



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0055553
(43) 공개일자 2013년05월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7009956
(22) 출원일자(국제) 2010년09월17일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2012년04월18일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2010/063751
(87) 국제공개번호 WO 2011/033095
국제공개일자 2011년03월24일
(30) 우선권주장
0917457.4 2009년10월06일 영국(GB)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.
벨기에왕국 릭센사르트 (비-1330) 루 드 린스티튜트 89
(72) 발명자
브리차드, 빈센트
벨기에왕국 릭센사르트 (비-1330) 루 드 린스티튜트 89 글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.
디지어, 벤자민, 게오르기스, 엘리, 리아, 기히스 라인
벨기에왕국 릭센사르트 (비-1330) 루 드 린스티튜트 89 글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 남앤드남

전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 **환자가 면역치료제에 대한 반응자일지의 여부를 확인하는 방법**

(57) 요약

본 발명은 하나 이상의 유전자의 차별적인 발현에 기반하여 환자를 요법에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 방법에 관한 것이다. 유전자 발현 프로파일, 유전자 발현 프로파일을 나타내는 핵산 서열을 포함하는 마이크로어레이, 및 신규한 진단 키트 및 치료 방법이 또한 제공된다. 키트 및 방법은, MAGE 발현 종양을 지니는 유전자 발현 프로파일을 특징으로 하는, 예를 들어 암 환자의 특수한 집단의 치료에 관한 것이다.

(72) 발명자

그루셀리, 올리비에

벨기에왕국 릭센사르트 (비-1330) 루 드 린스티튜트 89 글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.

로우아헤드, 자밀라

벨기에왕국 릭센사르트 (비-1330) 루 드 린스티튜트 89 글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.

울로아-몬토야, 페르난도

벨기에왕국 릭센사르트 (비-1330) 루 드 린스티튜트 89 글락소스미스클라인 바이오로지칼즈 에스.에이.

(30) 우선권주장

61/277,046 2009년09월18일 미국(US)

61/278,387 2009년10월06일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

(a) 환자 유래 샘플을 본원 상세한 설명에 기재된 표 1의 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 차별적인 발현에 대해 분석하는 단계; 및

(b) 샘플이 유래된 환자를 상기 단계 (a)의 결과에 기반하여 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 단계로서, 상기 특성화 단계가 표준 또는 트레이닝 세트에 대한 참조 또는 비교에 의해서 수행되거나 알고리즘의 파라미터가 표준 또는 트레이닝 세트로부터 취득된 알고리즘을 이용하여 수행되는 단계를 포함하는, 환자를 치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 방법.

청구항 2

(a) 본원 상세한 설명에 기재된 표 1의 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 차별적인 발현에 대해 환자 유래 샘플의 분석을 달성하는 단계로서, 그 결과는 환자를 면역치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 것이고, 상기 특성화 단계가 표준 또는 트레이닝 세트에 대한 참조 또는 비교에 의해서 수행되거나 알고리즘의 파라미터가 표준 또는 트레이닝 세트로부터 취득된 알고리즘을 이용하여 수행되는 단계; 및

(b) 환자가 면역치료제에 대한 반응자로서 특성화된 경우, 적합한 면역치료제의 1회 이상의 투여를 위해 환자를 선택하는 단계를 포함하는, 환자를 치료하는 방법.

청구항 3

(a) 환자 유래 샘플을 취득하는 단계; 및

(b) 환자 유래 샘플을 본원 상세한 설명에 기재된 표 1의 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 차별적인 발현에 대해 분석하는 단계로서, 그 결과로부터 상기 환자가 면역치료제에 대해 반응자 또는 비-반응자로서 특성화되는 것이 결정되고, 상기 특성화 단계가 표준 또는 트레이닝 세트에 대한 참조 또는 비교에 의해서 수행되거나 알고리즘의 파라미터가 표준 또는 트레이닝 세트로부터 취득된 알고리즘을 이용하여 수행되는 단계를 포함하는, 환자가 면역치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자인지를 결정하는 방법.

청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 표 1의 하나 이상의 유전자가 표 1에 나열된 적어도 63개의 유전자 또는 본원 상세한 설명의 표 2, 5 또는 7에 명시된 실질적으로 모든 유전자인 방법.

청구항 5

본원 상세한 설명의 표 1에 나열된 프로브 세트로서 그 표적 서열이 본원 상세한 설명의 표 3에 제시되어 있는 프로브 세트 중 하나 이상에 의해 인지된 유전자 생성물을 환자 유래 샘플에서 분석하는 것을 포함하는, 환자를 치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 방법으로서,

상기 특성화 단계가 표준 또는 트레이닝 세트에 대한 참조 또는 비교에 의해서 수행되거나 알고리즘의 파라미터가 표준 또는 트레이닝 세트로부터 취득된 알고리즘을 이용하여 수행되는, 환자를 치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 방법.

청구항 6

제 5항에 있어서, 표 1의 하나 이상의 프로브 세트가 표 1에 나열된 적어도 74개의 프로브 세트 또는 표 2, 5 또는 7에 기재된 모든 프로브 세트인 방법.

청구항 7

제 1항 또는 제 3항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, 환자를 반응자로서 확인하는 단계 및 치료를 위해 환자를 선택하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 8

제 1항 내지 제 7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표준이 공지된 임상 결과를 각각 지니는 환자 또는 환자들로

부터의 환자 유래 샘플 또는 샘플들인 방법.

청구항 9

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제 또는 치료가 암 면역치료제, 바람직하게는 흑색종 및/또는 폐암에 대한 암 면역치료제인 방법.

청구항 10

제 9항에 있어서, 암 면역치료제가 흑색종-관련 항원 유전자 (Melanoma-associated antigen gene (MAGE))인 방법.

청구항 11

제 10항에 있어서, MAGE 면역치료제가 MAGE A3 면역치료제인 방법.

청구항 12

제 1항 내지 제 11항 중 어느 한 항에 있어서, 표 1의 하나 이상의 유전자가 표 1에 나열된 적어도 63개, 적어도 68개, 적어도 70개, 적어도 75개, 적어도 80개의 유전자 또는 실질적으로 모든 유전자 및/또는 이들의 임의의 조합인 방법.

청구항 13

제 5항 내지 제 11항 중 어느 한 항에 있어서, 표 1의 하나 이상의 프로브 세트가 표 1에 나열된 적어도 74개, 적어도 75개, 적어도 80개, 적어도 85개, 적어도 90개의 프로브 세트 또는 모든 프로브 세트 및/또는 이들의 임의의 조합인 방법.

청구항 14

제 1항 내지 제 13항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 유전자가 이들의 정상적인 발현에 비해 상향조절되는 방법.

청구항 15

제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자의 80% 이상이 이들의 정상적인 발현에 비해 상향조절되는 방법.

청구항 16

제 1항 내지 제 15항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 생성물이 상향조절되고/거나 하향조절되는지 여부를 결정하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 17

제 16항에 있어서, 유전자 생성물이 상향조절되고/거나 하향조절되는지를 결정하는 것이 반응자를 나타내는 방법.

청구항 18

제 1항 내지 제 17항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자가 면역 관련 유전자인 방법.

청구항 19

제 1항 내지 제 18항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 유전자 생성물을 확인하기 위한 프로브의 이용을 포함하는 방법.

청구항 20

제 1항 내지 제 19항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 발현을 분석하기 위해 마이크로어레이 키트 또는 PCR의 이용을 포함하는 방법.

청구항 21

환자가 암 면역치료제와 같은 치료제에 대해 반응자 또는 비-반응자일지를 분석하기 위한, 본원 상세한 설명의 표 1에 기재된 적어도 63개의 유전자 또는 그로부터 생성된 데이터 또는 상기 표 1의 적어도 74개의 프로브 세트 또는 그로부터 생성된 데이터의 유전자 목록의 용도.

청구항 22

제 20항에 있어서, 유전자 목록이 표 1의 실질적으로 모든 유전자 또는 프로브 세트를 포함하거나 이로 구성된 용도.

청구항 23

본원 상세한 설명의 표 1에 나열된 유전자로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 서열에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브를 포함하는 마이크로어레이로서,

표 1의 유전자에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브 또는 프로브 세트가 상기 마이크로어레이 상에 있는 프로브 또는 프로브 세트의 50% 이상을 구성하는, 마이크로어레이.

청구항 24

본원 상세한 설명의 표 1에 나열된 유전자로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 서열에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브를 포함하는 마이크로어레이.

청구항 25

제 23항 또는 제 24항에 있어서, 본원 상세한 설명의 표 2에 나열된 유전자의 유전자 생성물의 서열에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브를 포함하는 마이크로어레이.

청구항 26

제 1항 내지 제 20항 중 어느 한 항의 방법을 수행하기 위해, 발현을 측정하기 위한 수단, 예를 들어 본원 상세한 설명의 표 1에 나열된 유전자 중 하나 이상 또는 표 1에 나열된 유전자의 유전자 생성물의 mRNA 또는 cDNA 유전자 생성물에 하이브리드화되는 프로브를 포함하는 진단 키트.

청구항 27

종양 관련 항원을 포함하는 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 제 1항 내지 제 20항 중 어느 한 항의 방법 또는 제 23항 내지 제 25항 중 어느 한 항의 마이크로어레이 또는 제 26항의 진단 키트의 사용에 따라 반응자로서 특성화된 환자를 치료하는 방법.

청구항 28

제 1항 내지 제 20항 중 어느 한 항의 방법 또는 제 23항 내지 제 25항 중 어느 한 항의 마이크로어레이 또는 제 26항의 진단 키트의 사용에 따라 반응자인 것으로 결정되거나 반응자로서 특성화된 환자를 치료하기 위한 종양 관련 항원을 포함하는 조성물.

청구항 29

제 1항 내지 제 20항 중 어느 한 항의 방법 또는 제 23항 내지 제 25항 중 어느 한 항의 마이크로어레이 또는 제 26항의 진단 키트의 사용에 따라 반응자인 것으로 결정되거나 반응자로서 특성화된 환자를 치료하기 위한 약제의 제조에서 종양 관련 항원을 포함하는 조성물의 용도.

청구항 30

제 27항 내지 제 29항 중 어느 한 항에 있어서, 종양 관련 항원이 MAGE 항원인 방법, 조성물 또는 용도.

청구항 31

제 27항 내지 제 30항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 애주번트를 추가로 포함하는 방법, 조성물 또는 용도.

청구항 32

본원 상세한 설명의 표 1에 나열된 적어도 63개의 유전자의 다수의 검출제에 결합된 솔리드 표면 (solid surface)으로서, 상기 검출제가 유전자의 발현 또는 유전자에 의해 인코딩된 폴리펩티드를 검출할 수 있는, 솔리드 표면.

명세서

기술분야

- [0001] 콤팩트 디스크로 제출된 자료
- [0002] 본 출원인은 2009년 10월 6일자 출원된 미국 가특허출원 61/278387호에서 제출된 2009년 10월 6일자로 생성된 파일명 "VR63933P_pe.txt" (파일 크기 23.330 MB); 및 2009년 10월 6일자로 생성된 "VR63933P_rq.txt" (파일 크기 15.767 MB)를 함유하는 콤팩트 디스크의 자료를 본원에서 참조하며, 이러한 자료의 이익을 본원에서 청구한다. 총 두 개의 콤팩트 디스크 (사본 포함)를 본 문단에서 언급한다.
- [0003] 이러한 디스크상의 pe 데이터를 이용하려면, R 세션에 다음 명령어를 쳐서 VR63933P_pe.txt ASCII 파일을 R 세션으로 가져온다:
- [0004]

```
pe <- read.table("VR63933P_pe.txt ")
```
- [0005]

```
pe <- unstack(pe)
```
- [0006] 이러한 디스크상의 rq 데이터를 이용하려면, R 세션에 다음 명령어를 쳐서 VR63933P_rq.txt ASCII 파일을 R 세션으로 가져온다:
- [0007]

```
rq <- scan("VR63933P_rq.txt.")
```
- [0008] 이러한 데이터의 공개 배포는 본원의 다른 부분에서 기재된다.
- [0009] 본 발명은 유전자 발현 프로파일; 환자를 분류하는 방법; 마이크로어레이; 및 본원에 기재된 방법 및 마이크로어레이를 이용하여 선택된 환자 집단의 치료에 관한 것이다.

배경기술

- [0010] 흑색종은 표피의 멜라닌 세포로부터 기원된 종양이다. 원격 전이로 악성 흑색종을 갖는 환자 (더 아메리칸 조인트 코미션 온 캔서 (the American Joint Commission on Cancer; AJCC) 분류에 따라 단계 IV)는 1년의 평균 생존 기간을 가지며, 단지 5%의 장기 생존율을 갖는다. 단계 IV 흑색종에 대한 표준 화학요법이 단지 8-25%의 치료 반응율을 갖지만, 전반적인 생존에는 영향을 미치지 못하였다. 국소 전이 (단계 III)를 갖는 환자는 2 내지 3년의 평균 수명을 가지며, 심지어 일차 및 국소 전이의 적당한 수술적 제어 후에도 장기간 생존할 확률은 매우 낮다 (Balch et al., 1992). 단계 I 내지 III 흑색종을 갖는 대부분의 환자는 이들의 종양을 수술에 의해 제거하였으나, 이들 환자는 실질적인 재발 위험성을 갖고 있다. 따라서, 흑색종 진행이 예방되어야 하며, 전이성 흑색종에 대한 개선된 치료법 및 일차 종양이 제거된 환자의 보조적인 치료법에 대한 요구가 남아 있다.
- [0011] 두 유형의 폐암이 존재한다: 비소세포 폐암 (NSCLC) 및 소세포 폐암 (SCLC). 명칭은 단순히 종양이 발견된 세포의 유형을 기술한다. NSCLC는 편평세포암종, 선암종 및 대세포 암종을 포함하며, 폐암의 약 80%를 차지한다. NSCLC는 치료가 어려우며, 이용가능한 치료법은 가능한 길게 삶을 연장시키는데 목표를 두는 경향이 있다. NSCLC는 가장 흔한 유형의 폐암이며, 이에 대한 성과는 적다 (Gatzmeier et al., 1994). 모든 NSCLC 환자의 단지 약 25%는 진단시 국소병변을 가지며, 여전히 수술에 의해 적출해낼 여지가 있다 (AJCC 분류에 따라 단계 IB, IIA 또는 IIB). 그러나, 이들 환자중 50% 초과는 완전한 절제 수술 후 2년 이내에 재발될 것이다. 따라서, 이러한 환자를 위한 더욱 우수한 치료가 제공되어야 한다.
- [0012] 전통적인 화학치료제는 환자로의 독성 물질 투여에 기반하고, 부분적으로, 종양/암 세포에 의한 독성제의 침략적인 흡수에 의존적이다. 이들 독성 물질은 환자의 면역계에 나쁜 영향을 미쳐, 개체가 육체적으로 약해지고, 감염에 민감해지게 한다.
- [0013] 암 환자 모두가 현재 암 치료법에 반응하는 것은 아님이 공지되어 있다. 암 환자중 단지 30% 또는 그 미만만이 임의의 주어진 치료법에 반응할 것으로 여겨진다. 치료법에 반응하지 않는 암은 내성으로서 설명된다. 많은

경우에, 환자가 치료에 반응적일 지의 여부를 확인시켜주는 신뢰할 만한 방법은 존재하지 않았다. 그러나, 반응자 및 비-반응자인 환자로의 치료제 투여는 이들이 구별될 수 없기 때문에 자원의 비효율적인 사용에 해당하며, 더욱 나쁘게는, 이미 기술된 바와 같이 많은 암 치료제가 현저한 부작용 예컨대, 심각한 면역억제, 구토 및 /또는 탈모를 갖기 때문에 환자에 해를 끼칠 수 있다. 치료제가 필요하지 않거나 비효과적일 경우에도, 환자가 이를 수용하는 경우가 많은 것으로 여겨진다.

- [0014] 항원, 펩티드, DNA 등에 기반한 암 치료제의 새로운 생성은 수많은 그룹에 의해 현재 조사중에 있다. 종종 암 면역치료제로서 불리는 많은 이러한 치료제 배후의 방법은 환자 면역 시스템을 암과 싸우도록 자극하는 것이다. 이러한 치료제는 이러한 치료로 인한 부작용이 암 치료시 환자가 일반적으로 겪게 되는 부작용과 비교하여 최소인 것으로 예상되기 때문에 유리할 것으로 여겨진다. 암 면역치료제에 사용된 항원은 ASCI로서 불릴 수 있으며, 이는 항원-특이적 암 면역치료제이다.
- [0015] 1980년대 초기에, 반 펠 (Van Pel) 및 본 (Boon)은 종양 세포상에 제시된 항원에 대해 유도된 세포용해성 T 세포의 발견을 공개하였다. 이는 제 1 종양 특이적 공유된 항원의 특징을 규명하였다: 흑색종 AGE-I (MAGE-I, 후에, MAGE-A1로 다시 불림). 이어서, 동일한 유전자 발현 패턴을 공유하는 수많은 유전자를 확인하였다: 이들은 다양한 범위의 종양 유형, 예컨대 흑색종, 폐암, 방광암, 유방암, 두경부암에서 발현된다. 이들은 고환을 제외한 정상 세포에서는 발현되지 않는다. 그러나, 고환에서의 이러한 발현은 일반적으로 항원 발현을 유도하지 않는데, 이들 생식선 세포는 MHC 클래스 I 분자를 발현하지 않기 때문이다. 이들의 독특한 발현 프로파일로부터, 고환암 (CT) 유전자의 명칭이 이들 유전자에 대해 제안되었다.
- [0016] MAGE 항원은 흑색종-관련 항원 유전자 (MAGE)의 패밀리에 의해 엔코딩된 항원이다. MAGE 유전자는 흑색종 세포 (악성 흑색종 포함) 및 NSCLC (비소세포 폐암), 두경부 편평세포 암종, 방광 이행세포 암종 및 식도 암종을 포함하는 일부 그 밖의 암 상에서 우세하게 발현되지만, 고환 및 태반을 제외한 정상 조직에서는 검출불가능하다 (Gaugler et al Human gene MAGE-3 codes for an antigen recognized on a melanoma by autologous cytolytic T lymphocytes J Exp Med. 1994 Mar 1; 179(3):921-930); Weynants et al Expression of mage genes by non-small-cell lung carcinomas Int. J Cancer. 1994 Mar 15;56(6):826-829, Patard et al Int J. Cancer 64: 60, 1995). MAGE-A3는 흑색종의 69%에서 발현되며 (Gaugler, 1994), NSCLC의 44% (Yoshimatsu 1988), 두경부 편평 세포 암종의 48%, 방광 이행세포 암종의 34%, 식도 암종의 57%, 결장암의 32% 및 유방암의 24%에서도 검출될 수 있다 (Van Pel, et al Genes coding for tumor antigens recognized by cytolytic T lymphocytes Immunological Reviews 145, 229-250, 1995, 1995.); Inoue 1995; Fujie 1997; Nishimura 1997). MAGE 단백질을 발현하는 암은 Mage 관련 종양으로서 공지되어 있다.
- [0017] 예를 들어, 암 환자의 진단 및 예후를 보조하는, 예를 들어 전이, 재발 또는 질환의 진행 위험성을 갖지 않기 때문에 추가의 치료가 불필요한 환자를 식별하기 위한 많은 작업이 수행되었다.
- [0018] WO 2006/124836는 수개의 암유발 경로에 대한 특정 유전자 발현 시그니처를 확인하여, 환자의 예후 및 이들 경로를 표적으로 하는 치료제에 대한 민감성을 규정한다. 특이적 발암유전자로는 Myc, Ras, E2, S3, Src 및 베타-카테닌이 있다.
- [0019] US 2006/0265138에는 일반적으로, 일차 종양을 확인하기 위한 유전자 프로필을 생성시켜 적합한 치료제를 제공할 수 있는 방법이 기술되어 있다.
- [0020] US 2006/0240441 및 US 2006/0252057에는 특정 유전자의 차별적인 발현에 기반하여 폐암을 진단하는 방법이 기술된다.
- [0021] US 2006/0234259는 전립선암과 관련된 특정 유전자 발현 프로필의 확인 및 용도에 관한 것이다.
- [0022] WO 2006/103442에는 타목시펜과 같은 특정 호르몬 치료제 및 또한, 특정 화학치료제에 대한 반응의 예측적인 시그니처로서 작용하는 에스트로젠 수용체 (ER) 포지티브 종양의 서브세트에서 발현된 유전자 발현 프로필이 기술되어 있다.
- [0023] WO 2006/093507에는 결장직장암 환자를 우수한 예후 또는 나쁜 예후를 갖는 환자로 특성화하는데 유용한 유전자 프로필이 기술되어 있으며, 여기서 우수한 예후를 갖는 환자가 화학치료제에 적합하다.
- [0024] WO 2006/092610에는 특정 유전자의 차별적인 발현에 기반한 흑색종 진행을 모니터링하는 방법 및 질환에 대한 신규한 마커, 특히 TSBY1, CYBA 및 MT2A가 기술되어 있다.
- [0025] WO 2005/049829에는 erbB 수용체 키나제 억제제, 예컨대 게피티닙 (gefitinib)인 화학치료제에 대한 특정 암의

민감성을 예측하는데 사용될 수 있는 분리된 마커 유전자 세트가 기술되어 있다.

