을 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획으로서 추정하도록 구성된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치:

$$\text{fra.chrY} = (\text{chry.ER}\% - \text{Female.chry.ER}\%) / (\text{Man.chry.ER}\% - \text{Female.chry.ER}\%) * 100\%$$

[0322] (여기서, fra.chrY 는 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고; $\text{chry.ER}\%$ 는 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $\text{Female.chry.ER}\%$ 는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; $\text{Man.chry.ER}\%$ 는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄);

[0323] 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 3 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치; 및

[0324] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하도록 구성된 제 1 이수성 결정 장치를 포함한다. 놀랍게도, 본 발명자들은 상기 쌍둥이의 염색체 이수성이 본 발명에 따른 시스템에 의해 정확하고 효율적으로 검출될 수 있다는 것을 발견하였다.

[0325] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정된다:

$$\text{fra.chr}_i = 2 * (\text{chri.ER}\% / \text{adjust.chri.ER}\% - 1) * 100\%$$

[0327] 상기 식에서, fra.chr_i 는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, i 는 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고; $\text{chri.ER}\%$ 는 상기 시퀀싱 결과에서 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $\text{adjust.chri.ER}\%$ 는 정상적인 쌍둥이를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다. 따라서 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 정확하게 결정될 수 있다.

[0328] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 이수성 결정 장치는,

[0329] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하도록 구성된 비율 결정부; 및

[0330] 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지를 결정하기 위해 상기 비율 결정부에 의해 결정된 비율을 소정의 제 3 역치 및 제 4 역치와 비교하도록 구성된 비교부를 더 포함한다. 따라서 상기 쌍둥이의 염색체 이수성은 효율적으로 검출될 수 있다.

[0331] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 역치는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정되고, 상기 제 4 역치는 상기 소정의 염색체

에 대해 이수성을 갖는 것으로 알려진 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된다.

- [0332] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치보다 작은 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 4 역치보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖고, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 3 역치 또는 제 4 역치와 동일하거나 제 3 역치와 제 4 역치 사이에 있는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는 반면, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖지 않는다. 따라서 상기 쌍둥이의 염색체 이수성은 효율적으로 검출될 수 있다.
- [0333] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 역치는 0.35이고, 상기 제 4 역치는 0.7이다.
- [0334] 본 발명의 실시형태에서, 상기 소정의 염색체는 18번, 21번 및 23번 염색체로부터 선택된 적어도 하나이다.
- [0335] 제 7 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은,
- [0336] 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 수득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;
- [0337] 상기 시퀀싱 결과에서 i 번 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 개수의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 분획(x_i)을 결정하되, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수인 단계;
- [0338] $T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$ (여기서, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, μ_i 는 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고, σ_i 는 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i 번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 표준편차를 나타냄)에 따라 상기 i 번 염색체의 T 점수를 결정하는 단계;
- [0339] $L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$ (여기서, i 는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a 는 자유도를 나타내고, fra 는 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획 또는 Y 염색체에 의해 추정된 태아 분획($fra.chrY\%$)을 결정하기 위해 상술한 방법에 의해 결정된 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, $fra.chry = (chry.ER\% - Female.chry.ER\%) / (Man.chry.ER\% - Female.chry.ER\%) * 100\%$ (여기서, $fra.chry$ 는 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, $chry.ER\%$ 는 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 상기 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $Female.chry.ER\%$ 는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; $Man.chry.ER\%$ 는 소정의 건강한 남성으로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄)에 따라 상기 i 번 염색체의 L 점수를 결정하는 단계; 및
- [0340] T 가 소정의 제 5 역치인 제 1 직선 및 L 이 소정의 제 6 역치인 제 2 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L 을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하는 단계를 포함하되, 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 트리존을 갖는 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 트리존을 갖는 것으로 결정되고, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 정상인 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 정상인 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않는다. 놀랍게도, 본 발명자들은 임신부의 쌍둥이의 염색체 이수성의 검출 및 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지의 결정은 본 발명에 따른 상기 쌍둥이의 염색체 이수성을

결정하는 방법에 의해 정확하고 효율적으로 달성될 수 있다는 것을 발견하였다.

[0341] 제 8 양태에서, 본 발명은 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 시스템을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 시스템은,

[0342] 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 쌍둥이를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되고, 상기 시퀀싱 결과에서 i번 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 개수의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 분획(x_i)을 결정하되, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수인 x_i 값 결정 장치;

[0343] $T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$ (여기서, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, μ_i 는 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고, σ_i 는 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 표준편차를 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 T 점수를 결정하도록 구성된 T 점수 결정 장치;

[0344] $L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$ (여기서, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a는 자유도를 나타내고, fra는 상술한 방법에 의해 결정된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 또는 Y 염색체에 의해 추정된 태아 분획(fra.chrY%)을 나타내며, $fra.chry = (chry.ER\% - Female.chry.ER\%) / (Man.chry.ER\% - Female.chry.ER\%) * 100\%$ (여기서, fra.chry는 제 2 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, chry.ER%는 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 상기 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; Female.chry.ER%는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; Man.chry.ER%는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 L 점수를 결정하도록 구성된 L 점수 결정 장치;

[0345] T가 소정의 제 5 역치인 제 1 직선 및 L이 소정의 제 6 역치인 제 2 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하도록 구성된 제 2 이수성 결정 장치를 포함하되, 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 트리존을 갖는 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 트리존을 갖는 것으로 결정되고, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 정상인 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 정상인 것으로 결정되고; 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 쌍둥이는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않는다. 놀랍게도, 본 발명자들은 임신부의 쌍둥이의 염색체 이수성의 검출 및 상기 검출 하에 있는 쌍둥이가 상기 소정의 염색체에 대해 이수성을 갖는지의 결정은 본 발명에 따른 상기 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하는 방법에 의해 정확하고 효율적으로 달성될 수 있다는 것을 발견하였다.

[0346] " μ_i 가 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 i번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 평균값을 나타낸다"는 표현에 개시된 "참고 데이터베이스"는 정상적인 태아(여성 태아, 남성 태아, 단일 태아 또는 쌍둥이)를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 핵산, 또는 시퀀싱 데이터(리드)를 지칭하는 것으로 주지되어야 한다.

[0347] "Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터"에 표시된 "시퀀싱 데이터"는 시퀀싱에서 획득된 리드를 의미한다.

[0348] 본 발명의 몇몇 특정 실시형태에서, " x_i ", "ERi" 및 "chri.ER%"란 용어는 본원에서 변경 가능하며, 즉 x_i 는 GC 보정에 적용한 이후에 획득된 결과일 수 있다. 구체적으로는, 각각의 염색체의 UR 및 GC 함량은 관계식, 즉 $ER_i = f_i(GC_i) + \varepsilon_i$ 를 획득하기 위해 정상 샘플로부터 획득된 공지된 데이터를 이용하여 피팅될 수 있다. UR의 평균값($\overline{ER_i}$)이 산정된다. 분석될 샘플에 있어서, 보정 이후의 ER 값은 하기 식에 따라 산정되고, 상술한 관계식

및 상기 샘플의 ER 및 GC에 기초하여 산정된다.

$$\overline{ER}_{ij} = \overline{ER}_i + \varepsilon_i = \overline{ER}_i + ER_{ij} - f_i(GC_{ij})$$

태아 키메라를 검출하기 위한 방법 및 시스템

제 9 양태에서, 본 발명은 태아 키메라를 검출하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은,

복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 태아, 임의적으로는 남성 태아를 가진 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;

상술한 방법에 의해 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하거나, 하기 식에 따라 Y 염색체에 의한 태아 분획($\text{fra.chrY}\%$)을 제 1 무세포 태아 DNA 분획으로서 추정하는 단계:

$$\text{fra.chrY} = (\text{chrY.ER}\% - \text{Female.chrY.ER}\%) / (\text{Man.chrY.ER}\% - \text{Female.chrY.ER}\%) * 100\%$$

(여기서, fra.chrY 는 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, $\text{chrY.ER}\%$ 는 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $\text{Female.chrY.ER}\%$ 는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; $\text{Man.chrY.ER}\%$ 는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄);

상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하는 단계; 및

상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지를 결정하는 단계를 포함한다.

따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 정확하게 분석될 수 있다.

본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은 하기의 추가적인 기술적 특징을 더 가질 수 있다.

본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 따라 결정된다:

$$\text{fra.chrI} = 2 * (\text{chrI.ER}\% / \text{adjust.chrI.ER}\% - 1) * 100\%$$

상기 식에서, fra.chrI 는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, i 는 상기 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 i 는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고; $\text{chrI.ER}\%$ 는 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $\text{adjust.chrI.ER}\%$ 는 정상적인 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임신부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다. 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.

본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지를 결정하는 단계는 (a) 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하는 단계; 및 (b) 단계 (a)에서 결정된 비율을 복수의 소정의 역치와 비교함으로써 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 키메라를 갖는지를 결정하는 단계를 더 포함한다. 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.

