
**심정지 후 저산소성 허혈성 뇌손상 환자 유래
Plasma 및 CSF 검체의 Olink 기반 단백질체
프로파일링 및 바이오마커 발굴**

2026. 06.

충남대학교병원

1. 사업 개요

- **사업명** : 심정지 후 저산소성 허혈성 뇌손상 환자 유래 Plasma 및 CSF 검체의 Olink 기반 단백질체 프로파일링 및 바이오마커 발굴
- **사업기간** : 2026년 9월 1일 부터 2027년 2월 28일까지
- **소요예산** : 100,000,000원 (부가세포함)
- **계약방법** : 규격·가격 동시입찰

2. 사업 목적

- 심정지(cardiac arrest) 이후 발생하는 저산소성 허혈성 뇌손상 (Hypoxic-Ischemic Brain Injury, HIBI)은 환자의 신경학적 예후와 생존율에 큰 영향을 미치는 주요 합병증으로 알려져 있으나, 손상 정도 및 예후를 객관적으로 평가할 수 있는 체액 기반 바이오마커는 아직 제한적인 실정임.
- 최근 고감도 단백질체 분석 기술의 발전에 따라 혈액(Plasma) 및 뇌척수액(CSF) 내 다양한 단백질 변화를 동시에 분석하여 질환의 병태생리기전을 규명하고, 신경학적 예후 예측 및 신규 바이오마커를 발굴하기 위한 연구가 활발히 수행되고 있음.
- 본 연구에서는 심정지 후 저산소성 허혈성 뇌손상 환자로부터 확보된 Plasma 및 CSF 검체를 대상으로 Olink PEA (Proximity Extension Assay) 기반 단백질체 분석을 수행하여, 질환과 연관된 단백질 발현 패턴을 확인하고 잠재적 바이오마커를 발굴하고자 함.
- 이를 통해 심정지 후 저산소성 허혈성 뇌손상의 병태생리 이해를 위한 분자 수준의 정보를 확보하고, 향후 예후 예측 모델 개발 및 정밀의료 기반의 임상 적용

가능성을 평가하기 위한 기초 자료를 구축하고자 함.

3. 주요 사업(과업) 내용

- 심정지 후 저산소성 허혈성 뇌손상(Hypoxic-Ischemic Brain Injury, HIBI) 환자 유래 Plasma 및 CSF 검체 확보 및 임상 정보 정리
- Olink PEA 기반 단백질 분석 플랫폼을 활용한 Plasma 및 CSF 단백질 프로파일링 데이터 생산 및 확보
- 심정지 후 저산소성 허혈성 뇌손상과 연관된 단백질 발현 패턴 분석 및 차등 발현 단백질 발굴
- 신경학적 예후 및 임상지표와의 연관성 분석을 통한 예후 예측 바이오마커 발굴

4. 기대효과

- 심정지 후 저산소성 허혈성 뇌손상의 병태생리에 대한 분자 수준의 이해도 향상
- Plasma 및 CSF 기반 단백질 분석을 통해 질환 진단 및 예후 예측에 활용 가능한 후보 바이오마커 확보
- 체액 기반 단백질 프로파일링 데이터 구축을 통한 국내 저산소성 허혈성 뇌손상 연구 기반 마련
- 심정지 환자의 신경학적 예후 평가 및 치료 전략 수립에 활용 가능한 연구 근거 제공

II

추진 개요

1. 추진목표

- 심정지 후 저산소성 허혈성 뇌손상 환자 유래 Plasma 및 CSF 샘플에 대한 단백질체 데이터 생산

2. 추진내용

- 기 간 : 착수일로부터 5개월
- 주요내용
 - 시료 입고 및 정도 관리
 - 단백질체 데이터 생산

3. 추진일정 : 2026년 9월 1일 부터 2027년 2월 28일까지

Ⅲ

과업 주요 내용

1. 과업 내용

○ 대상시료 : 총 60 samples

- 심정지 후 저산소성 허혈성 뇌손상 환자들의 Plasma 와 CSF
- 48~72시간의 brain injury 진행에 따라 시간대별로 채취된 샘플 사용
(0, 24, 48, 72h)
- Olink PEA Target 96 패널 7키트를 이용해 644개의 단백질을 동시에 분석함

[Olink PEA Target 96 패널]

- 1) Olink Target 96 Inflammation
- 2) Olink Target 96 Neurology
- 3) Olink Target 96 Neuro-exploratory
- 4) Olink Target 96 Immune response
- 5) Olink Target 96 Cardiovascular II
- 6) Olink Target 96 Cardiovascular III
- 7) Olink Target 96 Metabolism

○ 분석시료 준비

- 1) 발주기관 : 단백질을 분석을 위한 시료를 준비함. Plasma 로 40ul, CSF 로 40ul 씩 분주하여 -80도에 보관한 상태로 용역 수행기관에 전달.
- 2) 마크로젠 : 제공받은 시료에 대하여 시료의 정도 관리를 수행함.

* Plasma 와 CSF 샘플은 정도관리 제외 대상 샘플로 육안으로 상태 확인만 진행

3) 정도 관리 후, QC 리포트를 발주기관으로 발송함.

○ Multi-plex 단백질 발현 분석(Olink Target 96 패널)

- 샘플(Plasma)은 아이스 위에서 해동하고, 침전물이나 부유물이 있는 경우에 원심분리를 하여 상층액을 이용하여 실험 진행함.