[0026] 마이크로어레이 유전자 프로파일링은, 어떠한 치료적 중재에도 불구하고, 암환자가 치료제에 반응할지를 예측하거나 질병의 예후를 평가하기 위한 강력한 기법인 것으로 밝혀졌다. 유방암 및 여포성 림프종에서 상이한 예후와 관련되는 것으로 여겨지는 프로필을 확인하기 위해 수많은 광범한 범위의 임상 시험이 현재 진행중이다 (Dave, 2004; Hu, 2006; Weigelt, 2005).

[0027] 종양 세포를 포함하는 세포는 수 백 심지어 수 천개의 유전자를 발현시킨다. 치료제에 반응하지 않는 환자에 비해 반응하는 환자들간에 유전자의 차별적인 발현은 반응할 것 같은 환자에 대한 특수한 맞춤 치료를 가능하게 할 수 있다.

발명의 내용

[0028] 발명의 개요

[0029] 일 양태에서, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 환자를 적합한 면역치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 분류하는 방법을 제공한다:

[0030] (a) 환자 유래 샘플에서 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 측정하는 단계로서, 유전자(들)는 표 1로부터 선택된 것인, 단계; 및

[0031] (b) 파라미터가 트레이닝 세트에 의해 정의된 알고리즘을 이용하여 상기 (a)의 발현 수준에 기반하여 환자를 반응자 또는 비-반응자 그룹으로 분류하는 단계.

[0032] 일 양태에서, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 환자를 치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 방법을 제공한다:

[0033] (a) 환자 유래 샘플을 표 1의 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 차별적인 발현에 대해 분석하는 단계; 및

[0034] (b) 샘플이 유래된 환자를 상기 (a)의 결과에 기반하여 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 단계로서, 특성화 단계가 표준 또는 트레이닝 세트에 대한 참조 또는 비교에 의해서 수행되거나 알고리즘의 파라미터가 표준 또는 트레이닝 세트로부터 수득된 알고리즘을 이용하여 수행되는, 단계.

[0035] 일 구체예에서, 표 1의 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 차별적인 발현에 대해 환자 유래 샘플의 분석을 달성함에 의해 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 그 결과로부터 환자를 면역치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하고, 특성화 단계는 표준 또는 트레이닝 세트에 대한 참조 또는 비교에 의해서 수행되거나 알고리즘의 파라미터가 표준 또는 트레이닝 세트로부터 수득된 알고리즘을 이용하여 수행된다. 그 후, 환자가 면역치료제에 대해 반응자로서 특성화된 경우, 적합한 면역치료제의 하나 이상의 투여를 위해 환자를 선택한다.

[0036] 일 구체예에서, 환자 유래 샘플을 수득하고 표 1의 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 차별적인 발현에 대해 환자 유래 샘플을 분석함으로써 환자가 면역치료제에 대해 반응자 또는 비-반응자일지를 결정하는 방법이 제공된다. 그 결과로부터 환자를 면역치료제에 대해 반응자 또는 비-반응자로서 특성화할지를 결정하며, 특성화 단계는 표준 또는 트레이닝 세트에 대한 참조 또는 비교에 의해서 수행되거나 알고리즘의 파라미터가 표준 또는 트레이닝 세트로부터 수득된 알고리즘을 이용하여 수행된다.

[0037] 일 구체예에서, 단계 (b)는 수리적 분별 함수 또는 판단 트리(decision tree)에 기반한다. 판단 트리는 하나 이상의 이변량 분류 단계를 포함할 수 있다.

[0038] 추가의 구체예에서, 본 발명은, 환자 유래 샘플에서, 표 1에 나열된 프로브 세트 중 하나 이상에 의해 인지된 유전자 생성물을 분석하는 것을 포함하는, 환자를 치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 방법을 제공하며, 프로브 세트의 표적 서열은 표 3에 제시되어 있고, 특성화 단계는 표준 또는 트레이닝 세트에 대한 참조 또는 비교에 의해서 수행되거나 알고리즘의 파라미터가 표준 또는 트레이닝 세트로부터 수득된 알고리즘을 이용하여 수행된다.

[0039] 예시적인 구체예에서, 표 1의 하나 이상의 유전자 또는 프로브 세트는 표 1에 나열된 적어도 63개의 유전자 또는 표 1에 나열된 적어도 74개의 프로브 세트이다.

[0040] 예시적인 구체예에서, 본 발명의 방법은 표 2, 5, 7 또는 9에 명시된 유전자의 발현 수준의 측정 또는 프로브 세트의 유전자 생성물의 측정을 포함한다. 이러한 표들의 각각의 유전자 및 프로브 세트 뿐 아니라 유전자의 그룹 또는 프로브 세트들이 본 발명의 특정 양태를 형성한다. 표 2, 5, 7 및 9의 유전자 및 프로브 세트는 표

1의 유전자 및 프로브 세트의 특수한 서브세트를 나타낸다.

- [0041] 또한 MAGE-A3 ASCI 또는 임의의 면역치료 접근법에 대한 반응자 환자 및 비-반응자 환자를 구별하는데 사용될 수 있는 예측 유전자 프로필이 제공되며, 여기서 프로필은 표 1에 나열된 유전자로부터 선택된 하나 이상의 유전자를 포함한다.
- [0042] 일 구체예에서, 본원에 기재된 유전자 프로필이 제공되며, 여기서 유전자는 표 1에 나열된 프로브 세트에 의해 인지된 유전자이다.
- [0043] 추가의 양태에서, 프로필은 표 1에 나열된 모든 유전자를 포함하거나 이로 구성되거나, 표 1에 나열된 프로브 세트에 의해 인지되거나 표적화된 모든 유전자를 포함하거나 이로 구성된다.
- [0044] 일 양태에서, 본 발명은 표 1에 나열된 유전자로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 서열에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브를 포함하는 마이크로어레이를 제공하며, 이 때 표 1의 유전자에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브 또는 프로브 세트는 상기 마이크로어레이 상의 프로브 또는 프로브 세트의 50% 이상을 구성한다.
- [0045] 일 양태에서, 본 발명은 표 1에 나열된 유전자로부터 선택된 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 서열에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브를 포함하는 마이크로어레이를 제공한다.
- [0046] 일 양태에서, 본 발명은 표 1에 나열된 유전자 중 적어도 63개의 다수의 검출제에 결합된 솔리드 표면(solid surface)을 제공하며, 검출제는 유전자에 의해 엔코딩된 폴리펩티드 또는 유전자의 발현을 검출할 수 있다.
- [0047] 일 양태에서, 본 발명은 표 1에 나열된 유전자 중 하나 이상 또는 표 1에 나열된 유전자의 유전자 생성물 중 하나 이상의 발현을 검출하는 수단을 포함하는 진단 키트를 제공한다. 발현은 mRNA 또는 cDNA 유전자 생성물과 하이브리드화되는 프로브에 의해 검출될 수 있다.
- [0048] 일 양태에서, 본 발명은 표 1의 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물, 예를 들어 mRNA 또는 cDNA, 또는 표 1에 나열된 유전자의 유전자 생성물을 확인하기 위한 하나 이상의 프로브를 제공한다.
- [0049] 일 양태에서, 본 발명은 표 1의 유전자 생성물 중 하나 이상, 또는 본원에 기재된 유전자 프로필의 유전자 생성물의 차별적인 발현 (예를 들어 상향조절)을 확인하기 위한 PCR (또는 다른 공지된 기법)의 용도를 제공한다.
- [0050] 추가의 구체예에서, 본 발명은 본원에 기재된 치료제, 백신 또는 면역원성 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 치료제에 대한 반응자로서 특성화된 환자를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0051] 추가의 구체예에서, 본 발명은 대안적인 치료제 또는 조합된 치료제, 예를 들어 본원에 기재된 백신 또는 면역원성 조성물 대신에 또는 이에 추가하여 사용될 수 있는 화학치료제 및/또는 방사선 요법을 투여하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 방법에 따라 치료제에 대해 비-반응자로서 특성화된 환자를 치료하는 방법 또는 본원에 기재된 진단 키트의 용도를 제공한다.
- [0052] 추가의 구체예에서, 본 발명은 본원에 기재된 방법에 따라 반응자로서 특성화된 환자를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서 종양 관련 항원을 포함하는 조성물의 용도, 본원에 기재된 마이크로어레이의 용도, 본원에 기재된 유전자 프로필의 용도 또는 본원에 기재된 진단 키트의 용도를 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0053] 도 1/21은 리브 원 아웃 교차확인 (Leave One Out Cross Validation (LOOCV))을 위한 계획을 도시한다.
 도 2/21은 각각의 루프에서 분류에 가장 좋은 100개 PS를 선택하는 LOOCV의 결과를 도시한다. 빈 원 = 비-반응자, AS02B 아암. 채워진 원 = 반응자, AS02B 아암. 빈 삼각형 = 비-반응자, AS15 아암. 채워진 삼각형 = 반응자, AS15 아암.
 도 3/21은 프로브 세트 (PS)가 각각의 LOOCV에서 100개의 상위 s2n (신호 대 노이즈) 내에 있는 갯수를 나타낸다 (X 축상의 PS 수).
 도 4/21은 II상 흑색종 시험에서 모든 환자에 대하여 애주버트에 의한 전반적인 생존 (OS)에 대한 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 곡선(KM)을 도시한다; 실선 = AS15 아암. 점선 = AS02B 아암.
 도 5/21은 LOOCV 분류에 기반한 유전자 시그너처에 의한 전반적인 생존에 대한 KM을 도시한다: 실선 = 유전자 시그너처 포지티브 (GS+); 점선 = 유전자 시그너처 네거티브 (GS-).

도 6/21은 LOOCV 분류에 기반한 유전자 시그너처 및 애주번트에 의한 전반적인 생존 카플란-마이어 곡선을 도시한다. 굵은 실선 = AS15 아암, GS+. 굵은 점선 = AS15 아암, GS-. 얇은 실선 = AS02B 아암, GS+. 얇은 점선 = AS02B 아암, GS-.

도 7/21은 100개 PS를 이용한 샘플의 분류를 도시한다 (리브 윈 아웃 아님). 빈 원 = 비-반응자, AS02B 아암. 채워진 원 = 반응자, AS02B 아암. 빈 삼각형 = 비-반응자, AS15 아암. 채워진 삼각형 = 반응자, AS15 아암.

도 8/21은 표 5에 명시된 PCR에 의해 측정된 22개 유전자를 이용한 상응하는 샘플의 리브 윈 아웃 분류를 도시한다. 빈 원 = 비-반응자, AS02B 아암. 채워진 원 = 반응자, AS02B 아암. 빈 삼각형 = 비-반응자, AS15 아암. 채워진 삼각형 = 반응자, AS15 아암.

도 9/21은 표 5에 명시된 22개 유전자를 이용한 샘플의 분류를 도시한다 (리브 윈 아웃 아님). 빈 원 = 비-반응자, AS02B 아암. 채워진 원 = 반응자, AS02B 아암. 빈 삼각형 = 비-반응자, AS15 아암. 채워진 삼각형 = 반응자, AS15 아암.

도 10/21은 NSCLC II상 시험 설계를 도시한다.

도 11/21은 NSCLC 시험에 있어서 질환이 없는 간격에 대한 KM 곡선을 도시한다. 원으로 된 실선 = MAGE-A3; 사각형으로 된 대시 선 = 플라시보.

도 12/21은 본 출원의 실시예에 사용된 Cox-SPCA 방법을 도시한다.

도 13/21은 PCR에 의해 측정된 표 6에 나열된 23개 유전자를 이용하여 정중값이 컷오프인 LOOCV 분류에 기반한 유전자 프로필에 의한 생존 곡선을 도시한다: 굵은 실선 = MAGE 면역치료제, GS+. 굵은 점선 = MAGE 면역치료제, GS-. 얇은 실선 = 플라시보, GS+. 얇은 점선 = 플라시보, GS-.

도 14/21은 LOOCV 분류를 이용하여 PCR에 의해 측정된 표 6에 나열된 23개 유전자를 이용하여 129개 NSCLC 샘플에서 플라시보 (왼쪽 패널) 및 백신 아암 (오른쪽 패널)간 위험 점수의 분포를 도시한다. 채워진 마름모 = 재발; 빈 마름모 = 비-재발.

도 15/21은 표 6에 나열된 대로 분류자에서 Q-PCR에 의한 23개 유전자를 이용한 분류에 기반한 임상 결과를 도시한다 (리브 윈 아웃 아님). 굵은 실선 = MAGE 면역치료제, GS+. 굵은 점선 = MAGE 면역치료제, GS-. 얇은 실선 = 플라시보, GS+. 얇은 점선 = 플라시보, GS-.

도 16/21은 표 6에 나열된 대로 분류자에서 Q-PCR에 의한 23개 유전자를 이용한 분류에 기반한 플라시보 (왼쪽 패널) 및 백신 아암 (오른쪽 패널)간 위험 점수를 도시한다 (리브 윈 아웃 아님). 채워진 마름모 = 재발; 빈 마름모 = 비-재발.

도 17/21은 표 5에 나열된 22개 유전자를 이용하여 129개 NSCLC 샘플에서 정중값이 컷오프인 LOOCV 분류에 기반한 유전자 프로필에 의한 생존 곡선을 도시한다: 굵은 실선 = MAGE 면역치료제, GS+. 굵은 점선 = MAGE 면역치료제, GS-. 얇은 실선 = 플라시보, GS+. 얇은 점선 = 플라시보, GS-.

도 18/21은 LOOCV 분류를 이용하여 표 5에 나열된 22개 유전자를 이용하여 129개 NSCLC 샘플에서 플라시보 (왼쪽 패널) 및 백신 아암 (오른쪽 패널)간 위험 점수의 분포를 도시한다. 채워진 마름모 = 재발; 빈 마름모 = 비-재발.

도 19/21은 표 5에 나열된 대로 분류자에서 Q-PCR에 의한 22개 유전자를 이용한 분류에 기반한 임상 결과를 도시한다 (리브 윈 아웃 아님). 굵은 실선 = MAGE 면역치료제, GS+. 굵은 점선 = MAGE 면역치료제, GS-. 얇은 실선 = 플라시보, GS+. 얇은 점선 = 플라시보, GS-.

도 20/21은 표 5에 나열된 대로 분류자에서 Q-PCR에 의한 22개 유전자를 이용한 분류에 기반한 위험 점수를 도시한다 (리브 윈 아웃 아님). 채워진 마름모 = 재발; 빈 마름모 = 비-재발.