본 발명의 실시형태에서, 상기 복수의 소정의 역치는,

완전한 모노좀인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 7 역치,

모노좀 키메라인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 8 역치,

정상적인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 9 역치, 및

- [0368] 완전한 트리존인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 10 역치로부터 선택된 적어도 하나를 포함한다.
- [0369] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 모노좀이고;
- [0370] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작지 않고 제 8 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 모노좀 키메라이고;
- [0371] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 8 역치보다 크고 제 9 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 정상이고;
- [0372] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 9 역치보다 작지 않고 제 10 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 트리존 키메라이고;
- [0373] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 10 역치보다 큰 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 트리존이다.
- [0374] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 7 역치는 적어도 -1이고 0보다 작으며, 임의적으로는 -0.85이고;
- [0375] 상기 제 8 역치는 상기 제 7 역치보다 크고 0보다 작으며, 임의적으로는 -0.3이고;
- [0376] 상기 제 9 역치는 0보다 크고 1보다 작으며, 임의적으로는 0.3이고;
- [0377] 상기 제 10 역치는 상기 제 9 역치보다 크고 1보다 작으며, 임의적으로는 0.85이다. 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.
- [0378] 제 10 양태에서, 본 발명은 태아 키메라를 검출하기 위한 시스템을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 시스템은,
- [0379] 상술한 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 장치이고, 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 획득하기 위해 태아를 가진 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산을 시퀀싱하도록 구성되며, 상기 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성되거나 하기 식에 따라 Y 염색체에 의한 태아 분획($\text{fra.chrY}\%$)을 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획으로서 추정하도록 구성된 제 1 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치:
- [0380]
$$\text{fra.chrY} = (\text{chrY.ER}\% - \text{Female.chrY.ER}\%) / (\text{Man.chrY.ER}\% - \text{Female.chrY.ER}\%) * 100\%$$
- [0381] (여기서, fra.chrY 는 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타내고, $\text{chrY.ER}\%$ 는 상기 시퀀싱 결과에서 Y 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; $\text{Female.chrY.ER}\%$ 는 정상적인 여성 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타내고; $\text{Man.chrY.ER}\%$ 는 소정의 건강한 남성으로부터 획득된 말초 혈액 샘플 중의 Y 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타냄);
- [0382] 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터에 기초하여 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 결정하도록 구성된 제 3 무세포 태아 DNA 분획 결정 장치; 및
- [0383] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획 및 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획에 기초하여 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지를 결정하도록 구성된 키메라 결정 장치를 포함한다.
- [0384] 본 발명의 실시형태에 따르면, 상술한 태아 키메라를 결정하기 위한 방법은 상술한 시스템에 의해 효율적으로 수행될 수 있어, 상기 검출 하에 있는 태아가 태아 키메라를 갖는지의 여부는 효율적으로 분석될 수 있다.
- [0385] 본 발명의 실시형태에서, 상술한 태아 키메라를 검출하기 위한 시스템은 하기의 부가적인 기술적 특징을 더 포함할 수 있다.
- [0386] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획은 하기 식에 의해 결정된다:
- [0387]
$$\text{fra.chrX} = 2 * (\text{chrX.ER}\% / \text{adjust.chrX.ER}\% - 1) * 100\%$$

- [0388] 상기 식에서, *fra.chri*는 제 3 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, *i*는 상기 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 *i*는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고; *chri.ER%*는 상기 시퀀싱 결과에서 소정의 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율을 나타내고; *adjust.chri.ER%*는 정상적인 태아를 갖는 것으로 이미 결정된 임산부로부터 취득된 말초 혈액 샘플 중의 상기 소정의 염색체로부터 유래하는 무세포 핵산의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 평균 백분율을 나타낸다. 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.
- [0389] 본 발명의 실시형태에서, 상기 키메라 결정 장치는,
- [0390] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율을 결정하도록 구성된 비율 결정부; 및
- [0391] 상기 검출 하에 있는 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 키메라를 갖는지를 결정하기 위해 상기 비율 결정부에 의해 결정된 상기 비율을 복수의 소정의 역치와 비교하도록 구성된 비교부를 포함한다.
- [0392] 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.
- [0393] 본 발명의 실시형태에서, 상기 복수의 소정의 역치는,
- [0394] 완전한 모노존인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 7 역치,
- [0395] 모노존 키메라인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 8 역치,
- [0396] 정상적인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 9 역치, 및
- [0397] 완전한 트리존인 것으로 공지된 소정의 염색체를 갖는 복수의 대조 샘플에 기초하여 결정된 제 10 역치로부터 선택된 적어도 하나를 포함한다.
- [0398] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 모노존이고;
- [0399] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 7 역치보다 작지 않고 제 8 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 모노존 키메라이고;
- [0400] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 8 역치보다 크고 제 9 역치보다 작은 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 정상이고;
- [0401] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 9 역치보다 작지 않고 제 10 역치보다 크지 않는 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 트리존 키메라이고;
- [0402] 상기 제 1 무세포 태아 DNA 분획에 대한 상기 제 3 무세포 태아 DNA 분획의 비율이 제 10 역치보다 큰 경우 상기 검출 하에 있는 태아의 소정의 염색체는 완전한 트리존이다.
- [0403] 본 발명의 실시형태에서, 상기 제 7 역치는 -1보다 크고 0보다 작으며, 임의적으로는 -0.85이고;
- [0404] 상기 제 8 역치는 상기 제 7 역치보다는 크고 0보다는 작으며, 임의적으로는 -0.3이고;
- [0405] 상기 제 9 역치는 0보다는 크고 1보다는 작으며, 임의적으로는 0.3이고;
- [0406] 상기 제 10 역치는 상기 제 9 역치보다는 크고 1보다는 작으며, 임의적으로는 0.85이다. 따라서 상기 검출 하에 있는 태아가 특정 염색체에 대해 태아 키메라를 갖는지의 여부는 더욱 향상된 효율로 분석될 수 있다.
- [0407] 제 11 양태에서, 본 발명은 태아 키메라를 검출하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 상기 방법은,
- [0408] 복수의 시퀀싱 데이터로 이루어진 시퀀싱 결과를 취득하기 위해 태아를 가진 임산부로부터 취득된 말초 혈액 샘플 중에 함유된 무세포 핵산에 대해 시퀀싱을 수행하는 단계;
- [0409] 상기 시퀀싱 결과에서 *i*번 염색체로부터 유래하는 시퀀싱 데이터의 개수의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 분획(x_i)을 결정하되, *i*는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 *i*는 1 내지 22 범위의 임의의 정수인 단계;
- [0410] $T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$ (여기서, *i*는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 *i*는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, μ_i

는 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 평균값을 나타내고, σ_i 는 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 상기 i번 염색체의 시퀀싱 데이터의 이의 전체 시퀀싱 데이터에 대한 백분율의 표준편차를 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 T 점수를 결정하는 단계;

[0411] $L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$ (여기서, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a는 자유도를 나타내고, fra는 상기 생물학적 샘플 중의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위해 상술한 방법에 의해 결정된 무세포 태아 DNA 분획을 나타냄)에 따라 상기 i번 염색체의 L 점수를 결정하는 단계;

[0412] 상기 T 점수가 0보다 크지 않은 경우 T가 소정의 제 11 역치인 제 3 직선 및 L이 소정의 제 12 역치인 제 4 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하되,

[0413] 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 완전한 모노솜 또는 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;

[0414] 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;

[0415] 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 정상인 것으로 결정되고;

[0416] 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않는 단계; 및

[0417] 상기 T 점수가 0보다 큰 경우 T가 소정의 제 13 역치인 제 5 직선 및 L이 소정의 제 14 역치인 제 6 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하되,

[0418] 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 완전한 트리솜 또는 트리솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;

[0419] 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아가 상기 소정의 염색체에 대해 트리솜 키메라를 갖는 것으로 결정되고;

[0420] 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 상기 소정의 염색체에 대해 정상인 것으로 결정되고;

[0421] 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수를 갖도록 결정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되며, 이 같은 결과는 채택되지 않고;

[0422] 임의적으로는, 상기 제 11 역치 및 제 13 역치는 각각 독립적으로 3이고, 상기 제 12 역치 및 제 14 역치는 각각 독립적으로 1인 단계를 포함한다.

[0423] 따라서 상기 태아 키메라에 대한 상태는 효율적으로 분석될 수 있다.

[0424] "정상적인 남성 태아/여성 태아/태아"란 표현은 태아의 염색체가 정상이란 것을 의미하고, 예를 들어 "정상적인 남성 태아"는 정상적인 염색체를 갖는 남성 태아를 지칭하는 것으로 주지되어야 한다. 게다가, "정상적인 남성 태아/여성 태아/태아"는 단일 태아 또는 쌍둥이를 지칭할 수 있고, 예를 들어 "정상적인 남성 태아"는 정상적인 단일 태아 또는 정상적인 쌍둥이일 수 있고; "정상적인 태아"는 상기 태아의 성을 제한하지 않거나 태아가 단일 태아 또는 쌍둥이임을 제한하지 않는다.

[0425] 본 발명의 실시형태는 실시예를 참고하여 하기에 상세하게 개시될 것이지만, 당해 기술분야의 숙련자에게 있어서 하기 실시예는 단지 본 발명의 예시하기 위해 사용되는 것으로 인지되어야 하며, 따라서 이는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 이해되어서는 안 된다. 특정 조건이 규명되지 않는 실시예는 정상 조건 또는 제조사에 의해 추천되는 조건 하에 수행될 것이다. 제조사를 명시하지 않는 시약 또는 기기는 시장에 이용 가능한 통상적인 제품이다.

