



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0146727  
(43) 공개일자 2016년12월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
G01N 33/96 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
G01N 33/96 (2013.01)  
G01N 2496/00 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2016-7029433  
(22) 출원일자(국제) 2015년03월26일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2016년10월21일  
(86) 국제출원번호 PCT/IB2015/052243  
(87) 국제공개번호 WO 2015/145387  
국제공개일자 2015년10월01일  
(30) 우선권주장  
14161766.2 2014년03월26일  
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인  
메타노믹스 헬스 게엠베하  
독일 10589 베를린 테젤러 베크 33  
(72) 발명자  
카를라제, 베아데  
독일 12161 베를린 파르치너 스트라쎄 13/14  
슈미츠, 올리버  
독일 14624 달고브-도베리츠 요하네스-브람스-스  
트라쎄 16  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
양영준, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **대사물 패널에 기초하여 혈액 샘플의 품질을 결정하기 위한 수단 및 방법**

(57) 요약

혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법은 상기 샘플에서 본 발명의 적어도 1개의 마커 패널의 마커의 값을 결정하는 단계, 결정된 값을 대응 참조값과 비교하는 단계 및 상기 혈액 샘플의 품질을 평가하는 단계를 포함한다.

(72) 발명자

**베탄, 비안카**

독일 10717 베를린 예나 스트라쎄 29

**샤츠, 필리프**

독일 10435 베를린 오데르베르거 스트라쎄 46

**페터, 에릭**

독일 14473 포츠담 훔볼트링 13

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

- a) 혈액 생성물 샘플에서 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커의 값을 결정하는 단계;
- b) 단계 a)에서 결정된 값을 대응 참조값과 비교하는 단계; 및
- c) 상기 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 단계를 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 단계 a)에서 마커 (i) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴; (ii) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 하이포크산틴; (iii) 글리세롤-3-포스페이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; 또는 (iv) 글리세레이트, 오르니틴 및 하이포크산틴의 양을 결정하는 것인 방법.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 단계 a)에서 표 2의 적어도 1개의 패널의 마커의 값을 결정하는 것인 방법.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 a)에서 표 2의 패널 3, 13, 15, 18, 19 또는 20 중 적어도 1개의 마커의 값을 결정하는 것인 방법.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마커의 값을 결정하는 것이 상기 마커의 양을 결정하거나, 또는 마커의 적어도 1개의 농도 값으로부터 유래된 계산된 값, 바람직하게는 적어도 2개의 바이오마커의 농도의 비를 결정하는 것인 방법.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 마커의 개별 수치 값을 다변량 모델, 바람직하게는 로지스틱 회귀 모델을 사용함으로써 합산 값으로 바꾸는 것인 방법.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단계 b)가

- b1) 단계 a)에 언급된 바와 같은 상기 마커의 결정된 값에 기초하여 합산 값을 계산하며, 여기서 바람직하게는 상기 합산 값을 계산하는데 있어서 마커를 그의 중요성에 따라 가중치를 두는 것인 단계; 및
- b2) 이에 따라 계산된 합산 값을 참조 합산 값과 비교하는 단계를 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단계 b)가

- b1) 단계 a)에서 결정된 값을 대응 참조값과 비교하고, 상기 비교에 기초하여 합산 값을 계산하며, 여기서 바람직하게는 상기 합산 값을 계산하는데 있어서 마커를 그의 중요성에 따라 가중치를 두는 것인 단계; 및
- b2) 이에 따라 계산된 합산 값을 참조 합산 값과 비교하는 단계를 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 것이 상기 혈액 생성물 샘플이 혼동 요인 (i) 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 장기적 시간, (ii) 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 증가된 온도, (iii) 장기적 혈장 저장 시간, 및 (iv) 혈장 저장 동안 증가된 온도 중 어느 것에 의해 영향을 받지 않는다는 것을 확실하게 하는 것인 방법.

#### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 a)에서 추가로 마커 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), 시트레이트 및 아스파르테이트의 양을 결정하고, 단계 b)에서 상기 추가의 마커의 양을 대응 참조값과 비교하는 것인 방법.

#### 청구항 11

제10항에 있어서, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 것이 상기 샘플이 수집 튜브 선택 관련 요인에 의해 손상되었는지의 여부를 구별하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 12

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈액 생성물 샘플이 혈액 샘플 또는 혈장 샘플인 방법.

#### 청구항 13

a) 혈액 생성물 샘플에 대한 분석 유닛으로서, 이는 적어도 표 1, 표 2 또는 표 2a의 적어도 1개의 패널의 마커에 대한 적어도 1개의 검출기를 포함하며, 상기 적어도 1개의 검출기는 상기 샘플 중 상기 마커의 양을 결정하는 것인, 상기 분석 유닛; 및 이에 작동가능하게 연결된,

b) 데이터 처리 유닛 및 데이터베이스를 포함하는 평가 유닛으로서, 상기 데이터베이스는 저장된 대응 참조 값을 포함하고, 상기 데이터 처리 유닛은 임의로 2개의 바이오마커의 샘플내 비를 계산하는 알고리즘을 유형으로 구현시키고, 분석 유닛에 의해 결정된 마커의 값 또는 평가 유닛에 의해 계산된 값을 상기 저장된 참조 값과 비교하고, 품질의 평가가 확립되는 것에 기초하여 출력 정보를 생성하는 것인, 상기 평가 유닛

을 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한 장치.

#### 청구항 14

제13항에 있어서, 상기 분석 유닛이 적어도 마커 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴에 대한 적어도 1개의 검출기를 포함하고, 상기 적어도 1개의 검출기는 상기 샘플 중 상기 마커의 양을 결정하는 것인 장치.

#### 청구항 15

혈액 생성물 샘플의 충분한 또는 불충분한 품질을 나타내는 적어도 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커의 특징적 값을 포함하는 데이터 수집물.

#### 청구항 16

제15항의 데이터 수집물을 포함하는 데이터 저장 매체.

#### 청구항 17

혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한, 적어도 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커, 또는 그에 대한 검출 작용제 또는 검출 시약의 용도.

#### 청구항 18

하우징에 포함되는, 적어도 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커에 대한 적어도 1개의 검출 작용제 및/또는 상기 마커에 대한 참조물을 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한 키트.

#### 청구항 19

- a) 혈액 생성물의 수집물을 제공하는 단계,
  - b) 상기 혈액 생성물의 수집물의 각각의 구성원의 샘플에 대해 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항의 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법의 단계들을 수행하는 단계, 및
  - c) 불충분한 품질로 평가되는 경우에 혈액 생성물을 폐기하고/거나, 불충분한 품질로 평가되는 경우에 혈액 생성물을 추가의 사용에서 배제시키고; 이로써 충분한 품질의 혈액 생성물의 수집물을 제공하는 단계
- 를 포함하는, 충분한 품질의 혈액 생성물의 수집물을 제공하는 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 혈액 생성물 샘플에서 본 발명의 적어도 1개의 마커 패널의 마커의 값을 결정하는 단계, 결정된 값을 대응 참조값과 비교하는 단계 및 상기 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 단계를 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한 장치 및 키트, 및 적어도 본 발명의 적어도 1개의 마커 패널의 마커에 대한 특징적 값을 포함하는 데이터 수집물, 및 상기 데이터 수집물을 포함하는 데이터 저장 매체에 관한 것이다. 더욱이, 본 발명은 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법의 단계들을 포함하는, 충분한 품질의 혈액 생성물의 수집물을 제공하는 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 임의의 생의학 연구 또는 치료 및/또는 진단 목적을 위한 바이오뱅크에 저장된 생물학적 물질의 값은 샘플 조성을 방해하는 분석전 혼동 요인에 의해 감소될 수 있다는 사실이 널리 보고되어 왔다 (Aguilar-Mahecha et al. (2012), PLoS ONE 7(6): e38290; Ahmed, FE (2011), Analytical Methods 3: 1029; Baechler et al.(2004), Genes and Immunity 5: 3473); Becker & Lockwood (2013), Clinical Biochemistry 46: 861; Messaoudi et al. (2013), Clinica Chimica Acta 424: 222; Greystoke et al. (2008), Annals of Oncology 19: 990; Hebels et al. (2013), Environmental Health Perspectives 121(4): 480; Kamlage et al. (2014); Clinical Chemistry 60:2: 399; Odozze et al. (2012), Clinical Biochemistry 45: 464; Rai & Vitzthum (2006), Expert Rev Proteomics 3(4): 409; Tuck et al. (2009) J Proteome Res. 8(1): 113; Vaught et al. (2011), J Natl Cancer Inst Monogr 42: 1; Yang et al. Anal. Chem. 85, 2606; Yin et al. (2013), Clinical Chemistry 59(5): 833). 예를 들어, 대사물 프로파일링에 사용된 샘플에서, 바이오마커 확인 및 검증의 잠재력은 샘플 메타볼로스를 방해하는 분석전 혼동 요인에 의해 감소될 수 있으며, 불균형한 체계적 편향, 증가된 가변성, 불규칙 효과 및 재현불가능한 결과로 이어질 수 있다. 따라서, 대사물 프로파일링 또는 다른 분석 또는 진단 방법에 대한 품질 및 적합성을 보증하기 위해 생물학적 물질의 품질을 평가하는 것이 결정적이다. 구체적으로, 관련성의 혼동 요인은 혈액, 혈장 또는 혈청 샘플 가공 및 저장의 증가된 시간 및 온도, 원심분리 프로토콜, 동결 프로토콜 및 다른 분석전 단계의 효과이다.

[0003] 바이오뱅크를 위한 품질 보증 및 품질 관리를 위한 다양한 표준, 예를 들어 ISO 9001, ISO 가이드 34, ISO 17025 등 (예를 들어 문헌 [Carter 2011, Biopreservation and Biobanking 9(2): 157-163; Elliott 2008, Int J Epidemiology 37: 234-244] 참조)이 있다. 현재, 생물학적 물질의 품질을 평가하기 위해, 샘플 내의 생화학적 표준 파라미터, 예컨대 핵산 함량 및 완전성, 응고 활성의 존재, 또는 세포 조성, 세포 완전성 및 세포의 수가 결정된다. 그러나, 이러한 표준 파라미터의 평가는 샘플의 모든 용도에 적합하지는 않을 것이고, 비용-집약적일 수 있다.

[0004] 프로테옴 분석을 위한 샘플의 품질을 보증하는 단백질 바이오마커의 보고가 있다 (예를 들어, W02012/170669 참조). 더욱이, 인큐베이션이 혈장 및 혈청 샘플의 메타볼로스 조성에 영향을 주는 것으로 보고되었다 (Liu et al. 2010, Anal Biochem 406: 105-115; Fliniaux et al. 2011, Journal of Biomolecular NMR 51(4): 457-465; Boyanton 2002, Clinical Chemistry 48(12): 2242-2247; Bernini et al. 2011, Journal of Biomolecular NMR 49: 231-243).

[0005] 그러나, 생물학적 물질의 품질을 평가하기 위한 표준은 매우 요구됨에도 불구하고 아직 이용가능하지 않다.

[0006] 본 발명의 기저를 이루는 기술적 문제는 상기 언급된 필요성에 따르는 수단 및 방법의 제공으로 볼 수 있다. 기술적 문제는 하기 청구범위 및 본원에서 특징화된 실시양태에 의해 해결된다.

## 발명의 내용

- [0007] 따라서, 본 발명은
- [0008] a) 혈액 생성물 샘플에서 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커의 값을 결정하는 단계;
- [0009] b) 단계 a)에서 결정된 값을 대응 참조값과 비교하는 단계; 및
- [0010] c) 상기 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 단계
- [0011] 를 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법에 관한 것이다.
- [0012] 본 발명의 방법은 바람직하게는 시험관내 방법이고; 따라서, 방법은, 바람직하게는 생체외에서 수행되는, 즉 인간 또는 동물 신체 상에서는 실시되지 않는 방법이다. 더욱이, 본 발명의 방법은 상기에 명백하게 언급된 단계 이외에 추가의 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 추가의 단계는, 예를 들어 단계 a)의 경우 2개 이상의 바이오마커에 대한 샘플내 비를 계산하는 단계, 또는 단계 c) 전이나 단계 c)에서 품질에 대한 추가의 지표자를 수득하는 단계에 관한 것일 수 있다. 본 발명의 방법은, 바람직하게는 자동화에 의해 보조된다. 예를 들어, 샘플 가공 또는 전처리는 로봇공학에 의해 자동화될 수 있다. 데이터 처리 및 비교는, 바람직하게는 적합한 컴퓨터 프로그램 및 데이터베이스에 의해 보조된다. 본원 상기에 기재된 바와 같은 자동화는 본 발명의 방법을 고 처리량 접근법으로 사용할 수 있게 한다. 바람직하게는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법은 상기 적어도 1개의 패널의 마커 중 적어도 1개, 바람직하게는 모두에 대한 외부 및/또는 내부 표준을 결정하는 단계를 추가로 포함한다. 용어 "외부 표준" 및 "내부 표준"은 통상의 기술자에게 공지되어 있다.
- [0013] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 하기 단계들 중 1개 이상을 추가로 포함한다: i) 상기 혈액 생성물 샘플을 본 발명의 적어도 1개의 바이오마커와 특이적으로 상호작용하는 작용제와 접촉시키고, 상기 바이오마커와, 상기 바이오마커와 특이적으로 상호작용하는 상기 작용제 사이에 형성된 복합체의 양을 결정하는 단계; ii) 상기 혈액 생성물 샘플을 본 발명의 상기 적어도 1개의 바이오마커와 특이적으로 반응하는 효소와 접촉시키고, 상기 효소에 의해 상기 바이오마커로부터 형성된 생성물의 양을 결정하는 단계; iii) 상기 혈액 생성물 샘플을 적어도 1개의 바이오마커의 화학 구조를 변형시키는 작용제와 접촉시켜, 바람직하게는 상기 바이오마커의 비-자연 발생 유도체를 형성시키고, 상기 유도체를 검출하는 단계; iv) 불충분한 품질로 평가되는 경우에 상기 혈액 생성물 샘플을 폐기하는 단계; 및 v) 불충분한 품질로 평가되는 경우에 추가의 사용에서 상기 혈액 생성물 샘플을 배제시키는 단계.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] 본원에 사용된 용어 "품질"은 본 발명의 샘플의 특성이 의도된 용도로 사용가능한지 또는 그렇지 않은지에 관한 것이다. 본 발명의 샘플에 대한 의도된 용도는 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 샘플의 임의의 진단, 치료, 비-진단 또는 비-치료 용도를 포함한다. 바람직하게는, 의도된 용도는 비-치료 용도이고; 보다 바람직하게는, 의도된 용도는 비-치료 및 비-진단 용도이다. 바람직하게는, 의도된 용도는 시험관내 용도이다. 보다 바람직하게는, 의도된 용도는 분석적 및/또는 실험적 용도이다. 본 발명의 샘플의 바람직한 분석적 및/또는 실험적 용도는 게놈 분석에서, 트랜스크립톰 분석에서 또는 프로테오믹스 분석에서의 용도이다. 본 발명의 샘플의 보다 바람직한 분석적 및/또는 실험적 용도는 푸도믹스 분석에서 또는 리피도믹스 분석에서의 용도이다. 본 발명의 샘플의 가장 바람직한 분석적 및/또는 실험적 용도는 대사체학에서 및/또는 바람직하게는 임상 화학, 약동학적 연구, 약역학적 연구 및/또는 분자 진단학을 비롯한 적어도 1개의 임상적으로 관련된 파라미터를 결정하는데 있어서의 용도이다. 바람직한 실시양태에서, 의도된 용도는 프로테오믹스 분석에서의 용도이다.
- [0015] 따라서, 용어 "충분한 품질"은 본 발명의 샘플의 특성이 샘플 가공에 의해 동요되지 않는 측정 값을 제공한다는 것, 즉 바람직하게는 의도된 용도에 관련된 대사물 또는 대사물들을 본질적으로 그것이 새로이 취한 샘플에서 발견된 것과 같은 농도로 함유한다는 것에 관한 것이다. 보다 바람직하게는, 충분한 품질은 의도된 용도에 관련된 대사물 또는 대사물들을 본질적으로 그것이 표준 프로토콜에 따라 가공된 샘플에서 발견된 것과 같은 농도로 함유한다는 특성이다. 충분한 품질을 갖는 샘플은 적절한 분석을 가능하게 하는데, 이는 바람직하게는 조성이 대사물의 양뿐만 아니라 대사물의 화학적 성질에 관하여 변경되지 않기 때문이다. 바람직하게는, 혈액 생성물 샘플 가공을 위한 표준 프로토콜은 혈액 샘플을 실온에서 채혈하는 것; 상기 혈액 샘플을 원심분리기 내 18℃ 내지 22℃의 제어된 온도에서 60분 이내에, 바람직하게는 10분 내지 15분 동안 원심분리하여 혈액 세포를 제거하는 것; 원심분리의 상청액 (혈장)을 새로운 용기로 옮기는 것 및 상기 혈장을 높게는 -80℃에서 낮게는 1년 동안 저장하는 것을 포함한다. 보다 더 바람직하게는, 충분한 품질은 본 발명의 샘플의 특성이 혼동 요인 (i)

정맥절개술 (혈액의 채혈)과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 장기적 시간, (ii) 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 부적합한 온도, (iii) 장기적 혈장 저장 시간, 및 (iv) 혈장 저장 동안 증가된 온도 중 어느 것에 의해 야기된 변화에 의해 영향을 받지 않는다는 것에 관한 것이다. 대사물의 상이한 부류 및 또한 이들 부류 중 한 부류 내의 상이한 구성원은 샘플 내에서 시간 및 온도에 따라 변화하는 경향에 있어서 상이하다는 것을 통상의 기술자는 이해한다. 예를 들어, 단백질은 일반적으로 RNA보다 더 안정하고; IgG와 같은 단백질은 일반적으로 펩티드 호르몬 또는 시토키닌보다 더 안정할 것이다.

[0016] 통상의 기술자가 이해하는 바와 같이, 혈액은 냉각에 대해 감수성인데, 이는 혈소판이 냉각에 의해 활성화되고 이것이 이들 샘플로부터 유래된 대응 혈장의 메타볼롬 및 프로테옴 및 다른 생체분자를 변화시킬 것이기 때문이다. 따라서, 의도된 적용에 따라, 혈액의 냉각은 불리할 수 있고, 혈액 가공 온도의 한정은 연구군에서, 예를 들어 불균형을 피하기 위한 다기관 연구에서 중요하다. 혈액 세포가 혈장으로부터 제거되자마자, 냉각은 샘플에 대한 효소적 및/또는 화학-산화적 분석전 효과를 최소화하기 위해 유리하다. 바람직한 샘플 제조 프로토콜은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 단백질체학의 경우 문헌 [Rai & Vitzthum (loc. cit.)]에서 검토된 프로토콜을 비롯하여, 예를 들어 본원 상기에 인용된 참고문헌에 기재되어 있다. 상기로부터, 바람직한 체계는 표준 프로토콜이 의도된 용도에 따라 달라질 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0017] 바람직한 실시양태에서, 의도된 용도는 대사체학에서 및/또는 적어도 1개의 바이오마커를 결정하는데 있어서의 본 발명의 샘플의 용도이고, 충분한 품질은 메타볼롬 조성의 적절한 분석을 가능하게 하는 샘플의 구성에 관한 것이다. 보다 바람직한 실시양태에서, 의도된 용도는 대사체학에서 및/또는 적어도 1개의 바이오마커를 결정하는데 있어서의 샘플의 용도이고, 충분한 품질은 본 발명의 샘플의 특성이 혼동 요인 (i) 정맥절개술과 혈액 세포 제거의 개시 사이에 60분 초과 시간, (ii) 정맥절개술과 혈액 세포 제거의 개시 사이에 또는 혈액 세포 제거 동안에 부적합한 온도, (iii) 5°C 초과 온도에서 30분 초과 동안 혈장의 저장, 및 (iv) -80°C 이상의 온도에서 1년 초과 동안 혈장의 저장 중 어느 하나에 의해 야기된 변화에 의해 영향을 받지 않는다는 것에 관한 것이다. 혈장의 저장의 경우, 아레니우스(Arrhenius) 방정식의 근사치는 다른 저장 온도 및 저장 시간에 적용된다.