도 21/21은 단백질 D 1/3 - MAGE3 - HIS 단백질을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0054] 서열 인식표시 및 표:

[0055] 하기 서열 인식표시를 서열 목록에 포함시켰다:

- [0056] SEQ ID NO: 1-100 - 표 3에 도시된 프로브 세트 표적 서열
- [0057] SEQ ID NO: 101 - 단백질 D - MAGE-A3 융합 단백질
- [0058] SEQ ID NO: 102-106 - CpG 올리고뉴클레오티드 서열
- [0059] SEQ ID NO: 107-113 - MAGE 펩티드 서열
- [0060] 표 1: 100 PS 및 상응하는 유전자 목록.
- [0061] 표 1A: 모든 샘플을 이용하여 선택된 100 PS 및 LOOCV에서 선택된 시간
- [0062] 표 2: 표 1로부터의 27 PS 및 21개 유전자의 서브세트
- [0063] 표 3: 100 PS 표적 서열
- [0064] 표 4: 100 PS 분류자 피쳐(feature)에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC₁ 계수
- [0065] 표 5: 흑색종에서 22개 유전자의 적합한 서브세트
- [0066] 표 6: 흑색종의 22개 유전자 분류자 피쳐에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC₁ 계수
- [0067] 표 7: NSCLC에서 23개 유전자의 적합한 서브세트
- [0068] 표 8: NSCLC의 23개 유전자 분류자 피쳐에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC₁ 계수.
- [0069] 표 9: NSCLC에서 22개 유전자의 적합한 서브세트
- [0070] 표 10: NSCLC의 22개 유전자 분류자 피쳐에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC₁ 계수.
- [0071] 표 11: 흑색종 샘플에서 Q-PCR에 의해 측정된 개별적인 유전자의 분류 성능
- [0072] 표 12: NSCLC 샘플에서 Q-PCR에 의해 측정된 개별적인 유전자의 분류 성능
- [0073] 표 13: 흑색종 샘플에서 마이크로어레이에 의해 측정된 개별적인 유전자의 분류 성능
- [0074] 발명의 상세한 설명
- [0075] **예측 유전자 프로필**
- [0076] 외과적 절제술 후에, 악성 흑색종을 지니는 환자로부터의 전처리 종양 조직에 대해 수행된 분석은, 특정 유전자가 치료제에 덜 반응할 것 같았던 환자 (비-반응자)에 비해 더 잘 반응할 것 같았던 환자 (반응자)에서 차별적으로 발현되었음을 확인시켜 주었다.
- [0077] 본 발명자들은 치료제에 대한 환자의 반응의 가능성을 예측하는 유전자 프로필을 발견하였다.
- [0078] "유전자 프로필"은 유전자 또는 유전자 세트의 발현이 치료제에 대한 환자 반응과 관련된 유전자 또는 유전자 세트를 나타내는데, 그 이유는 유전자 또는 유전자 세트가 치료제에 대해 유리한 반응을 지니는 환자와 치료제에 대해 불리한 반응을 지니는 환자간에 차별적인 발현을 나타내기 때문이다. 본 발명의 일 구체예에서, 용어 "유전자 프로필"은 표 1에 나열된 유전자 또는 본원에 기재된 표 1의 유전자의 어떠한 선택을 지칭한다.
- [0079] 본원에서 사용된, 예를 들어 항암 치료에 대한 "유리한 반응" (또는 "유리한 임상 반응")은 교대 치료를 발생 시키거나 어떠한 치료도 없는 종양 성장에 비해, 감소된 속도의 종양 성장을 나타내는 당업자에게 인지된 생물학적 또는 물리적 반응을 지칭한다. 치료제에 대한 유리한 임상 반응은 피검체가 경험하는 징후의 감소, 예상되거나 달성된 생존 시간의 증가, 종양 성장의 감소된 속도, 종양 성장의 정지 (안정한 질환), 전이 병변의 수 또는 크기에서의 회귀, 및/또는 전체적인 종양 크기의 회귀 (각각은 치료제의 부재하에 또는 교대 치료제에 반응하여 발생할 종양 성장과 비교됨)를 포함할 수 있다. 애주버트 암 치료제의 경우에, 유리한 임상 반응은 재발의 부재 또는 재발 속도의 지연 또는 질환이 없는 생존 기간 또는 시간 간격의 증가를 포함할 수 있다.
- [0080] 본 발명의 문맥에서 "차별적인 발현"이란 유전자가 이의 정상적인 발현과 비교하여 상향조절되거나 하향조절됨을 의미한다. 유전자의 차별적인 발현을 계산하기 위한 통계학적 방법은 본원의 다른 부분에서 논의된다.
- [0081] 일부 양태에서, 본 발명은 치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 환자를 특성화하는 유전자 프로필을 제공하는데, 상기 프로필은 표 1의 하나 이상의 유전자의 차별적인 발현을 포함하거나 상기 프로필은 표 1에 나열된

유전자를 포함하거나 이로 구성된다. 프로필은 반응자 또는 비-반응자를 나타낼 수 있다. 일 구체예에서, 본원에 기재된 유전자 프로필은 반응자를 나타낸다.

- [0082] 표 1의 프로브 세트에 의해 인지되거나 표적화된 유전자 서열이 표 3에 나열된다.
- [0083] "표 1의 유전자"는 표 1, 2, 5, 7 또는 9의 "유전자 명칭"하에 나열된 유전자를 의미한다. "유전자 생성물"은 천연적이거나 인위적인 수단에 의해 생산되든지 간에, 유전자의 전사 또는 번역의 어떠한 생성물을 의미한다.
- [0084] 본 발명의 일 구체예에서, 본원에서 지칭된 유전자는 "유전자 명칭"이라고 표시된 열(column)에 정의된 대로 표 1, 2, 5, 7 또는 9에 나열된 것들이다. 또 다른 구체예에서, 본원에서 지칭된 유전자는 유전자의 생성물이 표 1에 나열된 프로브 세트에 의해 인지될 수 있는 유전자이다.
- [0085] 이론에 구속시키고자 하는 것은 아니지만, 표 1에서 확인된 유전자 시그너처는 사실상 면역/염증, 예컨대 반응자로서 지정된 환자에서 T 세포 침윤/활성화 반응을 나타내는 것으로 가정되고, 예를 들어 상기 시그너처는 T 세포 활성화 마커를 나타낼 수 있다. 상기 시그너처는 또한 세포 매개 면역 반응의 유도를 촉진하는 경향이 있는 인터페론 경로의 구성원을 포함하는 Th1 마커를 나타낼 수 있다. 이러한 반응의 존재는 면역치료제의 투여 후에 암과 같은 질병과 싸우는 환자의 몸을 도와서 환자가 상기 면역치료제에 더욱 반응성이 되게 하는 것으로 여겨진다.
- [0086] 따라서 본 발명의 시그너처는 일반적으로 관련 질병, 예를 들어 종양유전자와 같은 암의 진단 및/또는 예후와 특이적으로 관련된 마커/유전자에 초점을 맞추는 것이 아니라, 오히려 암 면역치료제과 같은 적합한 면역치료제에 환자가 반응할지 여부를 예측하는 것이다.
- [0087] 본원에서 확인된 유전자 프로필은 종양의 미세환경을 나타내는 것으로 여겨진다. 적어도 이러한 양태에서, 종양의 정확한 미세환경은 환자가 적합한 암 면역치료제에 반응할지에 관한 관문이 될 것으로 보인다.
- [0088] 시그너처의 생물학은 ASCI 작용 방식과 관련되는데, 그 이유는 상기 시그너처가 인터페론 경로의 구성원을 포함하는 T 세포 마커 및 Th1 마커의 상향조절을 나타내는 반응자 환자의 종양에서 면역 이펙터 세포의 존재에 유리한 특이적 종양 미세환경(케모킨)의 존재를 암시하는 유전자를 함유하기 때문이다. 전이 흑색종에서 최근의 유전자 발현 프로파일링 연구는 종양이 T 세포 관련 전사체의 존재 또는 부재에 기반하여 분리될 수 있었음을 나타내었다(Harlin, 2009). 종양에서 림프구의 존재는 6개 케모킨(CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9, CXCL10)의 서브세트의 발현과 관련되었고, 이러한 6개의 유전자 중 3개(CCL5, CXCL9, CXCL10)는 표 1의 100 PS에 존재한다.
- [0089] 일 구체예에서, 본 발명은 표 1에 나열된 하나 이상의 (예컨대 실질적으로 모든) 유전자를 사용한다. 적합하게는, 본 발명은 표 1에 나열된 유전자들 중 적어도 63개 또는 프로브 세트 중 적어도 74개를 사용한다.
- [0090] 적합하게는, 표 1의 하나 이상의 유전자는 표 1에 나열된 적어도 63개, 적어도 64개, 적어도 65개, 적어도 66개, 적어도 67개, 적어도 68개, 적어도 69개, 적어도 70개, 적어도 71개, 적어도 72개, 적어도 73개, 적어도 74개, 적어도 75개, 적어도 76개, 적어도 77개, 적어도 78개, 적어도 79개, 적어도 80개의 유전자 또는 실질적으로 모든 유전자 및/또는 이들의 임의의 조합이다.
- [0091] 적합하게는, 표 1의 하나 이상의 프로브 세트는 표 1에 나열된 적어도 74개, 적어도 75개, 적어도 76개, 적어도 77개, 적어도 78개, 적어도 79개, 적어도 80개, 적어도 81개, 적어도 82개, 적어도 83개, 적어도 84개, 적어도 85개, 적어도 86개, 적어도 87개, 적어도 88개, 적어도 89개, 적어도 90개의 프로브 세트 또는 실질적으로 모든 프로브 세트 및/또는 이들의 임의의 조합이다.
- [0092] 유전자 목록과 관련하여 실질적으로 모든이라 함은 주어진 목록의 유전자의 적어도 90%, 예컨대 95%, 특히 96, 97, 98 또는 99%일 것이다.
- [0093] 일 양태에서, 본 발명은 전이 환경에 적용된다.
- [0094] 유전자가 반응자 (또는 대안적으로 비-반응자)로서 간주된 환자에서 항상 상향조절되거나 항상 하향 조절되는 경우, 일단 역치가 성립되면 환자가 반응자 또는 비-반응자인지의 여부를 확립하는데 이러한 단일 유전자를 사용할 수 있는데, 단, 두 그룹이 충분히 분리되어야 한다.
- [0095] 일 양태에서, 본 발명은 상기 유전자 중 하나 이상을 포함하는 반응자를 확인하기 위한 유전자 프로필을 제공하며, 여기서 유전자의 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 99 또는 100%가 상향조절된다. 대조적으로 비-반응자에서, 유전자/유전자들은 상향조절되지 않고/거나 하향조절된다.

- [0096] 본 발명과 관련하여, 샘플은 잠재적으로 치료가 필요한 환자로부터 유래된 어떠한 생물학적 조직 또는 체액일 수 있다. 샘플은 타액, 혈액, 소변, 또는 일차 종양 또는 전이부, 또는 사전에 제거된 조직의 단편으로부터의 생검과 같은 고품 조직으로부터 유래될 수 있다.
- [0097] 샘플은, 예를 들어 바늘 생검 중심부, 외과적 절제 샘플 또는 림프절 조직을 포함하거나 이로 구성될 수 있었다. 이러한 방법은, 종양 세포를 총 세포 집단의 약 80%까지 풍부하게 하기 위한 냉동미세절단 절편에 의해 임의로 분획화된 생검을 수득하는 것을 포함한다. 특정 구체예에서, 이러한 샘플로부터 추출된 핵산을 당 분야에 널리 공지된 기법을 이용하여 증폭시킬 수 있다. 선택된 마커의 수준을 검출할 수 있고, 예를 들어 Mage 포지티브 비-반응자 환자의 통계적으로 유효한 그룹과 비교할 수 있다.
- [0098] 종양에 관한 분석을 위해, 생물학적 샘플을 수득하여 암 또는 종양 세포를 함유하는 샘플에 대한 기회를 최대화 할 것이고, 생물학적 샘플은, 예를 들어 신선한 샘플 (동결된 샘플 포함) 또는 파라핀에서 보존된 샘플과 같은 암 또는 종양으로부터 유래될 수 있다. 여기에 언급된 파라핀에서 보존된 샘플은 분해될 수 있고, 관찰된 프로 필은 변형될 수 있다. 당 분야에 종사하는 기술자는 프로필의 파라미터를 재측정함에 의해 관찰된 이러한 변화 들을 잘 보정할 수 있다.
- [0099] 일 양태에서, 생물학적 샘플은, 예를 들어 종양 또는 암성 조직으로부터의 생검 샘플이다.
- [0100] 일 양태에서, 암 면역치료제는 흑색종, 폐암, 예를 들어 NSCLC, 방광암, 경부암, 결장암, 유방암, 식도 암종 및 /또는 전립선암, 예컨대 폐암 및/또는 흑색종, 특히 흑색종의 치료를 위한 것이다.
- [0101] 본 발명과 관련하여 "반응자"는 암/종양(들)이 근절되거나, 감소되거나 개선되거나 (완전 반응자 또는 부분 반응자; 혼합된 반응자) 단순히 안정화되어 이러한 질환이 더 이상 진행되지 않는 ("안정한 질환") 사람을 포함한다. 암에 관해 "완전 임상 반응자"는 표적 병변이 전부 사라진 것이다.
- [0102] 암에 있어서 "부분 임상 반응자" 또는 "부분 반응자"는 종양/암의 전부가 어느 정도 치료에 반응한 것이며, 예를 들어 상기 암이 30, 40, 50, 60% 또는 그 초과로 감소된다.
- [0103] "진행성 질환"은 표적 병변의 크기가 20% 증가하거나 하나 이상의 새로운 병변이 출현하거나 이들 둘 모두를 나타낸다.
- [0104] 진행성 질환 (PD)을 지니는 환자는 추가로 혼합된 반응을 지니지 않는 PD 또는 타입 I 또는 II의 "혼합된 임상 반응자"를 지니는 진행성 질환에 대한 분류자일 수 있거나 암에 관한 "혼합된 반응자"는 종양/암의 일부가 치료에 반응하고 나머지는 변화되지 않은 채로 남아 있거나 진행되는 것으로서 정의된다.
- [0105] 비-반응자(NR)는 하나 이상의 표적 병변의 소실을 나타내지 않은 혼합된 반응 II를 지니는 진행성 질환 및 혼합된 반응이 없는 진행성 질환을 지닌 환자로서 정의된다.
- [0106] 반응자에서, 암이 안정되면, 안정화 기간은 삶의 질 및/또는 환자의 삶의 기대가 치료를 받지 않은 환자에 비해 증가되도록 한다 (예를 들어, 6개월 초과 동안 안정한 질환).
- [0107] 일부 구체예에서, 용어 "반응자"는 "혼합된 반응자"를 포함하지 않을 수 있다.
- [0108] 반응자 (유전자 시그너처 포지티브) 또는 비-반응자 (유전자 시그너처 네거티브)로서 새로운 환자의 예측된 특성화는 "표준(standard)" 또는 트레이닝 세트 (training set)를 참조로 하여 또는 파라미터가 트레이닝 세트로부터 수득된 수리적 모델/알고리즘 (분류자)를 이용하여 수행될 수 있다. 표준은 반응자 또는 비-반응자인 것으로 공지된 인간/환자(들)의 프로필일 수 있거나, 대안적으로, 수치값일 수 있다. 그러한 소정의 표준은 인쇄된 목록 또는 다이어그램, 컴퓨터 소프트웨어 프로그램 또는 그 밖의 매체와 같은 임의의 적합한 형태로 제공될 수 있다.
- [0109] 표준은 적합하게는, 표준 정보와 환자 유래 샘플에서 동일한 유전자의 발현 관련 정보와의 비교가 환자에서 반응자 또는 비-반응자 상태에 대한 결론을 도출할 수 있도록 하는, 공지된 반응자 또는 비-반응자 상태에 있는 환자 또는 환자들의 유전자 생성물 또는 생성물들의 발현에 대한 수치, 또는 이들의 기능이다. 표준은 반응자 또는 비-반응자로 공지된 하나 이상의 개체의 분석으로부터, 및 표 1의 하나 이상의 유전자를 이용하여 수득될 수 있다.
- [0110] 트레이닝 세트 또는 트레이닝 세트로부터 수득된 파라미터의 비제한적인 예는 하기 실시예 1에 논의된 샘플 표준화에 사용된 참조 데이터 세트, 참조 분위수(quantile), 프로브 효과 또는 R 대상 포맷 데이터이다. 반응자

또는 비-반응자로서의 환자의 분류에 있어서 이러한 특정 실시예의 이용은 본 발명의 특정 양태를 형성한다.

- [0111] 일 양태에서, 표준 또는 트레이닝 세트를 참조로 하여 통계적 분석을 수행한다. 표 1의 유전자 목록은 비교상 그룹으로서의 트레이닝 세트의 환자의 임상 결과 (반응자 및 비-반응자)를 이용하여 각각의 프로브 세트의 신호 대 노이즈를 계산함에 의해 생성되었다. 이어서 트레이닝 세트로부터 유래된 분류자 파라미터를 이용하여 새로운 샘플에 대한 분류를 예측한다.
- [0112] 본 명세서와 관련하여 트레이닝 세트는 임상 결과가 유전자 프로필과 상호관련될 수 있으며, 새로운 샘플에 대한 반응자 및/또는 비-반응자를 확인하기 위한 적합한 통계학적 모델/프로그램을 트레이닝하는데 사용될 수 있는 샘플의 그룹을 나타내고자 한 것이다.
- [0113] 이론에 구속시키고자 하는 것은 아니지만, 표 1의 100개 유전자 중 적어도 68개가 트레이닝 세트에서의 변화에 내성인 것으로 여겨진다. 이러한 유전자는 본 발명의 특수한 양태를 형성한다. 이러한 유전자는 표 1A의 5열로부터 확인될 수 있다.
- [0114] 일 양태에서, 수리적 모델/알고리즘/통계학적 방법을 이용하여 환자를 반응자 또는 비-반응자로서 특성화한다.
- [0115] 특성화를 위한 알고리즘은, 비록 실시예 1-7의 어떠한 알고리즘과 같은 임의의 적합한 특성화 알고리즘을 이용할 수 있으나, 어떠한 하나의 유전자 및 어떠한 하나의 공지된 반응자 또는 비-반응자로부터의 유전자 발현 정보를 이용하고 적합하게는 관리된 주요 성분 분석(supervised principal component analysis)에 기반한다.
- [0116] 특히, 알고리즘은 실시예 1에 도시된 분별 분석 알고리즘 (Discriminant analysis algorithm)과 함께 관리된 주요 성분 분석을 이용하거나 실시예 3에 도시된 cox 판단 규칙과 함께 관리된 주요 성분 분석을 이용하여 공지된 임상 결과와 함께 개별 또는 트레이닝 세트로부터 표준을 생성할 수 있다.
- [0117] 따라서, 일 양태에서 본 발명은 또한 새로운 환자를 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하기 위한 분류자의 개발에 관한 것이고, 분류자의 파라미터는 공지된 임상 결과를 지닌 트레이닝 세트로부터 수득된다 (반응자 및 비-반응자).
- [0118] 유전자 목록은 신호 대 노이즈, 발디(Baldi) 분석 표준적인 T 시험의 편차, 및/또는 피어슨스(Pearsons) 상관 계수 및/또는 선형 분별 분석을 이용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Golub T, Slonim D, Tamayo P et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. Science 1999; 286: 531-36. Van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, et al. (2002) Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. Nature, 415(6871), 530-56] 참조.
- [0119] 분류자는 관리된 주요 성분들, 분별 분석, 최단 중심(nearest centroid), kNN, 서포트 벡터 기구 또는 분류를 위한 그 밖의 적합한 알고리즘을 이용할 수 있었고; 분류를 위해 시간 (예컨대, 생존 시간, 질환이 없는 시간 간격)을 이용하는 알고리즘을 포함한다. 대안적으로, 분류는 당 분야에 널리 공지된 그 밖의 수리적 방법을 이용하여 달성될 수 있다.
- [0120] 분류자는 실시예 1 및/또는 2에 예시된 DA 판단 규칙을 갖는 SPCA 또는 실시예 3 및/또는 4에 예시된 SPCA-Cox 판단 규칙을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 기재된 방법은 반응자 및 비-반응자를 정확하게 예측하는데 있어서 50%, 60% 또는 70% 넘게 정확하고, 예컨대 약 70% 정확하다.
- [0121] 일 구체예에서, 반응자 및 비-반응자는 연속적인 변수이며, 예를 들어 수 개월간 측정될 수 있는 시간 대 치료 실패(TTF)/ 전반적인 생존(OS)을 참조하여 정의된다. 시간 대 치료 실패 변수가 크면, 환자가 반응자로서 고려될 것이다. 시간 대 치료 실패 변수가 작으면, 환자는 비-반응자로서 고려될 것이다. 일반적으로, 이러한 접근법을 이용하여, 혼합된 반응자도 반응자로서 분류된다.
- [0122] 치료 실패란 환자가 분원에 정의된 반응자, 부분 반응자, 혼합된 반응자 또는 안정한 질환의 정의에 속하지 않는 경우이다.
- [0123] 일 양태에서, 비-반응자는 6개월 또는 그 미만의 TTF를 지니는 것으로서 정의될 수 있다.
- [0124] 일 양태에서, 반응자는 6개월 초과, 예를 들어 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24개월 또는 그 초과 TTF를 지니는 것으로 정의될 수 있다.
- [0125] 본 발명의 일 양태에서, 치료에 대한 환자 반응은 연속적인 변수이며, 예를 들어 수 개월간 측정될 수 있는 질

환이 없는 간격 (DFI) 또는 질환이 없는 생존 (DFS)이다. DFI 및 DFS는 예를 들어 애주번트 치료에 사용된다; 중앙이 제거되었거나, 재발을 피하거나 지연시키거나 질환이 없는 간격 또는 생존을 동등하게 연장시키도록 치료가 제공된 경우이다.