[0426] 실시예 1

- [0427] 검출 하에 있는 11명의 임신부로부터 수득된 혈장 샘플의 무세포 태아 DNA 분획은 하기와 같이 본 발명의 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위한 방법에 따라 추정된다.
- [0428] 1) 샘플 수집 및 처리
- [0429] 검출 하에 있는 11명의 임신부 및 남성 태아를 가진 것으로 알려진 37명의 임신부 각각의 말초 혈액 샘플을 수득하기 위해 검출 하에 있는 임신부 및 남성 태아를 가진 것으로 알려진 임신부 각각으로부터 임신 도중에 추출된 2mL의 말초 혈액을 혈장 분리에 적용하였다.
- [0430] 2) 라이브러리 구축
- [0431] 컴플리트 지노믹스사(Complete Genomics Inc.)의 혈장 라이브러리 구축 요건에 따라 라이브러리를 구축하였다.
- [0432] 3) 시퀀싱
- [0433] 시퀀싱 과정은 컴플리트 지노믹스사의 표준 작업 절차 이후에 엄격하게 수행되었다.
- [0434] 4) 데이터 분석하기
- [0435] 쌍 말단 시퀀싱에서 수득된 리드를 이용하여 DNA 단편의 길이 분포를 분석하였으며, 상기 과정은 도 1에 나타나 있다. 특정 단계는 하기와 같다:
- [0436] a) 검출 하에 있는 11명의 임신부 및 남성 태아를 가진 것으로 알려진 37명의 임신부 각각으로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 DNA 단편의 길이를 산정하였다. 구체적으로는, 각각 독자적으로 매핑된 리드의 일 단부에서의 19bp 및 동일한 독자적으로 매핑된 리드의 다른 단부에서의 12bp가 상기 독자적으로 매핑된 리드에 대해 참고 유전체에 상응하는 시작 위치 및 말단 위치를 결정하기 위해 선택되었으며, 따라서 상기 DNA 단편의 길이는 상기 독자적으로 매핑된 리드에 대해 상기 참고 유전체에 상응하는 시작 위치 및 말단 위치에 기초하여 수득되었다.
- [0437] b) 남성 태아를 가진 것으로 알려진 37명의 임신부 각각으로부터 수득된 말초 혈액 샘플에 있어서, 복수의 윈도우 범위(길이 범위)는 특정한 단계 크기에 따라 특정한 윈도우 길이 내의 윈도우의 이동을 통해 수득되었으며, 각각의 윈도우 범위 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율, 즉 각각의 길이 범위 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율을 산정하였다. 각각의 윈도우 범위 내에 존재하는 DNA 분자의 개수, 즉 DNA 분자의 총 개수로 나눈 각각의 길이 범위 내에 분포하는 DNA 분자의 개수는 각각의 윈도우 범위 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율로서 정의되는 것으로 주지되어야 한다. 예를 들어, 1bp, 5bp, 10bp 또는 15bp는 상기 윈도우로서 간주될 수 있으며, 1bp 내지 상기 윈도우 길이로부터 선택된 임의의 크기는 단계 크기로서 간주될 수 있다. 구체적으로는, 일례로서 5bp가 상기 윈도우로서 간주되고 2bp가 단계 크기로서 간주되는 경우, [1bp, 5bp], [2bp, 6bp], [4bp, 8bp], [6bp, 10bp] 등에서의 DNA 분자의 분포가 수득될 수 있다. 다른 예로서, 5bp가 상기 윈도우로서 간주되고 5bp가 단계 크기로서 간주되는 경우, [1bp, 5bp], [6bp, 10bp], [11bp, 15bp] 등에서의 DNA 분자의 분포가 수득될 수 있다.
- [0438] c) 하나 이상의 범위를 선택하였으며, 여기서 남성 태아를 가진 것으로 알려진 37명의 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플에 존재하는 DNA 분자의 백분율은 공지된 태아 분획과 상관관계가 밀접하였다. 특정한 길이 범위에 있어서, 남성 태아를 가진 것으로 알려진 37명의 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 무세포 태아 DNA 분획은 Y 염색체에 의해 추정되었고(특정 추정 방법에 대해 문헌[Fuman Jiang, Jinghui Ren, et al. Noninvasive Fetal Trisomy (NIFTY) test: an advanced noninvasive prenatal diagnosis methodology for fetal autosomal and sex chromosomal aneuploidies. *BMC Med Genomics*. 2012 Dec 1;5:57. doi: 10.1186/1755-8794-5-57]을 참고할 수 있으며, 이의 전체 내용은 본원에서 참고로 인용됨), 각각의 무세포 태아 DNA 분획과 길이 범위(M) 내에 있는 길이 내의 DNA 분자의 백분율 사이의 상관 계수를 산정하였다. 또한 상관 계수의 최대 절대값을 갖는 길이 범위(M)를 선택하였으며, 예를 들어 도 13에 도시된 바와 같이 $M = 185$ 내지 204bp, 및 상관 계수(R) = -0.87; 또는 $M = 121$ 내지 150bp, 및 상관 계수(R) = -0.6199.
- [0439] d) 길이 범위(M) 내에 존재하고 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플 중의 DNA 분자의 백분율과 무세포 태아 DNA 분획('d'로 기록됨) 사이의 함수 관계를 결정하였다. 구체적으로는, 공지된 무세포 태아 DNA 분획(d)를 갖는 상기 37개의 샘플(남성 태아를 가진 것으로 알려진 37명의 임신부로부터 수득된 샘플)에 대해 185 내지 204bp 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율(p_i)($i = 1, 2, \dots, 48$) 및 무세포 태아 DNA 분획(d_i)($i = 1, 2, \dots, 48$)을 이용하여 선형 피팅 그래프를 작도하여, 이의 관계식을 수득하였다: $d = a \cdot p + b$ (여기서, $d =$

0.0334*p+1.6657).

- [0440] e) DNA 단편의 길이 분포 및 M 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율은 검출 하에 있는 11명의 임신부로부터 수득된 각각의 샘플에 대해 수득되었다. 185 내지 204bp 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율(p)은 검출 하에 있는 임신부로부터 수득된 각각의 샘플에 대해 수득되었으며, 결과는 하기 표 1에 나타나 있다.
- [0441] f) 검출 하에 있는 샘플의 무세포 태아 DNA 분획을 추정하였다. 각각의 검출 하에 있는 샘플의 무세포 태아 DNA 분획(d_j)은 각각의 검출 하에 있는 샘플에 대해 상기에서 수득되고 185 내지 204bp 내에 존재하는 DNA 단편의 백분율(p_j)(j 는 검출 하에 있는 샘플의 표지(label)임), 및 관계식($d = a*p+b$)에 따라 직접 산정되었다.
- [0442] g) 상기 검출 하에 있는 샘플의 무세포 태아 DNA 분획의 추정 결과는 표 1에 나타나 있으며, 여기서 남성 태아를 가진 것으로 알려진 37명의 임신부로부터 수득된 샘플에 있어 chrY에 의해 추정된 무세포 태아 DNA 분획은 근본적으로 본 발명의 방법에 의 수득된 것과 일치한다.

[0443] [표 1]

185bp 내지 204bp 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율(%)	무세포 태아 DNA 분획(chrY에 의해 추정됨)	무세포 태아 DNA 분획(185bp 내지 204bp 내에 존재하는 DNA 분자의 백분율, 즉 본 발명의 방법에 의해 추정됨)	샘플
45.33932509	0.14872	0.145567224	테스트 샘플
45.85055949	0.12618	0.129861913	테스트 샘플
47.80808312	0.06752	0.06972606	테스트 샘플
46.78175523	0.10438	0.101255234	테스트 샘플
47.76095629	0.07148	0.071173814	테스트 샘플
45.18367884	0.15494	0.150348735	테스트 샘플
45.61282777	0.13413	0.13716512	테스트 샘플
48.50026322	0.04923	0.04846203	테스트 샘플
47.30076126	0.08555	0.085311176	테스트 샘플
47.12684798	0.09149	0.090653857	테스트 샘플
47.59287602	0.07892	0.076337302	테스트 샘플

[0444]

[0445] 실시예 2

[0446] 쌍둥이의 성의 결정 및 쌍둥이의 염색체 이수성의 검출은 실시예 1에 개시된 쌍둥이를 가진 11명의 임신부로부터 수득된 말초 혈액 샘플을 이용하여 쌍둥이의 성을 결정하기 위한 방법 및 쌍둥이의 염색체 이수성을 결정하기 위한 방법에 따라 수행되고, 실시예 1에 개시된 무세포 태아 DNA 분획의 결과에 기초하여 수행되었다.

[0447] 1. 검출 하에 있는 임신부의 태아의 성의 결정

[0448] 검출 하에 있는 11명의 임신부의 각각의 태아의 성은 실시예 1에서 결정된 무세포 태아 DNA 분획의 결과에 기초하여 결정되었으며, 하기 단계에 따라 결정되었다:

[0449] a) *fra.chry*는 Y 염색체에 의해 산정되었고;

[0450] b) *fra.size*는 모계와 태아 사이의 소정의 영역 내의 차이에 의해 추정되었고;

[0451] c) 결정 기준:

[0452] I. *fra.chry/fra.size*의 값이 0.35보다 작은 경우 쌍둥이의 태아 둘 모두는 여성이고;

[0453] II. 에러가 있는 경우 참조 공급원은 발견되지 않는다. 상기 *fra.chry/fra.size*의 값이 0.35보다 작지 않고 0.7보다 크지 않는 경우 상기 쌍둥이는 남성 태아 및 여성 태아를 포함하고;

[0454] III. 에러가 있는 경우 참조 공급원은 발견되지 않는다. 상기 *fra.chry/fra.size*의 값이 0.7보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 남성이다.

[0455] 결과는 하기 표에 나타나 있다:

검출 하에 있는 11명의 임신부의 태아의 성에 대한 검출 결과					
샘플 번호	<i>fra.chry</i>	<i>fra.size</i>	<i>fra.chry/</i> <i>fra.size</i>	검출 결과	핵형 결과
\$1	0.131431	0.118	1.113822	[남성, 남성]	[남성, 남성]
\$2	-0.00014	0.126652	-0.00114	[여성, 여성]	[여성, 여성]
\$3	-0.00019	0.125	-0.00151	[여성, 여성]	[여성, 여성]
\$4	0.141033	0.150125	0.939435	[남성, 남성]	[남성, 남성]
\$5	0.071202	0.088074	0.808433	[남성, 남성]	[남성, 남성]
\$6	0.06227	0.133	0.468195	[여성, 남성]	[여성, 남성]
\$7	-0.00044	0.132	-0.0033	[여성, 여성]	[여성, 여성]
\$8	-0.00396	0.074	-0.05353	[여성, 여성]	[여성, 여성]
\$9	0.185233	0.172	1.076936	[남성, 남성]	[남성, 남성]
\$10	0.072432	0.086	0.842233	[남성, 남성]	[남성, 남성]
\$11	0.000339	0.092792	0.003653	[여성, 여성]	[여성, 여성]

[0456]

[0457] 1. 태아 분획에 의한 쌍둥이의 염색체 이수성의 결정

[0458] 검출 하에 있는 11명의 임신부의 쌍둥이의 염색체 이수성은 실시예 1에서 결정된 무세포 태아 DNA 분획의 결과에 기초하여 태아 분획에 의해 결정되었으며, 하기 단계에 따라 결정되었다:

[0459] a) *fra.chry*는 *i*번 염색체(*i* = 13, 18 또는 21)에 의해 산정되었고;

[0460] b) *fra.size*는 모계와 태아 사이의 소정의 영역 내의 차이에 의해 추정되었고;

[0461] c) 결정 기준:

[0462] I. 예러가 있는 경우 참조 공급원은 발견되지 않는다. 상기 *fra.chry/fra.size*의 값이 0.35보다 작은 경우 쌍둥이의 태아 둘 모두에서의 *i*번 염색체는 정상이고;

[0463] II. 예러가 있는 경우 참조 공급원은 발견되지 않는다. 상기 *fra.chry/fra.size*의 값이 0.35보다 작지 않고 0.7보다 크지 않는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아에서의 *i*번 염색체는 트리зом이고, 상기 쌍둥이 중 다른 태아에서의 *i*번 염색체는 정상이고;

[0464] III. 예러가 있는 경우 참조 공급원은 발견되지 않는다. 상기 *fra.chry/fra.size*의 값이 0.7보다 큰 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두에서의 *i*번 염색체는 트리зом이다.