[0018] 반대로, 용어 "불충분한 품질"은 본 발명의 샘플의 특성이 샘플 가공에 의해 동요되는 측정 값을 제공한다는 것, 즉 바람직한 체계는 의도된 용도에 관련된 대사물 또는 대사물들을 본질적으로 그것이 새로이 취한 샘플에서 발견된 것과 같은 농도로 함유하지 않는다는 것에 관한 것이다. 보다 바람직한 체계는, 불충분한 품질은 의도된 용도에 관련된 대사물 또는 대사물들을, 본원 상기에 기재된 바와 같은 표준 프로토콜에 따라 가공된 샘플에서 발견된 농도로부터 벗어나는, 바람직한 체계는 유의하게 벗어나는 농도로 함유한다는 특성이다. 불충분한 품질을 갖는 샘플은 부적절한 분석을 야기할 수 있는데, 이는 대사물 조성이 대사물의 양뿐만 아니라 대사물의 화학적 성질에 관하여 변경되기 때문이다. 불충분한 품질은, 바람직한 체계는 대사물의 분해 및/또는 상기 대사물의 화학적 변경에 의해 야기될 수 있다. 보다 더 바람직한 체계는, 불충분한 품질은 본 발명의 샘플의 특성이 혼동 요인 (i) 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 장기적 시간, (ii) 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 부적합한 온도, (iii) 장기적 혈장 저장 시간, 및 (iv) 혈장 저장 동안 증가된 온도 중 적어도 하나에 의해 야기된 변화에 의해 영향을 받는다는 것에 관한 것이다. 바람직한 실시양태에서, 의도된 용도는 대사체학에서 및/또는 적어도 1개의 바이오마커를 결정하는데 있어서의 본 발명의 샘플의 용도이고, 불충분한 품질은 메타볼롬 조성의 적절한 분석을 가능하게 하지 않는 샘플의 구성에 관한 것이다. 보다 바람직한 실시양태에서, 의도된 용도는 대사체학에서 및/또는 적어도 1개의 바이오마커를 결정하는데 있어서의 본 발명의 샘플의 용도이고, 불충분한 품질은 본 발명의 샘플의 특성이 혼동 요인 (i) 정맥절개술과 혈액 세포 제거의 개시 사이에 60분 초과 시간, (ii) 정맥절개술과 혈액 세포 제거의 개시 사이에 또는 혈액 세포 제거 동안에 부적합한 온도, (iii) 5°C 초과 온도에서 30분 초과 동안 혈장의 저장, 및 (iv) -80°C 이상의 온도에서 1년 초과 동안 혈장의 저장 중 적어도 하나에 의해 야기된 변화에 의해 영향을 받는다는 것에 관한 것이다.

[0019] 본원에 사용된 용어 "평가하는"은 혈액 생성물 샘플의 불충분한 품질과 충분한 품질 사이를 구별하는 것에 관한 것이다. 바람직한 체계는, 평가하는은 본원 다른 부분에 기재된 바와 같은 임의의 혼동 요인이 샘플에 영향을 주는 경우를 배제시키는 것에 관한 것이고, 즉 바람직한 체계는 평가하는은 샘플을 의도된 용도에 대해 허용가능한 것으로, 즉 충분한 품질을 갖는 것으로 분류하거나, 또는 허용가능하지 않은 것으로, 즉 불충분한 품질을 갖는 것으로 분류하는 것에 관한 것이다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 평가하는은 추가로, 샘플이 혈액 가공 관련 혼동 요인, 즉 바람직한 체계는 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 장기적 시간 또는 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 증가된 온도에 의해 영향을 받았는지의 여부, 또는 상기 샘플이 혈장 가공 및/또는 저장 관련 혼동 요인, 즉 바람직한 체계는 장기적 혈장 저장 시간 또는 혈장 저장 동안 증가된



온도에 의해 영향을 받았는지의 여부를 구별하는 것을 포함한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자가 이해하는 바와 같이, 이러한 평가는, 비록 조사된 샘플의 100%에 대해 정확한 것이 바람직하긴 하지만 통상적으로 그렇지 않을 수 있다. 그러나, 상기 용어는 샘플의 통계적으로 유의한 부분이 정확하게 평가될 수 있을 것을 요구한다. 한 부분이 통계적으로 유의한지의 여부는 관련 기술분야의 통상의 기술자가 다양한 널리 공지된 통계적 평가 도구, 예를 들어 신뢰 구간의 결정, p-값 결정, 스튜던츠 t-검정(Student's t-test), 만-휘트니 검정(Mann-Whitney test) 등을 사용하여 추가의 어려움 없이 결정할 수 있다. 세부사항은 문헌 [Dowdy and Wearden, Statistics for Research, John Wiley & Sons, New York 1983]에서 찾아볼 수 있다. 바람직한 신뢰 구간은 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%이다. p-값은, 바람직하게는 0.2, 0.1 또는 0.05이다.

[0020] 바람직하게는, 평가하는은 2개 초과와 품질 부류, 예를 들어 3개의 품질 부류인 고품질, 중간 품질 및 저품질에 따라 샘플을 분류하는 것을 포함한다. 보다 바람직하게는, 본원에 기재된 임의의 방법에 따른 샘플의 분류는 심지어 각 샘플에 적용된 가공 조건에 대한 보다 정확한 추정을 포함할 수 있고 (또는 유발할 수 있고); 예를 들어, 바람직하게는 혈액 가공 관련 혼동요인에 관하여, "고품질"은 혈액 채혈 후 2시간의 기간 이내의 샘플의 원심분리로 설명될 수 있고; "중간 품질"은 혈액 채혈 후 2시간 내지 6시간의 기간 이내의 샘플의 원심분리로 설명될 수 있고; "저품질"은 혈액 채혈 또는 샘플에 대한 혈소판 활성화의 영향 후 6시간 초과와 샘플의 원심분리로 설명될 수 있다. 혈장 가공 관련 혼동요인에 관하여, "고품질"은 실온에서 원심분리 및 실험실 벤치 가공 시간 후 6시간 이하의 기간 이내의 샘플의 가공으로 설명될 수 있고; "중간 품질"은 원심분리 후 6시간 내지 24시간의 기간 이내의 샘플의 가공으로 설명될 수 있고; "저품질"은 원심분리 후 24시간 초과와 기간 이내의 샘플의 가공으로 설명될 수 있다. 바람직하게는, 샘플의 분류는 본원 하기에 명시된 바와 같은 품질 점수를 결정하는 것을 포함한다.

[0021] 바람직하게는, 샘플의 수치 품질 평가 (품질 점수)가 요구되는 경우에, 패널의 마커의 값은 미리-규정된 컷오프와의 비교에 의해 카테고리화되고, 바람직하게는 이를 단일 값으로 합한 다음, 예를 들어 1 내지 100으로 척도화한다.

[0022] 보다 바람직하게는, 대사물은 그의 중요성에 따라 가중된다.

[0023] 가장 바람직하게는, 패널의 마커의 개별 수치 값은 다변량 모델, 예를 들어 로지스틱 회귀 모델을 사용함으로써 합산 값으로 바뀐다.

[0024] 더욱이, 상기 나타난 바와 같이, 수치 품질 평가 (품질 점수)는 바람직하게는 (i) 혈액 가공 관련 혼동요인 (혈액 채혈 (정맥절개술)과, 예를 들어 혈액 튜브의 원심분리에 의한 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 시간 및 온도) 및 (ii) 혈장 가공 관련 혼동요인 (동결 또는 액체 혈장의 단기 및 장기 저장의 시간 및 온도)에 대해 개별적으로 계산된다. 혈액- 또는 혈장 가공 관련 혼동요인에 대한 마커 할당은 바람직하게는 표 3에 따라 수행된다.

[0025] 본원에 사용된 용어 "마커"는 본 명세서에 언급된 바와 같은 품질에 대한 지표자로서의 역할을 하는 임의의 화학적 또는 수학적 개체에 관한 것이다. 바람직하게는, 마커는 본원 하기에 명시된 바와 같은 바이오마커, 즉 바람직하게는 상기 바이오마커의 존재 또는 부재이고; 보다 바람직하게는, 마커는 샘플 중 바이오마커의 절대 또는 바람직하게는 상대 농도, 또는 그로부터 임의의 표준 수학적 계산으로 유래된 값이다. 따라서, 마커는, 바람직하게는 본 발명의 적어도 2개의 바이오마커의 농도의 샘플내 비이다.

[0026] 용어 "마커 패널" 및 "패널"은 본 발명의 표 1 및 2 중 하나에서 패널로서 확인된 특정 마커 조합 중 하나에 관한 것이다. 바람직하게는, 패널은 적어도 3개의 마커를 포함하며, 그 중 적어도 1개의 마커는 혈액 가공 관련 혼동 요인에 관련된 불충분한 품질을 나타내는데 적합하고, 그 중 적어도 제2 마커는 혈장 가공 관련 혼동 요인에 관련된 불충분한 품질을 나타내는데 적합하다.

[0027] 본원에 사용된 용어 "바이오마커"는 본 명세서에 언급된 바와 같은 품질에 대한 지표자로서의 역할을 하는 화학 분자를 지칭한다. 바람직하게는, 상기 화학 분자는 대상체의 샘플에서 발견된 대사물 자체이다. 더욱이, 바이오마커는 상기 대사물로부터 유래된 분자 중일 수도 있다. 이러한 경우에, 실제 대사물은 샘플 내에서 또는 결정 과정 동안에 화학적으로 변형될 것이고, 상기 변형의 결과로서, 화학적으로 상이한 분자 중, 즉 분석물이 결정된 분자 중일 것이다. 이러한 경우에, 분석물은 실제 대사물을 나타내고, 품질에 대한 지표자와 동일한 잠재력을 갖는 것으로 이해된다. 더욱이, 본 발명에 따른 바이오마커는 반드시 하나의 분자 중에 대응하는 것은 아니다. 오히려, 바이오마커는 화합물의 입체이성질체 또는 거울상이성질체를 포함할 수 있다. 따라서, 예를 들



어 바이오마커 글리세롤-3-포스페이트는 바람직하게는 그의 입체이성질체 글리세롤-1-포스페이트를 포함한다. 추가로, 바이오마커는 또한 한 생물학적 부류의 이성질체 분자들의 이성질체의 합계를 나타낼 수 있다. 상기 이성질체는 바람직하게는 일부 경우에 동일한 분석적 특징을 나타낼 것이고, 따라서 하기 기재된 첨부된 실시예에서 적용된 것들을 비롯한 다양한 분석 방법에 의해 구별가능하지 않다. 그러나, 이성질체는 적어도 동일한 합계 식 파라미터를 공유할 것이고, 따라서, 예를 들어 지질의 경우에, 지방산 및/또는 스펙고 염기 모이어티에서의 동일한 쇠 길이 및 동일한 수의 이중 결합을 공유할 것이다. 극성 바이오마커는, 바람직하게는 하기 실시예에 기재된 바와 같으며 본 명세서 다른 부분에 언급된 기술에 의해 수득될 수 있다. 지질 바이오마커는 본 발명에 따라, 바람직하게는 본 명세서 다른 부분에 기재된 바와 같이, 특히, 예를 들어 하기 실시예에 기재된 바와 같이 샘플을 단백질을 침전 후 에탄올과 디클로로메탄의 혼합물에 의해 수성 극성 및 유기 지질 상으로 분리하는 것에 의해 지질 분획으로서 수득될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 바이오마커는 고체상 추출 (SPE)을 사용하여 샘플로부터 농축될 수 있다. 또한, 샘플에 적어도 부분적으로 외인성으로 첨가된 화학적 화합물, 예를 들어 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA) 또는 시트레이트의 존재 또는 부재 또는 바람직하게는 농도, 또는 그로부터 수학적으로 유래된 값이 본 발명의 바이오마커로서 포함된다.

[0028] 본원에 사용된 용어 "매트릭스 체크"는 항응고제의 유형 또는 그의 부재를 확인하는 것에 관한 것이다. 바람직하게는, 매트릭스 체크는 샘플이 항응고제로서 EDTA, 시트레이트 또는 헤파린을 포함하는지 아니면 항응고제를 포함하지 않는지를 결정하는 것이다. 보다 바람직하게는, 매트릭스 체크는 샘플 유형이 EDTA 혈장 샘플, 시트레이트 혈장 샘플, 헤파린 혈장 샘플 또는 혈청 샘플인지를 확인하는 것이다. 따라서, 바람직하게는, 매트릭스 체크는 샘플에 존재하는 항응고제가 상기 샘플에 존재하도록 의도된 항응고제에 일치하는지를 검증하는 것이다.

[0029] 본원에 사용된 용어 "대사물"은 특정 대사물의 적어도 1개의 분자 내지 상기 특정 대사물의 복수개의 분자에 관한 것이다. 추가로, 대사물의 군은 각각의 대사물에 대해 적어도 1개의 분자 내지 복수개의 분자가 존재할 수 있는 복수개의 화학적으로 상이한 분자를 의미하는 것으로 이해된다. 본 발명에 따른 대사물은 유기체와 같은 생물학적 물질에 포함되는 것을 비롯한 모든 부류의 유기 또는 무기 화학적 화합물을 포괄한다. 따라서, 바람직하게는, 대사물은 생물학적 거대분자, 예를 들어 바람직하게는, DNA, RNA, 단백질 또는 그의 단편이다. 보다 바람직하게는, 본 발명에 따른 대사물은 소분자 화합물이다. 보다 바람직하게는, 복수개의 대사물이 고려되는 경우에, 상기 복수개의 대사물은 메타볼롬, 즉 특정 시간 및 특정 조건 하에서의 유기체, 기관, 조직, 체액 또는 세포에 포함되는 대사물의 수집물을 나타낸다. 명세서에서 언급된 특정 바이오마커 이외에도, 바람직하게는, 다른 바이오마커 및/또는 지표자가 본 발명의 방법에서 또한 결정될 수 있다. 이러한 바이오마커는 펩티드 또는 폴리펩티드 바이오마커, 예를 들어 W02012/170669, 문헌 [Liu et al. 2010, Anal Biochem 406: 105-115, 또는 Fliniaux et al. 2011, Journal of Biomolecular NMR 51(4): 457-465]에 언급된 것을 포함할 수 있다.

[0030] 본 발명에 따른 방법에서, 적어도 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커의 값이 결정된다. 바람직한 실시양태에서, 적어도 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b, 8\_b, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 3\_m, 6\_m, 10\_m, 15\_m, 16\_m, 17\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m의 적어도 마커의 값이 결정된다.

[0031] 바람직하게는, 적어도 표 1의 패널 2\_b의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 효소적 방법에 의해 결정될 수 있거나; 또는 적어도 표 1의 패널 4\_a의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 에이코사노이드에 초점을 맞추면서 SPE와 LC 및 질량 분광측정법과의 조합에 의해, 특히 SPE-LC-MS/MS 방법으로 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 1의 패널 5\_a 또는 5\_b의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 LC와 질량 분광측정법과의 조합에 의해, 특히 LC-MS/MS에 의해 지질 분획으로부터 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 1의 패널 6\_a의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 LC와 질량 분광측정법과의 조합에 의해, 특히 LC-MS/MS에 의해 극성 분획으로부터 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 1의 패널 7a 또는 7b - 특히 패널 7\_a - 의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 스펙고이드에 초점을 맞추면서 SPE와 LC 및 질량 분광측정법과의 조합에 의해, 특히 SPE-UPLC-MS/MS 방법으로 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 1의 패널 12\_a의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 지질 분획으로부터 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 1의 패널 14\_a 또는 14\_b의 마커가 혈장 (동결 또는 액체)의 단기 및 장기 저장의 시간 및 온도 관련 혼동요인에 초점을 맞추면서 결정되거나; 또는 바람직하게는, 적어도 표 1의 패널 1\_a, 10\_a, 11\_a, 13\_a, 13\_b, 15\_a, 16\_a, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 20\_b, 3\_a 또는 3\_b의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 GC 및 질량 분광측정법의 조합에 의해, 특히 GC-MS로 극성 분획으로부터 분석될 수 있거나; 또는 바람직하게는, 적어도 표 1의 패널 1\_a, 10\_a, 11\_a, 13\_a, 13\_b, 15\_a, 16\_a, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 20\_b, 3\_a 또는 3\_b의 마커

가 결정되며, 이는 바람직하게는 LC 및 질량 분광측정법의 조합에 의해, 특히 LC-MS/MS로 극성 분석으로부터 분석될 수 있다. 가장 바람직하게는, 적어도 표 1의 패널 3\_a, 3\_b, 10\_a, 11\_a, 13\_a, 13\_b, 15\_a, 16\_a, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b 또는 20\_b 중 적어도 1개의 마커의 값이 본 발명의 방법에서 결정된다.

[0032]

<표 1> 본 발명의 마커 패널; 패널 번호, 그 안에 포함된 마커 및 불충분한 품질을 나타내는 변화의 방향이 나타나 있다.

패널 번호	마커	방향
3_a	오르니틴	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글리세레이트	상향
13_a	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글리세레이트	상향
	하이포크산틴	상향
15_a	오르니틴	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	하이포크산틴	상향
16_a	오르니틴	상향

[0033]

	글리세레이트	상향
	하이포크산틴	상향
1_a	오르니틴	상향
	아르기닌	하향
	하이포크산틴	상향
1_b	오르니틴	상향
	아르기닌	하향
	하이포크산틴	상향
	스핑가디에닌-1-포스페이트 (d18:2)	상향
10_a	오르니틴	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글리세레이트	상향
	하이포크산틴	상향
11_a	글리세레이트	상향
	하이포크산틴	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
12_a	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-9-OOH)	상향
	스핑고신 (d18:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향
13_b	글루타민	하향
	글루타메이트	상향
	하이포크산틴	상향
14_a	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글리세레이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
14_b	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향
17_b	오르니틴	상향
	하이포크산틴	상향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
18_b	아르기닌	하향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	트레온산	상향
	하이포크산틴	상향
19_a	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글리세레이트	상향
	하이포크산틴	상향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
19_b	글리세레이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향

[0034]

2_b	글루타민	하향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트	상향
	하이포크산틴	상향
20_b	글리세롤-3-포스페이트	상향
	트레온산	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
3_b	오르니틴	상향
	하이포크산틴	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
4_a	15-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,11,13]4)	상향
	5-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:트랜스[6]시스[8,11,14]4) (5-HETE)	상향
	12-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,10,14]4)	하향
5_a	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C18:0,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C18:3-OOH)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-9-OOH)	상향
5_b	리소포스파티딜콜린 (C18:1)	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C18:0,C18:2-OOH)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-9-OOH)	상향
6_a	아르기닌	하향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
7_a	스핑고신 (d16:1)	하향
	스핑가디에닌 (d18:2)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d16:1)	상향
	스핑가디에닌-1-포스페이트 (d18:2)	상향
7_b	스핑가디에닌 (d18:2)	하향
	스핑고신 (d18:1)	하향
	스핑가디에닌-1-포스페이트 (d18:2)	상향
	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향
8_b	글리세레이트	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1-OOH)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-13-OOH)	상향

[0035]

[0036]

보다 바람직하게는, 적어도 바이오마커 (i) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴; (ii) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 하이포크산틴; (iii) 글리세롤-3-포스페이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; 또는 (iv) 글리세레이트, 오르니틴 및 하이포크산틴의 양이 본 발명의 방법에서 결정된다. 바이오마커의 양을 결정한 후에 그로부터 추가의 마커의 값을 계산하는 것이 이어질 수 있다는 것이 통상의 기술자에 의해 이해되며; 예를 들어, 바람직하게는 결정된 오르니틴의 양은 마커로서의 오르니틴/아르기닌 샘플내 비를 계산하는데 사용될 수 있다.

[0037]

보다 더 바람직하게는, 적어도 표 2의 적어도 1개의 패널의 적어도 마커의 값이 결정된다. 표 1의 패널은 표 2에 나타난 패널의 하위-패널이고; 하위-패널의 넘버링은 그것이 유래된 표 2의 패널을 나타낸다. 따라서, X=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20인 하위-패널 X\_a 및/또는 X\_b는 표 2의 패널 X로부터 유래된 것이다. 그러나, 하위-패널이 표 2의 추가의 패널에 또한 포함된 마커를 포함할 수 있는 것으로 이해된다.