[0126] DFI 및 DFS는 바이오마커 또는 유전자 발현 프로필과 같이 환자 임상 정보 또는 측정된 환자 파라미터와 관련될 수 있고 이를 이용하여 새로운 환자의 반응을 예측하기 위한 수리적 모델을 세울 수 있다.

[0127] 일 양태에서, 본 발명의 방법은 표 1에 나열된 유전자의 발현 수준을 측정하거나 프로브 세트의 유전자 생성물을 측정하는 것을 포함한다.

[0128] 일 양태에서, 본 발명은 폐암 및 흑색종 둘 모두에 대해 환자를 면역치료제, 적합하게는 Mage와 같은 고환암 항원에 기반한 면역치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 예측하거나 확인하기 위한 표 1에 나열된 하나 이상의 (예컨대 실질적으로 전부) 유전자 또는 프로브 세트의 이용을 포함한다. 적합하게는, 본 발명은 표 1에 나열된 적어도 63개의 유전자 또는 적어도 74개의 프로브 세트를 이용한다.

[0129] **표 1**

	Affy ID	R2.9 주석에 따른 유전자 기호	Affymetrix 주석에 따른 유전자 기호
1.1	AFFX-HUMISGF3A/M97935_MB_at	STAT1	STAT1
1.2	1555852_at	PSMB9	NA
1.3	1562031_at	JAK2	JAK2
1.4	201474_s_at	ITGA3	ITGA3
1.5	202659_at	PSMB10	PSMB10
1.6	203915_at	CXCL9	CXCL9
1.7	204070_at	RARRES3	RARRES3
1.8	204116_at	IL2RG	IL2RG
1.9	204533_at	CXCL10	CXCL10
1.10	205758_at	CD8A	CD8A
1.11	205890_s_at	UBD	GABBR1 /// UBD
1.12	207651_at	GPR171	GPR171
1.13	207795_s_at	KLRD1	KLRD1
1.14	208729_x_at	HLA-B	HLA-B
1.15	208885_at	LCP1	LCP1
1.16	208894_at	HLA-DRA	HLA-DRA
1.17	209606_at	CYTIP	CYTIP
1.18	210915_x_at	IL23A	TRBC1
1.19	210972_x_at	TRA@	TRA@ /// TRAC /// TRAJ17 /// TRAV20
1.20	210982_s_at	HLA-DRA	HLA-DRA
1.21	211144_x_at	TARP	TARP /// TRGC2
1.22	211339_s_at	ITK	ITK

[0130]

	Affy ID	R2.9 주석에 따른 유전자 기호	Affymetrix 주석에 따른 유전자 기호
1.23	211796_s_at	IL23A	TRBC1 /// TRBC2
1.24	211911_x_at	HLA-B	HLA-B
1.25	212671_s_at	HLA-DQA1	HLA-DQA1 /// HLA-DQA2
1.26	213793_s_at	HOMER1	HOMER1
1.27	215806_x_at	TRGC2	TARP /// TRGC2
1.28	216920_s_at	TARP	TARP /// TRGC2
1.29	217436_x_at	HLA-A	HLA-A /// HLA-A29.1 /// HLA-B /// HLA-G /// HLA-H /// HLA-J
1.30	217478_s_at	HLA-DMA	HLA-DMA
1.31	221875_x_at	HLA-F	HLA-F
1.32	222838_at	SLAMF7	SLAMF7
1.33	223575_at	KIAA1549	KIAA1549
1.34	225996_at	LONRF2	LONRF2
1.35	228362_s_at	FAM26F	FAM26F
1.36	228532_at	C1orf162	C1orf162
1.37	229391_s_at	FAM26F	FAM26F
1.38	229625_at	GBP5	GBP5
1.39	232375_at	STAT1*	NA
1.40	232481_s_at	SLITRK6	SLITRK6
1.41	235175_at	GBP4	GBP4
1.42	235276_at	EPST11	EPST11
1.43	244393_x_at	AKR1C2*	NA
1.44	1554240_a_at	ITGAL	ITGAL
1.45	1552613_s_at	CDC42SE2	CDC42SE2
1.46	204556_s_at	DZIP1	DZIP1
1.47	204897_at	PTGER4	PTGER4
1.48	206082_at	HCP5	HCP5
1.49	211149_at	UTY	LOC100130224 /// UTY
1.50	214470_at	KLRB1	KLRB1
1.51	229543_at	FAM26F	FAM26F
1.52	231229_at	HILS1	HILS1
1.53	232234_at	C20orf24	SLA2
1.54	232311_at	B2M	B2M
1.55	236328_at	ZNF285A	ZNF285A
1.56	237515_at	TMEM56	TMEM56
1.57	202531_at	IRF1	IRF1
1.58	209813_x_at	TRGV9	TARP
1.59	238524_at	NA	NA
1.60	205097_at	SLC26A2	SLC26A2
1.61	209774_x_at	CXCL2	CXCL2
1.62	210439_at	ICOS	ICOS

[0131]

	Affy ID	R2.9 주석에 따른 유전자 기호	Affymetrix 주석에 따른 유전자 기호
1.63	213193_x_at	IL23A	TRBC1
1.64	1555759_a_at	CCL5	CCL5
1.65	1562051_at	LOC284757	LOC284757
1.66	205685_at	CD86	CD86
1.67	210606_x_at	KLRD1	KLRD1
1.68	211902_x_at	TRA@	TRA@
1.69	1552497_a_at	SLAMF6	SLAMF6
1.70	204529_s_at	TOX	TOX
1.71	206666_at	GZMK	GZMK
1.72	1552612_at	CDC42SE2	CDC42SE2
1.73	1563473_at	PPP1R16B*	NA
1.74	219551_at	EAF2	EAF2
1.75	228492_at	USP9Y	LOC100130216 /// USP9Y
1.76	229390_at	FAM26F	FAM26F
1.77	228316_at	FLJ31438*	C2orf63
1.78	228400_at	SHROOM3	SHROOM3
1.79	202643_s_at	TNFAIP3	TNFAIP3
1.80	204806_x_at	HLA-F	HLA-F
1.81	213539_at	CD3D	CD3D
1.82	226084_at	MAP1B	MAP1B
1.83	205499_at	SRPX2	SRPX2
1.84	223593_at	AADAT	AADAT
1.85	244061_at	ARHGAP15*	NA
1.86	222962_s_at	MCM10	MCM10
1.87	1553132_a_at	TC2N	TC2N
1.88	200615_s_at	AP2B1	AP2B1
1.89	234907_x_at	GOLGA7*	NA
1.90	207536_s_at	TNFRSF9	TNFRSF9
1.91	239012_at	RNF144B	RNF144B
1.92	209671_x_at	TRA@	TRA@ /// TRAC
1.93	238587_at	UBASH3B	UBASH3B
1.94	209770_at	BTN3A1	BTN3A1
1.95	204224_s_at	GCH1	GCH1
1.96	221081_s_at	DENND2D	DENND2D
1.97	229152_at	C4orf7	C4orf7
1.98	202644_s_at	TNFAIP3	TNFAIP3
1.99	238581_at	GBP5	GBP5
1.100	231577_s_at	GBP1	GBP1

[0132]

[0133]

* : R2.9에서 NA가 된 R2.6으로부터의 주석

[0134]

일 양태에서, 본 발명의 방법은 표 2에 나열된 유전자의 발현 수준을 측정하거나 프로브 세트의 유전자 생성물을 측정하는 것을 포함한다.

[0135] 표 2

프로브 세트	유전자 명칭 R2.9 주석	Affymetrix 주석에 따른 유전자 기호
AFX- HUMISGF3A/M97935_MB_at	STAT1	STAT1
232375_at	STAT1*	NA
209770_at	BTN3A1	BTN3A1
204556_s_at	DZIP1	DZIP1
228316_at	FLJ31438*	C2orf63
238581_at	GBP5	GBP5
234907_x_at	GOLGA7*	NA
213793_s_at	HOMER1	HOMER1
210439_at	ICOS	ICOS
223575_at	KIAA1549	KIAA1549
207795_s_at	KLRD1	KLRD1
210606_x_at	KLRD1	KLRD1
1562051_at	LOC284757	LOC284757
217436_x_at	HLA-A	HLA-A /// HLA-A29.1 /// HLA-B /// HLA-G /// HLA-H /// HLA-J
225996_at	LONRF2	LONRF2
226084_at	MAP1B	MAP1B
222962_s_at	MCM10	MCM10
238524_at	NA	NA
239012_at	RNF144B	RNF144B
228400_at	SHROOM3	SHROOM3
205097_at	SLC26A2	SLC26A2
232481_s_at	SLITRK6	SLITRK6
238587_at	UBASH3B	UBASH3B
237515_at	TMEM56	TMEM56
207536_s_at	TNFRSF9	TNFRSF9
204529_s_at	TOX	TOX
236328_at	ZNF285A	ZNF285A

[0136]

[0137] * : R2.9에서 NA가 된 R2.6으로부터의 주석

[0138] 표 1에 나열된 프로브 세트에 대한 표적 서열은 하기에 제공된다.

[0139]

표 3

프로브 세트 ID	표적 서열
1552497_a_at	[SEQ ID NO:1] Tagcattaccctctgacactctctatgtagcctccctgatctctttcagctcctctattaa ggaaaagtctttagttaaattattacatctcctcaggccctcctcctgctgctggggc ctcctattcttaggttaatttaaataatgacacctcctaagagaaacctccagaccact cttctaaaatgaatcttaggctggcagtggtgctcacacctgtaatccagctcttg ggaggccaagggggagatcactgaggcaggagttcaagaccagcctggccaa cttggtagaaccccgcttctactaaaatacaaaaaaattagccaggcgtgggtgc accctaaaatcccagctactgagagactgaggcaggagaatcgctgaaccag gaggtgagggtccagtgagccaaaatcatgccaatgtattccagctg
1552612_at	[SEQ ID NO:2] tgtctgctcgaagaagatactgtcagacgaatcctgattcctcagctggc
1552613_s_at	[SEQ ID NO:3] gcatgccittggactcatggacagagttcttnggattgctactgaatttcaatgttaac agtaggactgactctcagatgacttttngtaagtctaaccattttgagctttttttc tatttaaacattttcttctcactcggancccnngcctacgatttatnngaaagcaa ggacnctgctattatnntaattgccatcttatgtatnnggaaggtatgagacc cacaagcacaantgatcatttlnatngtngtngtngaaactcagcagaatagata ctgtagctttatgaangttgttctcggttaagagccatgggatccagaaattaac attctttgctgccatggngtagatgctgctattagataaangtttagctgtgnacca gtcacatctttcatagaaaaagatnactgtagctattttagaagatgacctttgtct gtttga
1553132_a_at	[SEQ ID NO:4] Caggtggcacaaataatccatctgaagactcacacattaattggtagaagaact gacatcttttagaagactatgattcaattgctaccaatgagaagaggcaaatcaac aaattgtcaattatggggctataattatggtatataatgtaicgatagaaaattgata agaaaatgtaatgaatttatcagatatcaaagtaaggaaatgtttaaactgcaa caagagacacagacagtaaaatcaaagtatttaggtagactaaataaattataaa gtctgtgagaatacaacctagatgcttctatattatgttttctttgtatttaagcttt actagnatattcaaaacctggtatatacaagctctgttagtaactatggcatttagaac ttaccatattcagtgctaggcattattgattaggtcttggctccactgtttacct
1554240_a_at	[SEQ ID NO: 5] Acaactgggtggctcctcacatctttcacactccaccagcctgcactactccctcaaag cacacgcatgtttctcatccggcagcctggatgtttttccctgttaatgatgacgtact agcagctatctcagtgaaactgtgagggtaaaggctatactgtctgttcacctggga tgatgcctcatgatgtcaggggcgtgggacatctagtaggtgcttgacataa
1555759_a_at	[SEQ ID NO: 6] ccogtcccacatcaaggagtatttctacaccagtggaagtgtcccaaccagcagc cgtctttgtcaccgaaagaaccgcaagtgtgtgccaaccagagagaagaatgggt tcgggagatcatc

[0140]

프로브 세트 ID	표적 서열
1555852_at	[SEQ ID NO: 7] ccatctgagtagtactctccgcaaaccttgtttcattaaggactgttttacatgaagggtgc aaaaaggataaaaaatgagaaccctagggtgaaacacgtgacagaagaataaa gactatgaaatagtcctctctcaccatggacnttggnttttatatngattttaaggaa atataacttagtagtaagagatgagcattcaagtcaggcagacctgaattgggtcaa ggctgcccactcaaaagctatacgacctctatgagcagcttattcaaccttttaac ctccattttgcatctgtagaatgatgataaatgctagctcagaaggattcc
1562031_at	[SEQ ID NO: 8] atgttcaactgtatgccaagcctaataatgagagctatgtattatagagtttagctacagc cctacctcaggaaacttatctactggacaacaaaaatttcaaatatacaaaaaattc taaatcgaaacttgaattatctagcataggcaataatagacagtaacagacaggttta caattattaagaaggcagccagg
1562051_at	[SEQ ID NO: 9] Atcaggaagatatactgccaagtcaggagaaaaatccacctgttcagtatttca ggaactgctgaagaaaatcaccagtgatcagtttctgcaagagaatctaataatgcag gcttgcctctcatcggaaatccccagctgggtcttgggtgactgagagctctgggggaga gggcagagaatggatttattctctgtaggttttaacagtcagaagggctgtggctcta agggcactggtcaaaccttagtgctcagaatattctggataaggctaggcacag tggctcacgcctgtaatcacagcacttggggaggctgaggcggctggatcacctgagg tcagaagttcaagaccagcctggctcttttagtagag
1563473_at	[SEQ ID NO:10] gaaaattcctggcagtttcaactgtatagacattgctaacctgttccaaagaggctg aaccaatttctgttcccaacagtgtatgactgttccccatctattctccagcactgagg attaagtaactttcaattttgtcagctgacagataaagcagaacatttctgataaggtt ctacagtaattttgattttatgaccttggattatgacctacataatgatgatcaaatatc agaaaactacattgtacctggccttaggcttggaaatggalacaaaattaatgaaacca gctttgccctcagggtgatccatctcctggagttggcagacaaatgaacaaataaaat gagagcaaaaactgtatggtcacatgtgctagagaaatgcataagcttagctaacttt gttgataaaactctatattcattaatatcacaatgaattcataaaataaccgtatgattatg tcccaggg
200615_s_at	[SEQ ID NO:11] Gggcaggacatgctgtaccaatccctgaagctcactaatggcatttggatttggcga actacgtatccagccaggaaaccccaattacacgctgtcactgaagtgtagagctcct gaagtctcaatacatctatcaggctacgacagcatttgaaaaactaacaagactg gtccagtaacctcaacctgctgtatcgggtgcaagtcaagaacttaactggaaga aattgtatgtgctgtagaactgaacacactgaggccacctagcaaggtaacta gtcaacctgtgctaacattgggcacaacctgttgatagttttagcttctgtgaacatt gtaaccactgctcagtcacctcccacctctgccacctgctgctgctatctgtccttacttg tgggtctccatgctgtccaatggctggctttttctacacc

[0141]

프로브 세트 ID	표적 서열
201474_s_at	[SEQ ID NO:12] Gccacagactgaactcgcagggagtgccagcaggaaggaacaaagacaggcaaacggcaacgtagcctgggctcactgtgctgggcatggcgggatcctccacagagaggaggggccaattcggacagacagatgtgggagatacagaggagatgccactctcactcaccactaccagccagcctccagaagccccagagagaccctgcaagaccagggaggccgacacttgaatgtagtaaataggccagggggccctgcccccacccagccagacccagctgaacctgctcaggggctlagagggtggagttcttagctatctgtgcttctgtgccagcctggctctgccctccccatgggctgtgctctaaggccatttgagaagctgaggctagttccaaaaacctctctg
202531_at	[SEQ ID NO:13] Acaggagtcagtgtctggcttttctctgagcccagctgctggagagggtctcgctgctactgctggctcctaggggaacagaccagtgaccocagaaaagcataaacaccaaaccagggctggctctgcaactaagcgaatgcaactaatgaatctgctccaaagaactacccttttcagctgagccctgggactgttccaaagccagtgaaatgaaggaaactccctcctcggggcaatgctccctcagcctcagaggctctaccctgctccctgcttggctgagggctgggaaaaaactggcacttttctggtgacttggccacttctgatcagagggtacactaacttccccgagctctggccttgcattatfatcagtgcttctcggggcccaccacctcaagcccagcagcctcaacaggcccaggagggaaggtgagccttggtatgactaa
202643_s_at	[SEQ ID NO:14] tcttgggtattactgtcttacttctaaagaagttagcttgaactgaggagtaaaagtgtacatatataatatacccttacattatgtatgagggatttttaattatigaaatgctgctagagaatgacaataggaaagcctaaataataaacctgtttctggttgttggggcatgagctgtgtatcactgctgcataaactcaaccagctgccttttaagggagctctagtcctttgtgtaattcaacttatttttttacaactcaagatatttaagtgaagatattctcagctcggggaaaatgccacagtgctcctgagagacatccttcttgaatcaggctgtgggcaagtctcagaccagggagtaaatggccttggatacatttgcctcctccaggaaaaggaatgcatccaagggtatacataatcctcagatgttctgctctcctatgaaactccagc
202644_s_at	[SEQ ID NO:15] catcccattggtaccctggatgggacagcaaaagccagtaaccatgagatgaggaatctcttctgtgctgctacagttctctgtgcttgggtgctgctatattgctctagaagaaaaaaaaggagggaatgcaatttccccagagataaaggctgcccattggggctgtactatggcctgaaaatattgtgatccataactctcacagccttactcaactattaggcacacttccccctagagccccctaaagtttccccagacgaatctttataattcttccaaaatgataccaaaataaactcagtgcttctcactaattctctaaagtgatctctaatattgtgtgactatttccattctaatgtgaaaaaagtaattattatactattataaagatttgaaattgacatttaattgctcctaatagaaagccacctattcttggat