[0465] 결과는 하기 표에 나타나 있다:

태아 분획에 의한 검출 하에 있는 11명의 임신부의 쌍둥이의 염색체 이수성의 결정 결과									
샘플 번호	fra.chr1 3	fra.chr1 8	fra.chr2 1	fra.size	fra.chr1 3/ fra.size	fra.chr1 8/ fra.size	fra.chr2 1/ fra.size	검출 결과	핵형 결과
\$1	0.113979	0.017835	-0.01762	0.118	0.965921	0.151144	-0.14933	[T13, T13]	[T13, T13]
\$2	-0.00586	0.004833	0.009971	0.126652	-0.0463	0.03816	0.078728	[정상, 정상]	[정상, 정상]
\$3	0.001131	0.003996	0.121607	0.125	0.009048	0.031968	0.972856	[T21, T21]	[T21, T21]
\$4	-0.01175	-0.01269	0.004841	0.150125	-0.07829	-0.08455	0.032246	[정상, 정상]	[정상, 정상]
\$5	2.20E-05	-0.01032	0.011321	0.088074	0.00025	-0.11721	0.128539	[정상, 정상]	[정상, 정상]
\$6	0.040963	-0.00491	-0.00723	0.133	0.307992	-0.03693	-0.05438	[T13, 정상]	[T13, 정상]
\$7	0.005557	-0.01147	0.0754	0.132	0.042098	-0.08688	0.571212	[T21, 정상]	[T21, 정상]
\$8	0.014679	0.031445	-0.01884	0.074	0.198365	0.424932	-0.25462	[T18, 정상]	[T18, 정상]
\$9	0.010402	0.082992	0.007482	0.172	0.060477	0.482512	0.0435	[T18, 정상]	[T18, 정상]
\$10	0.001905	0.074566	-0.00051	0.086	0.022151	0.867052	-0.00592	[T18, T18]	[T18, T18]
\$11	0.014591	-0.00375	-0.01728	0.092792	0.157244	-0.04041	-0.1862	[정상, 정상]	[정상, 정상]

[0466]

[0467]

2. T 점수 및 L 점수에 의한 검출 하에 있는 임신부의 쌍둥이의 염색체 이수성의 결정

[0468]

검출 하에 있는 11명의 임신부의 쌍둥이의 염색체 이수성은 실시예 1에서 결정된 무세포 태아 DNA 분획의 결과에 기초하여 T 점수 및 L 점수에 의해 결정되었으며, 하기 단계에 따라 결정되었다:

[0469]

a) 전체 유전체 시퀀싱(WGS): 상기 검출 하에 있는 샘플은 고풍력 플랫폼인 일루미나(Illumina)를 이용하여 전체 유전체 시퀀싱에 적용하였다.

[0470]

b) 유효 리드의 위치 정보를 획득하였다: 상기 독자적으로 매핑된 리드에 대해 참고 유전체에 상응하는 위치 정보를 획득하기 위해 테스트 샘플의 리드를 참고 유전체 서열(hg19)에 독자적으로 매핑하였다.

[0471]

c) 유효 리드의 백분율을 획득하였다: 단계 b)에서 획득된 전체 유효 리드에 대한 각각의 염색체 중의 유효 리드의 백분율을 획득하였다.

[0472]

d) GC 보정:

[0473]

관계식 $ER_i = f_i(GC_i) + \varepsilon_i$ 를 획득하기 위해 정상적인 샘플로부터 획득된 공지된 데이터를 이용함으로써 각각의 염색체의 UR 및 GC 함량을 피팅하고, UR의 평균값($\overline{ER}$)을 산정하였다. 분석될 샘플에 있어서, 상기 관계식 및 상기 샘플의 ER 및 GC에 따라 보정 이후의 ER 값을 산정하였다.

[0474]

$$\overline{ER}_{ij} = \overline{ER}_i + \varepsilon_i = \overline{ER}_i + ER_{ij} - f_i(GC_{ij})$$

[0475]

e) T 점수를 산정하였다: $T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$

[0476]

상기 식에서, i : 염색체의 일련번호($i = 13, 18$ 또는 21);

[0477]

x_i : 분석용 샘플 중의 i 번 염색체의 유효 리드의 백분율;

[0478]

μ_i : 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 i 번 염색체의 유효 리드의 평균 백분율;

[0479]

σ_i : 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 i 번 염색체의 유효 리드의 백분율의 표준편차;

- [0480] f) L 점수를 산정하였다:
- [0481] 하기 식에 따라 i번 염색체의 L 점수를 결정하였다:
- [0482]
$$L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$$
- [0483] 상기 식에서, i는 상기 염색체의 일련번호를 나타내고, $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$; $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a는 자유도를 나타내고, fra는 실시예 1의 방법에 의해 결정된 제 1 무세포 태아 DNA 분획을 나타낸다.
- [0484] g) T = 3인 제 1 직선 및 L = 0.8인 제 2 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하였고(5% 미만의 태아 분획을 갖는 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하는 것으로 결정되었음), 세부사항은 하기에 개시되어 있다:
- [0485] I. 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L > 0.8$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 쌍둥이의 태아 둘 모두는 트리즘을 갖는 것으로 결정되었고;
- [0486] II. 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L \leq 0.8$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 쌍둥이 중 하나의 태아는 트리즘을 갖는 것으로 결정되는 반면, 상기 쌍둥이 중 다른 태아는 정상인 것으로 결정되었고;
- [0487] III. 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L \leq 0.8$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 쌍둥이의 태아 둘 모두는 정상인 것으로 결정되었고;
- [0488] IV. 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L > 0.8$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 쌍둥이는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되었으며, 이 같은 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하였다.
- [0489] 검출 하에 있는 11개의 샘플의 T 점수 및 L 점수를 이용하여 작도된 4-사분면 도표는 도 14 내지 도 16에 나타나 있다. T 점수 및 L 점수에 의해 결정된 상기 검출 하에 있는 11명의 임신부의 쌍둥이의 염색체 이수성은 태아 분획에 의해 단계 2에서 결정된 것과 일치하는 것으로 도 14 내지 도 16로부터 알 수 있다.
- [0490] **실시예 3: 키메라 검출**
- [0491] 하기 실시예에서, 낙태 조직으로부터 수득된 DNA 단편과 임신하지 않는 여성으로부터 수득된 혈장의 특정 비율의 혼합물을 임신부로부터 수득된 샘플로서 시뮬레이션(simulation)하였다. 하기와 같은 단계를 포함하는 하기 방법에 따라 태아(남성)의 염색체 수 이상(chromosome number abnormality; 트리즘, 완전한 모노즘, 트리즘 키메라 및 모노즘 키메라)을 검출하였다.
- [0492] 1) 전체 유전체 시퀀싱(WGS): 고�출력 플랫폼을 이용하여 상기 검출 하에 있는 샘플을 전체 유전체 시퀀싱에 적용하였다.
- [0493] 2) 유효 리드의 위치 정보를 수득하였다: 상기 독자적으로 매핑된 리드에 대해 참고 유전체에 상응하는 위치 정보를 수득하기 위해 테스트 샘플의 리드를 참고 유전체 서열에 대해 독자적으로 배열하였다.
- [0494] 3) 각각의 염색체 중의 독자적으로 매핑된 리드의 분획, 및 각각의 염색체 중의 염기의 총 개수에 대한 독자적으로 매핑된 리드의 구아닌(G 염기) 및 시토신(C 염기)의 개수의 백분율을 수득하였다: 검출 하에 있는 샘플 중의 각각의 염색체 내의 유효 리드의 개수의 이의 유효 리드의 총 개수에 대한 백분율, 및 각각의 염색체 내의 유효 리드 중의 G 및 C 염기의 개수의 이의 염기의 총 개수에 대한 백분율을 유효 리드의 위치 정보 및 염기 정보를 이용하여 수득하였다.
- [0495] 4) i번 염색체에 의해 DNA 분획을 산정하였으며, 이를 fra.chri로서 표시하였다:
- [0496]
$$fra.chri = 2 * (chri.ER\% / adjust.chri.ER\% - 1) * 100\%$$
- [0497] 상기 식에서, fra.chri는 무세포 태아 DNA 분획을 나타내며, i는 소정의 염색체의 일련번호를 나타내고 i는 1 내지 22 범위의 임의의 정수이고;
- [0498] chri.ER%: 샘플 중의 i번 염색체의 ER%(유효 리드 비율에 대한 약어; 독자적으로 매핑된 리드의 백분율);