[0038]

바람직하게는, 적어도 표 2의 패널 1의 마커가 정맥절개술과 세포로부터의 혈장의 분리 사이의 시간 및 온도 관련 혼동요인에 초점을 맞추면서 결정되거나; 또는 적어도 표 2의 패널 2의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 효소적 방법에 의해 결정될 수 있거나; 또는 적어도 표 2의 패널 4의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 에이코사노이드에 초점을 맞추면서 SPE와 LC 및 질량 분광측정법과의 조합에 의해, 특히 SPE-LC-MS/MS 방법에 의해 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 2의 패널 5의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 LC와 질량 분광측정법과의 조합에 의해, 특히 LC-MS/MS로 지질 분획으로부터 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 2의 패널 6의 마커가

결정되며, 이는 바람직하게는 LC와 질량 분광측정법과의 조합에 의해, 특히 LC-MS/MS로 극성 분획으로부터 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 2의 패널 7의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 스펙고이드에 초점을 맞추면서 SPE와 LC 및 질량 분광측정법과의 조합에 의해, 특히 SPE-UPLC-MS/MS 방법으로 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 2의 패널 8의 마커가 동결 혈장의 장기 저장의 시간 및 온도 관련 혼동요인에 초점을 맞추면서 결정되거나; 또는 적어도 표 2의 패널 12의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 지질 분획으로부터 분석될 수 있거나; 또는 적어도 표 2의 패널 14의 마커가 혈장 (동결 또는 액체)의 단기 및 장기 저장의 시간 및 온도 관련 혼동요인에 초점을 맞추면서 결정되거나, 또는 바람직하게는, 적어도 표 2의 패널 3, 15, 16, 18, 19 또는 20의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 GC 및 질량 분광측정법의 조합에 의해, 특히 GC-MS로 극성 분획으로부터 분석될 수 있거나; 또는 바람직하게는, 적어도 표 2의 패널 3, 15, 16, 18, 19 또는 20의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 LC 및 질량 분광측정법의 조합에 의해, 특히 LC-MS/MS로 극성 분획으로부터 분석될 수 있다. 가장 바람직하게는, 적어도 표 2의 패널 3, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 중 적어도 1개의 마커의 값이 본 발명의 방법에서 결정된다.

[0039] <표 2> 본 발명의 추가로 개선된 마커 패널; 패널 번호, 그 안에 포함된 마커 및 불충분한 품질을 나타내는 변화의 방향이 나타나 있다.

패널 번호	마커	방향
1	하이포크산틴	상향
	오르니틴	상향
	아르기닌	하향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향

[0040]

2	리보스	상향
	스핑고신 (d18:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향
	글루코스	하향
	락테이트	상향
	스핑고신 (d16:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d16:1)	상향
	타우린	하향
	12-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,10,14]4)	하향
	락테이트/글루코스 샘플내 비	상향
	시트룰린	상향
	12-히드록시헵타데카트리엔산(C17:[5,8,10]3)	하향
	13-히드록시옥타데카디엔산 (13-HODE) (C18:시스[9]트랜스[11]2)	상향
	5-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:트랜스[6]시스[8,11,14]4) (5-HETE)	상향
	9-히드록시옥타데카디엔산 (9-HODE) (C18:트랜스[10]시스[12]2)	상향
	글루코스-6-포스페이트	상향
	펜토스	상향
	세로토닌 (5-HT)	하향
	스핑가디에닌 (d18:2)	하향
	스핑가디에닌-1-포스페이트 (d18:2)	상향
	스핑고신-1-포스페이트 (d17:1)	상향
	트롬복산 B2	하향
	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	시스테인	하향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향
3	스핑고신 (d18:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-9-OOH)	상향
	스핑고신 (d16:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d16:1)	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C18:0,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C18:3-OOH)	상향
	글리세레이트	상향

[0041]



	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	시스테인	하향
	트레온산	상향
	아르기닌	하향
	아스파라긴	하향
	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
	리보스	상향
	시스틴	하향
	글루코스	하향
	락테이트	상향
	타우린	하향
	락테이트/글루코스 샘플내 비	상향
	시트룰린	상향
	말토스	상향
	알라닌	상향
	말토트리오스	상향
	요산	상향
4	12-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,10,14]4)	하향
	15-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,11,13]4)	상향
	12-히드록시헵타데카트리엔산(C17:[5,8,10]3)	상향
	13-히드록시옥타데카디엔산 (13-HODE) (C18:시스[9]트랜스[11]2)	상향
	5-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:트랜스[6]시스[8,11,14]4) (5-HETE)	상향
	9-히드록시옥타데카디엔산 (9-HODE) (C18:트랜스[10]시스[12]2)	상향
	트롬복산 B2	상향
	11-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,12,14]4)	상향
	8,9-디히드록시에이코사트리엔산 (C20:시스[5,11,14]3)	상향
	8-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:트랜스[5]시스[9,11,14]4) (8-HETE)	상향
	프로스타글란딘 D2	상향
	프로스타글란딘 E2	상향
5	콜레스테롤에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-9-OOH)	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C18:0,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C18:3-OOH)	상향

[0042]

	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C20:4-OOH)	상향
	리소포스파티딜콜린 (C18:0)	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1-OOH)	상향
	세라미드 (d18:1,C24:0)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-13-OOH)	상향
	리소포스파티딜콜린 (C17:0)	상향
	리소포스파티딜콜린 (C18:1)	상향
	리소포스파티딜콜린 (C20:4)	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C20:4-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:2,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C18:1,18:2,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C18:1,C18:1,C18:3-OOH)	상향
6	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	아르기닌	하향
	아스파라긴	하향
	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향
	글루코스-6-포스페이트	상향
	펜토스	상향
	크레아티닌	상향
7	스핑고신 (d18:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향
	스핑고신 (d16:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d16:1)	상향
	스핑가디에닌 (d18:2)	하향
	스핑가디에닌-1-포스페이트 (d18:2)	상향
	스핑고신-1-포스페이트 (d17:1)	상향
8	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	시스테인	하향
	트레온산	상향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향
	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-9-OOH)	상향
	시스틴	하향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C18:0,C18:2-OOH)	상향

[0043]

	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C18:3-OOH)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C20:4-OOH)	상향
	리소포스파티딜콜린 (C18:0)	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1-OOH)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-13-OOH)	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C20:4-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:2,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C18:1,18:2,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C18:1,C18:1,C18:3-OOH)	상향
10	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	시스테인	하향
	트레온산	상향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	아르기닌	하향
	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향
	아스파라긴	하향
	리보스	상향
	시스틴	하향
	글루코스	하향
	락테이트	상향
	타우린	하향
	시트룰린	상향
	말토스	상향
11	글리세레이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	시스테인	하향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	스핑고신 (d18:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-9-OOH)	상향
12	스핑고신 (d18:1)	하향

[0044]

	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-9-OOH)	상향
	스핑고신 (d16:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d16:1)	상향
	12-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,10,14]4)	하향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C18:0,C18:2-OOH)	상향
	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C18:3-OOH)	상향
	15-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,11,13]4)	상향
13	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	시스테인	하향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향
14	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	시스테인	하향
	트레온산	상향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향
	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향
	시스틴	하향
	리소포스파티딜콜린 (C18:0)	상향
	3,4-디히드록시페닐알라닌 (DOPA)	하향
	알라닌	상향
	세라미드 (d18:1,C24:0)	상향
	리소포스파티딜콜린 (C17:0)	상향
	리소포스파티딜콜린 (C18:1)	상향
	리소포스파티딜콜린 (C20:4)	상향
	아드레날린 (에피네프린)	하향
	노르아드레날린 (노르에피네프린)	하향
15	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향

[0045]

	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	아르기닌	하향
	아스파라긴	하향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
	리보스	상향
	글루코스	하향
	락테이트	상향
	타우린	하향
16	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	시스테인	하향
	트레온산	상향
	아르기닌	하향
	아스파라긴	하향
	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
	리보스	상향
	시스틴	하향
	글루코스	하향
	락테이트	상향
	타우린	하향
	락테이트/글루코스 샘플내 비	상향
	말토스	상향
17	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향
	아스파라긴	하향

[0046]

	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
	리보스	상향
	스핑고신 (d18:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향
	스핑고신 (d16:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d16:1)	상향
	12-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,10,14]4)	하향
	락테이트/글루코스 샘플내 비	상향
	15-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,11,13]4)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C20:4-OOH)	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1-OOH)	상향
	3,4-디히드록시페닐알라닌 (DOPA)	하향
	세로토닌 (5-HT)	하향
18	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	오르니틴	상향
	트레온산	상향
	아르기닌	하향
19	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	트레온산	상향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
20	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	오르니틴	상향
	트레온산	상향

[0047]

[0048]

바람직한 실시양태에서, 표 1 또는 2의 적어도 1개의 패널의 마커 이외에도, 바이오마커 아스파르테이트, 시트레이트 및 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA) 중 적어도 1개, 보다 바람직하게는 적어도 2개, 가장 바람직하게는 모든 3개 (모든 3개의 조합은 또한 "패널 번호 9"로 지칭됨)가, 바람직하게는 본원 상기에 명시된 바와 같은 매트릭스 체크에 의해 결정된다. 바람직하게는, 샘플 중 EDTA의 존재는 EDTA가 항응고제로서 사용되었다는 것을 나타내고, 한편 시트레이트의 증가된 양은 시트레이트가 항응고제로서 사용되었다는 것을 나타낸다. 더욱이, 아스파르테이트의 증가는 어떠한 응고 억제제도 사용되지 않았다는 것을 나타낸다. 따라서, 바이오마커 아스파르테이트, 시트레이트 및 EDTA는 샘플이 수집 튜브 선택 관련 요인에 의해 손상되었는지의 여부를 구별할 수 있게 한다. 따라서, 바람직하게는, EDTA 혈장이 참조물질로서 사용된 경우에 변화의 각 방향이 EDTA 하향 및/또는 시트레이트 상향 및/또는 아스파르테이트 상향이면, 여기서 바람직하게는, 상기 방향의 변화는 상기 샘플이 EDTA 샘플이 아니라는 것을 나타낸다.

[0049]

따라서, 바람직한 실시양태에서, 적어도 표 1의 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b 또는 8\_b의 마커는 패널 9의 마커와 조합되어 결정된다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 적어도 표 2의 패널 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20의 마커는 패널 9의 마커와 조합되어 결정된다. 보다 바람직한 실시양태에서, 적어도 표 2a의 패널 6\_m 또는 17\_m의 마커는 패널 9의 마커와 조합되어 결정된다. 보다 더 바람직한 실시양태에서, 참조물질은 항응고제로서 EDTA를 포함하는 샘플이고, 보다 바람직하게는 참조물질은 EDTA 혈장이고, 바람직하게는 적어도 표 2a의 패널 3\_m, 10\_m, 16\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m 중 적어도 1개의 마커는 본 발명의 방법에서 결정된다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 바람직하게는 LC-MS/MS에 의해 극성 분획으로부터 분석될 수 있는, 적어도 표 2a의 패널 6\_m의 마커가 결정되거나; 또는 적어도 표 2a의 패널 15\_m의 마커가 결정되거나; 또는 최고 성능 (AUC-값)을 갖는, 적어도 표 2a의 패널 17\_m의 마커가 본 발명의 방법에서 결정된다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 적어도 표 2a의 패널 3\_m, 15\_m, 16\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 GC 및 질량 분광측정법의 조합에 의해, 특히 GC-MS로 극성 분획으로부터



터 분석될 수 있거나; 또는 바람직하게는, 적어도 표 2a의 패널 3\_m, 15\_m, 16\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m의 마커가 결정되며, 이는 바람직하게는 LC 및 질량 분광측정법의 조합에 의해, 특히 LC-MS/MS로 극성 분획으로부터 분석될 수 있다.

[0050] <표 2a> "매트릭스 체크" 마커 (패널 9에 따른 매트릭스 체크 마커)를 추가로 포함하는 본 발명의 추가의 개선된 마커 패널; 패널 번호, 그 안에 포함된 마커 및 불충분한 품질을 나타내는 변화의 방향이 나타나 있다.

패널 번호	마커	방향
3_m	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	아스파르테이트	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	시트레이트	상향
	시스테인	하향

[0051]

	에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)	하향
	트레온산	상향
	아르기닌	하향
	아스파라긴	하향
	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
	리보스	상향
	시스틴	하향
	글루코스	하향
	락테이트	상향
	타우린	하향
	락테이트/글루코스 샘플내 비	상향
	시트룰린	상향
	말토스	상향
	알라닌	상향
	말토트리오스	상향
6_m	요산	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	아스파르테이트	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	시트레이트	상향
	아르기닌	하향
	아스파라긴	하향
	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향
	글루코스-6-포스페이트	상향
10_m	펜토스	상향
	크레아티닌	상향
	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	아스파르테이트	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	시트레이트	상향
	시스테인	하향
	에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)	하향
	트레온산	상향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	아르기닌	하향

[0052]

	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향
	아스파라긴	하향
	리보스	상향
	시스틴	하향
	글루코스	하향
	락테이트	상향
	타우린	하향
	시트룰린	상향
	말토스	상향
15_m	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	아스파르테이트	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	시트레이트	상향
	에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)	하향
	아르기닌	하향
	아스파라긴	하향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
	리보스	상향
	글루코스	하향
	락테이트	상향
	타우린	하향
16_m	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	아스파르테이트	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	시트레이트	상향
	시스테인	하향
	에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)	하향
	트레온산	상향
	아르기닌	하향
	아스파라긴	하향
	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향

[0053]

	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
	리보스	상향
	시스틴	하향
	글루코스	하향
	락테이트	상향
	타우린	하향
	락테이트/글루코스 샘플내 비	상향
17_m	말토스	상향
	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향
	아스파르테이트	상향
	글루타메이트	상향
	글루타민	하향
	오르니틴	상향
	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향
	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향
	아스파라긴	하향
	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
	리보스	상향
	스핑고신 (d18:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향
	스핑고신 (d16:1)	하향
	스핑고신-1-포스페이트 (d16:1)	상향
	12-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,10,14]4)	하향
	락테이트/글루코스 샘플내 비	상향
	15-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,11,13]4)	상향
	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C20:4-OOH)	상향
	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1-OOH)	상향
	3,4-디히드록시페닐알라닌 (DOPA)	하향
	세로토닌 (5-HT)	하향
18_m	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	아스파르테이트	상향
	오르니틴	상향
	시트레이트	상향
	에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)	하향
	트레온산	상향

[0054]

	아르기닌	하향
19_m	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	아스파르테이트	상향
	시트레이트	상향
	에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)	하향
	트레온산	상향
	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향
20_m	글리세레이트	상향
	글리세롤-3-포스페이트	상향
	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향
	하이포크산틴	상향
	아스파르테이트	상향
	오르니틴	상향
	시트레이트	상향
	에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)	하향
	트레온산	상향

[0055]

[0056]

본원에 사용된 용어 "샘플"은 생물학적 물질 및 특히 본원 상기에 나타난 바와 같은 바이오마커를 포함하는 샘플을 지칭한다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 샘플은 체액, 바람직하게는 혈액, 유액, 타액 또는 소변으로부터의 샘플, 또는 예를 들어 생검에 의해 세포, 조직 또는 기관으로부터 유래된 샘플이다. 보다 바람직하게는, 샘플은 혈액 또는 혈액 생성물, 가장 바람직하게는 혈장 샘플이다. 상기 언급된 샘플은 본원 다른 부분에 명시된 바와 같은 대상체로부터 유래될 수 있다. 상기 언급된 상이한 유형의 생물학적 샘플을 획득하기 위한 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 혈액 샘플은 채혈에 의해 획득될 수 있으며, 조직 또는 기관 샘플은, 예를 들어 생검에 의해 획득된다. 바람직하게는, 샘플은 전혈, 혈청 또는 혈장 샘플이다. 바람직한 실시양태에서, 샘플은 혈장 샘플, 바람직하게는 시트레이트 혈장 샘플 또는 EDTA 혈장 샘플이다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 샘플은 혈청 샘플이다.

[0057]

상기 언급된 샘플은, 바람직하게는 본 발명의 방법을 위해 사용되기 전에 전처리된다. 하기에 보다 상세히 기재된 바와 같이, 상기 전처리는 화합물을 방출 또는 분리하거나 잉여 물질 또는 폐기물을 제거하기 위해 요구되는 처리를 포함할 수 있다. 게다가, 전처리는 샘플을 멸균하고/거나 원하지 않는 세포, 박테리아 또는 바이러스와 같은 오염물을 제거하는 것을 목표로 할 수 있다. 적합한 기술은 원심분리, 추출, 분획화, 한외여과, 및 단백질 침전에 이은 화합물의 여과 및 정제 및/또는 농축을 포함한다. 더욱이, 화합물 분석에 적합한 형태 또는 농도로 화합물을 제공하기 위해, 바람직하게는 다른 전처리가 수행된다. 예를 들어, 기체-크로마토그래피 커플링된 질량 분광측정법이 본 발명의 방법에서 사용되는 경우에, 상기 기체 크로마토그래피 전에 화합물을 유도체화하는 것이 요구될 수 있다. 적합하고 필수적인 전처리는 또한 본 발명의 방법을 수행하는데 사용된 수단에 좌우되고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다. 바람직한 실시양태에서, 바람직하게는 수용액 중 완충제 화합물이 샘플에 첨가된다. 완충제 화합물, 특히 중성 완충제 화합물은 원칙적으로 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 샘플에 포함된 단백질은, 바람직하게는 적절한 유기 용매의 첨가에 의해 침전된다. 단백질을 침전시키기 위한 적절한 유기 용매는 관련 기술분야에 공지되어 있다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 적어도 1종의 상-분리 작용제가 첨가되어, 바람직하게는 샘플 원심분리에 의한 극성 상 및 친지성 상의 분리를 가능하게 한다. 상기 기재된 바와 같은 전처리된 샘플도 본 발명에 따라 사용되는 용어 "샘플"에 또한 포함된다.

[0058]

바람직한 실시양태에서, 극성 및 친지성 상은 상기 언급된 단계에 따라 샘플로부터 획득된다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 마커의 값은 극성 상으로부터 또는 친지성 상으로부터 결정된다. 통상의 기술자는 주어진 마커가 극성 상에 포함되는지 친지성 상에 포함되는지를 확실하게 위해 파라미터를 조정하는 방법을 알고 있다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 적어도 2개 또는 적어도 3개의 마커의 값은 극성 상으로부터 또는 친지성 상으로부터 결정된다. 바람직한 실시양태에서, 패널의 모든 마커의 값은 극성 상으로부터 결정된다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 패널의 모든 마커의 값은 친지성 상으로부터 결정된다.

[0059]

바람직한 실시양태에서, 샘플에 포함된 패널의 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 마커는 실시예 및 본원 다른 부분에 명시된 바와 같이 유도체화된다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 샘플에 포함된 패널의 모든

마커는 실시예 및 본원 다른 부분에 명시된 바와 같이 유도체화된다. 바람직한 실시양태에서, 극성 상에 포함된 마커는 메톡심화 및 실릴화, 바람직하게는 트리메틸실릴화에 의해 유도체화된다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 친지성 상에 포함된 마커는 메틸교환, 메톡심화 및 실릴화, 바람직하게는 트리메틸실릴화에 의해 유도체화된다.

[0060] 추가의 바람직한 실시양태에서, 샘플에 포함된 패널의 적어도 1개, 적어도 2개 또는 적어도 3개의 마커는 유도체화되지 않는다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 샘플에 포함된 패널의 어떠한 마커도 유도체화되지 않는다.

[0061] 본 발명에 따라 언급된 샘플은 바람직하게는 대상체로부터 유래된다. 본원에 사용된 용어 "대상체"는 동물, 바람직하게는 포유동물에 관한 것이다. 보다 바람직하게는, 대상체는, 예를 들어 바람직하게는 마우스, 래트, 염소, 양, 돼지, 말, 당나귀, 개, 고양이, 기니 피그 또는 영장류를 비롯한 농장, 실험실 또는 반려 동물이다. 가장 바람직하게는, 대상체는 인간이다. 대상체는, 바람직하게는 질환 또는 의학적 병태를 앓고 있는 것으로 의심되거나 그렇지 않거나, 또는 질환 또는 의학적 병태를 발생시킬 위험이 있거나 그렇지 않다.

[0062] 용어 "값"은 통상의 기술자에 의해 이해되고, 본 발명의 바이오마커 중 적어도 1개의 농도를 측정하는 것에 기초하여 임의의 측정된 또는 계산된 파라미터에 관한 것이다. 바람직하게는, 값은 바이오마커의 절대 또는 상대 농도, 또는 적어도 2개의 바이오마커의 농도의 비, 바람직하게는 적어도 2개의 바이오마커의 샘플내 비이다.