[0142]

프로브 세트 ID	표적 서열
202659_at	[SEQ ID NO:16] Taccgcgttatctacgggcccgcagccccgcggccacgggtcactgcacatcctgcgccagacgctctcaggtaccaggccacgtgggtgcatcgtgatcgtggcggcgtagacctgactggaccgactctacggcgtgatccccatggctctacagcgtctgcccttcacagcccctgggctctgggtcaggacgcggcccctggcgggtgctagaagaccggttccagccgaacatgacgtggaggctgctcaggggctgctggtggaagccgtcacgcggggatcttgggtgacctgggctccggggcaatgaggacgatgtgatcacaagactggcggcgaagctgctgaggacactgactcaccacagagcccgtgaagaggctgcccgtaccacttggcctggaaccacagctgctcctgacccagacagtgaa gccactaacctggagctagtgaggaaactgtcaggctatggagggtgagta
203915_at	[SEQ ID NO:17] Gattatcaattaccacaccatcctccatgaaagaagggaaacgggtgaagtactaagcctagaggaaagcagccaagtctgtagtggaagcatgattgggtcccagtgatgctctgcaggatgtgaaacctcctccaggggaggtcagtgaaattgtaggagagggtgctgtggccagaattaaacctatactcactttccaaattgaatcactgctcacactgctgatgattagatgctgctccggggagatccccccgaaacgtcttatctaatcagaaactccctagttcctcatgtaactcctgaaaaatcagtggttcataaattgagagctgtgaccactacc
204070_at	[SEQ ID NO:18] Gaaacgggggcccctggaagatgtggtgggaggctgtgctatgggtcaacaacagcttggaccatgagtaaccaaccagcccgtggaggatcatcagttctgcaaggagatggttggtcagaagatgaagtacagtattgtgagcaggaactgtgacactttgcccagctgagataggcaagctcccgtgtaaacagggtggaaaaaggcgaaggtgagtcggtggccacggcgtggaaatcctggtgtgctggaatgcttcttgcgattaggagataccaaaaaaagcaacagcctgaagcagcccaaaaatcctgtgtagaagcagctggggggtcc
204116_at	[SEQ ID NO:19] ttctgctggaacggagcagatccccgaattcccacctgaagaacctagaggatctgtactgaataaccagggaaactttcggcctggagtggtgtgctaaaggacgtgctgagagctgcaaccagactacagtgaacgactctgctcctgctcagtgagattccccaaaaggagggggcccttggggaggggctgggctccccatgcaaccagcatagcccctactggggccccctatgtacacctaaagcctgaaacctgaacccaatcctctgacagagaagacccccagggtcctgtagccctaagtggtactaacttctcaltcaaccacctcgtctcactactcaccctccccactgtggctgattggaattttgtgccccatgtaagcac

[0143]

프로브 세트 ID	표적 서열
204224_s_at	[SEQ ID NO:20] Gtgatgggtggcttgagtagctctttaaactagcccagataaaacattagcctgcttaata tttagacattataggtagaattctgagcactcaactcatgtttggcattttaaagtaaaa caagtgtagctcgaaggccaagaattgtagctatacatcttatgaactcatt atattccttttaagactcgtgttctaacattcctagaaggttctataaaggctaatgta tccacaggctgtgtcttattagtaaatgcaaaagtaagcttgcctgtttacttagctt agactcaaaattacctttcatalccatgactgagctcattgggggattttaagaatt gatgtattcaatacactgtcaaaataaattgttaatttatgtatgagtagtattgctc aagttggcctattta
204529_s_at	[SEQ ID NO: 21] Atggcttgatgtagcagctatagcaagttgtaaatagcatctatgttacctctcctaga gtataaatgtgaatgtttttagctaaattgtaattgaaactggcctcattccagttattga ttccacaatagggttaaatggcacaacattcatattttactctattttaaacaactgact gatagctctatttcaaaatattgaaaataaaagattcccaaggttttaatttaa aacaattggcttctcattgatcagacaaaaagaaactagataaagggaagcgc aaacacattattttagctgcagaaaaattgctttttgatcattttgtgtaaggtagta aatgcttaagtctttatgtataaaactgccaatgcttacctggtattttatgtagc agaaacagattggaaacagctaaatacaactttacataggcctgtctattgtttctc atactgtctgtatttaattttttatggaaacctgtgctcctat
204533_at	[SEQ ID NO: 22] Taactctaccctggcactataatgtaagctctactgaggtgctatgttcttagtggatgtc tgaccctgctcaaatattccctcaccttcccatcttccaagggtactaaggaatctttct gcttggggtttatcagaattctcagaatctcaaaactaaaggtagcaatcaaatct gcttttaagaatgctctttacttcatggactccactgccaatcctccaaggggcccaa attcttcagtgctacctacatacaattccaacacatacaggaaggtagaaatctcg aaaaatgtagtgaagtattcttattaatgaaagactgtacaaagtataagcttagatg atatactctatattgtttcagtgatcatggaataacatgtaattaagtactatgtaaat gagtaacaggaaaattttaaataacagatagatatgctctgcatgttacaataagat aaatgctgaatggtttcaaaataaaaatgaggtaactctcctggaatatt
204556_s_at	[SEQ ID NO: 23] ggaactaatgcccctgagatgttatcaaaaaagaagaattacaagaactaaagtgtg cggatgtgaggatgaagactgggacatcatccctagaggaagagatattttggg aaaaaaatctgggaagaacagaaaggaacctccactcgaaaaaatgaaccaca tttgtctatgtgctaaatgcctggggcgatttaactcgaaggggccaaagggaag gactcaagaaatgaatcaagcacatataaaagcagcttagtaactgtgactgattg gagcgacactcagatgtctaatccacatgtcagaagattaccagaagccagcag attcagatcacaggtttcagtaattgctcctcatgattctagtgtctctgcttaccgtgtt cccacagcaacacagagactgattcaaaagaacaatggctctttaaaggcaccat acagtaftgaaatcagatcatcaacagtatctgaagcatgtaaagggttaagactt ccgctgctgcttaaaaata

[0144]

프로브 세트 ID	표적 서열
204806_x_at	[SEQ ID NO:24] Cagatcctcacaaggcaccgctgcccaccacccatctgacatgagggccacc ctgaggtgctgggcccctgggcttaccctgoggagatcacgctgacctggcagcggg atggggaggaacagaccagagacagagctgtggagaccagcctgacgggg atggaacctccagaagtggcgctgtggtgcttctggaggaacagagat acacatgccatgtgacgacgaggggctgcccagcccctcatcctgagatgggag cagctccccagccaccatcccctgctgggcatcgttctgcccctgttctctggag ctgtggtcactggagctgtgctgctgtgtgagggaaagagctcagatag aaacagaggggagctactctcaggctgacgactgacagtgcccaaggctctgggt gtctctcagcctaataaagtgtgagacagctcctgtgtgggac
204897_at	[SEQ ID NO:25] Agcagctattgttctctgaaaagtgtgtgtagtttacttcttaaggaattaccaagaata tccttaaaattaaaggatggcaagttgcatcagaaaacttattttgagatgtaaaa gatccccaaacgtggttacattgcccattcatgtatgtcagaaagtcagaattggggca cttaagtgtcacctgtacaattttgtgtaactcccagtgatgctgtacacatattgaag ggctttctcaaaagaaataaagcattttgtgctcaggtttttggaattgctgtgtgta attaaattcagcctgattgatg
205097_at	[SEQ ID NO:26] Tactcatgcttttgttaggataaataggaagcacaagagctctcaaaatcagaa aaaacaataggagctcctctgtcttctgtgactctgcttctgagacttctctac cattaagctctatttagcttcaattctagttgttccatggaaatctgctcaaacgtgt gtttttgacgtgacagcttgcagcaaatctcaacagcatttaaatgagtttgatg acagtaaatattgatgacaatgacagcttcaactctcaagtcacctaagctattatgc aggaggattagaagtcacattataaaacccaagngctatgggtgattatcatgata gctggcccacaggtcatgaattgag
205499_at	[SEQ ID NO: 27] Gcggcatgtgaccatcattgaactgggtgggacagccacctcaggagggtggggcga tcggggagcaacagctgacgccaacatcatcagggagctcaggaattcagcggcc tactcgtcctactcaacatgggtgtgattgacaagcaggtattgacggagacogct acatggaaacctgtcaccocccaggaatctcaccattcatgactactactgagc aatcaggagtgtaccagcgtcgggagcaaggacatagcagtgaaactgagc cagggcatggttaagtcagggaagaaactcctctgattgctgaaactgggaccta ataaaaggaggaaatgtttccacagttctagggacagcactcaggtgggtgagtt tgacaaacctcagctgtttccagcctcttttaggactgtgtaatagttccctagaagc taggtaggagctgaggacagcctgggagctgggt

[0145]

프로브 세트 ID	표적 서열
205685_at	[SEQ ID NO:28] Gaaggagccttaggacttccactcctggctgagagaggaagagctgcaacggaat taggaaagaccaagacacagatcacccgggcttactagcctacagatgctctacgg gaactgtggctggccagcagatgggctagcaaatgttgatgatttttctca aggcaaccagaggaaactgcatacagagacagatatactgggagaaatgactttg aaaacctggcttaagggtggatcaactaaggatggggcagctctgcccacacata aagagaactctgggagcctgagccacaaaatgttcttatttataaacctcaa gggtatagactgccatgtagacaagctgtccatgtaatatcccatgttttacctgc ccctgctgattagactcctagcacctggctagttc
205758_at	[SEQ ID NO:29] Cagccctgcatgacagggggccatgaaagaggacaggctaccctttacaat agaattgagcatcagtgaggtaaaccaaggcccttgaatctctgaaattgagatac aaactgttctggatcactgatgacttttatactttgaaagacaattgttgagagcc cctcacacagccctggcctcngctcaactagcagatacaggatgagggagacactg actctttaaaggagctgagagcccaactgctgcccacactgactccttctgcttaa ggatgtgtacaagcaatgctgcccattggagagaaaaacttaagtagataaggaa ataagaacctcactataattctcacccttaggaataatcctgttaatatggtgtacattc cctgattattttcacacatac
205890_s_at	[SEQ ID NO:30] Gatctaaagccacgggagaagcctctcatcttattggcattgacaaaagagaagaccat ccaccttaccctgaaagtgtggaagccagtgatgaggagctgcccctgtttctgtgga gtcagggtatgaggcaaaagggcacctcctccagggtcgaaagggtccagctcagtg cacaagtgaagcaatgatcgagactaagcgggtataatccctgagaccagatt gtgactgcaatggaagagactggaagatgggaaagatgagggcagattacggcat cagaaggggcaacttactctcctggcacttattgtatgaggggtgaccaccctgggg atgggggtggcaggggtcaaaaagcttatttcttcttactcaacgaacacat cttctgatattcccaaaatgaagatgagatgagtagagtaagattgggtggga tgggtaggatgaagtattgccaactctatgtttcttga
206082_at	[SEQ ID NO:31] Tgaaggatgtgactgcgcatggcctggatctgctgctgctccttctgaggagct ccactcaaaagctggcatcctctatgacactagagtggtggcaagcaatacacctca catgtagaattgtgatgcagaactcaaacaggctcaccaggcagtgcttctctctgc atgaggatgcaagatgcaacagttgtctcacttggaaggacaccccctggatgcc ctaaccactagacctgtaaaactcactgagtgccactctgaatctctgaaggttta ttatctcaccctctggagagaaatgtttaccacagcctctagtgtaaccctcctct tactatccatcccagcacaatgatgttgaatgaataaaggaaattatattctata gtatatacagggtctccagatcttaagactgtaactatagaggcctgggg

[0146]

프로브 세트 ID	표적 서열
206666_at	[SEQ ID NO:32] aaacctcttagatctggaaccaaatgcaaggctactggctggggagccaccgatcc agattcattaagacctctgacacctcgcgagaagctactgtactgtcctaagtcgaaa actttgcaacagccaagtactacaacggcgaccctttatcaccaaaagcatggct gtgcaggagatgccaagggccagaaaggattctgtaagggtgactcaggggggccc ttgatctgtaagggtctctccacgctatagctctggaggctgaatggtggtgccac aaagcctggaatctacacctgttaaccaagaaataccagacttggatcaaaagcaa cctgtcccgcctacataaataagttacaataatattttatggatgactgtctcttttc ctaataatgctgcaggtaagttgggtgtaagtaagcagagcacatatggggtccat tttgcactgta
207536_s_at	[SEQ ID NO:33] agaccgtacaaactcaagaggaagatggctgtagctgccgattccagaaga agaagaaggagatggaactgaaatggaagtcaataggctgtgggactttct gaaaagaagcaaggaaatatagctatccgctatcacagctttcaaaagcaagaac accatctacataataaccaggattcccccaacacacgctttcttaaatgccaatgag ttggccttaaaaatgccacctttttttttggcagggtcactctgtcaccaggc tggagtgcagtgccaccaccatggctctctgcagcctgacctgggagctcaagt atcctcctgctcagctcctgagtagctggaactcaaggaaggccaccacactg actaacctttttttttgtgtaaaagatggcatttcccatgtgtacaggctgtctcaa ctctagggtcactttggcctcccaagtgctgggttacagacatgaactgccaggcc cgccaaaataatgccacct
207651_at	[SEQ ID NO:34] ttgcctgtaattcgacagctctacagaacaaagataatgaaaatcccaaatgtga aaaaggctctcaacatacttttagtaccacgggctacatcatatgcttttcttac cacattgtccgaatcccgatataccctcagccagacagaagtcataactgattgctcaac caggattcacttcaagccaaagaggctacactgctcctggctgtgtgacacctgt gctttgatctatcctgtactatcacctctcaaaagcattccgctcaaaaggctcagac ttttgctcaactaaagagaccaaggctcagaaagaaaataagatgtgaaaataat gcataaaagacaggattttttgtctaccaattctggccttactgga
207795_s_at	[SEQ ID NO: 35] Ttctactctgctcttggaacataatttctcatggcagctttactaaactgagattgagc cagcttactcaggaccacaatagaactccagaaagactcgtactgtctgtcttgc caagaaaatgggtgggtaccggtgcaactgtactcttccagtgaaacagaaaa ctggaacgaaagtggcatctctgtctctcagaaatccagcctgtcagctcaaa acacagatgaactggattttatgagctccagtcacaattttactggattggactctctac agtgaggagcacaccgctgggtggtggagaatggctctgactctccagatctattt ccatcattg

[0147]

프로브 세트 ID	표적 서열
208729_x_at	[SEQ ID NO:36] Gtggcggagcagctgagagcctacctggaggcgaglgcgtggagtggtccgca gatacctggagaacgggaaggagacgctgcagcgcggaacccccaaagaca cacgtgacccaccaccatctctgacctgaggccacctgagggtgctggccctg ggcttaccctgaggatcacactgacctggcagcgggatggcgagaccaaac tcaggacactgagcttggagaccagaccagcaggagatagaacctccagaagt gggcaactgtgggtggctctggagaaagcagagatacacatgccatgtacagc atgaggggctgccaagcccctcacctgagatgggagccgtctccagtcaccg tccccatcgtggcattgttctggcctggctgtctagcagttgtgtatcctggagctgt ggctcgtctgtgatgttaggaggaagctcagggtgaaaaggagggagctactc tcaggctg
208885_at	[SEQ ID NO:37] Gaagttaagcctcatcatcagagccttctcaaaactggagtcccaaatgctcagg tttttttttttcagccaactaagaacccctctgcttttaactctagaattggcctggaccag atcaacatctgaaataactctgccccttagagcctcagccttaatggagggtggatcca aggagggtgaaatggaatcggaatcaagccactggcagcagctggagctataactaa gcatccttagggtctgcctctcaggcattagccctcacattagatctagttactgtgta tggctaatacctgtcaacattggaggcaatcctacctgctttgtctctagagcttagcat atctgattgttcaggccatattcaatgtttactttttggtaactataaaagcttctgcca cccctaaactcagggggggaacaatgtgccaatcaatagcaccctactcacatac acacacacctagccagctgtcaagggc
208894_at	[SEQ ID NO:38] Cgatcccaatgtacctcagaggtaactgtgctcacgaacagccctgtggaactga gagagccaacgtctctatctgtttcatagacaagttcacccca
209606_at	[SEQ ID NO:39] Gaattgcaaaactgacatcccattcacagcaatagtgaccttattaaattgtgtgta tagttatgctcttaaatcattttcaacctaaacagccaatttcaagcagacaggaaa actaataataagtttaataatacaaaagatgcagggtcctgctcattccagtaatgtc ttgaaagcaaaaactaattttttctagatttccctggaataatggagaacttttggga gtcaagtaagaataaagggtggcagaataataatctggacttttctataggataat tgcgtggtaataaacttaggtttgcttatgcccagtagctcctcggaggcttaataa ggcaatttgaattgtcaaacctgtaatggctgtaaacaaagatgacatcagctgtt ctcacatctatagtacaataaagcggggaagataagatttaaggaggggttaagg ttcatgagaacctggaaagatgtgtctgagatgggtgctgcaagat

[0148]