- [0499] *adjust.chri.ER%*: 정상적인 샘플 중의 *i*번 염색체의 *ER%*의 이론값.
- [0500] 5) *Y* 염색체에 의해 태아 분획을 산정하였으며, 이를 *fra.chry*로서 표시하였다:
- [0501]
$$fra.chry = (chry.ER\% - Female.chry.ER\%) / (Man.chry.ER\% - Female.chry.ER\%) * 100\%$$
- [0502] 상기 식에서, *chry.ER%*: 검출 하에 있는 샘플 중의 *Y* 염색체의 *ER%*(유효 리드 비율에 대한 약어; 독자적으로 매핑된 리드의 백분율);
- [0503] *Female.chry.ER%*: 여성 태아를 가진 임산부로부터 수득된 검출 하에 있는 샘플 중의 *Y* 염색체의 *ER%*의 평균; 및
- [0504] *Man.chry.ER%*: 남성으로부터 수득된 검출 하에 있는 샘플 중의 *Y* 염색체의 *ER%*의 평균.
- [0505] 6) 결정 기준:
- [0506] I. *fra.chri/fra.chry* < A1인 경우(A1은 특정 상수이고, A1은 -1보다 크고, 예를 들어 -0.85임) 태아의 *i*번 염색체는 완전한 모노솜이고;
- [0507] II. $fra.chri / fra.chry \in [A_1, A_2]$ (*A*₁ 및 *A*₂는 특정 상수이고, -1 < *A*₁ < *A*₂ < 0, 예를 들어 [-0.85, -0.3])인 경우, 태아의 *i*번 염색체는 모노솜 키메라이고;
- [0508] III. $fra.chri / fra.chry \in [A_2, A_3]$ (*A*₂ 및 *A*₃는 특정 상수이고, *A*₂ < 0 < *A*₃, 예를 들어 [-0.3, 0.3])인 경우, 태아의 *i*번 염색체는 정상이고;
- [0509] IV. $fra.chri / fra.chry \in [A_3, A_4]$ (*A*₃ 및 *A*₄는 특정 상수이고, 0 < *A*₃ < *A*₄ < 1, 예를 들어 [0.3, 0.85])인 경우, 태아의 *i*번 염색체는 트리솜 키메라이고;
- [0510] V. *fra.chri/fra.chry* > A4인 경우(A4는 특정 상수이고, 예를 들어 0.85임) 태아의 *i*번 염색체는 완전한 트리솜이다.
- [0511] 3.1: 19개의 샘플(M1 내지 M19)에 대해 염색체 이수성을 검출하였으며, 상기 샘플 각각은 낙태 조직으로부터 수득된 DNA 단편과 임신하지 않은 여성으로부터 수득된 혈장의 혼합물이고(세부사항은 표 A에 나타나 있음), 2개의 혈장 샘플(N1 및 N2)은 남성 태아를 가진 2명의 임산부로부터 각각 수득되었다(한명의 임산부의 남성 태아는 T18 키메라를 갖고, 다른 임산부의 남성 태아는 T21 키메라를 가졌음).
- [0512] 1) 샘플 수집 및 처리
- [0513] 혈장 분리를 위해 2ml의 말초 혈액을 추출하였다.
- [0514] 2) 라이브러리 구축
- [0515] 컴플리트 지노믹스사의 혈장 라이브러리 구축 요건에 따라 라이브러리를 구축하였다.
- [0516] 3) 시퀀싱
- [0517] 시퀀싱 과정은 컴플리트 지노믹스사의 표준 작업 절차 이후에 엄격하게 수행되었다.
- [0518] 4) 데이터 분석하기
- [0519] a) 전체 유전체 시퀀싱(WGS): 고효율 플랫폼을 이용하여 상기 검출 하에 있는 샘플을 전체 유전체 시퀀싱에 적용하였다(모든 무세포 DNA 분자의 길이는 단일 말단 시퀀싱 또는 쌍 말단 시퀀싱에 의해 수득되었으며, 이는 중요성을 갖는다. 전체 무세포 DNA 분자는 존재하는 경우 단일 말단 시퀀싱에 의해 시퀀싱되도록 요구되었음).
- [0520] b) 유효 리드의 위치 정보를 수득하였다: 상기 독자적으로 매핑된 리드에 대해 참고 유전체에 상응하는 위치 정보를 수득하기 위해 상기 참고 유전체 서열에 대해 테스트 샘플의 리드를 독자적으로 배열하였다.
- [0521] c) 유효 리드의 백분율을 수득하였다: 단계 b)에서 수득된 총 유효 리드에 대한 각각의 염색체 중의 유효 리드의 백분율을 수득하였다.
- [0522] d) GC 보정:

- [0523] 관계식 $ER_i = f_i(GC_i) + \varepsilon_i$ 를 수득하기 위해 정상적인 샘플로부터 수득된 공지된 데이터를 이용함으로써 각각의 염색체의 UR 및 GC 함량을 피팅하고, UR의 평균값($\overline{ER}_i$)을 산정하였다. 분석될 샘플에 있어서, 상기 관계식 및 상기 샘플의 ER 및 GC에 따라 보정 이후의 ER 값을 산정하였다.
- [0524] $\overline{ER}_{ij} = \overline{ER}_i + \varepsilon_i = \overline{ER}_i + ER_{ij} - f_i(GC_{ij})$
- [0525] e) i번 염색체(i = 13, 18 또는 21)에 의해 *fra.chri*를 산정하였고;
- [0526] f) Y 염색체에 의해 *fra.chry*를 산정하였고;
- [0527] g) 본 발명의 무세포 태아 DNA 분석을 결정하기 위한 방법에 의해 *fra.size*를 산정하였고;
- [0528] h) T 점수를 산정하였고: $T_i = (x_i - \mu_i) / \sigma_i$
- [0529] 상기 식에서, i: 염색체의 일련번호(i = 1, 2, ...22);
- [0530] x_i : 분석용 샘플 중의 i번 염색체의 유효 리드의 백분율;
- [0531] μ_i : 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 i번 염색체의 유효 리드의 평균 백분율;
- [0532] σ_i : 상기 참고 데이터베이스에서 참고 시스템으로서 선택된 i번 염색체의 유효 리드의 백분율의 표준편차;
- [0533] i) L 점수를 산정하였고:
- [0534] 먼저 $T2_i = (x_i - \mu_i * (1 + fra/2)) / \sigma_i$,
- [0535] 이어 L 점수를 산정하였다: $L_i = \log(d(T_i, a)) / \log(d(T2_i, a))$
- [0536] 상기 식에서, $d(T_i, a)$ 및 $d(T2_i, a)$ 는 t 분포 확률 밀도 함수를 나타내며, 이때 a는 자유도를 나타내고, *fra*는 *fra.chry* 또는 *fra.size*를 나타낸다.
- [0537] ◆ 검출 하에 있는 샘플의 염색체 이수성은 Y 염색체에 의해 추정되는 *fra.chry*에 의해 결정되었다(표 A에 나타난 바와 같음).
- [0538] a) 결정 기준:
- [0539] I. *fra.chri/fra.chry* < -0.85인 경우 태아의 i번 염색체는 완전한 모노솜이고;
- [0540] II. *fra.chri/fra.chry* ∈ [-0.85, -0.3]인 경우 태아의 i번 염색체는 모노솜 키메라이고;
- [0541] III. *fra.chri/fra.chry* ∈ [-0.3, 0.3]인 경우 태아의 i번 염색체는 정상이고;
- [0542] IV. *fra.chri/fra.chry* ∈ [0.3, 0.85]인 경우 태아의 i번 염색체는 트리솜 키메라이고;
- [0543] V. *fra.chri/fra.chry* > 0.85인 경우 태아의 i번 염색체는 완전한 트리솜이다.
- [0544] ◆ 검출 하에 있는 샘플의 염색체 이수성은 T 점수 및 L 점수(*fra.chry*는 Y 염색체에 의해 추정되었음)에 의해 결정되었다(표 B에 나타난 바와 같음).
- [0545] a) T 점수 및 L 점수에 기초하여 4-사분면 도표를 작도하였고;
- [0546] b) $T \leq 0$ 인 경우 $T = 3$ 인 직선 및 $L = 1$ 인 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L의 절대 값을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하였다(5% 미만의 태아 분석을 갖는 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하는 것으로 결정되었음).
- [0547] I. 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L > 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 모노솜 또는 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되었고;

- [0548] II. 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L \leq 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되었고;
- [0549] III. 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L \leq 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 정상인 것으로 결정되었고;
- [0550] IV. 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L > 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되었으며, 이 같은 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하였다.
- [0551] $T > 0$ 인 경우 $T = 3$ 인 직선 및 $L = 0.8$ 인 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하였다(5% 미만의 태아 분획을 갖는 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하는 것으로 결정되었음).
- [0552] I. 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L > 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 트리솜 또는 트리솜 키메라를 갖는 것으로 결정되었고;
- [0553] II. 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L \leq 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 트리솜 키메라를 갖는 것으로 결정되었고;
- [0554] III. 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L \leq 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 정상인 것으로 결정되었고;
- [0555] IV. 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L > 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되었으며, 이 같은 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하였다.
- [0556] ◆ 검출 하에 있는 샘플의 염색체 이수성은 본 발명의 무세포 태아 DNA 분획을 결정하기 위한 방법에 의해 추정되는 *fra.size*에 의해 결정되었다(표 C에 나타난 바와 같음).
- [0557] b) 결정 기준:
- [0558] I. $\text{fra.chri}/\text{fra.chry} < -0.85$ 인 경우 태아의 i번 염색체는 완전한 모노솜이고;
- [0559] II. $\text{fra.chri}/\text{fra.chry} \in [-0.85, -0.3]$ 인 경우 태아의 i번 염색체는 모노솜 키메라이고;
- [0560] III. $\text{fra.chri}/\text{fra.chry} \in [-0.3, 0.3]$ 인 경우 태아의 i번 염색체는 정상이고;
- [0561] IV. $\text{fra.chri}/\text{fra.chry} \in [0.3, 0.85]$ 인 경우 태아의 i번 염색체는 트리솜 키메라이고;
- [0562] V. $\text{fra.chri}/\text{fra.chry} > 0.85$ 인 경우 태아의 i번 염색체는 완전한 트리솜이다.
- [0563] ◆ 검출 하에 있는 샘플의 염색체 이수성은 T 점수 및 L 점수(*fra.size*는 본 발명의 무세포 태아 DNA 분획을 결정하기 위한 방법에 의해 추정되었음)에 의해 결정되었다(표 D 및 도 2에 나타난 바와 같음).
- [0564] a) T 점수 및 L 점수에 기초하여 4-사분면 도표를 작도하였고;
- [0565] b) $T \leq 0$ 인 경우 $T = 3$ 인 직선 및 $L = 1$ 인 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L의 절대값을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하였다(5% 미만의 태아 분획을 갖는 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하는 것으로 결정되었음).
- [0566] I. 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L > 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 모노솜 또는 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되었고;
- [0567] II. 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L \leq 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 모노솜 키메라를 갖는 것으로 결정되었고;
- [0568] III. 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L \leq 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 정상인 것으로 결정되었고;
- [0569] IV. 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L > 1$)를 갖는 것으로 결

정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되었으며, 이 같은 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하였다.

[0570] $T > 0$ 인 경우 $T = 3$ 인 직선 및 $L = 1$ 인 직선으로 구획함으로써 수직 좌표로서 T 및 수평 좌표로서 L 을 이용하여 4-사분면 도표를 작도하였다(5% 미만의 태아 분획을 갖는 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하는 것으로 결정되었음).

[0571] I. 검출 하에 있는 샘플이 제 1 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L > 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 트리존 또는 트리존 키메라를 갖는 것으로 결정되었고;

[0572] II. 검출 하에 있는 샘플이 제 2 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T > 3$ 및 $L \leq 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 트리존 키메라를 갖는 것으로 결정되었고;

[0573] III. 검출 하에 있는 샘플이 제 3 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L \leq 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 정상인 것으로 결정되었고;

[0574] IV. 검출 하에 있는 샘플이 제 4 사분면 내에 있는 상기 T 점수 및 L 점수($T \leq 3$ 및 $L > 1$)를 갖는 것으로 결정되는 경우 상기 태아는 낮은 태아 분획을 갖는 것으로 결정되었으며, 이 같은 샘플은 품질 관리를 충족시키지 못하였다.