[0063] 따라서, 용어 "값을 결정하는"은, 바람직하게는 본 발명의 마커의 값을 결정하는 것에 관한 것이다. 바람직하게는, 값을 결정하는은 바이오마커의 적어도 1개의 농도 값으로부터 유래된 계산된 값을 결정하거나, 또는 값을 결정하는은 본원 하기에 명시된 바와 같이 바이오마커의 양을 결정하는 것이다. 본원에 사용된 용어 "양을 결정하는"은, 샘플에서 본 발명의 방법에 의해 결정될 바이오마커의 적어도 1개의 특징적 특색을 결정하는 것에 관한 것이다. 본 발명에 따른 특징적 특색은 마커의 생화학적 특성을 비롯한 화학적 및/또는 물리적 특성을 특징으로 하는 특색이다. 이러한 특성은, 예를 들어 분자량, 점도, 밀도, 전하, 스핀, 광학 활성, 색상, 형광, 화학발광, 원소 조성, 화학 구조, 다른 화합물과 반응하는 능력, 생물학적 관독 시스템에서 반응을 도출해내는 능력 (예를 들어, 리포터 유전자의 유도) 등을 포함한다. 상기 특성에 대한 값은 특징적 특색으로서의 역할을 할 수 있고, 관련 기술분야에 널리 공지된 기술에 의해 결정될 수 있다. 더욱이, 특징적 특색은, 표준 작업, 예를 들어 수학적 계산, 예컨대 곱셈, 나눗셈 또는 대수 미적분학에 의해 바이오마커의 물리적 및/또는 화학적 특성에 대한 값으로부터 유래되는 임의의 특색일 수 있다. 가장 바람직하게는, 적어도 1개의 특징적 특색에 의해 상기 적어도 1개의 마커 및 그의 양의 결정 및/또는 화학적 확인이 가능해진다. 따라서, 특징적 값은, 바람직하게는 특징적 값이 유래되는 바이오마커의 존재비에 관한 정보를 또한 포함한다. 예를 들어, 바이오마커의 특징적 값은 질량 스펙트럼에서의 피크일 수 있다. 이러한 피크는 바이오마커의 특징적 정보, 즉  $m/z$  정보뿐만 아니라 샘플에서의 상기 바이오마커의 존재비 (즉, 그의 양)에 관련된 강도 값도 함유한다.

[0064] 바람직한 실시양태에서, 특징적 특색에 대한 값은 계산된 값 또는 합산 값, 예컨대 본원 다른 부분에 제시된 바와 같은 "엘라스틱 네트(elastic net)"와 같은 분류 알고리즘의 점수일 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 방법의 마커의 양에 기초하여 점수, 특히 단일 점수를 계산하고, 이 점수를 참조 점수와 비교하는 것이 고려된다. 바람직하게는, 합산 값 ("점수")은 혈액 생성물로부터의 샘플 중 마커의 양에 기초한다. 예를 들어, 패널 3\_a의 바이오마커의 양이 결정되면, 계산된 점수는 샘플 중 오르니틴, 글리세롤-3-포스페이트 및 글리세레이트의 양에 기초한다. 바람직한 실시양태에서, 계산된 점수는 마커의 양에 대한 정보를 함한다. 바람직하게는, 점수에서, 마커는 결과의 확립에 대한 그의 기여도에 따라 가중된다. 본 발명의 방법에 적용된 마커의 조합에 기초하여, 개별 바이오마커의 가중치는 상이할 수 있다. 점수는, 바람직하게는 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한 분류자 파라미터로 간주될 수 있다. 보다 바람직하게는, 참조 점수와 비교에 기초하여 단일 점수에 기초한 평가를 가능하게 한다. 참조 점수는, 바람직하게는 혈액 생성물의 충분한 품질과 불충분한 품질 사이를 구별할 수 있게 하는 값, 특히 컷오프 값이다. 바람직하게는, 참조값은 단일 값이고; 따라서, 작업하는 사람은 개별 마커의 양에 대한 전체 정보를 해석할 필요가 없다. 바람직하게는, 본원에 기재된 바와 같은 점수화 시스템을 사용하여, 유리하게는, 바이오마커에 대한 상이한 치수 또는 단위의 값은 그 값이 점수로 수학적으로 변환될 것이기 때문에 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 방법의 단계 b)에 제시된 바와 같은 마커의 양의 참조값과의 비교는 b1) 단계 a)에 언급된 바와 같은 마커의 결정된 값에 기초하여 점수를 계산하는 단계 및 b2) 그에 따라 계산된 점수를 참조 점수와 비교하는 단계를 포괄한다. 보다 바람직하게는, 로지스틱 회귀 방법이 점수를 계산하는데 사용되고, 가장 바람직하게는 상기 로지스틱 회귀 방법은 엘라스틱 네트 규칙화를 포함한다.

[0065] 추가의 바람직한 실시양태에서, 각각의 마커의 양은 대응 참조값과 비교되며, 여기서 이 비교의 결과는 합산 값



(점수), 특히 단일 점수의 계산에 사용되고, 여기서 상기 점수는 본원 다른 부분에 명시된 바와 같이 참조 점수와 비교된다.

[0066] 바람직한 실시양태에서, 점수는 적합한 점수화 알고리즘에 기초하여 계산된다. 상기 점수화 알고리즘은, 바람직하게는 결정된 마커의 값에 기초하여 혈액 생성물이 충분한 품질을 갖는지 아닌지를 구별할 수 있게 한다. 바람직하게는, 상기 점수화 알고리즘은 공지된 충분한 품질의 샘플에서의 개별 마커의 양 및 공지된 불충분한 품질의 샘플로부터의 개별 마커의 양에 관한 정보를 비교함으로써 이전에 결정되었다. 따라서, 본 발명의 방법의 단계 b)는 또한 단계 b0) 점수화 알고리즘을 결정 또는 실행하는 단계를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 이 단계는 단계 b1) 및 b2) 전에 수행된다. 적합한 점수화 알고리즘은 통상의 기술자가 추가의 어려움 없이 본 발명의 마커로 결정할 수 있다. 예를 들어, 점수화 알고리즘은 충분한 및 불충분한 품질의 수많은 샘플에서의 마커의 양에 관한 정보를 사용하는 수학적 함수일 수 있다. 점수화 알고리즘을 결정하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 마이크로어레이의 유의성 분석(Significance Analysis of Microarray), 트리 하비스팅(Tree Harvesting), CART, MARS, 자기 조직화 지도(Self Organizing Map), 빈발 항목 집합(Frequent Item Set), 베이저안(Bayesian) 네트워크, 마이크로어레이의 예측 분석(Prediction Analysis of Microarray (PAM)), SMO, 단순 로지스틱 회귀(Simple Logistic Regression), 로지스틱 회귀, 다층 퍼셉트론(Multilayer Perceptron), 베이지 넷(Bayes Net), 나이브 베이지(Naive Bayes), 나이브 베이지 심플(Naive Bayes Simple), 나이브 베이지 업(Naive Bayes Up), IB1, Ibk, K스타(Kstar), LWL, 아다부스트(AdaBoost), 클래스비 아리게이션(ClassViaRegression), 데코레이트(Decorate), 다중부류 분류자(Multiclass Classifier), 랜덤 커미티(Random Committee), j48, LMT, NB트리(NBTree), 파트(Part), 랜덤 포레스트(Random Forest), 서수 분류자(Ordinal Classifier), 희박 선형 프로그래밍(Sparse Linear Programming (SPLP)), 희박 로지스틱 회귀(Sparse Logistic Regression (SPLR)), 엘라스틱 넷(Elastic net), 서포트 벡터 머신(Support Vector Machine), 잔류 오차 제곱의 합계의 예측(Prediction of Residual Error Sum of Squares (PRESS)), 벌점 로지스틱 회귀(Penalized Logistic Regression), 상호 정보(Mutual Information)를 포함한다. 전형적으로, 분류 알고리즘, 예컨대 엘라스틱 넷 방법을 실행하는 것이 점수화에 사용될 수 있다 (Zou 2005, Journal of the Royal Statistical Society, Series B: 301-320, Friedman 2010, J. Stat. Soc. 33). 따라서, 혈액 생성물에 대한 점수는, 바람직하게는, 예를 들어 R 패키지 glmnet에서 실행되는 것과 같은 엘라스틱 넷 알고리즘을 사용함으로써 피팅된 로지스틱 회귀 모델로 계산될 수 있다.

[0067] 바람직한 실시양태에서, 참조 합산 값 ("참조 점수")은 공지된 불충분한 품질의 혈액 생성물로부터의 샘플로부터 얻는다. 이러한 경우에, 참조 점수와 본질적으로 동일한 샘플의 점수는 불충분한 품질을 나타낸다. 더욱이, 참조 점수는, 바람직하게는 공지된 충분한 품질의 혈액 생성물로부터의 샘플로부터의 것일 수도 있다. 이러한 경우에, 참조 점수에 대하여 변경된 시험 샘플의 점수는 불충분한 품질을 나타낸다. 대안적으로, 상기 참조 점수와 본질적으로 동일한 샘플의 점수는 충분한 품질을 나타낸다.

[0068] 본 발명 (예를 들어 방법, 장치, 용도 등)의 바람직한 실시양태에서, 참조 점수는 컷오프 값, 바람직하게는 단일 컷오프 값이다. 바람직하게는, 상기 값에 의해 혈액 생성물을 충분한 품질의 혈액 생성물 군 또는 불충분한 품질의 혈액 생성물 군으로 할당할 수 있다. 본 발명 (예를 들어 방법, 장치, 용도 등)의 또 다른 바람직한 실시양태에서, 참조 점수는 참조 점수 범위이다. 이와 관련하여, 충분한 품질을 나타내는 참조 점수 범위, 불충분한 품질을 나타내는 참조 점수 범위, 또는 2개의 참조 점수 범위 (즉, 충분한 품질을 나타내는 참조 점수 범위 및 불충분한 품질을 나타내는 참조 점수 범위)가 적용될 수 있다.

[0069] 상기에 논의된 바와 같이, 샘플에 포함된 각각의 바이오마커는, 바람직하게는 본 발명에 따라 정량적으로 또는 반-정량적으로 결정될 수 있다. 정량적 결정의 경우에, 바이오마커의 절대량 또는 정확한 양이 결정되거나, 또는 바이오마커의 상대량이 본원 상기에 언급된 특징적 특색(들)에 대해 결정된 값에 기초하여 결정될 것이다. 바이오마커의 정확한 양이 결정될 수 없거나 결정되지 않는 경우에는 상대량이 결정될 수 있다. 상기 경우에, 존재하는 바이오마커의 양이 상기 바이오마커를 제2 양으로 포함하는 제2 샘플에 비해 증가되는지 또는 감소되는지가 결정될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 상기 바이오마커를 포함하는 상기 제2 샘플은 본원 다른 부분에 명시된 바와 같은 계산된 참조값일 것이다. 따라서, 바이오마커를 정량적으로 분석하는 것은 또한, 때때로 바이오마커의 반-정량적 분석으로 지칭되는 것을 포함한다.

[0070] 더욱이, 본 발명의 방법에 사용된 결정하는은, 바람직하게는 상기 언급된 분석 단계 전에 화합물 분리 단계를 사용하는 것을 포함한다. 바람직하게는, 상기 화합물 분리 단계는 샘플에 포함된 대사물의 시간 및/또는 공간 분해 분리를 가져온다. 따라서, 본 발명에 따라 바람직하게 사용되는 분리에 적합한 기술은 모든 크로마토그래피 분리 기술, 예컨대 액체 크로마토그래피 (LC), 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC), 기체 크로마토그래피

(GC), 박층 크로마토그래피, 크기 배제 또는 친화성 크로마토그래피를 포함한다. 이들 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 통상의 기술자가 추가의 어려움 없이 적용할 수 있다. 가장 바람직하게는, LC 및/또는 GC가 본 발명의 방법에 의해 고려되는 크로마토그래피 기술이다. 바이오마커의 이러한 결정에 적합한 장치는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 바람직하게는, 질량 분광측정법, 특히 기체 크로마토그래피 질량 분광측정법 (GC-MS), 액체 크로마토그래피 질량 분광측정법 (LC-MS), 직접 주입 질량 분광측정법 또는 푸리에(Fourier) 변환 이온-사이클로트론-공명 질량 분광측정법 (FT-ICR-MS), 모세관 전기영동 질량 분광측정법 (CE-MS), 고성능 액체 크로마토그래피 커플링된 질량 분광측정법 (HPLC-MS), 초고성능 액체 크로마토그래피 질량 분광측정법 (UPLC-MS), 사중극자 질량 분광측정법, 임의의 순차적으로 커플링된 질량 분광측정법, 예컨대 MS-MS 또는 MS-MS-MS, 유도 결합 플라즈마 질량 분광측정법 (ICP-MS), 열분해 질량 분광측정법 (Py-MS), 이온 이동성 질량 분광측정법 또는 비행 시간 질량 분광측정법 (TOF)이 사용된다. 상기 기술은, 예를 들어 문헌 [Nissen 1995, Journal of Chromatography A, 703: 37-57], US 4,540,884 또는 US 5,397,894에 개시되어 있고, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. 보다 바람직하게는, 본원에 사용된 질량 분광측정법은 사중극자 MS를 포괄한다. 가장 바람직하게는, 상기 사중극자 MS는 하기와 같이 수행된다: a) 질량 분광계의 제1 분석 사중극자에서 이온화에 의해 생성된 이온의 질량/전하 비 ( $m/z$ )의 선택, b) 충돌 기체로 충전되고 충돌 챔버로서 작용하는 추가의 후속 사중극자에서 가속 전압을 인가하는 것에 의해 단계 a)에서 선택된 이온을 단편화, c) 추가의 후속 사중극자에서 단계 b)에서의 단편화 과정에 의해 생성된 이온의 질량/전하 비의 선택 (여기서 방법의 단계 a) 내지 c)를 적어도 1회 수행하고, 이온화 과정의 결과로서 물질의 혼합물에 존재하는 모든 이온의 질량/전하 비를 분석하며, 여기서 사중극자는 충돌 기체로 충전되지만 분석 동안 가속 전압은 인가되지 않음). 본 발명에 따라 사용되는 상기 가장 바람직한 질량 분광측정법의 세부사항은 WO2003/073464에서 찾아볼 수 있다. 질량 분광측정법 기술에 대해 대안적으로 또는 추가로, 하기 기술이 화합물 결정에 사용될 수 있다: 핵 자기 공명 (NMR), 자기 공명 영상화 (MRI), 푸리에 변환 적외선 분석 (FT-IR), 자외선 (UV) 분광분석법, 굴절률 (RI), 형광 검출, 방사화합물질 검출, 전기화학물질 검출, 광 산란 (LS), 분산형 라만(Raman) 분광분석법 또는 화염 이온화 검출 (FID). 이들 기술은 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있고, 추가의 어려움 없이 적용될 수 있다.

[0071]

보다 바람직하게는, 질량 분광측정법은 LC-MS 및/또는 GC-MS, 즉 선행 크로마토그래피 분리 단계에 작동가능하게 연결된 질량 분광측정법이다. 본원에 사용된 액체 크로마토그래피는 액상 또는 초임계상의 화합물 (즉, 대사물)의 분리를 가능하게 하는 모든 기술을 지칭한다. 액체 크로마토그래피는 이동상의 화합물이 고정상을 통과하는 것을 특징으로 한다. 화합물이 상이한 속도로 고정상을 통과하는 경우에, 각각의 개별 화합물이 그의 특정 체류 시간 (즉, 화합물이 시스템을 통과하는데 요구되는 시간)을 갖기 때문에 이들은 머지않아 분리된다. 본원에 사용된 액체 크로마토그래피로는 또한 HPLC를 포함한다. 액체 크로마토그래피용 장치는, 예를 들어 애질런트 테크놀로지스(Agilent Technologies) (미국)로부터 상업적으로 입수가능하다. 본 발명에 따라 적용된 기체 크로마토그래피는 원칙적으로 액체 크로마토그래피와 필적하게 작동한다. 그러나, 고정상을 통과하는 액체 이동상의 화합물 (즉, 대사물)을 갖는 대신에, 화합물은 기체상 부피로 존재할 것이다. 화합물은, 고체 지지 물질을 고정상으로서 함유할 수 있거나 벽이 고정상으로서의 역할을 할 수 있거나 고정상으로 코팅되어 있는 칼럼을 통과한다. 또한, 각각의 화합물은 칼럼을 통과하는데 요구되는 특정 시간을 갖는다. 더욱이, 기체 크로마토그래피의 경우에, 바람직하게는 기체 크로마토그래피 전에 화합물을 유도체화하는 것이 고려된다. 유도체화를 위한 적합한 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 유도체화는, 바람직하게는 극성 화합물의 메톡시화 및 실릴화, 보다 바람직하게는 트리메틸실릴화, 및 바람직하게는 비극성 (즉, 친지성) 화합물의 메틸교환, 메톡시화 및 실릴화, 보다 바람직하게는 트리메틸실릴화에 관한 것이다.

[0072]

더욱이, 적어도 1개의 바이오마커는 또한 특정 화학적 또는 생물학적 검정에 의해 결정될 수 있다. 상기 검정은 샘플에서 적어도 1개의 바이오마커를 특이적으로 검출할 수 있는 수단을 포함할 것이다. 바람직하게는, 상기 수단은 바이오마커의 화학 구조를 특이적으로 인식할 수 있거나, 또는 바이오마커를 다른 화합물과 반응하는 그의 능력 또는 생물학적 관독 시스템에서의 반응을 도출해내는 그의 능력 (예를 들어, 리포터 유전자의 유도)에 기초하여 특이적으로 확인할 수 있다. 바이오마커의 화학 구조를 특이적으로 인식할 수 있는 수단은, 바람직하게는 항체, 또는 화학 구조와 특이적으로 상호작용하는 다른 단백질, 예컨대 수용체 또는 효소이다. 특이적 항체는, 예를 들어 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 바이오마커를 항원으로서 사용하여 획득될 수 있다. 본원에 언급된 항체는 항원 또는 항원에 결합할 수 있는 폴리클로날 항체 및 모노클로날 항체 둘 다뿐만 아니라 이들의 단편, 예컨대 Fv, Fab 및 F(ab)2 단편을 포함한다. 본 발명은 또한 목적하는 항원-특이성을 나타내는 비-인간 공여자 항체의 아미노산 서열이 인간 수용자 항체의 서열과 조합된 인간화 혼성 항체를 포함한다. 더욱이, 단일쇄 항체도 포괄한다. 공여자 서열은 통상적으로 적어도 공여자의 항원-결합 아미노산 잔기를 포함할 것이지만 공여자 항체의 다른 구조적으로 및/또는 기능적으로 관련된 아미노산 잔기도 또한 포함할

수 있다. 이러한 혼성체는 관련 기술분야에 널리 공지된 여러 방법에 의해 제조될 수 있다. 바이오마커를 특이적으로 인식할 수 있는 적합한 단백질은, 바람직하게는 상기 바이오마커의 대사물 전환에 관여하는 효소이다. 상기 효소는 기질로서 바이오마커를 사용할 수 있거나 또는 기질을 바이오마커로 전환시킬 수 있다. 더욱이, 상기 항체는 바이오마커를 특이적으로 인식하는 올리고펩티드를 생성하기 위한 기초로서 사용될 수 있다. 이들 올리고펩티드는, 예를 들어 상기 바이오마커에 대한 효소 결합 도메인 또는 포켓을 포함할 것이다. 적합한 항체 및/또는 효소 기반 검정은 RIA (방사선면역검정), ELISA (효소-연결 면역흡착 검정), 샌드위치 효소 면역 시험, 전기화학발광 샌드위치 면역검정 (ECLIA), 해리-증진 란타나이드 플루오로 면역 검정 (DELFI) 또는 고체 상 면역 시험일 수 있다. 더욱이, 바이오마커는 또한 다른 화합물과 반응하는 그의 능력에 기초하여, 즉 특정 화학 반응에 의해 결정될 수 있다. 추가로, 바이오마커는 생물학적 관독 시스템에서의 반응을 도출해내는 그의 능력으로 인해 샘플에서 결정될 수 있다. 생물학적 반응은 샘플에 포함된 바이오마커의 존재 및/또는 양을 나타내는 관독정보로서 검출될 것이다. 생물학적 반응은, 예를 들어 유전자 발현의 유도, 또는 세포 또는 유기체의 표현형 반응일 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 적어도 1개의 바이오마커의 결정은, 예를 들어 샘플 중 적어도 1개의 바이오마커의 양의 결정을 또한 가능하게 하는 정량적 과정이다.

[0073] 본원에 사용된 용어 "참조값"은 공지된 품질의 샘플에서 또는 복수개의 샘플에서 본 발명의 마커의 특징적 특색의 값 또는 값의 범위를 지칭한다. 바람직하게는, 참조값은 마커에 대한 역치 값 (예를 들어, 양 또는 양의 비)이며, 여기서 상기 역치는 특징적 특색에 대한 가능한 값의 범위를 제1 및 제2 부분으로 나눈다. 이들 부분 중 하나는 불충분한 품질과 연관되고, 한편 다른 하나는 충분한 품질과 연관된다. 역치 값 자체는 또한 충분한 또는 불충분한 품질과 연관될 수 있다. 따라서, 역치가 불충분한 품질과 연관된 경우에, 역치와 본질적으로 동일하거나 불충분한 품질과 연관된 부분에 속하는 조사될 샘플에서 찾아낸 값은 샘플의 불충분한 품질을 표시한다. 역치가 충분한 품질과 연관된 경우에, 역치와 본질적으로 동일하거나 충분한 품질과 연관된 부분에 속하는 조사될 샘플에서 찾아낸 값은 샘플의 충분한 품질을 나타낸다. 따라서, 바람직하게는, 역치 값은 컷오프 값이다. 본원 상기에 상술된 바와 같이, 평가하는 것이 샘플을 2개 부류, 예를 들어 바람직하게는 허용가능한 품질 또는 허용가능하지 않은 품질 중 하나로 분류하는 것에 관한 것인 경우에, 참조값은, 바람직하게는 역치 또는 컷오프 값일 수 있다. 2개 초과 부류로의 분류가 수행되는 경우에, 상기 분류에서는 1개 초과 참조 값이 적절할 수 있으며, 예를 들어, 바람직하게는 3개 부류 사이의 경계를 규정하는데 2개의 참조 값이 사용될 수 있다는 것이 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다.