- 실험의 전반적인 과정은 다음과 같음

(1) Olink Target 패널 실험 방법

- ① 샘플 1ul를 이용하여 96-well plate에서 Incubation 수행
- ② Incubation 완료 후, Extension 과정 수행
- ③ Olink Signature Q100 장비를 이용하여 Detection 수행과 단백질의 원시 intensity 값 추출

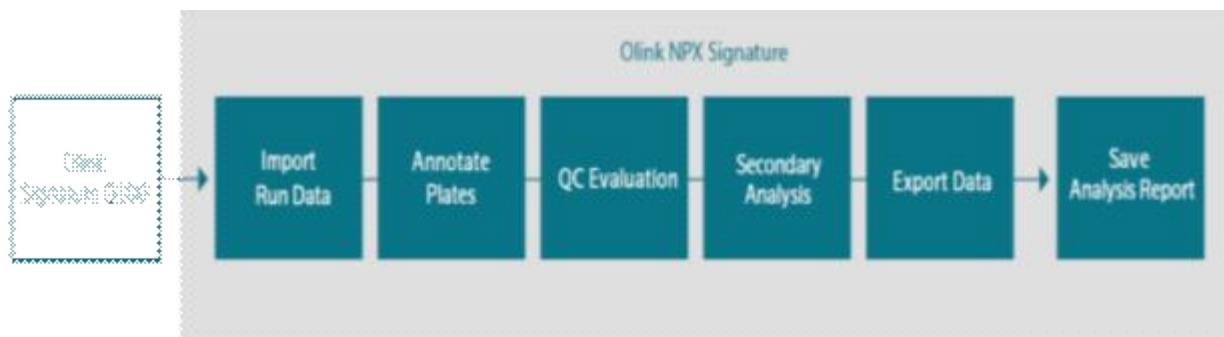
(2) 생산데이터 가공 및 기초분석

- ① Olink 데이터 가공 및 기초분석 : NPX signature 프로그램을 이용하여 Ct로부터 변환된 NPX 값을 추출함.

(<https://olink.com/products-services/data-analysis-products/olink-npx-signature/>)

이후 분석은 Olink® Analyze R 패키지를 기초로 하여 마크로젠의 in-house script로 진행함.

<Olink 데이터 가공 프로세스>



② Olink Normalization : NPX signature에서 2가지 normalization을 제공하며 아래와 같은 기준으로 NPX value를 추출함.

1개 plate만 실험한 경우 : IPC normalization

2개 이상 multiplate 실험을 진행한 경우 : Intensity normalization

(<https://olink.com/application/data-normalization-and-standardization>)

(<https://www.olink.com/content/uploads/2021/09/olink-data-normalization-white-paper-v2.0.pdf>)

③ Olink Target 품질 기준 : 레포트에서 표시하는 QC기준은 다음과 같음.

* 이 기준은 한 고객이 단일 source의 샘플로 실험했을 경우에 보장 가능함.

1.Flagged

of QC warning samples, signal deviation plot과 연관있음. NPX value.xlsx에 warning으로 표기되기도 함.

2.Detectability, Proteins $\leq 75\%$

Number of proteins detected in $>75\%$ of the samples

Olink 48의 경우 50% 이상이면 통과임.

3.%cv(Intra) : $\text{stdev}(\text{control samples per plate}) / \text{average}(\text{control samples per plate})$ 20% 이상이면 warning, 25% 이상이면 fail임.

4.%cv(Inter) : 10% 이상이면 warning, 15% 이상이면 fail (여러 plate를 실험했을 경우 계산)

5.Missing sample

missing frequency plot, detectability와 연관하여 전체 target assay 모두에서 유의한 NPX값을 얻을 수 없는 샘플의 경우 missing sample로 표기함, 없을수록 고품질의 실험임.

○ 분석결과 보고서를 파일(PDF/excel)로 제출

2. 산출물

- 분석 과정 및 결과의 최종 결과 보고서 (PDF)

- 단백질체 분석(Olink Target96 패널) 산출물
 - Protein expression 데이터 (NPX values)
 - Differential Expression Protein(DEP) 분석 결과_Fold change, p-value, adjusted p-value 포함, Excel
 - 기초 통계 및 시각화 결과_ QC plot, Heatmap, Volcano plot, MDS plot 등
 - Pathway / Functional annotation 분석 결과

Ⅲ

과업수행 시 요구사항

- 단백질 데이터 생산 및 처리 경험을 기반으로 한 연구 신뢰성 확보
- 실험 수행은 국내에서 진행이 되어야함(국외 반출 불가)
- 자체 개발한 LIMS(laboratory information management system)를 통해 효율적인 분석 프로세스를 구축하고 있으며, 품질경영시스템 국제인증(ISO9001)을 획득하여 획득하여 검증된 품질수준을 확보 하여야함.
또한 철저한 보안을 통해 실험 계획 및 정보 유출을 방지 할 수 있는 정보보호 관리체계 관련 인증을(ISO27701, ISMS-P, ISO/IEC 27001:2013) 보유하고 있어 안전하게 결과 분석 가능해야함.
- 기타 사업 수행에 필요한 전반적인 내용은 충남대학교병원과 사전 논의 후 진행