[0575] 이러한 실시형태에서, 본원에서 사용된 음성 샘플은 임신하지 않는 정상적인 여성으로부터 수득된 혈장 샘플이었으며, 양성 샘플은 150bp 내지 200bp 범위의 크기에 따라 낙태 조직으로부터의 DNA를 무작위로 절단함으로써 수득된 DNA 단편 및 임신하지 않는 정상적인 여성으로부터 수득된 혈장을 혼합함으로써 제조되었고; (T21 및 T18은 각각 남성 태아를 나타내고, T13은 여성 태아를 나타내고); 양성 키메라 샘플은 태반 조직 DNA 단편(이들은 150bp 내지 200bp 범위의 크기에 따라 태반 조직으로부터의 DNA를 무작위로 절단함으로써 수득됨), 중국 햄스터 세포주 DNA 단편(이들은 150bp 내지 200bp 범위의 크기에 따라 중국 햄스터 세포주로부터의 DNA를 무작위로 절단함으로써 수득됨) 및 정상적인 여성으로부터 수득된 혈장을 혼합함으로써 제조되었으며; (T21 및 T18은 각각 남성 태아를 나타내고, T13은 여성 태아를 나타낸다).

샘플 번호	낙태 조직 핵형	태아 분획	키메라 비율	발현 형태
M1	13번 트리존	3.5%	0	T13-3.5%
M2	13번 트리존	5%	0	T13-5%
M3	13번 트리존	8%	0	T13-8%
M4	13번 트리존	8%	0	T13-8%
M5	18번 트리존	10%	30%	T18-10%-30%
M6	18번 트리존	10%	70%	T18-10%-70%
M7	18번 트리존	10%	70%	T18-10%-70%
M8	18번 트리존	10%	70%	T18-10%-70%
M9	18번 트리존	3.5%	0	T18-3.5%
M10	18번 트리존	5%	0	T18-5%
M11	18번 트리존	5%	0	T18-5%
M12	18번 트리존	8%	0	T18-8%
M13	18번 트리존	10%	30%	T21-10%-30%
M14	18번 트리존	10%	70%	T21-10%-70%
M15	18번 트리존	10%	70%	T21-10%-70%
M16	18번 트리존	10%	70%	T21-10%-70%
M17	18번 트리존	3.5%	0	T21-3.5%
M18	18번 트리존	5%	0	T21-5%
M19	18번 트리존	8%	0	T21-8%

[0576]

샘플 번호	핵형 결과
M1	47, XN +18[3]/46, XN[20]
M2	47, XN +21[30]/46, XN[18]

[0577]

[0578] [표 A]

Y 염색체에 의해 추정되는 혼합 DNA 분석에 의한 염색체 이주성 검출								
샘플 번호	fra.chr13	fra.chr18	fra.chr21	fra.chry	fra.chr13/ fra.chry	fra.chr18/ fra.chry	fra.chr21/ fra.chry	검출 결과
M1	0.03531	-4.8E-06	-0.00742	0.00069				T13-3.5%
M2	0.04731	-0.01207	0.007764	-0.00002				T13-5%
M3	0.08136	-0.00477	-0.00129	-0.0002				T13-8%
M4	0.0796	-0.00738	-0.0013	-0.00157				T13-8%
M5	-0.01079	0.03401	-0.00442	0.105215	-0.10259	0.323243	-0.04197	T18-10%-30%
M6	-0.00192	0.069573	-0.00043	0.090435	-0.02127	0.769319	-0.00471	T18-10%-70%
M7	0.001756	0.058363	-0.00968	0.087785	0.020009	0.664844	-0.11022	T18-10%-70%
M8	-0.01081	0.082063	-0.00917	0.106115	-0.1019	0.773343	-0.08638	T18-10%-70%
M9	0.007816	0.0341	-0.00038	0.03723	0.209951	0.915928	-0.01009	T18-3.5%
M10	0.013116	0.0512	-0.00607	0.04843	0.270834	1.057196	-0.12525	T18-5%
M11	0.000956	0.0513	-0.01176	0.0566	0.016899	0.90636	-0.2077	T18-5%
M12	-0.00237	0.07693	-0.004	0.08877	-0.02674	0.866622	-0.04501	T18-8%
M13	0.001246	-0.01028	0.04323	0.110455	0.011285	-0.09311	0.391381	T21-10%-30%
M14	0.000266	-0.01586	0.06554	0.092805	0.002871	-0.17095	0.706212	T21-10%-70%
M15	-0.00041	0.004795	0.07461	0.110035	-0.00376	0.043578	0.678057	T21-10%-70%
M16	-0.00235	-0.00759	0.06985	0.097155	-0.02422	-0.07817	0.718954	T21-10%-70%
M17	0.005776	0.010345	0.0481	0.03478	0.166086	0.297445	1.382979	T21-3.5%
M18	0.007786	0.006345	0.0557	0.04853	0.160447	0.130747	1.147744	T21-5%
M19	0.009846	-0.00828	0.07449	0.06855	0.143639	-0.12086	1.086652	T21-8%
N1	0.007053	0.043212	0.000938	0.110337	0.063922	0.391637	0.008501	47, XN +18[3]/46, XN[20]
N2	-0.01105	0.002921	0.081665	0.167834	-0.06581	0.017404	0.486582	47, XN +21[30]/46, XN[18]
비고: fra.chr13: 13번 염색체에 의해 추정되는 혼합 DNA 분석을 나타냄; fra.chr18: 18번 염색체에 의해 추정되는 혼합 DNA 분석을 나타냄; fra.chr21: 21번 염색체에 의해 추정되는 혼합 DNA 분석을 나타냄; fra.chry: Y 염색체에 의해 산정된 혼합 DNA 분석을 나타냄; T21-10%-30%: 10%의 분석 및 30%의 키메라 비율에 따라 21번 트리플이 여성 혈장과 혼합된 세포주로부터 수득된 DNA 분석.								

[0579]

[0580] [표 B]

T 점수 및 L 점수에 의한 염색체 이수성 검출(혼합 DNA 분석은 Y 염색체에 의해 추정되었음)								
샘플 번호	T.chr13	L.chr13	T.chr18	L.chr18	T.chr21	L.chr21	fra.chry	검출 결과
M1	4.345751		-0.00053		-0.60057		0.00069	T13-3.5%
M2	5.436515		-1.216		0.52145		-0.00002	T13-5%
M3	10.46607		-0.47762		-0.09072		-0.0002	T13-8%
M4	9.126057		-0.70384		-0.08565		-0.00157	T13-8%
M5	-1.43378	0.018171	4.16099	0.292408	-0.39025	0.023403	0.105215	T18-10%-30%
M6	-0.20845	0.015392	7.977908	12.56388	-0.03313	0.031699	0.090435	T18-10%-70%
M7	0.210445	0.015766	7.151443	4.550099	-0.82976	0.035673	0.087785	T18-10%-70%
M8	-1.19968	0.019721	8.763087	10.86877	-0.7035	0.030472	0.106115	T18-10%-70%
M9	0.963351	0.189495	3.96625	9.33211	-0.03142	0.162273	0.03723	T18-3.5%
M10	1.8534	0.251063	6.429505	19.56264	-0.51602	0.082144	0.04843	T18-5%
M11	0.112697	0.031697	6.659763	23.63495	-1.01942	0.072816	0.0566	T18-5%
M12	-0.24379	0.016926	8.332999	25.4093	-0.2922	0.035987	0.08877	T18-8%
M13	0.164157	0.010591	-1.22048	0.017938	3.76578	0.491369	0.110455	T21-10%-30%
M14	0.037473	0.013915	-1.90428	0.036927	5.667693	4.554072	0.092805	T21-10%-70%
M15	-0.05039	0.011486	0.536781	0.017359	5.897363	3.910694	0.110035	T21-10%-70%
M16	-0.28883	0.01242	-0.86821	0.018234	6.167815	5.406755	0.097155	T21-10%-70%
M17	0.581767	0.19567	1.077291	0.427888	3.582341	4.827084	0.03478	T21-3.5%
M18	0.93815	0.145201	0.654071	0.129238	3.958377	8.227322	0.04853	T21-5%
M19	1.201005	0.051788	-1.03581	0.032569	6.795784	21.00502	0.06855	T21-8%
N1	0.703062	0.022374	5.418144	0.435182	0.081371	0.02066	0.110337	47, XN +18[3]/46, XN[20]
N2	-0.97092	0.012246	0.355485	0.005614	7.170205	0.903486	0.167834	47, XN +21[30]/46, XN[18]

비고:
T.chr13: 13번 염색체의 T 점수;
L.chr13: 13번 염색체의 L 점수;
T.chr18: 18번 염색체의 T 점수;
L.chr18: 18번 염색체의 L 점수;
T.chr21: 21번 염색체의 T 점수;
L.chr21: 21번 염색체의 L 점수;
fra.chry: Y 염색체에 의해 추정되는 혼합 태아 DNA 분석;
T21-10%-30%: 10%의 분석 및 30%의 키메라 비율에 따라 21번 트리플이 여성 혈장과 혼합된 세포주로부터 획득된 DNA 분석.