[0074] 바람직하게는, 참조 값, 예를 들어, 바람직하게는 적어도 1개의 마커의 적어도 1개의 특징적 특색에 대한 값 또는 그의 비가 적합한 데이터 저장 매체, 예컨대 데이터베이스에 저장될 것이고, 따라서 또한 이후의 평가에 이용가능하다. 통상의 기술자가 이해하는 바와 같이, 참조 값으로부터의 예상외로 높은 편차, 예를 들어, 바람직하게는 10배 초과로 높은 편차는 또한, 비-제한적 예로서 샘플의 불완전 회석 또는 장치 기능이상일 수 있는 시스템 오류에 의해 야기될 수 있으며; 통상의 기술자는 이러한 경우에 결과가 카운터체크되어야 한다는 것을 알고 있다.

[0075] 본 발명의 상기 언급된 방법에 따르면, 참조값은, 바람직하게는 공지된 품질의 샘플 또는 복수개의 샘플 (즉, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 10, 50 또는 100개 초과 샘플)로부터 얻은 참조값이다. 적합한 참조 값, 바람직하게는 평균 또는 중앙값을 계산하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 바람직하게는, 참조값은 불충분한 품질인 것으로 공지된 샘플 또는 복수개의 샘플로부터 유래된다. 이러한 경우에, 샘플에서 찾은 마커에 대한 값이 본질적으로 동일한 것은 불충분한 품질을 나타내고, 한편 샘플에서 찾은 마커에 대한 값이 상이한 것은 충분한 품질을 나타낸다. 바람직하게는, 이러한 경우에, 패널의 적어도 x개 마커(들) (여기서 x는 1, 2, ..., (n-1)로 이루어진 목록으로부터 선택되고, n은 상기 패널 중 마커의 수임)가 상기 참조값과 본질적으로 동일한 경우에, 샘플은 불충분한 품질을 갖는 것으로 분류되고; 보다 바람직하게는, 패널의 모든 마커가 상기 참조값과 본질적으로 동일한 경우에, 샘플은 불충분한 품질을 갖는 것으로 분류된다.

[0076] 또한 바람직하게는, 상기 참조값은 충분한 품질인 것으로 공지된 샘플 또는 복수개의 샘플로부터 유래된다. 보다 바람직하게는, 이러한 경우에 샘플 중 마커의 값이 상기 참조값과 본질적으로 동일한 것은 충분한 품질을 나타내고, 한편 그와 상이한 양은 불충분한 품질을 나타낸다. 바람직하게는, 표 1, 표 2 또는 표 2a에 나타난 방향의 변화는 불충분한 품질을 나타낸다. 바람직하게는, 이러한 경우에, 패널의 적어도 x개 마커(들) (여기서 x는 1, 2, ..., (n-1)로 이루어진 목록으로부터 선택되고, n은 상기 패널 중 마커의 수임)가 상기 참조값과 상이한 경우에, 샘플은 불충분한 품질을 갖는 것으로 분류되고; 보다 바람직하게는, 패널의 모든 마커가 상기 참조값과 상이한 경우에, 샘플은 불충분한 품질을 갖는 것으로 분류된다. 바람직하게는, 샘플이 혈액 생성물 샘플인 경우에, 충분한 품질인 것으로 공지된 샘플은 본원 다른 부분에 명시된 바와 같은 표준 프로토콜에 따라 수



득된 샘플이다.

- [0077] 특징적 특색에 대한 값 및 정량적 결정의 경우에는 강도 값 또는 그로부터 계산된 값이 본질적으로 동일한 경우에, 시험 샘플의 적어도 1개의 마커에 대한 값 및 참조 값은 본질적으로 동일하다. 본질적으로 동일하다는 것은 두 값의 차이가 바람직하게는 유의하지 않음을 의미하고, 값이 적어도 참조 값의 1번째 내지 99번째 백분위수, 5번째 내지 95번째 백분위수, 10번째 내지 90번째 백분위수, 20번째 내지 80번째 백분위수, 30번째 내지 70번째 백분위수, 40번째 내지 60번째 백분위수의 간격 내에 있고, 바람직하게는 참조 값의 50번째, 60번째, 70번째, 80번째, 90번째 또는 95번째 백분위수인 것을 특징으로 할 것이다. 두 양이 본질적으로 동일한지의 여부를 결정하기 위한 통계적 시험은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고 또한 본원 다른 부분에 기재되어 있다.
- [0078] 다른 한편으로는, 두 값에 대해 관찰된 차이는 바람직하게는 통계적으로 유의할 것이다. 값에서의 차이는, 바람직하게는 참조 값의 45번째 내지 55번째 백분위수, 40번째 내지 60번째 백분위수, 30번째 내지 70번째 백분위수, 20번째 내지 80번째 백분위수, 10번째 내지 90번째 백분위수, 5번째 내지 95번째 백분위수, 1번째 내지 99번째 백분위수의 간격 외에서 유의하다. 본 명세서의 표에서, 바이오마커에 대한 바람직한 상대 변화는 "방향" 칼럼에서 증가의 경우에는 "상향" 및 감소의 경우에는 "하향"으로 나타나 있다.
- [0079] 용어 "대응 참조값"은 통상의 기술자에 의해 이해되고, 상이한 샘플로부터, 바람직하게는 참조 샘플에서 동일한 마커에 대해 얻어진 값에 관한 것이다. 예를 들어, 바람직하게는 2개 바이오마커의 샘플내 비를 동일한 바이오마커의 참조 샘플내 비와 비교하는 것 및 바이오마커의 상대 농도를 동일한 바이오마커의 참조 상대 농도와 비교하는 것 등이 통상의 기술자에 의해 이해된다.
- [0080] 용어 "비교하는"은 마커의 결정된 값이 참조값과 본질적으로 동일한지 또는 그와 상이한지를 결정하는 것을 지칭한다. 바람직하게는, 마커에 대한 값은, 관찰된 차이가 통계적으로 유의한 경우 (본 명세서 내 다른 부분에 언급된 통계적 기술에 의해 결정될 수 있음)에 참조값과 상이한 것으로 간주된다. 차이가 통계적으로 유의하지 않은 경우에, 바이오마커 값 및 참조값은 본질적으로 동일하다. 상기에 언급된 비교에 기초하여, 샘플의 품질을 평가할 수 있으며, 즉 샘플이 충분한 품질인지 아닌지의 여부를 평가할 수 있다. 비교는, 바람직하게는 자동화에 의해 보조된다. 예를 들어, 2개의 상이한 데이터 세트 (예를 들어, 특징적 특색(들)의 값을 포함하는 데이터 세트)의 비교를 위한 알고리즘을 포함하는 적합한 컴퓨터 프로그램이 사용될 수 있다. 이러한 컴퓨터 프로그램 및 알고리즘은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 상기 내용에도 불구하고, 비교는 수동으로 실시될 수도 있다.
- [0081] 유리하게는, 마커 (패널)의 특정 조합에 의해 샘플이 본원에 명시된 바와 같은 혼동 요인 중 하나에 노출되었는지의 여부를 민감하게 검출할 수 있다는 것이 본 발명의 기저를 이루는 연구에서 밝혀졌다. 놀랍게도, 통계적 분석은 단일 마커로서 사용되었을 때 최고 AUC 값을 보여주는 마커가 이 결정에 가장 적합한 것은 아니라는 것을 제시하였다. 분명하게, 단일 마커로서 보다 낮은 값을 나타내는 마커는 다른 마커와의 상승작용적 효과를 나타내어, 샘플의 품질을 분석하는 놀랍게도 강력한 방법으로 이어진다. 표 1의 패널의 예측 값은 추가의 마커를 포함시킴으로써 추가로 증가될 수 있으며, 표 2 및 표 2a의 최적화된 패널로 이어진다.
- [0082] 상기에 기재된 정의는 필요한 변경을 가하여 하기에 적용한다. 하기에 추가로 기재된 추가의 정의 및 설명은 필요한 변경을 가하여 본 명세서에 기재된 모든 실시양태에 적용한다.
- [0083] 본 발명은 추가로
- [0084] a) 혈액 생성물 샘플에 대한 분석 유닛으로서, 이는 적어도 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커에 대한 적어도 1개의 검출기를 포함하며, 상기 적어도 1개의 검출기는 상기 샘플 중 상기 마커의 양을 결정하는 것인, 상기 분석 유닛; 및 이에 작동가능하게 연결된,
- [0085] b) 데이터 처리 유닛 및 데이터베이스를 포함하는 평가 유닛으로서, 상기 데이터베이스는 저장된 대응 참조 값을 포함하고, 상기 데이터 처리 유닛은 임의로 2개의 바이오마커의 샘플내 비를 계산하는 알고리즘을 유형으로 구현시키고, 분석 유닛에 의해 결정된 마커의 값 또는 평가 유닛에 의해 계산된 값을 상기 저장된 참조 값과 비교하고, 품질의 평가가 확립되는 것에 기초하여 출력 정보를 생성하는 것인, 상기 평가 유닛
- [0086] 을 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한 장치에 관한 것이다.
- [0087] "장치"는 이 용어가 본원에 사용되는 경우에 적어도 상기 언급된 유닛을 포함할 것이다. 장치의 유닛은 서로 작동가능하게 연결되어 있다. 작동 방식으로 수단을 연결하는 방법은 장치 내에 포함되는 유닛의 유형에 좌우될 것이다. 예를 들어, 검출기가 바이오마커의 자동 정성적 또는 정량적 결정을 가능하게 하는 경우에, 상기

자동 작동 분석 유닛에 의해 얻어진 데이터는, 예를 들어 평가 유닛에서의 평가를 용이하게 하기 위해 컴퓨터 프로그램에 의해 처리될 수 있다. 바람직하게는, 이러한 경우 유닛은 단일 장치에 포함된다. 바람직하게는, 장치는 바이오마커에 대한 분석 유닛, 및 출력 정보의 평가 및 확립을 위한 생성 데이터의 처리를 위한 평가 유닛으로서의 컴퓨터 또는 데이터 처리 장치를 포함한다. 바람직하게는, 분석 유닛은 적어도 본 발명에 따른 패널의 마커에 대한 적어도 1개의 검출기, 또는 보다 바람직하게는 (i) 적어도 마커 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴; (ii) 적어도 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 하이포크산틴; (iii) 적어도 글리세롤-3-포스페이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; 또는 (iv) 적어도 글리세레이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; 또는 특히 적어도 마커 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴에 대한 적어도 1개의 검출기를 포함하며; 상기 적어도 1개의 검출기는 상기 샘플 중 상기 마커의 양을 결정한다. 바람직한 장치는 전문 임상치의 특정한 지식 없이 적용될 수 있는 것, 예를 들어 단지 샘플 로딩만이 요구되는 전자 장치이다. 장치의 출력 정보는, 바람직하게는 샘플의 품질에 대한 결론을 도출할 수 있게 하는 수치 값이고, 따라서 진단의 신뢰성 또는 중재를 위한 보조이다. 바람직한 실시양태에서, 장치의 분석 유닛은 적어도 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b, 8\_b, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 3\_m, 6\_m, 10\_m, 15\_m, 16\_m, 17\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m의 마커에 대한 적어도 1개의 검출기를 포함한다.

[0088] 본 발명의 장치에 따라 저장된 참조값으로서 사용될 바람직한 참조값은 불충분한 품질의 샘플 또는 복수개의 샘플로부터 유래되는, 분석될 마커에 대한 값 또는 그로부터 유래된 값이다. 이러한 경우에, 유형으로 구현된 알고리즘은, 바람직하게는 마커에 대해 결정된 값을 참조값과 비교하며, 여기서 동일한 또는 본질적으로 동일한 값은 불충분한 품질의 샘플을 나타낼 것이고, 한편 상이한, 바람직하게는 표 1, 2, 2a 또는 3에 나타난 방향과 반대 방향으로의 변화를 보여주는 값은 충분한 품질의 샘플을 나타낸다.

[0089] 대안적으로, 본 발명의 장치에 따라 저장된 참조값으로서 사용될 다른 바람직한 참조값은 충분한 품질의 샘플 또는 복수개의 샘플로부터 유래되는, 분석될 마커에 대한 값 또는 그로부터 유래된 값이다. 이러한 경우에, 유형으로 구현된 알고리즘은, 바람직하게는 마커에 대해 결정된 값을 참조값과 비교하며, 여기서 동일한 또는 본질적으로 동일한 값은 충분한 품질의 샘플을 나타낼 것이고, 한편 상이한 값은 불충분한 품질의 샘플을 나타낸다.

[0090] 장치의 유닛은, 또한 바람직하게는, 서로 작동가능하게 연결되어 있는 여러 장치를 포함하는 시스템으로 실행될 수 있다. 본 발명의 시스템에 사용될 유닛에 따라, 상기 수단은 각각의 수단을 상기 수단들 사이에서의 데이터 수송을 가능하게 하는 수단, 예를 들어 유리 섬유 케이블, 및 고처리량 데이터 수송을 위한 다른 케이블에 의해 다른 것과 접속시킴으로써 기능적으로 연결될 수 있다. 그럼에도 불구하고, 본 발명에서는 수단들 사이의 무선 데이터 전달 (예를 들어, LAN (무선 LAN, W-LAN)을 통한 것)이 또한 고려된다. 바람직한 시스템은 바이오마커를 결정하기 위한 수단을 포함한다. 본원에 사용된 바이오마커를 결정하기 위한 수단은 바이오마커를 분리하기 위한 수단, 예컨대 크로마토그래피 장치, 및 대사를 결정을 위한 수단, 예컨대 질량 분광측정 장치를 포괄한다. 적합한 장치는 상기에 상세히 기재되었다. 본 발명의 시스템에서 사용될 화합물 분리를 위한 바람직한 수단은 크로마토그래피 장치, 보다 바람직하게는 액체 크로마토그래피, HPLC 및/또는 기체 크로마토그래피용 장치를 포함한다. 화합물 결정을 위한 바람직한 장치는 질량 분광측정 장치, 보다 바람직하게는, GC-MS, LC-MS, 직접 주입 질량 분광측정계, FT-ICR-MS, CE-MS, HPLC-MS, 사중극자 질량 분광측정계, 순차적으로 커플링된 질량 분광측정계 (MS-MS 또는 MS-MS-MS 포함), ICP-MS, Py-MS 또는 TOF를 포함한다. 분리 및 결정 수단은, 바람직하게는 서로 커플링된다. 가장 바람직하게는, LC-MS 및/또는 GC-MS가 본 명세서 내 다른 부분에 상세히 기재된 바와 같이 본 발명의 시스템에서 사용된다. 바이오마커의 결정을 위한 수단으로부터 얻은 결과를 비교 및/또는 분석하기 위한 수단이 추가로 포함될 것이다. 결과를 비교 및/또는 분석하기 위한 수단은 적어도 1개의 데이터베이스 및 측정된 값과 대응 참조값과의 비교를 위한 실행된 컴퓨터 프로그램을 포함할 수 있다. 또한, 상기 언급된 시스템 및 장치의 바람직한 실시양태가 하기에 상세히 기재되어 있다.

[0091] 게다가, 본 발명은 샘플의 충분한 또는 불충분한 품질을 나타내는 적어도 표 1, 표 2 또는 표 2a의 적어도 1개의 패널의 마커의 특징적 값을 포함하는 데이터 수집물에 관한 것이다.

[0092] 용어 "데이터 수집물"은 물리적으로 및/또는 논리적으로 함께 그룹화될 수 있는 데이터의 수집물을 지칭한다. 따라서, 데이터 수집물은 단일 데이터 저장 매체 또는 서로 작동가능하게 연결되어 있는 물리적으로 분리된 데이터 저장 매체로 실행될 수 있다. 바람직하게는, 데이터 수집물은 데이터베이스에 의해 실행된다. 따라서, 본원에 사용된 데이터베이스는 적합한 저장 매체 상의 데이터 수집물을 포함한다. 더욱이, 데이터베이스는, 바람직하게는 데이터베이스 관리 시스템을 추가로 포함한다. 데이터베이스 관리 시스템은, 바람직하게는 네트워

크-기반 계층적 또는 객체-지향적 데이터베이스 관리 시스템이다. 게다가, 데이터베이스는 연방 또는 통합 데이터베이스일 수 있다. 보다 바람직하게는, 데이터베이스는 분포 (연방) 시스템으로서, 예를 들어 클라이언트-서버-시스템(Client-Server-System)으로서 실행될 것이다. 보다 바람직하게는, 데이터베이스는 검색 알고리즘이 시험 데이터 세트와 데이터 수집물에 포함된 데이터 세트를 비교할 수 있게 하도록 구조화된다. 구체적으로, 이러한 알고리즘을 사용함으로써, 데이터베이스는 상기 제시된 바와 같은 샘플 품질을 나타내는 유사한 또는 동일한 데이터 세트에 대해 검색 (예를 들어, 질의 검색)될 수 있다. 따라서, 동일한 또는 유사한 데이터 세트가 데이터 수집물에서 확인될 수 있는 경우에, 시험 데이터 세트는 상기 품질과 연관될 것이다. 결과적으로, 데이터 수집물로부터 얻은 정보는, 예를 들어 상기 기재된 본 발명의 방법에 대한 참조값으로서 사용될 수 있다. 보다 바람직하게는, 데이터 수집물은 상기 언급된 군 중 어느 한 군에 포함된 모든 바이오마커의 특징적 값을 포함한다.

- [0093] 상기 내용에 비추어, 본 발명은 상기 언급된 데이터 수집물을 포함하는 데이터 저장 매체를 포괄한다.
- [0094] 본원에 사용된 용어 "데이터 저장 매체"는 CD, CD-ROM, 하드 디스크, 광학 저장 매체 또는 디스켓과 같은 단일 물리적 개체를 기재로 하는 데이터 저장 매체를 포괄한다. 더욱이, 상기 용어는 상기 언급된 데이터 수집물을 제공하기 위한 방식으로, 바람직하게는 질의 검색에 적합한 방식으로 서로 작동가능하게 연결되어 있는 물리적으로 분리된 개체로 이루어진 데이터 저장 매체를 추가로 포함한다.
- [0095] 본 발명은 또한
- [0096] (a) 샘플의 마커의 특징적 값을 비교하기 위한 수단, 이에 작동가능하게 연결된
- [0097] (b) 본 발명에 따른 데이터 저장 매체
- [0098] 를 포함하는 분석 시스템에 관한 것이다.
- [0099] 본원에 사용된 용어 "분석 시스템"은 서로 작동가능하게 연결되어 있는 상이한 수단에 관한 것이다. 상기 수단은 단일 장치로 실행될 수 있거나, 또는 서로 작동가능하게 연결되어 있는 물리적으로 분리된 장치일 수 있다. 마커의 특징적 값을 비교하기 위한 수단은, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 비교용 알고리즘 또는 점수에 기초한다. 데이터 저장 매체는, 바람직하게는 상기 언급된 데이터 수집물 또는 데이터베이스를 포함하며, 여기서 각각의 저장된 데이터 세트는 상기 언급된 샘플 품질을 나타낸다. 따라서, 본 발명의 분석 시스템은 시험 데이터 세트가 데이터 저장 매체에 저장된 데이터 수집물에 포함되는지의 여부를 확인할 수 있게 한다. 결과적으로, 본 발명의 방법은 본 발명의 분석 시스템에 의해 실행될 수 있다.
- [0100] 분석 시스템의 바람직한 실시양태에서, 샘플의 바이오마커의 특징적 값을 결정하기 위한 수단이 포함된다. 용어 "바이오마커의 특징적 값을 결정하기 위한 수단"은 바람직하게는 대사물의 결정을 위한 상기 언급된 장치, 예컨대 질량 분광측정 장치, NMR 장치 또는 바이오마커에 대한 화학적 또는 생물학적 검정을 수행하기 위한 장치에 관한 것이다.
- [0101] 본 발명은 또한 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한, 적어도 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커, 또는 그에 대한 검출 작용제 또는 검출 시약의 용도에 관한 것이다. 바람직하게는, 상기 패널은 (i) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴; (ii) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 하이포크산틴; (iii) 글리세롤-3-포스페이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; (iv) 글리세레이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; 또는 (v) 글루타민, 글리세롤-3-포스페이트, 글루타메이트 및 하이포크산틴을 포함하고; 특히 상기 패널은 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴을 포함하거나, 또는 상기 패널은 글루타민, 글리세롤-3-포스페이트, 글루타메이트 및 하이포크산틴을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 패널은 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b, 8\_b, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 3\_m, 6\_m, 10\_m, 15\_m, 16\_m, 17\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m이다.
- [0102] 더욱이, 본 발명은 하우징에 포함되는, 적어도 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커에 대한 적어도 1개의 검출 작용제 및/또는 상기 마커에 대한 참조물을 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한 키트에 관한 것이다.
- [0103] 본원에 사용된 용어 "키트"는, 바람직하게는 개별적으로 또는 단일 용기 내에 제공되는 상기 언급된 성분의 수집물을 지칭한다. 용기는 본 발명의 방법을 수행하기 위한 지침서를 또한 포함한다. 이들 지침서는 매뉴얼의 형태일 수 있다. 바람직하게는, 지침서는 품질 평가를 확립하는 방법에 관한 지시서이며, 가장 바람직하게는



사용자가 품질 평가를 확립할 수 있게 하는 지침서를 포함한다. 상기 지침서는, 바람직하게는 본 발명의 방법에서 언급된 비교를 수행할 수 있으며 컴퓨터 또는 데이터 처리 장치 상에서 실행되는 경우에 샘플의 품질을 확립하는 컴퓨터 프로그램 코드에 의해 제공된다. 컴퓨터 프로그램 코드는 데이터 저장 매체 또는 장치, 예컨대 광학 저장 매체 (예를 들어, 콤팩트 디스크) 상에, 또는 컴퓨터 또는 데이터 처리 장치 상에 직접 제공될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 용기는 본 발명의 방법을 수행하기 위한 지침서를 포함하지 않으며; 따라서, 바람직한 실시양태에서, 키트는 바람직하게는 개별적으로 또는 단일 용기 내에 제공되는 상기 언급된 성분의 수집물이다. 추가로, 키트는 상기 본원에 정의된 바와 같은 바이오마커당 참조값에 대한 적어도 1개의 표준, 즉 참조양을 나타내는 적어도 1개의 바이오마커에 대한 미리-규정된 양을 갖는 용액을 포함할 것이다. 이러한 표준은, 예를 들어 충분한 또는 불충분한 품질의 샘플 또는 복수개의 샘플로부터의 바이오마커의 양을 나타낼 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 키트는 적어도 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b, 8\_b, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 3\_m, 6\_m, 10\_m, 15\_m, 16\_m, 17\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m의 마커에 대한 적어도 1개의 검출 작용제를 포함한다.