프로브 세트 ID	표적 서열
209671_x_at	[SEQ ID NO:40] Tctcgaaccgaacagcagtgctccaagataatcttggatcagggaccagactcag catccggccaataatcagaacccctgacctgcccgtgaccagctgagagactctaa atccagtgacaagtctgtctgacctaccgattttgattctcaacaaatgtgtcaca agtaaggattctgatgtatatacagacaaaactgtctagacatgaggtctatgga ctcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaatctgacttgcattgtcgaac gcctcaacaacagcattatccagaagacaccttctcccagcccagaaagtccctg tgaagtcaagctggcagagaaaagcttgaacagatacgaacctaaacttcaaac ctgacagtgattgggtccgaatcctcctctgaaagtggccgggttaactgtctatga cgctgcccgtgtgtccagctgagatctgcaagattgaagacagcctgtgtcctct
209770_at	[SEQ ID NO: 41] Ggaaattggatgaagggagctagaagaatacagggatttttttttaagatgga gtcttactgtgtctaggctggagtgcagtggtgctgctcagctccctgcaacctccac ctctgggtcaaaacaattctcctgacctcagcctccgagtgactgggaatataggtgac gccaccacaccacaacaaattttgaacttttagtgcagatgaggggtcactatgttggcca ggatggtctgatctctgacctcatgatcccccacctggctcccaagtgctggga ttacaggtgagccaccgggtgaccggcttacaaggatattttaaaccggttatggact ctgtctcaggaaggggtctatccacctgctcattgggtgattaaaccaatattc ctccaactgctcctgctagggaactcctcctcattatcatcattattatgtctcca ctgatcccctctacctggcatgtctgtcaag
209774_x_at	[SEQ ID NO: 42] Agagagacacagctgcagaggccacctggattgcccctaattgtttgagcatcact aggagaagcttctatttatttatttatttatttatttatttatttatttatttatttattt ttatgtgtaaaataaggttatgattgaatcactgcacactctccattatatttatttatt ttagggtcaaacccaagttagttcaatcctgattcatatttatttgaagatagaaggttgc agatattctctagtcatttgaatatttctctgtagacatcacatgtcagccactgtga tagaggctgaggaatccaagaaaatggccagtaagatcaatgtgacggcagggaa atgtagtgtgtctatttgaactgaaagatgaatgtagtatttatttatttatttatttca cagtgtgtgtcaacatttctcatgtgaagctttaaagaaactaaatgttctaaatccctt ggacatttattgtcttcttgaagatactgctttaaattgtaattatgtagtattccctc
209813_x_at	[SEQ ID NO: 43] Aaatgatacactactgctgcagctcacaacacctctgcataattacatgtacctcctct gctcctcaagagtgtgtctatttggccatcatcacctgctgctgtagaagaacggctt tctgtgcaatggagagaatcataacagacgggtggcacaaggaggccatctttcct catcggtattgtccctagaagcgtctctgaggatcagttgggtcttcttctgggttggg caattcagttctcatgtgtactatctatcattattgtataacgggttcaaacagggtggc acacagagaacctcactctgtaataacaatgaggaatagccaaggcagctccagc accaattctccatgtttccacagctcctccagccaaccacaatagcgcctgctatagt gtagacatcctgcccctctagccttgcctcctctatgttctttaaicagataactgcctg gaagccttcatcttaccgcccctgaagcagctctcttctgcta

[0149]

프로브 세트 ID	표적 서열
210439_at	[SEQ ID NO: 44] Gctctgaaagcagccaatgctgatgcaacaacattgtaactttaggtaaacctgggatt atgtttagtttaacattttgtaactgtgcttatagttacaagtgagaccogatagtcatt atgcatacttatattatcttaagcattgtaatgctggatggtacagtaacagtaact gtaattgaaactagatgggtgtctgtttcagctgactggacaacctgactggctttgca cagggttccctgaggtgtttgcaaggtttctgtgtgggggtgggtatggggaggagaa cctcatgggtggcccacctggcctgttgcacaagctgtccctcgacacacctcatccc aagcatgggacacctcaagatgaataataattcacaataattctgtgaaatcaaatcc agtttaagaggagccactatcaaaagat
210606_x_at	[SEQ ID NO:45] gaaagactctgactgctgttcttccaagaaaaatgggtgggtaccgggcaactgtt acttattccagtgaaacagaaaaacttggaaagaaagtcggcatctctgtcttcaga aatccagcctgctcagctcaaaaacacagatgaaactggatttatgagctccagca caatttactggattggactctctacagtggagacacacccctgggtggggagaat ggctcgcacttcccagatctattccatattgaaacttttaatacaaaagaaactgcat agcgtataatccaaatggaaatgcttagatgaatcctgtgagataaaaaatcgtat ctgtaagcaacagctcatttaaatttcttggggcagagaaggtggagagtaaaagc ccaacattactaacaatgatacagttgcatgttatattactaatgtctactctggagt cta
210915_x_at	[SEQ ID NO:46] aaaggccacactgggtgctgctggccacaggtatcttccctgaccacgtggagctgagc tgggtgggtgaaatgggaaggagggtcacagtgggtcagcacggaccocagccct caaggagcagcccgcctcaatgactccagatactgctgagcagccgctgaggg tctcggccacctctggcagaacccccgcaaccactccgctgcaagtccagtctac ggctctcggagaatgacgagtgaccaggatagggccaaacctgaccaccaga tcgtcagcgcgagggcctgggttagagcagactgtggctttacctcgggtcctacca gcaaggggtcctgtctgcccacatcctctatgagatcctgtagggaaggccacctgt atgctgtgctgctcagcctctgtgtgatggccatgtcaagagaaggatttctgaa ggcagccctggaagtgagttaggagcttcaacccgcatggttcaatacacattctt ctttgccagc
210972_x_at	[SEQ ID NO:47] ggaacaagactcagggtcagctcgatatccagaacctgaccctgcccgtaccag ctgagagactctaataccagtgacaagtctgtctgctattaccgattttgattctaaa caaatgtgtcacaagaataggattctgatgtatatacagacaaaaactgtgtagac atgaggtctatggactcaagagcaacagtgctgtgacctggagcaaaaactgact tgcagtgtcaaacgcctcaacaacagcattatccagaagacaccttctccccagc ccagaaaagtctctgtgatgcaagctggctcgagaaaaactttgaaacagatacgaac ctaaacttcaaaaacctgctagtgattgggtccgaatcctcctctgaaagtggccggg tttaactgtctatgacgctgctggtccagctgagatctgcaagattgtaagaca gcctgtgtccct

[0150]

프로브 세트 ID	표적 서열
210982_s_at	[SEQ ID NO:48] Gaaggagacggctcggcgcttgaagaattggacgattgccagcttgaggctcaa gggtcattggccaacatagctgggacaaagccaactggaaatcatgacaaagcgc tccaactatactccgatccaatgacaagttccccaccagtggtcaatgacagtg gcttogaatgaaaaacctgtcaccacaggagtgtagagacagctctctgccag ggaagaccacctttccgcaagttccactatctccccctcctccctcaactgaggcgtt tacgactgcaggggtgagcactgggcttggatgagcctctcctcaagcactgggagtt tgatgctcaagccctctcccagagactacagagaaacgtgggtgtgctccctgggctg actggggtctggggcatcattattggaccatc
211144_x_at	[SEQ ID NO:49] aaatgatacactactgctgcagctcacaacacctctgcatattacatgtacctctct gctcctaagagtggtgctatgttccatcatcacctgctgctgcttggaaagacggcctt ctgctgcaatggagagaatcataacagacgggtggcacaaggaggccatctttct catcggttatgtccctagaaagcgtctctgaggatcagttggcttctctgggttggg ccatttcagttctcatgtgtgactattatcattattgataatggllttcaaacagtgggc acacagagaacctcagctgtaataacaatgaggaaatagccatggcgatcaccagca ccaatctccatgtttccacagctcctccagccaaccaaatagcgctgctatagtg agacagcctgctgcttagcctgtccctcttagtgttcttaacagataactgctgg aagcctttcatttacagccc
211149_at	[SEQ ID NO: 50] Cagaacctcgatataataatgtatagattaaaagtttatttttacatctatgtagtttt gaggtgcctataataagattacggaagttgctgttttaagtaaatgcttttagtgga tttataagttgtagtaccatagtgatagccataaataattgctggaaaattgtatttat aacagtagaaaaacatagtcagtgaaataattttaaggaaacattatatagattt gataaattgtttataatgaagttcttatggaaaagagattcagaatgataaccttt tagagaacaaataagtgactatttttaagctagatgacttgaatgctatactgctc gctgtacaacatggittgggtgaaggg
211339_s_at	[SEQ ID NO:51] gggtgtcaattggctcttctaataatcatgtgacgtttgactgcttgagattcagatgcat aatttttaattataatattgtgaagtgagagcccaagataaactctgtcattcagaa gatgattttactcagcttaccaaaattatctctgttacttttagaattttgacattatctttg ggatccttaattagatgattctggaacattcagctcagaagaaaacattggaattg actgatctctgtgttggtttagaaaatccccctgtcagtggtattaccttttcaagctcag attcatctaatcctcaactgtacatgtgtacattctcacctcctgggtccctatcccgcaa aatggctcctgctggttttctctctcaatttttaaatggctcccctgttttagagaaa

[0151]

프로브 세트 ID	표적 서열
211796_s_at	[SEQ ID NO:52] Gccatcagaagcagagatctccacacccaaaaggccacactgggtgctggcc acaggtttctaccccagccagctggagctgagctggtgggtgaatgggaaaggagtg cacagtgggtcagcacagaccgcaagccctcaaggagcagcccgccctcaatg actccagatactgctgagcagccgctgagggtctcggccaactctggcagaacc cccgaaccactcctgctcaagtcagttctacgggctcgggagaatgacgagtg gaccagagatagggccaaacctgtcaccagatcgcagcggcggcgggtgggta gagcagctgtggttcaacctcagcttaccagcaaggggtcctgctgccaacctc ctctatgagatctgtagggaaggccaccttlatgctgctggtgctgctgcccctgctg tgatggccatggtcaagagaaagga
211902_x_at	[SEQ ID NO:53] Gaatcgttctctgtgaactccagaaagcagccaaatcctcagctcagatctcag actcacagctgggggatgcccgcgatgatttctgcttataggatgcatactctgggg ctgggaattaccaactcacttctgggaaggggaccaaactctcgtcataccaat ccagaacctgacctgctgtaccagctgagagactcaatccagtgacaagctg gtctgctattcaccgattttgattctcaacaaatgtgtcacaagtaaggattctgatg gtatcacagacaaaactgtgctagacatgaggtctatggactcaagagcaacagt gctgtggcctggagcaacaatctgacttgcattgtgcaaacgcctcaacaacagca ttattcagaagacacctctcccagcccagaaagttcctgtgtgcaagctggctg agaaaagccttgaacagatacgaacctaaacttcaaacctgacagtgattgggtc cgaatcctcctgaaagtggcgggttaactgctcatgacgctgcgggttggctc
211911_x_at	[SEQ ID NO:54] Ctagagcctacctggaggcctgtgctggagtgctccgcagataacctggagaa cgggaaggagacgctgcagcgcgggacccccaaagacacatgtgacccacca cccactctgaccaatgaggccaccctgagggtgctggccctgggtctacctgagg agatcacactgacctggcagcgggatggcggagcacaactcaggacaccgagct tgtggagaccagaccagagagatagaacctccagaaatggggcagctgtggtgg tgctctgggagaagagcagagatacactgcccatacagcatgaggggctgcccga agccccctaccctgagatggagccatctcccagtcaccatccccatggtggcatt gttctgctggcctgctcctagcagttgtgctatcggagctgtgtgctactgtgatg taggggaagagctcagggtgaaaaggaggagcctactctcaggctg
212671_s_at	[SEQ ID NO:55] Accaatgaggttctgaggtcacaggtttccaagctcccgtgacactgggtcagcc caacacctcatctgtctgtggacaacatcttctcctggtgcaacatcactggctg agcaatgggcactcagtcacagaaggtttctgagaccagcttctcctcaagagtg atcattctctcaagatcagttaccctacctcctcctctgntgatgagattatgactg caaggtggagcactgggctggtgagcctcttctgaaacactgggagcctg

[0152]

프로브 세트 ID	표적 서열
213193_x_at	[SEQ ID NO:56] Tgactccagatactgcctgagcagccgctgagggctcggccacctctggcagaa cccccgcaaccactccgctgtcaagtccaagtctacgggctctcggagaatgacgag tggaccaggatagggcacaaccgctcaccagatgctcagcggcggagcctggg gtgagcagactggtgcttaacctgggtcctaccagcaagggctcctgtgccacc atcctctatgagatcctgctaagggaaggccacctgtatgctgtgctgagcncct gtgtgtagggcattggcaagagaaggatttctgaaggcagccctggaagtgaggt agggactctaacccgctatggttcaatacacattctctttgccagcgtctggaag ctgctctcacctctgcatccaatagatatccccctatgtgcatgcacacctgcacac cacggctgaaatctccctaaccagggggaccttagcatgcctaaagtga
213539_at	[SEQ ID NO: 57] gggaaactgctctcagacattacaagactggacctgggaaaacgcacctggacc cacgagggaatatataggtgtaatgggacagatatatacaaggcaaaagaatctaccg tgaagtcatattcgaatgtgcccagagctgtgtggagctgatccagccaccgtggct ggcacatgtcactgatgtcattgccactctgctcctgtctttggagctcttctgtctg gacatgagactggaaggctgtctggggctgccgacacacaagctctgttggagaa accaggctctacgcccctccgagatcgagatgatgctcagtcagccacctggagg aaactggctcggaacaagtgaacctgagactgtgtgctctagaagcagccattac caactgtacct
213793_s_at	[SEQ ID NO: 58] tgctggagtccactgccaatgtgaaacaatggaaacagcaactgctgcctatcanga ggaagcagaactctgcacaagcgggtgactgaactgaaatgtttagtgccaagc aatgtagctacataactataagacagaataaatacagacaatacagaantgnaan ngncacnagaantgaagggaagggaaatagaagggttaaaacaagaattgata atgccagagaactacaagaacagagggattctttagctcagaactacaggaagta gaaattcggacaacaagacctggaggacaactgtctgacttagagcaactctgga gaaaagtcagaatgaacaagaagcttttgcataacctgaagacactcttagaaatt ctggatggaaagataattgaaactaacagaattaacgagataaactggccaagctactg antgcaactaaggaaagtgaatttngtgccnattaattaagaatacactgtctctct tcataggactgttaggctctgcatca
214470_at	[SEQ ID NO: 59] gggtcacctggcatcaattgccctgaaactagctgtgctgggattattctcctgtctgg ttgtaactgggtgagtgttcagtgacatcctaatacagaaatcatcaatagaaaaatg cagtgaggacattcaacagagcaggaataaacaacagagagaccgggtctcttaa actgcccataatattggcagcaactccgagagaatgctgttattttccactgtcaa ccctggaaalaacagctagctgattgtccaccaagaatccagcctgctgcttattcg agataaaggatgaattgatacacacacagaacctgatacgtgacaaagcaattctgttt ggattggattaaattttcattatcagaaaaagaactggaaagtganaaacggctcttttt aaattctaactagactagaaattgaggtgatgctaaagaaaacagctgtatttccatctc aca

[0153]

프로브 세트 ID	표적 서열
215806_x_at	[SEQ ID NO: 60] Aaatgatacactactctgctgcagctcacaacacacctgcatattacatgtacctcctct gctcctcaagagtgtggtctatfttgcacatcacctgctgctgctgnaagaacggc nnnctgctgcaatggagagaaantcacaacagcggggcacaaggaggccnnt ntccatcgcggnnattgtccctagaagcgtctctgaggatctagttgggcttcttctggg ttgggccatttcagttctcatgtgtactattctattcattatgtataatggtttcaaaccag tgggcacacagagaacctcagctctgtaataacaatgaggaaatagccatggcgatctc cagcacaatctctccatgtttccacagctcctccagccaacccaatagcgcctgct atagtgtaganannctgcggtcttagcctgtccctctcttagtcttcttaacagataac tgctggaagcctttcatttacacgccctgaagcagctctctttgcta
216920_s_at	[SEQ ID NO:61] Cactactgctgcagctcacaacacacctgcatattacatgtacctcctcctgctcctca agagtgtggtctatfttgcacatcacctgctgctgctgnaagaacggcttctgctgc aatggagagaaatcataacagacggtggcacaaggaggccatcttctctcatcggtt attgtccctagaagcgtcnnnnnnnnnnntgggcttcttctgggttgggcccatt tcagttctcatgtgtactattctattctattgataatggtttcaaaccagtgggcacaca ggaacctcactctgtaataacaatgaggaaatagccatggcgatctccagcacaat ctctccatgtttccacagctcctccagccaacccaatagcgcctgctatagtgtagac agcctcggcttctagcctgtccctctcttagtcttcttaacagataactcctggaagc cttcattttacacgccctgaagcagctctcttctgctagttgaattatgtggtgtgtttccgta ata
217436_x_at	[SEQ ID NO:62] tacctggaaggcacctgcatggagtggtccgcagacacctgggagaacgggaagg agacgctgcagcgcgaggacccccnaagacacagtgaccaccnccctnnt ctgaacatgaggcataacgaggtctgggtctggtcttaccctgcggaatcact tgacctggcagcgggatggggaggaccagaccaggacatggagctcglggagac caggcccacaggggatggaaacctccagaagtggcggtgtgtgagtgcctctgga gaggacagagatacacatgacctgtgcagcacaaggggcntgccaagcccctc atcctgagatgggagccctctcccagcccaccatcccattgggtatcattgctgg cctggtctcctggagctgtgtcactgnnnnnnnnnnnnnctgtgatgtggagg aagaagagctcagatagaaaaggaggagctactctcaggctgcaagcagccaa agtggccagggtctct
217478_s_at	[SEQ ID NO:63] ctgttttcagtaatctctccaccatgctgacagtgaaactggcagcatcattcctcc ctgtggaaagatttggcctaatttctcagctgctgagtgactcagctccagcctttt ctactaaactcacaccagaacctctgacatttctcctgctgactcagcaaatg accgctacacagcaattgcctattgggtacccggaaacgcaactccctcagatctgct ggagaatgtgctgtgtggcgtggcctttggcctgggtgtgctgggcatcatcgtgggcat tgttctcatctactccggaagcctgtcaggtgactgattctcagaccagagttt gatgccagcagctcggcatccaacagaggatgctcagatttctcacatcctgc

[0154]