[0581]

[0582] [표 C]

fra.size에 의한 염색체 이수성 검출								
샘플 번 호	fra.chr1 3	fra.chr1 8	fra.chr2 1	fra.size	fra.chr1 3/ fra.size	fra.chr1 8/ fra.size	fra.chr2 1/ fra.size	검출 결과
M1	0.03531	-4.8E-06	-0.00742	0.0369	0.956911	-0.00013	-0.20097	T13-3.5%
M2	0.04731	-0.01207	0.007764	0.05519	0.857221	-0.21879	0.140682	T13-5%
M3	0.08136	-0.00477	-0.00129	0.08462	0.961475	-0.05643	-0.01519	T13-8%
M4	0.0796	-0.00738	-0.0013	0.07332	1.085652	-0.10072	-0.01767	T13-8%
M5	-0.01079	0.03401	-0.00442	0.1071	-0.10078	0.317554	-0.04123	T18-10%-30%
M6	-0.00192	0.069573	-0.00043	0.0928	-0.02073	0.749713	-0.00459	T18-10%-70%
M7	0.001756	0.058363	-0.00968	0.1058	0.016602	0.551638	-0.09145	T18-10%-70%
M8	-0.01081	0.082063	-0.00917	0.1233	-0.0877	0.665558	-0.07434	T18-10%-70%
M9	0.007816	0.0341	-0.00038	0.0432	0.180937	0.789352	-0.0087	T18-3.5%
M10	0.013116	0.0512	-0.00607	0.05688	0.230599	0.900141	-0.10664	T18-5%
M11	0.000956	0.0513	-0.01176	0.0438	0.021838	1.171233	-0.2684	T18-5%
M12	-0.00237	0.07693	-0.004	0.06726	-0.03529	1.14377	-0.05941	T18-8%
M13	0.001246	-0.01028	0.04323	0.0705	0.017681	-0.14588	0.613191	T21-10%-30%
M14	0.000266	-0.01586	0.06554	0.1056	0.002524	-0.15024	0.620644	T21-10%-70%
M15	-0.00041	0.004795	0.07461	0.1205	-0.00343	0.039794	0.61917	T21-10%-70%
M16	-0.00235	-0.00759	0.06985	0.1165	-0.0202	-0.06519	0.599571	T21-10%-70%
M17	0.005776	0.010345	0.0481	0.0409	0.141234	0.252938	1.176039	T21-3.5%
M18	0.007786	0.006345	0.0557	0.04543	0.171395	0.139669	1.226062	T21-5%
M19	0.009846	-0.00828	0.07449	0.07848	0.125465	-0.10557	0.949159	T21-8%
N1	0.007053	0.043212	0.000938	0.102547	0.068778	0.421387	0.009147	47, XN +18[3]/46, XN[20]
N2	-0.01105	0.002921	0.081665	0.198228	-0.05572	0.014736	0.411975	47, XN +21[30]/46, XN[18]

비고:
fra.chr13: 13번 염색체에 의해 추정되는 혼합 DNA 분획을 나타냄;
fra.chr18: 18번 염색체에 의해 추정되는 혼합 DNA 분획을 나타냄;
fra.chr21: 21번 염색체에 의해 추정되는 혼합 DNA 분획을 나타냄;
fra.size: 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분획을 결정하기 위해
본 발명의 방법에 의해 추정되는 혼합 DNA 분획;
T21-10%-30%: 10%의 분획 및 30%의 키메라 비율에 따라 21번 트리플이 여성 혈장과 혼합된 세
포주로부터 수득된 DNA 분획.

[0583]

[0584] [표 D]

T 점수 및 L 점수에 의한 염색체 이수성 검출(<i>fra.size</i>)								
샘플 번호	T.chr13	L.chr13	T.chr18	L.chr18	T.chr21	L.21	fra.size	검출 결과
M1	4.345751	10.86269	-0.00053	0.06264	-0.60057	0.110064	0.0369	T13-3.5%
M2	5.436515	13.40864	-1.216	0.040421	0.52145	0.080194	0.05519	T13-5%
M3	10.46607	36.3034	-0.47762	0.013724	-0.09072	0.026097	0.08462	T13-8%
M4	9.126057	29.68988	-0.70384	0.019292	-0.08565	0.033903	0.07332	T13-8%
M5	-1.43378	0.015183	4.16099	0.216731	-0.39025	0.019427	0.1071	T18-10%-30%
M6	-0.20845	0.01467	7.977908	10.52499	-0.03313	0.030232	0.0928	T18-10%-70%
M7	0.210445	0.011014	7.151443	1.813942	-0.82976	0.026168	0.1058	T18-10%-70%
M8	-1.19968	0.015259	8.763087	4.176647	-0.7035	0.023665	0.1233	T18-10%-70%
M9	0.963351	0.136353	3.96625	6.810597	-0.03142	0.126392	0.0432	T18-3.5%
M10	1.8534	0.166895	6.429505	20.92116	-0.51602	0.062989	0.05688	T18-5%
M11	0.112697	0.051911	6.659763	13.06329	-1.01942	0.107019	0.0438	T18-5%
M12	-0.24379	0.028322	8.332999	19.64862	-0.2922	0.058661	0.06726	T18-8%
M13	0.164157	0.025146	-1.22048	0.037995	3.76578	2.372928	0.0705	T21-10%-30%
M14	0.037473	0.010899	-1.90428	0.030091	5.667693	2.443191	0.1056	T21-10%-70%
M15	-0.05039	0.009693	0.536781	0.014533	5.897363	2.522845	0.1205	T21-10%-70%
M16	-0.28883	0.008906	-0.86821	0.013317	6.167815	2.195736	0.1165	T21-10%-70%
M1	0.703062	0.030365	5.418144	0.576578	0.081371	0.02724	0.102547	47, XN +18[3]/46, XN[20]
M2	-0.97092	0.013866	0.355485	0.007248	7.170205	0.553012	0.198228	47, XN +21[30]/46, XN[18]

비고:
T.chr13: 13번 염색체의 T 점수;
L.chr13: 13번 염색체의 L 점수;
T.chr18: 18번 염색체의 T 점수;
L.chr18: 18번 염색체의 L 점수;
T.chr21: 21번 염색체의 T 점수;
L.chr21: 21번 염색체의 L 점수;
fra.size: 생물학적 샘플 중의 소정의 공급원으로부터의 무세포 핵산의 분석을 결정하기 위해 본 발명의 방법에 의해 추정되는 혼합 DNA 분석;
T21-10%-30%: 10%의 분석 및 30%의 키메라 비율에 따라 21번 트리플이 여성 혈장과 혼합된 세포주로부터 수득된 DNA 분석.

[0585]

[0586]

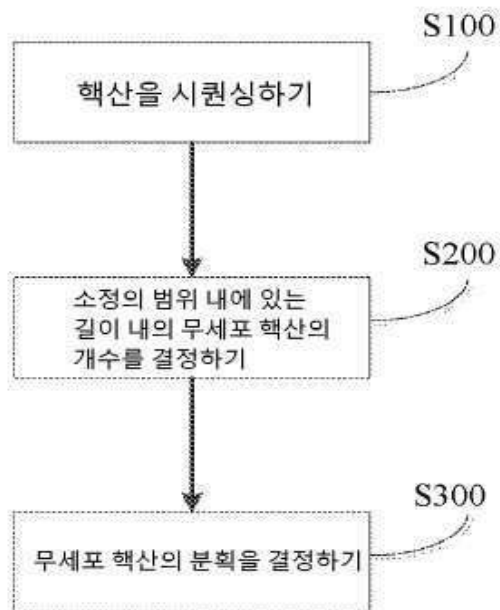
본 명세서 전반에서 "실시형태", "몇몇 실시형태", "하나의 실시형태", "다른 실시예", "실시예" " 특정 실시예" 또는 "몇몇 실시예"에 대한 참고는 상기 실시형태 또는 실시예와 관련하여 개시된 특정한 특징, 구조, 물질 또는 특징이 본 발명의 적어도 하나의 실시형태 또는 실시예에 포함된다는 것을 의미한다. 따라서 본 명세서 전반에서 다양한 장소에서 "몇몇 실시형태", "하나의 실시형태", "실시형태", "다른 실시예", "실시예", "특정 실시예" 또는 "몇몇 실시예"에서와 같은 문구의 출현은 본 발명의 동일한 실시형태 또는 실시예를 필수적으로 지칭하는 것은 아니다. 게다가 상기 특정한 특징, 구조, 물질 또는 특징은 하나 이상의 실시형태 또는 실시예에서 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다.

[0587]

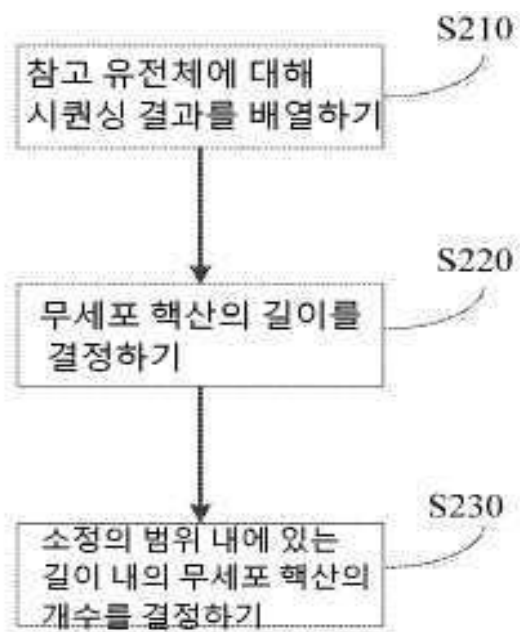
설명을 위한 실시형태가 도시되고 예시되어 있을지라도 당해 기술분야의 숙련자라면 상기 실시형태가 본 발명을 제한하는 것으로 이해될 수 없으며, 변경, 대안 및 변형은 본 발명의 진의, 원리 및 범주에서 벗어나지 않는 한 상기 실시형태 내에서 이루어질 수 있고, 본 발명의 범주는 특허청구범위 및 이의 등가물에 의해 한정되는 것으로 이해할 수 있을 것이다.