[0104] 바이오마커에 기초하여 검출 작용제를 제조할 수 있는 방법은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 적어도 1개의 바이오마커에 특이적으로 결합하는 항체 또는 압타머를 제조할 수 있다. 유사하게, 바이오마커 자체는 키트 내에 참조물질로서 사용될 수 있으며, 예를 들어 GCMS에 의해 분석될 때, 예를 들어 복합체 내에 또는 변형되거나 유도체화된 형태로 사용될 수 있다. 마커가 계산된 값인 경우에, 검출 작용제는 바람직하게는 상기 마커의 값을 계산하는데 사용된 바이오마커를 결정하기 위한 검출 작용제의 조합이라는 것이 통상의 기술자에 의해 이해된다.

[0105] 더욱이, 본 발명은

[0106] a) 혈액 생성물 또는 혈액 생성물 샘플의 풀을 제공하는 단계,

[0107] b) 상기 혈액 생성물의 풀의 각각의 구성원의 샘플 또는 상기 혈액 생성물 샘플의 풀의 각각의 구성원에 대해 본 발명의 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법의 단계들을 수행하는 단계, 및

[0108] c) 불충분한 품질로 평가되는 경우에 혈액 생성물 또는 혈액 생성물 샘플을 폐기하고/거나, 불충분한 품질로 평가되는 경우에 혈액 생성물 또는 혈액 생성물 샘플을 추가의 사용에서 배제시키고; 이로써 충분한 품질의 혈액 생성물 또는 혈액 생성물 샘플의 수집물을 제공하는 단계

[0109] 를 포함하는, 충분한 품질의 혈액 생성물 또는 혈액 생성물 샘플의 수집물을 제공하는 방법에 관한 것이다.

[0110] 본 발명의 충분한 품질의 혈액 생성물의 수집물을 제공하는 방법은, 바람직하게는 시험관내 방법이다. 더욱이, 상기에 명백하게 언급된 단계 이외에 추가의 단계를 포함할 수 있다. 더욱이, 상기 단계 중 1개 이상은 자동화 장비에 의해 수행될 수 있다.

[0111] 본 명세서에 인용된 모든 참고문헌은 그의 전체 개시내용 및 본 명세서에 구체적으로 언급된 개시내용에 관하여 본원에 참조로 포함된다.

[0112] 상기 내용에 비추어, 하기 실시양태가 바람직하다:

[0113] 실시양태 1.

[0114] a) 혈액 생성물 샘플에서 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커의 값을 결정하는 단계;

[0115] b) 단계 a)에서 결정된 값을 대응 참조값과 비교하는 단계; 및

[0116] c) 상기 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 단계

[0117] 를 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법.

[0118] 실시양태 2. 실시양태 1에 있어서, 단계 a)에서 마커 (i) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴; (ii) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 하이포크산틴; (iii) 글리세롤-3-포스페이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; 또는 (iv) 글리세레이트, 오르니틴 및 하이포크산틴의 양을 결정하는 것인 방법.

[0119] 실시양태 3. 실시양태 1에 있어서, 단계 a)에서 표 2의 적어도 1개의 패널의 마커의 값을 결정하는 것인 방법.

[0120] 실시양태 4. 실시양태 1 내지 3 중 어느 한 실시양태에 있어서, 단계 a)에서 표 2의 패널 3, 13, 15, 18, 19

또는 20 중 적어도 1개의 마커의 값을 결정하는 것인 방법.

- [0121] 실시양태 5. 실시양태 1 내지 4 중 어느 한 실시양태에 있어서, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 것이 상기 혈액 생성물 샘플이 혼동 요인 (i) 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 장기적 시간, (ii) 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 증가된 온도, (iii) 장기적 혈장 저장 시간, 및 (iv) 혈장 저장 동안 증가된 온도 중 어느 것에 의해 영향을 받지 않는다는 것을 확실하게 하는 것인 방법.
- [0122] 실시양태 6. 실시양태 1 내지 5 중 어느 한 실시양태에 있어서, 불충분한 품질의 혈액 생성물 샘플이 확인되는 경우에, 상기 샘플이 혈액 가공 관련 혼동 요인 또는 혈장 가공 관련 혼동 요인에 의해 손상되었는지의 여부를 구별하는 추가의 단계를 포함하는 방법.
- [0123] 실시양태 7. 실시양태 6에 있어서, 상기 혈액 가공 관련 혼동 요인이 (i) 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 장기적 시간, 및 (ii) 정맥절개술과 혈액 세포로부터의 혈장의 분리 사이에 증가된 온도인 방법.
- [0124] 실시양태 8. 실시양태 6 또는 7에 있어서, 상기 혈장 가공 관련 혼동 요인이 (i) 장기적 혈장 저장 시간, 및 (ii) 혈장 저장 동안 증가된 온도인 방법.
- [0125] 실시양태 9. 실시양태 1 내지 8 중 어느 한 실시양태에 있어서, 단계 a)에서 추가로 마커 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), 시트레이트 및 아스파르테이트의 양을 결정하고, 단계 b)에서 상기 추가의 마커의 양을 대응 참조값과 비교하는 것인 방법.
- [0126] 실시양태 10. 실시양태 9에 있어서, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 것이 상기 샘플이 수집 튜브 선택 관련 요인에 의해 손상되었는지의 여부를 구별하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0127] 실시양태 11. 실시양태 1 내지 10 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 참조 값이 다음 조건: (i) 채혈과 18℃ 내지 22℃ 온도에서의 원심분리 사이에 60분 이내의 혈액 가공, 및 (ii) 5℃ 미만의 온도에서 30분 미만 동안의 혈장 저장, 및 (iii) -80℃ 미만의 온도에서 1년 미만 동안의 혈장 저장에 따라 가공된 샘플에서 마커의 값을 결정함으로써 얻어지는 것인 방법.
- [0128] 실시양태 12. 실시양태 1 내지 11 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 혈액 생성물 샘플이 혈액 샘플 또는 혈장 샘플인 방법.
- [0129] 실시양태 13. 실시양태 1 내지 12 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 마커의 값을 결정하는 것이 상기 마커 중 적어도 1개, 바람직하게는 모두를 효소 또는 효소들과 반응시키는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0130] 실시양태 14. 실시양태 1 내지 12 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 마커의 값을 결정하는 것이 질량 분광 측정법 (MS) 방법을 포함하는 것인 방법.
- [0131] 실시양태 15. 실시양태 1 내지 12 및 14 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 마커의 값을 결정하는 것이 고체 상 추출 (SPE)과 액체 크로마토그래피 (LC) 및 질량 분광측정법 (MS)과의 조합, 바람직하게는 SPE-LC-MS/MS 또는 SPE-초고성능 액체 크로마토그래피 (UPLC)-MS/MS를 포함하는 것인 방법.
- [0132] 실시양태 16. 실시양태 1 내지 12 및 14 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 마커의 값을 결정하는 것이 LC와 질량 분광측정법과의 조합, 바람직하게는 LC-MS/MS를 포함하는 것인 방법.
- [0133] 실시양태 17. 실시양태 1 내지 12 및 14 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 마커의 값을 결정하는 것이 기체 크로마토그래피 (GC)와 질량 분광측정법 (MS)과의 조합, 바람직하게는 GC-MS 또는 GC-MS/MS를 포함하는 것인 방법.
- [0134] 실시양태 18. 실시양태 1 내지 17 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 마커 중 적어도 1개, 바람직하게는 상기 마커 중 모두에 대한 내부 표준을 결정하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0135] 실시양태 19. 실시양태 1 내지 18 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 마커 중 적어도 1개, 바람직하게는 상기 마커 중 모두에 대한 외부 표준을 결정하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0136] 실시양태 20. 실시양태 1 내지 19 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 마커의 값을 결정하는 것이 상기 마커의 양을 결정하거나, 또는 마커의 적어도 1개의 농도 값으로부터 유래된 계산된 값, 바람직하게는 적어도 2개의 바이오마커의 농도의 비를 결정하는 것인 방법.
- [0137] 실시양태 21. 실시양태 1 내지 20 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 마커의 개별 수치 값을 다변량 모델,

바람직하게는 로지스틱 회귀 모델을 사용함으로써 합산 값으로 바꾸는 것인 방법.

- [0138] 실시양태 22. 실시양태 1 내지 21 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단계 b)가
- [0139] b1) 단계 a)에 언급된 바와 같은 상기 마커의 결정된 값에 기초하여 합산 값을 계산하며, 여기서 바람직하게는 상기 합산 값을 계산하는데 있어서 마커를 그의 중요성에 따라 가중치를 두는 것인 단계; 및
- [0140] b2) 이에 따라 계산된 합산 값을 참조 합산 값과 비교하는 단계
- [0141] 를 포함하는 것인 방법.
- [0142] 실시양태 23. 실시양태 1 내지 21 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단계 b)가
- [0143] b1) 단계 a)에서 결정된 값을 대응 참조값과 비교하고, 상기 비교에 기초하여 합산 값을 계산하며, 여기서 바람직하게는 상기 합산 값을 계산하는데 있어서 마커를 그의 중요성에 따라 가중치를 두는 것인 단계; 및
- [0144] b2) 이에 따라 계산된 합산 값을 참조 합산 값과 비교하는 단계
- [0145] 를 포함하는 것인 방법.
- [0146] 실시양태 24. 실시양태 1 내지 23 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 것이 샘플의 수치 품질 평가를 확립하는 것이고, 여기서 상기 마커의 상기 값을 미리-규정된 컷오프와의 비교에 의해 카테고리화하는 것인 방법.
- [0147] 실시양태 25. 실시양태 24에 있어서, 미리-규정된 컷오프와의 비교에 의해 카테고리화된 상기 마커를 단일 값으로 합한 다음 척도화하고, 여기서 바람직하게는 상기 척도화하는데 있어서 마커를 그의 중요성에 따라 가중치를 두는 것인 방법.
- [0148] 실시양태 26. 실시양태 1 내지 25 중 어느 한 실시양태에 있어서, 적어도 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b, 8\_b, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 3\_m, 6\_m, 10\_m, 15\_m, 16\_m, 17\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m의 마커의 값을 결정하는 것을 포함하는 방법.
- [0149] 실시양태 27.
- [0150] a) 혈액 생성물 샘플에 대한 분석 유닛으로서, 이는 적어도 표 1, 표 2 또는 표 2a의 적어도 1개의 패널의 마커에 대한 적어도 1개의 검출기를 포함하며, 상기 적어도 1개의 검출기는 상기 샘플 중 상기 마커의 양을 결정하는 것인, 상기 분석 유닛; 및 이에 작동가능하게 연결된,
- [0151] b) 데이터 처리 유닛 및 데이터베이스를 포함하는 평가 유닛으로서, 상기 데이터베이스는 저장된 대응 참조 값을 포함하고, 상기 데이터 처리 유닛은 임의로 2개의 바이오마커의 샘플내 비를 계산하는 알고리즘을 유형으로 구현시키고, 분석 유닛에 의해 결정된 마커의 값 또는 평가 유닛에 의해 계산된 값을 상기 저장된 참조 값과 비교하고, 품질의 평가가 확립되는 것에 기초하여 출력 정보를 생성하는 것인, 상기 평가 유닛
- [0152] 을 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한 장치.
- [0153] 실시양태 28. 실시양태 27에 있어서, 상기 분석 유닛이 (i) 적어도 마커 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴; (ii) 적어도 마커 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 하이포크산틴; (iii) 적어도 마커 글리세롤-3-포스페이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; (iv) 적어도 마커 글리세레이트, 오르니틴 및 하이포크산틴에 대한 적어도 1개의 검출기를 포함하거나; 또는 (v) 적어도 마커 글루타민, 글리세롤-3-포스페이트, 글루타메이트 및 하이포크산틴에 대한 적어도 1개의 검출기를 포함하고, 상기 적어도 1개의 검출기는 상기 샘플 중 상기 마커의 양을 결정하는 것인 장치.
- [0154] 실시양태 29. 실시양태 26 또는 27에 있어서, 상기 분석 유닛이 적어도 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b, 8\_b, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 3\_m, 6\_m, 10\_m, 15\_m, 16\_m, 17\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m의 마커에 대한 적어도 1개의 검출기를 포함하는 것인 장치.
- [0155] 실시양태 30. 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한, 적어도 표 1, 표 2 또는 표 2a의 적어도 1개의 패널의 마커, 또는 그에 대한 검출 작용제 또는 검출 시약의 용도.
- [0156] 실시양태 31. 실시양태 30에 있어서, 상기 패널이 (i) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴;

(ii) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 하이포크산틴; (iii) 글리세롤-3-포스페이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; (iv) 글리세레이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; 또는 (v) 글루타민, 글리세롤-3-포스페이트, 글루타메이트 및 하이포크산틴을 포함하는 것인 용도.

- [0157] 실시양태 32. 실시양태 30 또는 31에 있어서, 상기 적어도 1개의 패널이 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b, 8\_b, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 3\_m, 6\_m, 10\_m, 15\_m, 16\_m, 17\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m인 용도.
- [0158] 실시양태 33. 하우징에 포함되는, 적어도 표 1의 적어도 1개의 패널의 마커에 대한 적어도 1개의 검출 작용제 및/또는 상기 마커에 대한 참조물을 포함하는, 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하기 위한 키트.
- [0159] 실시양태 34. 실시양태 33에 있어서, 상기 패널이 (i) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 오르니틴; (ii) 글리세롤-3-포스페이트, 글리세레이트 및 하이포크산틴; (iii) 글리세롤-3-포스페이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; (iv) 글리세레이트, 오르니틴 및 하이포크산틴; 또는 (v) 글루타민, 글리세롤-3-포스페이트, 글루타메이트 및 하이포크산틴을 포함하는 것인 키트.
- [0160] 실시양태 35. 실시양태 33 또는 34에 있어서, 적어도 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b, 8\_b, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 3\_m, 6\_m, 10\_m, 15\_m, 16\_m, 17\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m의 마커에 대한 적어도 1개의 검출 작용제를 포함하는 키트.
- [0161] 실시양태 36.
- [0162] a) 혈액 생성물의 수집물을 제공하는 단계,
- [0163] b) 상기 혈액 생성물의 수집물의 각각의 구성원의 샘플에 대해 실시양태 1 내지 26 중 어느 한 실시양태의 혈액 생성물 샘플의 품질을 평가하는 방법의 단계들을 수행하는 단계, 및
- [0164] c) 불충분한 품질로 평가되는 경우에 혈액 생성물을 폐기하고/거나, 불충분한 품질로 평가되는 경우에 혈액 생성물을 추가의 사용에서 배제시키고; 이로써 충분한 품질의 혈액 생성물의 수집물을 제공하는 단계
- [0165] 를 포함하는, 충분한 품질의 혈액 생성물의 수집물을 제공하는 방법.
- [0166] 실시양태 37. 혈액 생성물 샘플의 충분한 또는 불충분한 품질을 나타내는 적어도 표 1, 표 2 또는 표 2a의 적어도 1개의 패널의 마커의 특징적 값을 포함하는 데이터 수집물.
- [0167] 실시양태 38. 실시양태 37에 있어서, 적어도 패널 3\_a, 13\_a, 15\_a, 16\_a, 1\_a, 1\_b, 10\_a, 11\_a, 12\_a, 13\_b, 14\_a, 14\_b, 17\_b, 18\_b, 19\_a, 19\_b, 2\_b, 20\_b, 3\_b, 4\_a, 5\_a, 5\_b, 6\_a, 7\_a, 7\_b, 8\_b, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 3\_m, 6\_m, 10\_m, 15\_m, 16\_m, 17\_m, 18\_m, 19\_m 또는 20\_m의 마커의 특징적 값을 포함하는 데이터 수집물.
- [0168] 실시양태 39. 실시양태 37 또는 38의 데이터 수집물을 포함하는 데이터 저장 매체.
- [0169] 실시양태 40.
- [0170] (a) 샘플의 적어도 1개의 바이오마커의 특징적 값을 비교하기 위한 수단, 이에 작동가능하게 연결된
- [0171] (b) 실시양태 39에 따른 데이터 저장 매체
- [0172] 를 포함하는 시스템.
- [0173] 하기 실시예는 단지 본 발명을 예시할 것이다. 어떠한 경우에도 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되지는 않을 것이다.
- [0174] 실시예
- [0175] 실시예 1: 혈장의 예비-가공에 관한 고품질 및 저품질의 샘플을 생성하는 실험 설계.
- [0176] 혈장 바이오뱅크 시편의 품질 관리를 위한 다변량 바이오마커를 확인하기 위해 혈장 가공의 시간 및 온도에 관한 고품질 및 저품질의 인간 혈장 샘플을 생성하도록 본 실험을 설계하였다. 2시간 이내에 혈액에서 혈장으로 가공한 샘플의 EDTA 혈장 풀을 저장 동안 -80℃에서 계속 유지하고, 저장 동안 다시 해동 및 동결시키지 않고,

본 실험에 사용하였다. 풀을 1-ml-분취물로 분할하고, 이들을 4℃, 12℃ 및 21℃의 온도에서 인큐베이션하였다. 0시간, 0.5시간, 5시간 및 16시간의 시점에서, 각각의 10개의 분취물을 -80℃에서 동결시키고, 실시예 4에 기재된 바와 같이 분석하였다 (스핑고지질은 실시예 1에서 분석하지 않았음). 혈장 샘플을 무작위화 분석 순서 설계로 분석하였다. 미가공 피크 데이터를 분석 순서당 모든 샘플의 중앙값에 대해 정규화하여 프로세스 가변성 (소위 "비")을 설명하였다. 반-정량적 데이터의 실험-종합적 정렬을 가능하게 하기 위해, MxPool™ (대사물 프로파일링 연구의 정렬에 적합한 상업용 인간 EDTA 혈장의 큰 풀)을 실험에서 12회 반복 샘플로 분석하였으며, MxPool™ 샘플의 중앙값에 대해 추가로 정규화된 비, 즉 본 연구로부터의 비는 동일한 수준에 있고 따라서 동일한 MxPool™의 다른 분취물에 대해 정규화되는 다른 프로젝트로부터의 데이터에 필적한다. 표적화 방법 (에이코사노이드, 카테콜아민)으로부터의 총 정량화 데이터는 그의 절대 정량화 데이터로 유지된다. 데이터를 정규 분포에 접근하도록 log10 변환하였다.