프로브 세트 ID	표적 서열
219551_at	[SEQ ID NO:64] GaacaggTgaccataactctgccaatatagaaagtgaaggaagtagtaaattcag gtatcgtaaaagaacaacagcaacaacaatgtggaattcagccaggactccaatct tgtaaacattctccatctgaagataagatgccccagcatctccaatagatgatcga aagagaactgaaggcagaagctagtcfaatggaccagatgagtagttgtgatagttc atcagattccaaaaggttcatctctcaagtagtgaggatggtctagtgactcagaaga tgaagatgcaaatcctctactctgatacagggaaattgtctcaggacatcctaccatg acacagtcagggattctgatataagatgccagtcataatagatttcgagacaacagtg gcctctgatgaatactt
221081_s_at	[SEQ ID NO:65] Ttctcactttcatccagggaagccgagaagagcaagaatcctcctgcaggctattcca acagaaaatactgaatatgaggaacagaagaacaagaaccaggga aaactgtgaaataagagctgtggtgaataagaatgactagagctacacaccattctg gactcagccccctgccagtgaggcaggatcagcaaaaactgcagctcccaaatccat atctcactctgagcttggatccaggatgtctcaactggtctgagattggatccc tggattgattctcaggacttggagggctctgacaccatgctcacagaactgggctca gagctccatttttcagaggtgacacagtgaggaacagtagtcatgtgtgtagac actgggtagaagctgctgcaactgccctctccatcattataactctcaacagaa cacacttgggtcgaaggctcagcctctcatgaagtctg
221875_x_at	[SEQ ID NO:66] Tctaccctgaggatcacgctgacctggcagcgggatggggaggaaacagacca ggacacagagctgtggagaccaggcctgcaggggatggaaacctccagaaagtgg gccgctgtgggtgctcctnctggagaggaacagagatacacatgccatgtgcagcac gaggggctgccccagccccatcctgagatgggagcagctccccagccccaccatc cccatcgtggcatcgttctgctgctgttctctggagctgtgtcactggagctgtgtg cgctgctgtagtgagggaagaagagctcagatagaacagaggagctactctc aggtcgcagctgagacagcttctgtgtggactgagaagcaagatcaatgtag cagaattgcactgtgctcacgaacata
222838_at	[SEQ ID NO:67] Aacacctgtctaggctcagctggcacgtaagatgaacatccctaccaacacagagc tcaccatcttactaagtgaaaacatggggaaggggaaagggaatggctgct ttgatattccctgacacatacttgaatggagacctccctccaagtgatgaaagtgt gaaaaactaataacaatgcttgttggcaagaatgggattgaggattatctctca gaaaggcattgtgaaggaattgagccagatctctcccactgcaaaaccctattgta gta
222962_s_at	[SEQ ID NO:68] Aaacttcccactagataatgatgatcacatagctttagtgcggacattaaaagcca gatttctcattcaattctgtatctctgttttactcttgaattgatcaagccaactgaatcactt tgcatttcagtttatataatagagaaagaaggtgtctgcttaccattattggagcc ctgtagtagaaatgtaaaatctcatatttttttaattttttttttatgacagggtct cactatgcccctggctggagtgagtagtgcgtagtcgagcagcggcacactgc

[0155]

프로브 세트 ID	표적 서열
223575_at	[SEQ ID NO: 69] Aaatgactgcatcgtctctttttaaggtagagattaactgtatagacagcataggg atgaaaaggaaccaagcgtttctgtgggattgagactggtacgtgacgatgaacctgct gctttgtttctgagaagaggttgaagacattttaacagcttaattttctttactccat aggaactatttatagtaacattaacaacaagaatacctaagactgtttggaaatftaa aaagctactagtgagaaccaaataatgagggtgtagagcctgatgactccaacaaa gccatcaccgcattctctcctctctggtgctacagctccaagggccctcacctca tgctgaaatgg
223593_at	[SEQ ID NO: 70] ggcagctgcagacaagtggtaactggttggcagaatggcatgttctctgctgctggaa tgttttatggattaaagttaaaggcattaatgatgtaaaagaactgattgaagaaaagg ccgttaagatgggggtattaatgctcccggaaatgctttctacgtcgatagctcagctcc tagccctactgtgagcatccttctctcagcttccagacacagatggatgtggcctcc aggtattagcacaactataaaaagaatctttatgaagaaatataactagggtggcgatg gtgctgcacacctataatcccagcactttggaggcagaggaggaggatcactga acccaggaaatcaggctgcagtaagctacgatcacaccactgcaactctggcctgatg cactctggcctgcatggcagaacaagccctgctctaaaaaagagaaagaaatc aaactaatcatgctgctcat
225996_at	[SEQ ID NO: 71] Acagttcaaccagtgaccgacttctctcatgctgtttccccacacacaattcccact caattctgaaaataagaacctgttaataggttggaaagctgtgtactctattcatatattgtt cttctatgctagtggagagtgggtcattagcatcttaatttagagtttgaaatgatttac caattaggaattgaatgtatttttctgttaataagaagcaaatgaataataa gctggtgataaaaactaataatcatgcttttctgtttggagataggatgtgtgtcat atccttgatacaggctactcatctggcctctgttctgaagtttaagictggtttgaatg taataactactcagcatttctgtgctaagtgagacgaaactaaatgtatgatatt actcatgtattctgtactgttcatccaat
226084_at	[SEQ ID NO: 72] aatggctctatgatcagaactgggaaaacagtgatcttatgggtggaagggtinctca gcaagtgacagatattacctccttctgtctacatnggcttttaaatittcaataattcaac ataattagggaaacaagtgacagaaatttttttaagatagtgagaactttcatag atgaacttttaacaaatgtttcatttacaggaatgcaagaaaatttcaagtgata gtcttttttaaggtttcgttaagacaaaaatgaataatgtttttgaaagttctggcaagatt gaagctgatattgcagtaatgataatttaaaaaccataactaccaggaataatgat acctcccccttgattcccaatacaaaaagtgctacttgagatgggggagaaatg gcatggtaggctactttcagggcctgacaagtaacatcaccagtggtatctacatac ttcttcaagatctcaacctgaggtaaaagagccaagttcaagaacccctagcaca aatttgctttgg

[0156]

프로브 세트 ID	표적 시열
228316_at	[SEQ ID NO: 73] Acagggtcagactcatagggatggagtagacacagcagttgaaggactttactacc gatgacctgtgcagctatlaatgcatgcccgaagtgaaitaattcagtgctcactaa agagttgaatgagaacaaccatctttatctttgctctgctatacttcactgtctctgca gacatgaaaaaagtggcattaagctactcaagaaatcaataaagggtggatagat gcagtagaaaagtcttatgataaatgaltccctttgctccatgaaaagtggcaagaagt gcaaatatattgacagaaatggcttgacaaatctaatgacatcacgctattctcg atctcaggctgcagttacagaaatttctgaaggagatgacgcagtcacacctaaggaa catgtgtttgtagttctatcttaaccagctgaggagctgtacaacacctatg
228362_s_at	[SEQ ID NO: 74] gtactggccctcggattgaaagtatacagtgatgaaatttctgccactcttcatgcttg gaggttataattctttggatgagccctcaagaacattatctctttgccaattc agttgcatgctctgtggctttacttttaaggatctgctctctgttccaaatagatttccag aattcagctgcagaaaactaactggagataggcatgggtgacagatgtaaaaaatc agaagaatgatgatacaactgctatcaagatccagcccaac
228400_at	[SEQ ID NO: 75] Aataactcatttctacaaaggtataaaaaagggtcaagtgatggaagggctttct acacaggaatataattatcgggacaaagtatttctgctgcctaaactcttgggatgcat aggataaaatgataaagaccatttaatacagaaggggtgcttattaaatttaataa aactcacatttcttaattggggagctcattcagaactaaataatggttctcaagtg gtcaggatcagatctcatcagaactctggaatgctgttataaaataccaattgctatg acaaaaccaagctctgctggaactgcattcagcaggtttcccatgttattctgatgtattt aacattgagagccactaccaatcatctgtacagttcctactg
228492_at	[SEQ ID NO: 76] Aaccaatacacaaaatttctctatgacagaatgggtggagcataatagattgtattgg gctgctgcgatttttttccatagaatttaaggaagtttctaaaacttgcctctcctgat cccggggaagtgtacatcataagaatccatagctttgaagtaccattgcaccaagat gctgactgaattcatagtcacactttttgaaagaaagaattgttgatgtttttcattat tctaaaactctgttttagatatacaagatttaataagatctaaactcctgcttattatgta attcfaaggtagcattttgaaaaaacattgttttaagattccaagaaacctgtagttaa tactatattaaaagagaattgglaaatttgaatgtgtgtaattttggaacctgttaaaa accaaatataacctgcaaatagatacagcctatcctatactatta
228532_at	[SEQ ID NO: 77] Tgctgctgatagcctttatcttctcatcataaagagctacagaaaatcactccaagc cccaggcccagatcctcactcagatcctccagccaagcttcalccatcccagggga atcacttacctatgccagcaacttcaaaactctcagaagnnnnnnnnnnnnnnnn nnnnnnnatgctcaaataaagtaacaaactaactcagctttccaatgaggctgaat ccatttccctcatctcagccctatctcacacatcacittcacttttaaaaattttggacca ccacctgtgtgaaactgcagctggagttgtagatgtagctggcaatgctatccagcat ctttgagaccaatggtcagcttttctgcccagaggaaagattgatggccctcccact tgaactgacagcctgtgannccctggggcagatgactgcttcttggaccctccaa agtgtgtggtacngagctcagtcacagagatttaccagcatcatgaatcaactgt

[0157]

프로브 세트 ID	표적 서열
229152_at	[SEQ ID NO: 78] tgaagaaagtctcctctgatcacagccatctggcagtggtggttcccagctct caagaccaggaacgagaaaaaagaagtaacagcagcagatgaattgctcag gggtttgtgtcccttaccatatttgcacacacattccattccaagatt ccatgggttagacgtaatttctattccaatacctgaatctgcccctacaactcccctct agcgaagaaagtaacaagaaggaaaagtcacgataaacctggtcacctgaaattga aattgagccactccttgagaatcaaatcctgttaataaaagaaaaacaatgtaa ttgaaatagcacacagcattctctagcaatatcttagtgatcttctaata
229390_at	[SEQ ID NO: 79] gctgattagcttatggaaggaaccagaaattgtccttgaataatntcccgtgtg ggctggatcttgatagcagtggtatcatctctctgattttacatctgcaccgatgct atctccagtagtttctgcagctgaaatctggaaaatctattggaacaggagcagca gatccttaaaagtaaaagccacagagcatgcaactgaattggcaaaagagaatatta atgtttcttgaggctcgcatccaaaagaataataacactccaagcatgaaagagtg cagcaaatctcatctgtatactttcaatccgaaggccagactacagcatgtgcac aaatagtcaacagaaagagaagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc gggtgattcctgttctggctttagattcatctgtataaacagcactcctgagttatgac ttgaaatgagtag
229391_s_at	[SEQ ID NO: 80] Gtgtgggctggatcttgatagcagttgtatcatctctctgattttacatctgtcacc atgcctatctccagtagttttctgcagctgaaatctggaaaatctattggaacaggag cagcagatccttaaaagtaaaagccacagagcatgcaactgaattggcaaaagaga atattaatgtttcttgaggctcgcatccaaaagaataataacactccaagcatgaa gagtggcagcaaatctcatctgtatactttcaatccgaaggccagcactacagcat
229543_at	[SEQ ID NO: 81] tctactcattcaaaaggctataaactcaggagtgctgtttataccagatgaatctcaaa ccaagaacaggaatcaccgtatctctcagtagacctgatactgtgagcttctctttct gttgacatattgt
229625_at	[SEQ ID NO: 82] tttagctcctcaagcatalctgactggcatgatcctgcatgtggttacctggaaggaaa aacaaccctgggaatttatccaggaagttggaacaatcaaaacaaaagtggga ggcaagaaggaaannggcacattaatcctnnnnnnntatctttctcctnagaggca caagtgaagcagaagctgaaaaggctgaagcgaaggttggcggcattcaaa ggcaagaacgagcaaatgatgcaggagaggagagactccatcaggacaagtga gacaatggagatagccaaacaaaattggctggcagagcaacagaaaatgcagg aacaacagatgcaggaaacagcctgcacagctcagcacaacattccaagctcaaaa tagaagccttctcagtgagctccagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc tgtgtttactctaaagtgctaaataggagtttctttttactcttgcactgatgacaca acagaaaagaaactgtagacctgggacaatca

[0158]

프로브 세트 ID	표적 서열
231229_at	[SEQ ID NO: 83] Gcacgtccaaggtgatcctgagggtgtggcggacnaaggggacctgcaagtatnt gtcctcgnncacctgaagaaggctgttccaccacggntacgacatggcccgaat tgctatacactcaagcgtgtgctcaagggtgtggacaagggtcagcagggtgac cggcangggggcctcaggctcctcaccctgggcaagaagcaggcctcaagtcca agctcaagggtcaagggtcaacgacagcagaggggtggcgtctgggcagcggccctt ggacagcacaggctactactgggtccaaacaggggcacaagcggcttatcaagg gggtcgaagggtggccaagtgccactgcaatlaatgaggcaggccaggcaagca gtcaggggtgccaagancgccattggctcagtcagtgaggaa
231577_s_at	[SEQ ID NO: 84] ggaacaggagcaactactaaaagagggttcaaaaagaaagcagaataatgaa aatgagatacaggatctccagacgaaaatgagcgcgaaaggcatgtaccata agctaagaccagagcctctctcaccctaaccaaggcataatgaaacaatttta gaatttggacaagcgtcactacattgataataatgatctgtcatataacacaaa agttataaaggcatgtgttacaatgatcaaaatc
232234_at	[SEQ ID NO: 85] aacaccttaagtctagcacactgcagtgaggccaggcacctcagtgctgggcagg ggcatcagaagggtgctaagccctctctccacaatgccaagcggagaccacagcct acaccaaaccagccctgatttccctgtgctcctcataaacagaagaggctgctgg atccgctaagggtcagggagagggaaagaaaggggtggggggggcagcccc ctccagtgctcctactggtccaagctcaggtgggtgggaaaggcttatcaggtat catcaacagggttcaataaagatttgattatcaagatgtgaaaaaattctcaatgg aaactcttattagatgctcgnnnnnngtctatggaccacgcacatacagccatgct gttcag
232311_at	[SEQ ID NO: 86] acataccttgggtgatccacttaggaacctcagataataacatctgccacgtatagag caattgctatgtcccaggcactctactagacactcatacagtttagaaaatcagatggg ttagatcaaggcaggagcaggaacaaaagaaaggcataaacataagaaaa aaaatggaagggtggnaaacagagtaacaataacatgagtaatttgatggggctat tatgaactgagaaatgaacttgaaaagtatctggggccaaatcatgtagactcttgag tgatgtttaaggaaatgctatgagtgctgagagggcatcagaagtccttgagagcctcc
232375_at	[SEQ ID NO: 87] gaatatitgaatctacctagtgagintnntagngcatgntttgtcnggnatcctggaaan gcnnnccnaaaaagntannnttgcccctcaaaaancatgcccctgaagaagc tgtttgtacaggattgggttattctgttaltaaagcaaaaggcatcagccttgggtgag agggcctgtgtgtttggattggcaatcagcatnccatctctgtcatcaccattatgag aaaatagatggattggtccctctctgcagtcctgtggagcagttggactctctctgct ctccaggtgatactgtgagaacaattaaatgctaagcacaatgtaggaaacagttt gtggctttggacactcgtgtgaccattccttccattcagggtgatt

[0159]

프로브 세트 ID	표적 서열
232481_s_at	[SEQ ID NO: 88] gaagtcacatccttgggtccaaagcatctggaagaggaagaagagaggaatgagaaa gaaggaagtgtgcaaaaacatctccaaaagaagcttttggacaggaaaatcattca ccactcacagggtcaaataatgaaatacaaaaccacgaaccaatcaacagaattttat cctccaagatgccagctcattgtacagaaacatttagaaaagaagggaactca gcaactgggaatcacagaatacctaaggaaaaacattgctcagctccagcctgatat ggaggcaccattatctggagcccacgaagagctgaagtaatggaaacatlaatgta ctcagctcaagggaaggatattagtggaacagacaaaaatgagttttgaaactaaa gctaatttcatgctgaacctgactatttagaagtcctggagcagcaaacatagatgga gagtttggggcttcgcagaaaatgctgtgattctgtttagcctacacctgtaataagt gccttacgtgagtgatcaatcagaacctaacg
234907_x_at	[SEQ ID NO: 89] Agaagagattctgctgtctacatcaatacacctgaatagttggacagaaaattgaaatc tttaactaattctaactatgaagcacagtgaaatgaaagttaggct
235175_at	[SEQ ID NO: 90] Gacagtgagctggcacagagttagggaaattgactgtgtctcatattggctagtgaga gtgatctgtggaaattgtatatacaaaattttaaagtacatacatttggctagcaattctactat gggtatttatatagtcataataatnaatgtatattgtaataataatactatagttag taaatatantttatctatttagtaaaataactaaatgacaggnntctgagnccaagctn aagccatcatatncctgtgacctgcatgntacatnctccagatggnctgaagcaag tgannntcacaagaagtgaaaatggcctgttctgccttaactgacattacct tgtgaaattcctctcctggctcatcctggctcaaaagctccccactaagcaactgtga caccacctctgcccgcagagaacaaccccccttgactgtaatttctttaccaaccca aatcctgtaaaatgggtcccaacctatctcc
235276_at	[SEQ ID NO: 91] Accctgcactcccaagatttggcagatgggtagttccnnttttaaaaattgtgcagat atggaaaattgtgacttactcatgaccagaactatctagaatattgtgggggtataaa catcttgctaaaccaataatctatgtaggcagaggtaccaggagagagaagcaagact gctgcctaaaggagcccacatlttactttcacatttaactgccacgttgaatcaattgg aataaaacctgactcgcaggtgactggacaggaatcccaaagttccaccattctat gctta
236328_at	[SEQ ID NO: 92] gaaacccatgcttactatgaaagaacgtagtaccagggtttccatgagattctctac acaggcaagaagctccatagaagtgccattgaagggtgtggcagaggcagtgctgt gtttatcacactgggtccatttccctgcaaaataagaagtctattccagtaaccttgca taagagtgccatgtgattgagttctagccaatggaggtgtgagcaaaagtatataa gccactttcaggctagccttcaaacatcctcaggcttctctatccctgccaaggtagc ctggaggctgcttattccagactgggtgatagaaggtcactctctctgtgtgga

[0160]