도면

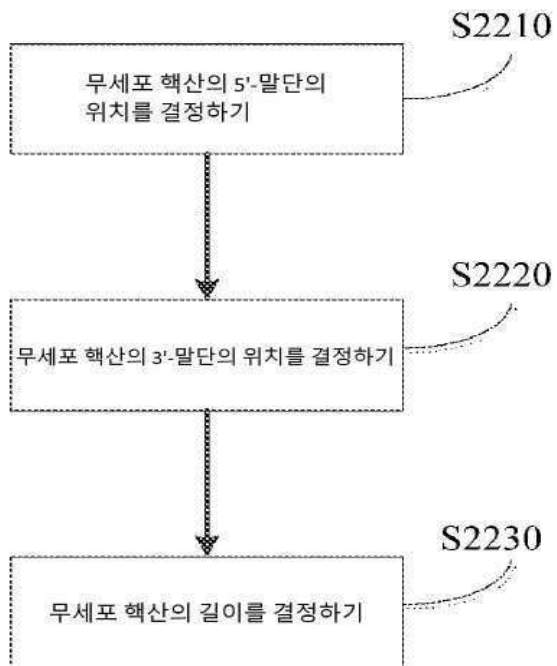
도면1



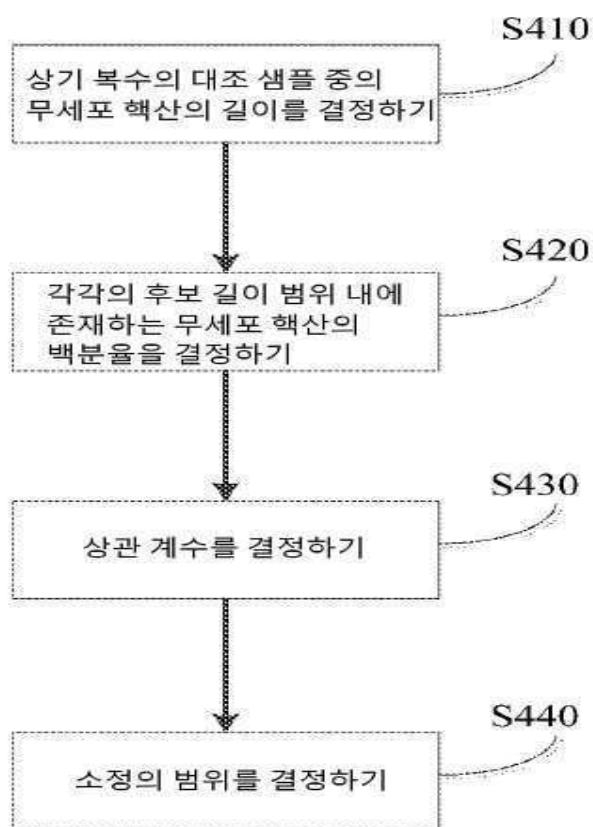
도면2



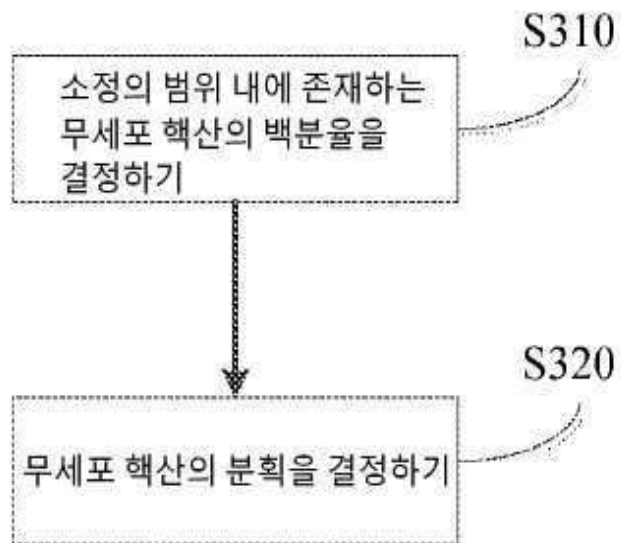
도면3



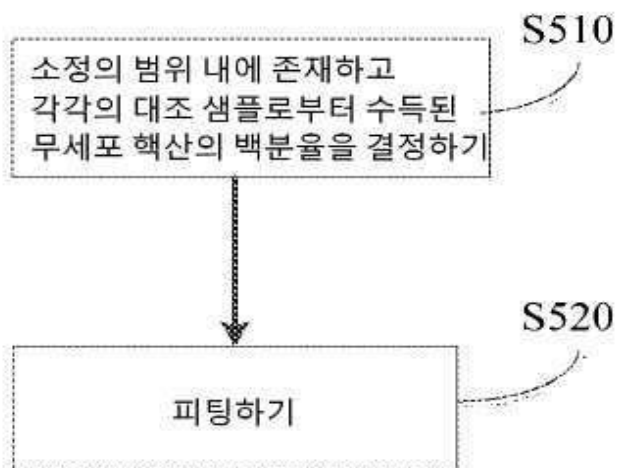
도면4



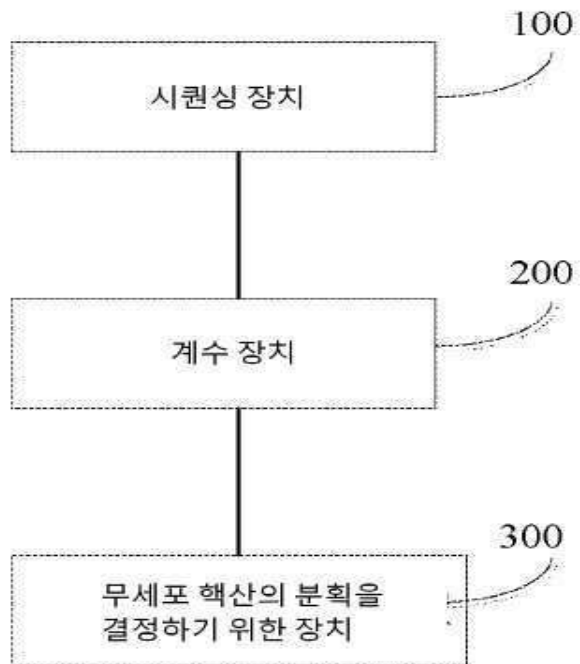
도면5



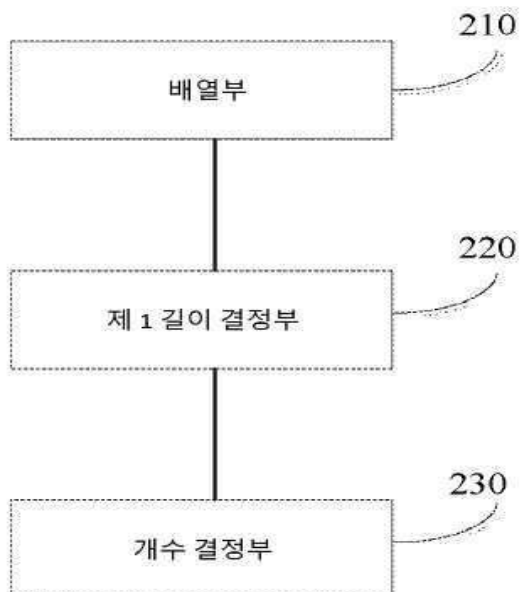
도면6



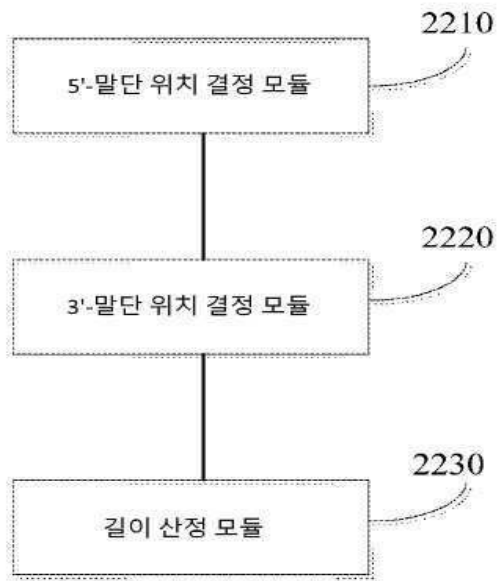
도면7



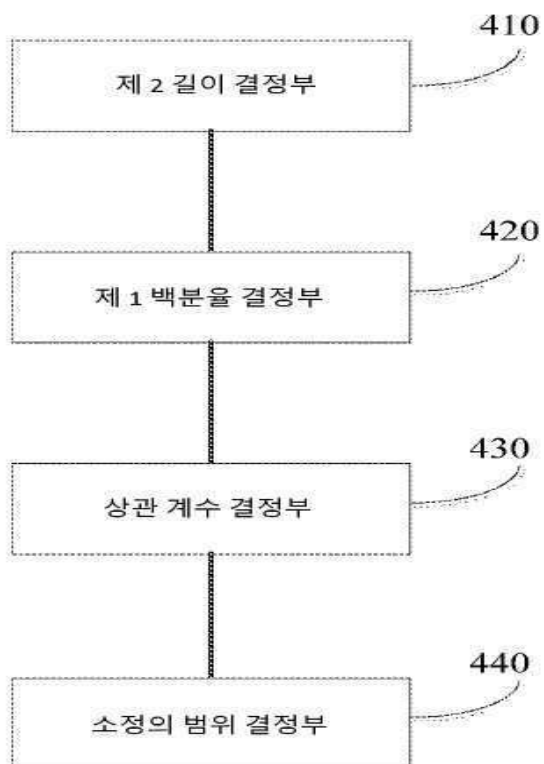
도면8



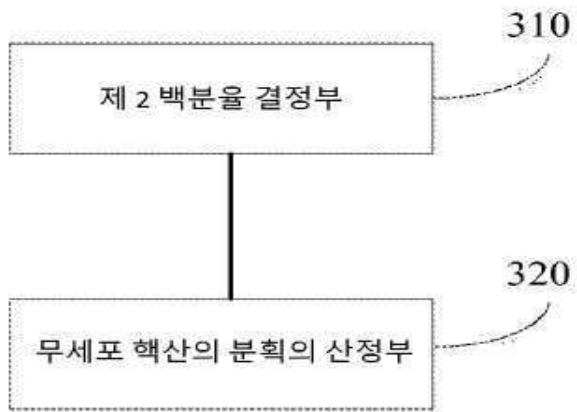
도면9



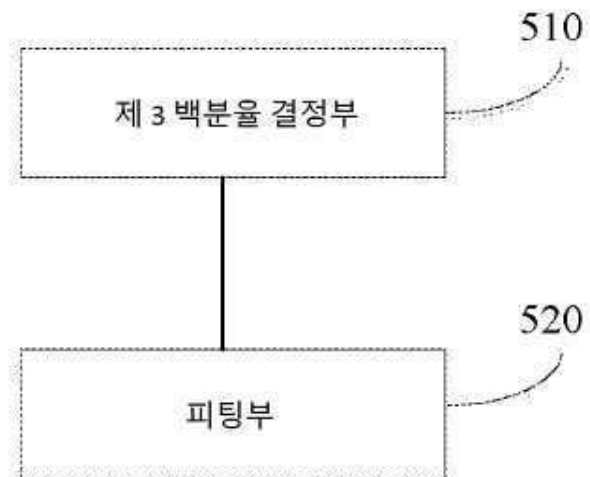
도면10



도면11



도면12



도면14



도면15



도면16