- [0177] 임의의 온도에서 0시간 또는 0.5시간 동안 가공된 샘플은 고품질인 것으로 간주하였고; 임의의 온도에서 16시간 동안 가공된 샘플은 저품질인 것으로 간주하였고; 21℃에서 5시간 동안 가공된 샘플은 저품질인 것으로 간주하였고; 모든 다른 샘플은 이러한 접근법에서 무시하였다.
- [0178] 실시예 2: 혈액에서 혈장으로의 가공에 관한 고품질 및 저품질의 샘플을 생성하는 실험 설계.
- [0179] 혈장 바이오뱅크 시편의 품질 관리를 위한 다변량 바이오마커를 확인하기 위해 혈액에서 혈장으로의 예비-가공 동안 발생하는 분석전 혼동요인에 관한 고품질 및 저품질의 인간 혈장 샘플을 생성하도록 본 실험을 설계하였다.
- [0180] 혈액 취급의 상이한 군은 하기 절차를 포함하였다:
- [0181] • 0℃에서 장기간 인큐베이션
  - [0182] • 실온에서 장기간 인큐베이션
  - [0183] • 용혈
- [0184] 20명의 건강한 지원자 (13명의 여성, 7명의 남성)를 동원하고, 64 ml의 혈액을 정맥 천자에 의해 채혈하여 게이지-20 세이프티-플라이 혈액 수집 시스템을 사용하여 3개의 9-ml-K3EDTA 모노벳 내로, 이어서 1 ml를 뉴트럴 모노벳 내로 (샘플을 폐기함), 이어서 9-ml-뉴트럴 모노벳 내로, 이어서 3개의 9-ml-K3EDTA 모노벳 내로 넣었다. 모노벳을 도치시킴으로써 서서히 혼합하여 용혈을 방지하였다. K3EDTA 모노벳을 열고, 각각의 대상체 내에서 풀링하였다.
- [0185] 각각의 대상체의 혈액을 하기와 같은 상이한 군 내에서 가공하였다:
- [0186] 0℃에서 장기간 인큐베이션
- [0187] 2x 5 ml의 혈액 풀을 0℃에서 각각 4시간 및 6시간 동안 인큐베이션하였다. 그 기간 후에, 냉장 원심분리기에서 15분 동안 1500 x g로 원심분리에 의해 혈장을 제조하였다. 혈장을 분석 시까지 -80℃에서 저장하였다.
- [0188] 실온에서 장기간 인큐베이션
- [0189] 5 ml의 혈액 풀을 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그 기간 후에, 냉장 원심분리기에서 15분 동안 1500 x g로 원심분리에 의해 혈장을 제조하였다. 혈장을 분석 시까지 -80℃에서 저장하였다.
- [0190] 용혈
- [0191] 2x 6 ml의 혈액 풀을 각각 게이지-25 니들 (등급 1 용혈) 및 게이지-27 니들 (등급 2 용혈)을 갖는 시린지에 통과시켰다. 냉장 원심분리기에서 15분 동안 1500 x g로 원심분리에 의해 혈장을 제조하였다. 혈장을 분석 시까지 -80℃에서 저장하였다.
- [0192] 대조군
- [0193] 대조군으로서의 역할을 하는 샘플을 지체 없이 즉시 가공하였다. 남아있는 혈액 풀을 냉장 원심분리기에서 15분 동안 1500 x g로 원심분리하였다. 상부 혈장 상청액을 회수하고, 원심분리 튜브에서 혼합하였다. 이 혈장 샘플의 분취물을 동결시키고, 대조군으로서의 역할을 하도록 분석 시까지 -80℃에서 저장하였다.
- [0194] 본 실험의 혈장 샘플을 무작위화 분석 순서 설계로 실시예 4에 기재된 바와 같이 분석하였다. 대사물 프로파일



링은 반-정량적 분석 플랫폼을 제공하여, 규정된 참조 군에 대한 상대 대사물 수준 ("비")을 생성한다. 이 개념을 뒷받침하고 또한 상이한 분석 배치 ("실험")의 정렬을 가능하게 하기 위해, 2가지 상이한 참조 샘플 유형을 전체 과정에 걸쳐 병렬로 실행하였다. 먼저, 프로젝트 풀을 모든 샘플의 분취물로부터 생성시키고, 각각의 분석 순서 내에서 4회 반복으로 측정하였다. 모든 반-정량적으로 분석된 대사물에 대해, 각각의 분석 순서 내에서 풀 참조 샘플 중의 중앙값에 대해 데이터를 정규화하여 풀-정규화 비를 제공하였다 (대사물당 각각의 샘플에 대해 수행함). 이는 기기간 및 기기내 변동을 보상하였다. 다음에, MxPool™을 실험에서 12회 반복 샘플로 분석하였으며, MxPool™ 샘플의 중앙값에 대해 추가로 정규화된 풀-정규화 비, 즉 본 연구로부터의 비는 동일한 수준에 있고 따라서 동일한 MxPool™의 다른 분취물에 대해 정규화되는 다른 프로젝트로부터의 데이터에 필적한다. 표적화 방법 (에이코사노이드, 카테콜아민)으로부터의 총 정량화 데이터는 그의 절대 정량화 데이터로 유지된다.

[0195] 대조군의 샘플은 고품질인 것으로 간주하고, 본 실험으로부터의 다른 샘플은 저품질인 것으로 간주한다.

[0196] 실시예 3: 혈장의 장기 저장에 관한 고품질 및 저품질의 샘플을 생성하는 실험 설계.

[0197] 혈장 바이오뱅크 시편의 품질 관리를 위한 다변량 바이오마커를 확인하기 위해 혈장의 장기 저장에 관한 고품질 및 저품질의 인간 혈장 샘플을 생성하도록 본 실험을 설계하였다. EDTA 혈장 풀의 분취물을 각각 4℃ 또는 -20℃ 또는 -80℃ 또는 액체 질소 중에서 유지하였다. 1일, 5일, 55일, 181일 및 365일 후에, 각각의 온도에서 저장된 샘플의 4개의 분취물을 실시예 4에 기재된 바와 같이 대사물 프로파일링에 의해 분석하였다 (스핑고지질은 실시예 3에서 분석하지 않았음). 추가로, 20℃에서 유지한 샘플을 t=0 및 1일 후에 분석하였다. 혈장 샘플을 무작위화 분석 순서 설계로 분석하였다. 프로젝트 풀을 모든 샘플의 분취물로부터 생성시키고, 각각의 분석 순서 내에서 4회 반복으로 측정하였다. 미가공 피크 데이터를 분석 순서당 프로젝트 풀의 중앙값에 대해 정규화하여 프로세스 가변성 (소위 "비")을 설명하였다. 비를 데이터의 정규 분포에 접근하도록 log10 변환하였다.

[0198] -80℃ 또는 액체 질소 중에 저장한 샘플은 임의의 저장 시간에서 고품질 샘플로 간주하였다. 추가로, t=0에서 분석하거나 -20℃에서 1일 동안 저장한 샘플은 고품질 샘플로 간주하였다.

[0199] 4℃에서 저장한 샘플은 임의의 저장 시간에서 저품질 샘플로 간주하였다. -20℃에서 저장한 샘플은 55일 이상 동안 저장하였을 때 저품질 샘플로 간주하였다.

[0200] 다른 샘플은 무시하였다.

[0201] 실시예 4: MS 분석을 위한 샘플 제조

[0202] 인간 혈장 샘플을 제조하고, 하기에 기재된 바와 같이 LC-MS/MS 및 GC-MS 또는 SPE-LC-MS/MS (호르몬) 분석에 적용하였다. 단백질을 침전에 의해 혈장으로부터 분리하였으며, 특히 중성 완충제를 샘플에 첨가하고 단백질을 적절한 침전 용매를 사용하는 침전에 의해 혈장으로부터 분리하였다. 물 및 에탄올과 디클로르메탄의 혼합물의 첨가 후에, 남아있는 샘플을 수성, 극성 상 및 유기, 친지성 상으로, 특히 원심분리에 의해 분획화하였다.

[0203] 지질 추출물의 가메탄올분해교환을 위해, 140  $\mu$ l의 클로로포름, 37  $\mu$ l의 염산 (물 중 37 중량% HCl), 320  $\mu$ l의 메탄올 및 20  $\mu$ l의 톨루엔의 혼합물을 증발된 추출물에 첨가하였다. 용기를 치밀하게 밀봉하고, 100℃에서 2시간 동안 진탕시키면서 가열하였다. 이후, 용액을 증발 건조시켰다. 잔류물을 완전히 건조시켰다.

[0204] 카르보닐 기의 메톡시화를 치밀하게 밀봉된 용기 내에서 메톡시아민 히드로클로라이드와의 반응 (피리딘 중 20 mg/ml, 100 l, 60℃에서 1.5시간 동안)에 의해 수행하였다. 홀수의 직쇄 지방산의 용액 20  $\mu$ l (3/7 (v/v) 피리딘/톨루엔 중 각각 0.3 mg/mL의 7 내지 25개 탄소 원자를 갖는 지방산 및 각각 0.6 mg/mL의 27, 29 및 31개 탄소 원자를 갖는 지방산의 용액)를 시간 표준물로서 첨가하였다. 최종적으로, 100  $\mu$ l의 N-메틸-N-(트리메틸실릴)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드 (MSTFA)로의 유도체화를 또한 치밀하게 밀봉된 용기 내에서 60℃에서 30분 동안 수행하였다. GC로의 주입 전 최종 부피는 220  $\mu$ l였다.

[0205] 극성 상의 경우, 유도체화를 하기 방식으로 수행하였다: 카르보닐 기의 메톡시화를 치밀하게 밀봉된 용기 내에서 메톡시아민 히드로클로라이드와의 반응 (피리딘 중 20 mg/ml, 50 l, 60℃에서 1.5시간 동안)에 의해 수행하였다. 홀수의 직쇄 지방산의 용액 10  $\mu$ l (3/7 (v/v) 피리딘/톨루엔 중 각각 0.3 mg/mL의 7 내지 25개 탄소 원자를 갖는 지방산 및 각각 0.6 mg/mL의 27, 29 및 31개 탄소 원자를 갖는 지방산의 용액)를 시간 표준물로서 첨가하였다. 최종적으로, 50  $\mu$ l의 N-메틸-N-(트리메틸실릴)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드 (MSTFA)로의 유도체화를 또한 치밀하게 밀봉된 용기 내에서 60℃에서 30분 동안 수행하였다. GC로의 주입 전 최종 부피는 110  $\mu$ l였다.

- [0206] 상기 메톡심화 반응에 포함된 홀수의 직쇄 지방산은 GC에 대한 시간 표준물질로서 포함되어, 정확한 피크 주석의 검증을 뒷받침하였다. 특히 소수의 마커, 예컨대 본 발명의 패널의 마커를 분석하는 경우에, 상기 시간 표준물질이 절대적으로 필요한 것은 아니다.
- [0207] GC-MS 시스템은 애질런트 5973 MSD에 커플링된 애질런트 6890 GC로 이루어진다. 오토샘플러는 CTC로부터의 CompiPal 또는 GCPal이다.
- [0208] 분석을 위해, 분석 샘플 물질 및 상 분리 단계로부터의 분획에 따라, 0% 내지 35%의 방향족 모이어티를 함유하는 상이한 폴리-메틸-실록산 고정상을 갖는 통상의 상업용 모세관 분리 칼럼 (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m)을 사용하였다 (예를 들어, DB-1ms, HP-5ms, DB-XLB, DB-35ms, 애질런트 테크놀로지스). 1  $\mu$ L까지의 최종 부피를 비분할 주입하고, 오븐 온도 프로그램을 샘플 물질 및 상 분리 단계로부터의 분획에 따라 상이한 가열 속도로 70°C에서 시작하여 340°C에서 종료시켜 충분한 크로마토그래피 분리 및 각각의 분석물 피크 내의 스캔 수를 달성하였다. 게다가, RTL (체류 시간 고정(Retention Time Locking), 애질런트 테크놀로지스)을 분석 및 통상의 GC-MS 표준 조건에 사용하고 (예를 들어, 공칭 1 내지 1.7 ml/분의 일정한 유동), 헬륨을 이동상 기체로서 사용하고, 70 eV의 전자 충격에 의해 이온화를 수행하고, 15 내지 600의 m/z 범위 내에서 2.5 내지 3 스캔/초의 스캔 속도 및 표준 조정 조건으로 스캐닝하였다.
- [0209] HPLC-MS 시스템은 API 4000 질량 분광측정계 (어플라이드 바이오시스템(Applied Biosystem)/엠디에스 사이엑스(MDS SCIEX), 캐나다 토론토)와 커플링된 애질런트 1100 LC 시스템 (애질런트 테크놀로지스, 독일 발트브론)으로 이루어졌다. HPLC 분석을 C18 고정상 (예를 들어, GROM ODS 7 pH, 써모 베타실(Thermo Betasil) C18)을 갖는 상업적으로 입수가능한 역상 분리 칼럼 상에서 수행하였다. 10  $\mu$ L까지의 최종 샘플 부피의 증발되고 재구성된 극성 및 친지성 상을 주입하고, 200  $\mu$ L/분의 유량으로 메탄올/물/포름산 또는 아세트오니트릴/물/포름산 구배를 사용하는 구배 용리에 의해 분리를 수행하였다.
- [0210] 다중-반응-모니터링-(MRM)-모드 및 100 내지 1000 amu의 풀스캔을 사용하여, 비-극성 분획에 대해 양성 모드 및 극성 분획에 대해 음성 또는 양성 모드로의 전기분무 이온화에 의해 질량 분광측정법을 수행하였다.
- [0211] 혈장 샘플에서의 카테콜아민의 분석:
- [0212] 카테콜아민 및 그의 대사물을 문헌 [Yamada et al. (Yamada H, Yamahara A, Yasuda S, Abe M, Oguri K, Fukushima S, Ikeda-Wada S: Dansyl chloride derivatization of methamphetamine: a methode with advantages for screening and analysis of methamphetamine in urine. Journal of Analytical Toxicology, 26(1): 17-22 (2002))]에 기재된 바와 같은 온라인 SPE-LC-MS에 의해 측정하였다.
- [0213] 혈장 샘플에서의 에이코사노이드의 분석:
- [0214] 에이코사노이드 및 관련물을 오프라인- 및 온라인-SPE LC-MS/MS (고체 상 추출-LC-MS/MS)에 의해 혈장 중에서 측정하였다 (Masoodi M and Nicolaou A: Rapid Commun Mass Spectrom. 2006 ; 20(20): 3023-3029). 절대 정량화를 안정한 동위원소-표지된 표준물에 의해 수행하였다.
- [0215] 혈장 샘플에서의 스펅고이드의 분석:
- [0216] 바람직한 방법으로, 스펅고이드를 샘플의 오프라인 SPE 클린-업에 의해 측정하고, 이후 UHPLC-MS/MS에 의해 반-정량적으로 결정하였다: 오아시스(Oasis)® 친수성-친지성-균형잡힌 마이크로일루션( $\mu$ Elution) SPE 카트리지 (워터스(Waters))를 n-헥산, 메탄올 및 메탄올/인산으로 컨디셔닝하였다. 혈장 샘플의 적용 후에, 카트리지를 메탄올/인산으로 세척하고, 이후 스펅고이드를 아세트오니트릴/이소프로판올로 용리시켰다. 샘플을 UHPLC-MS/MS 시스템 내로 직접 주입하였다.
- [0217] 대안적으로, 대사물은 보정 곡선 또는 안정한 동위원소 표지된 내부 표준물을 사용하여 표적화된 정량적 질량 분광측정법 기반 검정으로 분석한다. 이 경우에, 샘플 제조 (단백질 침전, 극성 및 지질 분획의 분리 및 유도 체화 (적용가능한 경우))는 상기 기재된 바와 같이 수행한다. 표적화된 대사물의 검출을 위해, 질량 분광측정법을 선택된-이온 모니터링 (SIM) 또는 선택된-반응 모니터링 (SRM) 모드로 수행한다.
- [0218] 실시예 5: 통계적 데이터 분석
- [0219] 데이터 분석 및 시각화를 위해 소프트웨어 R 2.8.1 (패키지 nlme)을 사용하였다. log10 변환 데이터에 대해 랜덤 포레스트 (Liaw and Wiener (2002). Classification and Regression by random Forest. R News 2(3), 18-22.) 및 엘라스틱 넷 (Zou and Hastie (2005) Regularization and variable selection via the elastic

net, Journal of the Royal Statistical Society, Series B)를 사용한 분류 분석을 수행하였다. 대사물의 최종 세트는, 기술적 측면을 고려하거나 (어느 바이오마커 패널이 샘플 분석 방법 세팅, 예를 들어 MS 기반 방법 또는 효소적 시험 기반 검정에서 함께 분석될 수 있는지를 의미함); 또는 가능한 한 많은 분석전 혼동요인을 다룰 수 있는 능력에 관하여 고려하거나; 또는 분석전 영역, 예를 들어 혈액에서 혈장으로의 가공 또는 장기 저장에 대해 특정 초점을 맞추면서; 또는 매트릭스 체크에 대해 특정 초점을 맞추면서; 또는 최소 접근법 (가능한 한 소수 대사물을 의미함)을 고려하여 결정하였다. 8개의 대사물에 대해, 샘플내 비를 계산하였으며, 이는 프로젝트 풀에 대한 또는 MxPool™에 대한 비 대신에 또는 그러한 비에 추가로, 각각의 2개의 대사물의 지수를 각각의 샘플 내에서 계산하고 분석한다는 것을 의미한다. 이는 개체간 가변성을 설명한다.

[0220] 생성된 분류자를 실시예 1-3의 전체 병합 데이터에 대해 다시 트레이닝하였다. 본 발명자들은 저품질 샘플 대 고품질 샘플을 분석하였다. 본 발명자들의 선택된 패널의 성능을 분석하기 위해, 분류자를 이들 대사물 세트를 사용하여 랜덤 포레스트 또는 엘라스틱 넷 분석으로 구축하고, 교차 검증 분류 성능을 수신자 작동 특징 (ROC) 분석의 곡선하 면적 (AUC)으로 추정하였다. 성능 계산은 대사물 기준선 수준에 대한 실험 특이적 효과에 관하여 대사물 데이터의 선행 ANOVA 보정의 존재 또는 부재 하에 수행하였다.

[0221] 실시예 6: 패널 선택 기준

[0222] 품질 마커의 패널은 고품질 및 저품질 샘플을 분류하는 그의 진단 성능, 그의 품질 관리 목적, 상이한 분석 방법에 의한 그의 검정력, 인간 혈장 중 그의 농도, 공복, 연령 및 성별과 같은 통상적인 변동에 관한 그의 가변성, 및 임상 성능 검증 시험에서 그의 재현성 및 진단 성능에 기초하여 선택하였다.

[0223] 실시예 7: 단일 마커의 성능

[0224] 단일 마커로서의 다양한 대사물로 얻어진 AUC 값이 표 3에 제시되어 있다. 수집 튜브 관련 혼동요인에 대해, EDTA 혈장을 상기에 나타난 바와 같은 참조물질로서 사용하였다.

[0225] <표 3> 개별 대사물에 대한 수신자 작동 특징의 단일변량 AUC 값

목적	바이오마커 (대사물(들))	방향	AUC
혈장 가공 관련 혼동요인	11-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,12,14]4)	상향	0.5326
혈액 가공 관련 혼동요인	12-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,10,14]4)	하향	0.5087
혈액 가공 관련 혼동요인, 혈장 가공 관련 혼동요인	12-히드록시헵타데카트리엔산(C17:[5,8,10]3)	하향, 상향	0.5385
혈액 가공 관련 혼동요인	13-히드록시옥타데카디엔산 (13-HODE) (C18:시스[9]트랜스[11]2)	상향	0.5053
혈장 가공 관련 혼동요인	15-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:시스[5,8,11,13]4)	상향	0.5379
혈장 가공 관련 혼동요인	3,4-디히드록시페닐아세트산 (DOPAC)	하향	0.7537
혈장 가공 관련 혼동요인	3,4-디히드록시페닐알라닌 (DOPA)	하향	0.6501
혈장 가공 관련 혼동요인	3,4-디히드록시페닐글리콜 (DOPEG)	하향	0.8895
혈장 가공 관련 혼동요인	3-포스포글리세레이트 (3-PGA)	상향	0.71
혈장 가공 관련 혼동요인	5-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:트랜스[6]시스[8,11,14]4) (5-HETE)	상향	0.5322
혈장 가공 관련 혼동요인	8,9-디히드록시에이코사트리엔산 (C20:시스[5,11,14]3)	상향	0.5349
혈장 가공 관련 혼동요인	8-히드록시에이코사테트라엔산 (C20:트랜스[5]시스[9,11,14]4) (8-HETE)	상향	0.5751
혈장 가공 관련 혼동요인	9-히드록시옥타데카디엔산 (9-HODE) (C18:트랜스[10]시스[12]2)	상향	0.5415

[0226]



혈장 가공 관련 혼동요인	아드레날린 (에피네프린)	하향	0.7327
혈장 가공 관련 혼동요인	알라닌	상향	0.5897
혈액 가공 관련 혼동요인	아르기닌	하향	0.5951
혈액 가공 관련 혼동요인	아르기닌	하향	0.5747
혈장 가공 관련 혼동요인	아스파라긴	하향	0.506
수집 튜브	아스파르테이트	상향	0.5164
혈장 가공 관련 혼동요인	아스파르테이트/아스파라긴 샘플내 비	상향	0.5926
혈장 가공 관련 혼동요인	세라미드 (d18:1,C24:0)	상향	0.5414
혈장 가공 관련 혼동요인	콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-9-OOH), 콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C20:4-OOH), 콜레스테릴에스테르 히드로퍼옥시드 (C18:2-13-OOH)	상향	0.7213
수집 튜브	시트레이트	상향	0.681
혈액 가공 관련 혼동요인	시트룰린	상향	0.5201
혈액 가공 관련 혼동요인	크레아티닌	상향	0.5785
혈장 가공 관련 혼동요인	시스테인	하향	0.7206
혈장 가공 관련 혼동요인	시스틴	하향	0.7023
수집 튜브	에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)	하향	na
혈액 가공 관련 혼동요인	글루코스	하향	0.7584
혈액 가공 관련 혼동요인	글루코스-6-포스페이트	상향	0.697
혈장 가공 관련 혼동요인	글루타메이트	상향	0.5399
혈장 가공 관련 혼동요인	글루타메이트/글루타민 샘플내 비	상향	0.6667
혈장 가공 관련 혼동요인	글루타민	하향	0.7344
혈장 가공 관련 혼동요인	글리세레이트	상향	0.5541

[0227]

혈장 가공 관련 혼동요인	글리세롤-3-포스페이트	상향	0.5843
혈액 가공 관련 혼동요인	하이포크산틴	상향	0.6212
혈액 가공 관련 혼동요인	락테이트	상향	0.517
혈액 가공 관련 혼동요인	락테이트/글루코스 샘플내 비	상향	0.5484
혈장 가공 관련 혼동요인	리소포스파티딜콜린 (C17:0)	상향	0.5873
혈장 가공 관련 혼동요인	리소포스파티딜콜린 (C18:0)	상향	0.5207
혈장 가공 관련 혼동요인	리소포스파티딜콜린 (C18:1)	상향	0.555
혈장 가공 관련 혼동요인	리소포스파티딜콜린 (C20:4)	상향	0.5008
혈액 가공 관련 혼동요인	말토스	상향	0.6564
혈액 가공 관련 혼동요인	말토트리오스	상향	0.8762
혈장 가공 관련 혼동요인	노르아드레날린 (노르에피네프린)	하향	0.9047
혈액 가공 관련 혼동요인	오르니틴	상향	0.5837
혈액 가공 관련 혼동요인	오르니틴/아르기닌 샘플내 비	상향	0.5165
혈액 가공 관련 혼동요인	펜토스	상향	0.5349
혈장 가공 관련 혼동요인	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1-OOH)	상향	0.695
혈장 가공 관련 혼동요인	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:2-OOH)	상향	0.614
혈장 가공 관련 혼동요인	포스파티딜콜린 히드로퍼옥시드 (C18:0,C18:2-OOH)	상향	0.5574
혈장 가공 관련 혼동요인	프로스타글란딘 D2	상향	0.5875
혈장 가공 관련 혼동요인	프로스타글란딘 E2	상향	0.5868
혈액 가공 관련 혼동요인	리보스	상향	0.5123
혈액 가공 관련 혼동요인	세로토닌 (5-HT)	하향	0.6164
혈액 가공 관련 혼동요인	스핑가디에닌 (d18:2)	하향	0.6685

[0228]

혈액 가공 관련 혼동요인	스핑가디에닌-1-포스페이트 (d18:2)	상향	0.5997
혈액 가공 관련 혼동요인	스핑고신 (d16:1)	하향	0.8343
혈액 가공 관련 혼동요인	스핑고신 (d18:1)	하향	0.8904
혈액 가공 관련 혼동요인	스핑고신-1-포스페이트 (d16:1)	상향	0.5284
혈액 가공 관련 혼동요인	스핑고신-1-포스페이트 (d17:1)	상향	0.6247
혈액 가공 관련 혼동요인	스핑고신-1-포스페이트 (d18:1)	상향	0.798
혈액 가공 관련 혼동요인	타우린	하향	0.6343
혈장 가공 관련 혼동요인	트레온산	상향	0.5448
혈액 가공 관련 혼동요인, 혈장 가공 관련 혼동요인	트롬복산 B2	하향, 상향	0.6766
혈장 가공 관련 혼동요인	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C18:2-OOH)	상향	0.6769
혈장 가공 관련 혼동요인	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C18:3-OOH), 트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:2,C18:2-OOH)	상향	0.6584
혈장 가공 관련 혼동요인	트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C16:0,C18:1,C20:4-OOH), 트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C18:1,18:2,C18:2-OOH), 트리아실글리세리드 히드로퍼옥시드 (C18:1,C18:1,C18:3-OOH)	상향	0.5225
혈액 가공 관련 혼동요인	요산	상향	0.655

[0229]

[0230]

실시예 8: 최적화된 패널의 성능

[0231]

기준 최적 성능 및 상기에 나타낸 바와 같은 추가의 기준 (실시예 5 및 6)에 기초하여, 패널을 상기 명시된 바와 같이 선택하여, 표 2에 요약된 패널이 생성되었다. 상기 표 2의 패널의 성능이 AUC 추정치로서 표현되어 표 4에 제시되어 있다.

[0232]

<표 4> 분석전 혼동요인을 검출하는 혈장 샘플의 품질 관리에 적합한 대사물/마커 패널의 성능 (추정된 AUC 값).

패널 번호	엘라스틱 네트, ANOVA 제외	엘라스틱 네트, ANOVA 포함	랜덤 포레스트, ANOVA 제외	랜덤 포레스트, ANOVA 포함
1	0.90	0.94	0.99	0.99
2	0.94	0.98	0.98	0.99
3	0.90	0.97	0.99	1.00
4	0.77	0.86	0.79	0.86
5	0.74	0.78	0.84	0.89
6	0.71	0.85	0.96	0.97
7	0.73	0.50	0.78	0.77
8	0.86	0.96	0.94	0.99
9	0.69	0.67	0.79	0.75
10	0.91	0.97	0.99	0.99
11	0.89	0.97	0.98	0.99
12	0.79	0.86	0.95	0.95
13	0.88	0.96	0.96	0.98
14	0.88	0.96	0.98	0.99
15	0.90	0.96	0.98	0.99
16	0.89	0.97	0.99	1.00
17	0.92	0.99	0.98	0.99
18	0.85	0.95	0.96	0.99
19	0.75	0.95	0.95	0.98
20	0.85	0.95	0.95	0.98

[0233]

[0234]

<표 4a> "매트릭스 체크 마커" (패널 9)를 추가로 포함하는, 분석전 혼동요인을 검출하는 혈장 샘플의 품질 관리에 적합한 대사물/마커 패널의 성능 (추정된 AUC 값).

패널 번호	엘라스틱 네트, ANOVA 제외	엘라스틱 네트, ANOVA 포함	랜덤 포레스트, ANOVA 제외	랜덤 포레스트, ANOVA 포함
3_m	0.90	0.97	0.99	0.99
6_m	0.77	0.85	0.97	0.96
10_m	0.91	0.97	0.99	1.00
15_m	0.90	0.97	0.98	0.99
16_m	0.89	0.97	0.99	1.00
17_m	0.92	0.99	0.99	1.00
18_m	0.88	0.95	0.96	0.99
19_m	0.83	0.95	0.97	0.99
20_m	0.87	0.95	0.97	0.99

[0235]

[0236]

실시예 9: 하위-패널의 성능

[0237]

표 2의 최적화된 패널을 빈번하게 발생하는 마커에 대해 조사하였다. 이러한 빈번하게 확인된 마커의 특정 조합은 놀랍게도 고성능을 갖는 하위-패널 (표 1)로 조합될 수 있다 (표 5).

[0238] <표 5> 분석전 혼동요인을 검출하는 혈장 샘플의 품질 관리에 적합한 최소 마커 패널의 성능 (추정된 AUC 값).

	AUC 추정치			
패널 번호	엘라스틱 네트, ANOVA 제외	엘라스틱 네트, ANOVA 포함	랜덤 포레스트, ANOVA 제외	랜덤 포레스트, ANOVA 포함
1_a	0.65	0.62	0.76	0.77
1_b	0.65	0.66	0.79	0.79
10_a	0.86	0.95	0.93	0.97
11_a	0.76	0.94	0.94	0.97
12_a	0.76	0.75	0.85	0.85
13_a	0.74	0.95	0.89	0.98
13_b	0.72	0.86	0.95	0.96
14_a	0.66	0.95	0.85	0.95
14_b	0.79	0.88	0.89	0.92
15_a	0.79	0.75	0.82	0.83
16_a	0.85	0.95	0.95	0.98
17_b	0.89	0.89	0.96	0.96
18_b	0.74	0.79	0.91	0.95
19_a	0.74	0.95	0.90	0.97
19_b	0.67	0.94	0.89	0.95
2_b	0.72	0.86	0.95	0.95
20_b	0.66	0.82	0.88	0.93
3_a	0.83	0.95	0.89	0.97
3_b	0.78	0.79	0.90	0.89
4_a	0.60	0.81	0.78	0.89
5_a	0.72	0.74	0.79	0.83
5_b	0.72	0.76	0.80	0.84
6_a	0.69	0.78	0.89	0.91
7_a	0.65	0.50	0.77	0.76
7_b	0.70	0.50	0.78	0.78
8_b	0.67	0.95	0.87	0.92

[0239]

[0240] 실시예 10: 혈액에서 혈청으로의 가공에 관한 고품질 및 저품질의 샘플을 생성하는 실험 설계.

[0241] 혈장의 품질 관리를 위해 확인된 패널이 혈청에도 적용가능하다는 것을 명백하게 보여주기 위해, 혈액을 20명의 건강한 지원자로부터 취하였다.

[0242] 샘플 취급의 상이한 군은 하기 절차를 포함하였다:

[0243] • 혈액의 장기간 응고

[0244] • 실온에서 혈청의 장기간 인큐베이션

[0245] 20명의 건강한 지원자 (15명의 여성, 5명의 남성)를 동원하고, 혈액을 정맥 천자에 의해 채혈하여 게이저-20 세이프티-플라이 혈액 수집 시스템을 사용하여 항응고제가 없는 2개의 혈액 수집 튜브 내로 넣었다. 각각의 대상체의 혈액을 하기와 같이 상이한 군 내에서 가공하였다:

[0246] 대조군

[0247] 각각의 대상체에 대해, 혈액 수집 튜브 중 1개를 실온에서 40분 동안 인큐베이션하고, 혈청을 20℃의 온도-제어 원심분리기에 20분 동안 2000 x g로 원심분리에 의해 제조하였다. 상청액 혈청을 새로운 튜브에서 서서히 혼합하고, 분석 시까지 -80℃에서 분취물로 저장하였다.

[0248] 혈액의 장기간 응고

[0249] 각각의 대상체에 대해, 혈액 수집 튜브 중 1개를 실온에서 6시간 동안 인큐베이션하고, 혈청을 20℃의 온도-제

어 원심분리기에서 20분 동안 2000 x g로 원심분리에 의해 제조하였다. 상청액 혈청을 새로운 튜브에서 서서히 혼합하고, 분석 시까지 -80℃에서 분취물로 저장하였다.

[0250] 실온에서 혈청의 장기간 인큐베이션

[0251] 대조군 혈청의 분취물을 실온에서 24시간 동안 인큐베이션한 후에 분석 시까지 -80℃에서 동결 및 저장하였다.

[0252] 본 실험의 혈청 샘플을 무작위화 분석 순서 설계로 실시예 4에 기재된 바와 같이 MxP® 브로드 프로파일링 (Broad Profiling)에 의해 및 실시예 2에 기재된 바와 같이 풀 및 MxPool™ 개념에 따라 분석하였다. 대조군의 샘플은 고품질인 것으로 간주하고, 본 실험으로부터의 다른 샘플은 저품질인 것으로 간주한다. 선택된 패널은, 저품질 샘플을 확인하여 그 샘플을 엘라스틱 넷 알고리즘을 사용하여 실시예 5에 기재된 바와 같이 대조군 샘플과 구별하는 그의 성능에 대해 분석하였다. 패널 번호는 표 1-2에 의해 제공된 대사물 목록을 나타낸다. 패널의 AUC 추정치는 표 6-7에 제시되어 있다.

[0253] <표 6> 분석전 혼동요인을 검출하는 것에 의한 혈청 샘플의 품질 관리에 특히 적합한 대사물/마커 패널의 성능 (추정된 AUC 값).

패널 번호	AUC 추정치, 엘라스틱 넷, ANOVA 제외
3	0.99990
15	0.99948
16	0.99995
18	0.99495
19	0.99503
20	0.99686

[0254]

[0255] <표 7> 분석전 혼동요인을 검출하는 것에 의한 혈청 샘플의 품질 관리에 특히 적합한 최소 마커 패널의 성능 (추정된 AUC 값).

패널 번호	AUC 추정치, 엘라스틱 넷, ANOVA 제외
1_a	0.97566
2_b	0.99035
3_a	0.97746
3_b	0.98802
6_a	0.98185
8_b	0.97303
10_a	0.99218
11_a	0.99368
13_a	0.99393
13_b	0.99133
14_a	0.99795
15_a	0.97722
16_a	0.97866
18_b	0.97386
19_a	0.99364
19_b	0.99611
20_b	0.99900

[0256]

[0257] 실시예 11: 다른 하류 분석에 관한 샘플의 품질 관리의 적용을 보여주기 위한 실험 설계

[0258] 본 발명에 기재된 바와 같은 품질 관리가 또한 다른 하류 적용, 예컨대 단백질 분석에 적용가능하며 다른 적용

을 위한 바이오뱅크 샘플 또는 임상 시험 샘플의 적합성을 추정할 수 있게 한다는 것을 명백하게 보여주기 위해, 혈액을 건강한 지원자로부터 취하여 혈장으로 가공하였다.

[0259] 샘플 취급의 상이한 군은 하기 절차를 포함하였다:

[0260] • 원심분리 전 EDTA 혈액의 장기간 인큐베이션

[0261] • 실온에서 혈장의 장기간 인큐베이션

[0262] 20명의 건강한 지원자 (15명의 여성, 5명의 남성)를 동원하고, 혈액을 정맥 천자에 의해 채혈하여 게이지-20 세이프티-플라이 혈액 수집 시스템에 사용하여 3개의 K3EDTA 혈액 수집 튜브 내로 넣었다. 각각의 대상체의 혈액을 하기와 같이 상이한 군 내에서 가공하였다:

[0263] 대조군

[0264] 각각의 대상체에 대해, 혈액 수집 튜브 중 1개를 지체 없이 가공하고, 혈장을 20℃의 온도-제어 원심분리기에서 10분 동안 2500 x g로 원심분리에 의해 제조하였다. 상청액 혈장을 또 다른 원심분리 튜브로 옮기고, 20℃의 온도-제어 원심분리기에서 10분 동안 16000 x g로 다시 원심분리하였다. 상청액 혈장을 새로운 튜브에서 서서히 혼합하고, 분석 시까지 -80℃에서 분취물로 저장하였다.

[0265] 혈액의 장기간 인큐베이션

[0266] 각각의 대상체에 대해, 혈액 수집 튜브 중 1개를 실온에서 6시간 동안 인큐베이션하고, 이후 혈장을 20℃의 온도-제어 원심분리기에서 10분 동안 2500 x g로 원심분리에 의해 제조하였다. 상청액 혈장을 또 다른 원심분리 튜브로 옮기고, 20℃의 온도-제어 원심분리기에서 10분 동안 16000 x g로 다시 원심분리하였다. 상청액 혈장을 새로운 튜브에서 서서히 혼합하고, 분석 시까지 -80℃에서 분취물로 저장하였다.

[0267] 혈장의 장기간 인큐베이션

[0268] 각각의 대상체에 대해, 혈액 수집 튜브 중 1개를 지체 없이 가공하고, 혈장을 20℃의 온도-제어 원심분리기에서 10분 동안 2500 x g로 원심분리에 의해 제조하였다. 상청액 혈장을 또 다른 원심분리 튜브로 옮기고, 20℃의 온도-제어 원심분리기에서 10분 동안 16000 x g로 다시 원심분리하였다. 상청액 혈장을 새로운 튜브에서 서서히 혼합하고, 실온에서 24시간 동안 인큐베이션한 후에, 분석 시까지 -80℃에서 분취물로 동결 및 저장하였다.

[0269] 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있으며 상용의 임상 화학 실험실에서 적용되는 방법에 의해 단백질을 분석하였다. 그 방법은 효소 연결 면역흡착 검정 (ELISA), 방사성 면역 검정 (RIA), 전기-화학발광 결합 검정 (ECLIA) 또는 다른 검정을 포함한다.

[0270] 통계적 분석은 log10 변환된 단백질 농도의 대응표본 t-검정을 사용하여 수행하였다. 각각의 단백질을 대조군에 비해 혈액 가공 관련 혼동 군 또는 혈장 가공 관련 혼동 군에서 그의 유의차에 대해 시험하였다. 결과는 표 8-9에 제시되어 있다.

[0271] <표 8> 혈액 가공 관련 분석전 변동에 대한 혈장 중의 단백질의 감수성

단백질	단위	실온에서 대조군에 비해 원심분리 이전 6 시간 동안 저장된 혈액			
		평균 차이	평균 비	대용표본 t-검정의 p-값	대용표본 t-검정의 t-값
부신피질자극 호르몬 (ACTH)	ng/l	-0.090	0.988	0.2117	-1.2925
항이노 호르몬 (ADH; 바소프레신)	ng/l	0.635	1.421	0.0063	3.0675
안지오텐신 II	ng/l	-2.190	0.739	0.7688	0.3030
알파-2-HS-당단백질 (AHSG; 페투인-A)	g/l	0.042	0.995	0.5660	0.5847
인간 FGF-23 c-말단	kRU/l	-1.750	0.996	0.8488	-0.1935
피브로넥틴	g/l	-0.015	0.959	0.3407	-0.9772
글루카곤	ng/l	-1.100	0.989	0.1951	-1.3607
인슐린	μU/ml	0.105	1.025	0.2168	1.2777
프로락틴	ng/ml	0.058	1.009	0.1441	1.5234
부갑상선 호르몬 (PTH)	pmol/l	0.027	1.006	0.5787	0.5650
레닌	pg/ml	-0.026	1.009	0.4337	0.7999
갑상선-자극 호르몬 (TSH)	mU/l	0.004	1.004	0.3896	0.8805

[0272]

[0273] <표 9> 혈장 가공 관련 분석전 변동에 대한 혈장 중의 단백질의 감수성

단백질	단위	실온에서 대조군에 비해 24 시간 동안 저장된 혈장			
		평균 차이	평균 비	대용표본 t-검정의 p-값	대용표본 t-검정의 t-값
부신피질자극 호르몬 (ACTH)	ng/l	-1.365	0.932	5.9357E-09	-9.9255
항이노 호르몬 (ADH; 바소프레신)	ng/l	0.455	1.308	0.0095	2.8841
안지오텐신 II	ng/l	6.515	1.079	0.0009	4.8809
알파-2-HS-당단백질 (AHSG; 페투인-A)	g/l	0.058	1.024	0.0299	2.3585
인간 FGF-23 c-말단	kRU/l	-4.900	0.916	0.3958	-0.8741
피브로넥틴	g/l	-0.020	0.920	0.1011	-1.7229
글루카곤	ng/l	10.450	1.307	0.4426	-0.7902
인슐린	μU/ml	-0.070	0.991	0.0789	-1.8566
프로락틴	ng/ml	0.020	1.002	0.6555	0.4532
부갑상선 호르몬 (PTH)	pmol/l	0.087	1.027	0.0601	1.9989
레닌	pg/ml	-1.188	0.938	5.7391E-06	-6.2122
갑상선-자극 호르몬 (TSH)	mU/l	0.004	1.004	0.0958	1.7527

[0274]

[0275] 표 8 및 9의 데이터는, 본 발명의 방법에 따라 저품질의 샘플로서 확인된 샘플이 시험된 단백질의 활성 및/또는 농도에 있어서 유의한 변화를 나타내므로, 예를 들어 진단학적 또는 단백질체학적 목적에 대해 불충분한 품질이라는 것을 제시한다.