프로브 세트 ID	표적 서열
237515_at	[SEQ ID NO: 93] Atgaatcagtggttactaggactatncagacttaaaatagcaactggcattcttattttg ttctcgtgttttattggaggataataatgtctaagttattccattaaatttgaatg ttgtatactttatgtgcccatttaaagatatagtcaagttctaaagcaataatctgcatgtat acaaggttgacatattttgtcctgaaatttttagttaaacttcaagaatgataaaatgaac accctgtaaataccctctccccctccctccatgaaaacctgggattttctgtgctag aacantaccacaatggtgcaagcttgt
238524_at	[SEQ ID NO: 94] Aaatgtacccttgattgatgctaagtctgatttagggctgaaggaagcacacactaaa tatctgagtgctttcagattccatctatgctgaaaaagaatctaggagaataaacncatt tcaattagcccttaanannnnnnnnnanaannnnagcccactaaagccagtagg gcatagggagagaaactgcaccaggattcagatctggattcaantttgtctgaaaa atagcaagtgacactggcatgccatttaacctctcgggctcaattccactatagata gtacctgtgtcagfaagacaactgatgtaactttgccaaacaagtagaattaccctt cctcctttgtcctgctctgcttataactttgctgacctaaactttcctgtatgtatt cttatcccagatattgcaacaattgctagcaaggaaaagtaatgacggatttcaattcc caatagctctggcaagaaatgaaaggttacttctcctgctaattcaat
238581_at	[SEQ ID NO: 95] Aacaatgtcagctttcaactgggtggaggctgctattctgtggacagtgagatgttct tggcactgcaatagacaatctgctgtagaagaattccaaagctgaaagccaataatgtt ataataaaaatagagattctcagaagatgaaaggaattaccagcatggaaattgtgct ataggcttaagggtcaagaagaagccttttctttctgtccacctcaaccaagagcaca acttaataaggcattttataacctgaacacaaatttattggactaattatgtgtaat atgttataatccttagatctataaataatggtataaggaatgccataatgtgcca aaatctgagtgcaatttaattgcttctatagtgcta
238587_at	[SEQ ID NO: 96] gctctacaagtgtgccacatcaatccgtaatgcccagtgatttcacagacagaac ttgttctctgtatttaaaataccgctgttctccatggaccagagtaattggcacatt tfaatgcaatagctgggtttcattttcccaggctctctcaccatcactgcatgttagct aggagctattgctcaccctgtaggagttcagattacagtggtttccattacattagat tcaagaatctgaatggctgattaaatggccatctgatggctgaaagagggcgtatttt cactctgtagtgaaggcttgaggagtttctact
239012_at	[SEQ ID NO: 97] taaaaataagtcgcccagctctccttataaacagcttttagactggtttgatcatgcc ctgtatgaccagagatatttaaccaacctagtttgttattctgacaatctcacacac attaaagaattaccattttcaggcactttcaatgttaaaaaaataatccaattattga aaatcagttgacaacaacccccactccatnccccngcnaaaaaaaaaaaaa anaanaacaaaagcagcctaattcagtgatacaaaactctgaagggtggcaattcccc caactgccaaggaatagcacataatttctcctcttactccaaattgggacc tctcctctgataaacacagcttttaggttacttgaatcagccccattaaagactcttg cggcaccaagc

[0161]

프로브 세트 ID	표적 서열
244061_at	[SEQ ID NO: 98] Gaaatggcacattttctggatgtgagagttggcaaaagatcacaaaaaagcaaa aaataatctactctgtaaatgaaatggatattnnngtactaccctcataagcattaa aagaaaataatgcatgaaattccatagaaatgtgctatcatgttaactgactcaaac cagaagacctagatgatattgctaataatacatgtggtgggtatgagtggaagt atgtgtgagagttatcattgccaatagtgtaaaagagtgaaatagctccactgactag atgagagccttagtcttatt
244393_x_at	[SEQ ID NO: 99] Cccagcgtataactttaacaattcccataatgctcttattccactaagatgagtgacgt atattttccatctgtccaaggcttccaaatgtagccaangccaagccaaaccagtc acatgatcnaaatcaaggcattttgggaatccaggctgtgattcagggaagtcca agtgctgatgaaagtggtttttacatctttgtgctcctgacaggtctagcactgtgatga ggtaacatgtgctcc
AFFX- HUMISGF3A/ M97935_MB_ at	[SEQ ID NO: 100] Ctggatatacaagactgagttgattctgtgtgtaagttccctctgactcagacc acagacaacctgctcccagctcctgaggagttgacgagggtctcggatagtggtg ctctgtagaattcgacagtatgatgacacagtatagcatgaaattttctctctctg gagcagattttctctctctgattccctcctgctactctgtcctcactcctgtttct agggaaatgaaagaaaggccagcaaatcgtgcaacctgtgatgcaagtgaaatt ttctcctaactcagaaacatcagttactctgaaaggcctcatgcatcttactgaaaggtaa attgaaaggcattctgaaagtggtttcacaagtgaaaacalccagataccccc aaagtacaggacgagaatgagggtcctttgggaaagggaagttaagcaacatct agcaaatgttatgcataaagtcagtgcccaactgttataggtgttgataaatcagtggt tatttagggaactgctgacgtaggaaacgtaaatctgtgggag

[0162]

[0163]

일 양태에서, 본 발명은 전가공 단계를 수행하여 표준화된 유전자 또는 프로브 세트 세기 매트릭스를 생산하고 상기 매트릭스를 신호 대 노이즈 통계학적 분석으로 처리하여 차별적으로 발현된 유전자 또는 프로브 세트를 확인한 다음 가장 차별적으로 발현된 유전자 순서대로 유전자 또는 프로브 세트를 랭킹함에 의해 생성된 유전자 프로필을 제공한다.

- [0164] 일 구체예에서, 각 환자에 대한 관련 유전자 발현의 측정치 또는 유전자 세기 벡터로부터 유래된 "지수(index)"를 플롯팅함으로써 역치가 성립될 수 있다. 일반적으로, 반응자 및 비-반응자는 대략 상이한 축/초점에서 군집화될 것이다. 역치는 전형적인 통계학적 방법에 의해 또는 두 그룹 사이의 중도를 확립하기 위한 "추세선(best fit line)"을 단순히 플롯팅함으로써 군집 사이의 갭에서 확립될 수 있다. 예를 들어, 소정의 역치를 초과하는 값은 반응자로서 지정될 수 있으며, 예를 들어, 소정의 역치 미만의 값은 비-반응자로서 지정될 수 있다.
- [0165] 일 구체예에서, 주어진 어떠한 분류자의 성능을 분석할 수 있다. 역치의 수준을 변화시키고, 각각의 역치 값에 대해, 모델의 예측 능력 (민감성, 특이성, 포지티브 및 네거티브 예측 값, 정확성)을 계산함에 의해 철저한 성능 분석이 수행된다. 이러한 분석은 주어진 분류자에 대해 적합한 역치를 선택하는데 도움이 될 수 있다.
- [0166] 또한, 분류자의 성능 분석은 모델의 민감성, 특이성, 포지티브 및 네거티브 예측 값 및 정확성을 평가하기 위해 주어진 역치 값에 대해 수행될 수 있다.
- [0167] 본 발명의 하나 이상의 양태에 의해 제공된 프로파일의 적합한 구체예에서, 성별과 밀접하게 관련된 유전자의 효과는 배제된다.
- [0168] 일 구체예에서, 흑색종의 유전자 발견 분별인자(discriminant)의 서브세트를 이용하여 Q-PCR에 의해 평가된 이들의 유전자 프로파일에 따라 종양 샘플을 분류하는 방법이 제공된다 (실시예 1).
- [0169] 일 구체예에서, 흑색종에서 유전자 발견 분별인자의 전부 또는 서브세트를 이용하여 Q-PCR에 의해 평가된 이들의 유전자 프로파일에 따라 NSCLC암 종양 샘플을 분류하는 방법이 제공된다.
- [0170] 분류자는 관리된 주요 성분 분석 및 Cox 비례 위험성 모델의 사용을 포함할 수 있다; 유전자 발현 프로파일에 추가하여, 이러한 접근법에서 시험 세트 유전자 발현에 기반하여, 모델 파라미터를 계산하고 후속하여 시험 세트에 대한 위험 지수를 계산하기 위해, 종양 단계 및 외과술 상태와 함께 트레이닝 세트에서 샘플의 DFI 또는 DFS, 전반적인 생존(OS)을 이용할 수 있다.
- [0171] 일단 유전자 프로파일 확인되고 샘플에 대한 분석이 수행되면, 예를 들어 한 가지 색으로 반응자를 표시하고 또 다른 색으로 비-반응자를 표시하는 히트 맵(heat map)과 같은, 결과를 나타내는 다수의 방법이 존재한다. 그림에도 불구하고, 더욱 정성적인 정보는 지수로서 표시될 수 있는데, 지수는 역치를 지니는 스펙트럼으로서 결과를 도시하며, 예를 들어 역치를 초과하는 환자는 반응자로서 고려되고 역치 미만의 환자는 비-반응자로서 고려된다. 스펙트럼으로서 정보를 제시하는 이점은 의사로 하여금 비-반응자로 여겨지나, 역치에 가깝게 위치하는 환자에게 치료를 제공할지를 결정할 수 있게 해 준다는 것이다.
- [0172] 본 발명과 관련하여 "면역치료제"는 일반적으로 항원에 대한 면역 반응을 자극하는 것에 기반한 치료제를 의미하며, 상기 반응은 그와 관련된 질환을 치료, 개선 및/또는 진행을 지연시킨다. 이와 관련하여 치료는 일반적으로 예방적 치료를 포함하지 않을 것이다.
- [0173] 본 발명과 관련하여 "암 면역치료제"는 암을 치료하기 위한 면역치료제를 의미한다. 일 양태에서, 면역치료제는 Mage와 같은 고환암 항원에 기반한다 (하기에 보다 상세하게 논의됨).
- [0174] 유리하게는, 본 발명의 신규한 방법에 의해 적합한 면역치료제 치료에 반응할 것 같은 환자를 확인할 수 있다. 상기 방법은 그러한 치료가 이로운 환자로서의 자원의 적합한 채널링을 촉진하고 그러한 치료가 이롭지 않을 환자에게 더욱 유익할 수 있는 대안적인 치료를 환자가 받게 할 수 있다.
- [0175] 본 발명은 적합한 면역치료제에 반응할 것 같은 암환자, 예를 들어 흑색종, 유방암, 방광암, 폐암, NSCLC, 두경부암, 편평세포 암종, 결장 암종 및 식도 암종을 지닌 환자, 예컨대, MAGE-발현 암을 지닌 환자를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 구체예에서, 본 발명은 그러한 암, 특히 폐암 및 흑색종에서 애주먼트(수술 후, 예를 들어 질환 없음) 환경에 이용될 수 있다. 본 발명은 또한 전이 환경에서 암의 치료에 유용성을 지닌다.
- [0176] 면역 활성화 유전자는 적합한 면역 반응을 촉진하거나, 증가시키거나 자극하는 유전자를 나타내고자 한다. 면역 반응 유전자 및 면역 활성화 유전자는 본원에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0177] **마이크로어레이**
- [0178] 암/종양 세포와 같은 세포에 의해 발현된 유전자를 분석하기 위한 중요한 기법은 수 백개 이상의 프로브 서열(예컨대 55,000개 프로브 세트)이 유리 표면에 부착되어 있는 DNA 마이크로어레이이다 (유전자 칩 기법으로도 알려짐). 프로브 서열은 대체로 모두 25 mer 또는 60 mer이고 공지 유전자로부터의 서열이다. 이러한 프로브

는 일반적으로 임의의 특정 유전자 (프로브 세트)에 대한 11개의 개별적인 프로브의 세트로 정렬되며 유리 표면 상에서 소정의 패턴으로 고정되어 있다. 적합한 생물학적 샘플에 노출되면, 이러한 프로브는 특정 유전자의 관련 RNA 또는 DNA에 하이브리드화된다. 세척 후, 칩은 적합한 방법에 의해 "관독"되고 색의 세기와 같은 양이 기록된다. 특정 유전자의 차별적인 발현은 기록된 측정치/세기에 비례한다. 상기 기법은 하기에서 보다 상세하게 논의된다.

[0179] 마이크로어레이는 불연속 영역, 전형적으로 핵산의 어레이이며, 이는 서로 분리되며, 전형적으로 약 $100/\text{cm}^2$ 내지 $1000/\text{cm}^2$ 의 밀도로 정렬되나, $10000/\text{cm}^2$ 와 같은 더 높은 밀도에서도 정렬될 수 있다. 마이크로어레이 실험의 원리는 제공된 세포주 또는 조직으로부터의 mRNA가 표지된 샘플, 전형적으로 표지된 cDNA, 소위 "표적"을 생성하기 위해 사용되며, 이는 정렬된 어레이의 슬리드 표면에 부동화된 수많은 핵산 서열, 전형적으로 DNA 서열과 동시에 하이브리드화된다.

[0180] 수 만개의 전사체 종이 검출될 수 있으며, 동시에 정량될 수 있다. 많은 상이한 마이크로어레이 시스템이 개발되었지만, 오늘날 가장 통상적으로 사용되는 대부분의 시스템은 어레이된 물질에 따라 두 그룹으로 나누어질 수 있다: 상보적 DNA (cDNA) 및 올리고뉴클레오티드 마이크로어레이. 어레이된 물질은 일반적으로 프로브로 불리는데, 그 이유는 이것이 노던 블롯 검정에 사용된 프로브에 상당하는 것이기 때문이다. cDNA 어레이에 대한 프로브는 일반적으로 벡터-특이적 또는 유전자-특이적 프라이머를 사용하여 cDNA 라이브러리 또는 클론 콜렉션으로부터 생성된 증합효소 연쇄 반응 (PCR)의 생성물이며, 규정된 위치에서 스팟 (spot)으로서 유리 슬라이드 또는 나일론 멤브레인상에 프린팅된다. 스팟은 전형적으로 $10\text{-}300\mu\text{m}$ 크기이며, 거의 동일한 간격을 두고 이격되어 있다. 이러한 기법을 이용하여, 30,000개 초과와 cDNA로 이루어진 어레이는 통상적인 현미경 슬라이드 표면에 핏팅될 수 있다. 올리고뉴클레오티드 어레이에 있어서, 짧은 20-25 mer는 실리콘 웨이퍼상에서의 포토리소그래피에 의해 (Affimetrix로부터의 고밀도-올리고뉴클레오티드 어레이) 또는 잉크-젯 기법 (로제타 인파마틱스(Rosetta Inpharmatics)에 의해 개발되어, 어질런트 테크놀로지스 (Agilent Technologies)로 라이선싱됨)에 의해 동일계에서 합성된다. 대안적으로, 미리 합성된 올리고뉴클레오티드는 유리 슬라이드상에 프린팅될 수 있다. 합성 올리고뉴클레오티드에 기반한 방법은 서열 정보 단독으로도 어레이될 DNA를 생성시키기에 충분하기 때문에, cDNA 공급원의 시간 소모적 작업이 요구되지 않는다는 이점을 제공한다. 또한, 프로브는 주어진 전사체의 가장 독특한 부분을 나타내도록 설계되어 밀접하게 관련된 유전자 또는 스플라이스 변이체 가능성을 검출할 수 있게 한다. 짧은 올리고뉴클레오티드가 덜 특이적인 하이브리드화 및 저하된 민감성을 유도할 수 있지만, 미리 합성된 더 긴 올리고뉴클레오티드 (50-100 mer)의 어레이도 최근 이러한 단점과 직면하게 됨이 밝혀졌다.

[0181] 따라서, 환자가 본 발명의 유전자 시그니처를 나타내는 지의 여부를 확인하기 위한 마이크로어레이를 수행하는데 있어서, 하기 단계가 수행된다: 샘플로부터 mRNA를 수득하고 핵산 표적을 준비하고, 전형적으로 마이크로어레이의 제조업자에 의해 제안된 바에 따른 조건하에 어레이를 접촉시켜 (적합하게는, 3X SSC, 0.1% SDS, 50°C의 엄격한 하이브리드화 조건) 어레이상에 상응하는 프로브를 결합시키고, 필요에 따라 세척하여 비결합된 핵산 표적을 제거하고, 결과를 분석한다.

[0182] 당업계에 공지된 방법, 예컨대 프라이머 특이적 cDNA 합성에 의해 표 1에 기재된 것과 같은 대상 서열에 대한 mRNA는 풍부해질 수 있음이 자명할 것이다. 집단은 추가로, 예를 들어, PCR 기법을 이용하여 증폭될 수 있다. 표적 또는 프로브는 표적 분자의 마이크로어레이로의 하이브리드화 검출을 가능하게 하도록 표지된다. 적합한 표지는 프로브로 혼입될 수 있는 동위 원소 또는 형광 표지를 포함한다.

[0183] 일단 표적 유전자/프로필이 확인되면, 유전자(들)가 차별적으로 발현되는지를 측정하는데 이용될 수 있는 마이크로어레이에 대한 여러 개의 분석적인 방법이 존재한다.

[0184] 일 양태에서, 본 발명은 표 1에 나열된 유전자로부터 선택된 유전자들 중 하나 이상의 유전자 생성물의 서열에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브를 포함하는 마이크로어레이를 제공한다. 적합하게는, 표 1의 유전자에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브 또는 프로브 세트가 상기 마이크로어레이 상의 프로브 또는 프로브 세트의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 실질적으로 전부를 구성한다.

[0185] 적합하게는, 마이크로어레이는 표 2에 나열된 유전자의 유전자 생성물의 서열에 상보적이고 하이브리드화될 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브를 포함한다.

[0186] 적합하게는, 본 발명에 따른 검출제 또는 마이크로어레이를 지니는 고체 표면은, 예를 들어 표 1의 5, 6, 7, 8,

9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82 또는 83개 유전자로부터 발현된 mRNA 또는 cDNA를 검출할 수 있는 검출제 또는 프로브를 포함한다.

- [0187] 일부 예에서, PCR은 마이크로어레이보다 더욱 민감한 기법이므로, 보다 낮은 수준의 차별적으로 발현된 유전자를 검출할 수 있다.
- [0188] 대안적인 구체예에서, 환자는 그/그녀의 종양이 PCR 기법, 특히 정량적 PCR (Quantative PCR)에 기반한 진단 키트를 사용하여 본 발명의 유전자 시그니처를 발현하는지의 여부를 확인하기 위해 진단될 수 있다 (검토를 위해 Ginzinger D Experimental haematology 30 (2002) p 503-512 and Gmliette et al Methods, 25 p 386 (2001) 참조).
- [0189] 분석 기법은 실시간 증합효소 연쇄 반응, 소위 정량적 실시간 증합효소 연쇄 반응 (QRT-PCR 또는 Q-PCR)을 포함하며, 이는 샘플에 존재하는 주어진 DNA 분자의 특정 부분을 동시에 정량하고 증폭하는데 사용된다.
- [0190] 공정은 증합효소 연쇄 반응의 일반적 패턴을 따르나, DNA는 각 횟수의 증폭 후에 정량화된다 ("실시간" 양상). 정량화의 세 개의 공통된 방법은 (1) 이중-가닥 DNA에 삽입되는 형광 염료의 사용, (2) 상보적인 DNA와 하이브리드화되는 경우 형광을 발하는 변형된 DNA 올리고뉴클레오티드 프로브의 사용 및 (3) 형광 염료를 방출시키는 연장 동안 DNA 증합효소에 의해 가수분해되는 증폭된 서열에 상보적인 Taqman 프로브의 사용이다.
- [0191] 실시간 증합효소 연쇄 반응의 배후의 기본 개념은 샘플 중에 특정 cDNA (및 따라서, mRNA)가 더 많을수록, 반복되는 증폭 사이클 동안 더 먼저 검출될 것이라는 점이다. 향후의 DNA 증폭을 허용하는 다양한 시스템이 존재하며, 이들은 종종 실시간 증폭 동안 새롭게 합성된 DNA 분자로 혼입되는 형광 염료의 사용을 포함한다. 열순환 공정을 조정하는 실시간 증합효소 연쇄 반응 머신은 이어서, 형광 DNA의 존재비를 검출하고, 주어진 샘플의 증폭 진행을 검출할 수 있다. 전형적으로, 시간에 따른 주어진 cDNA의 증폭은 초기 평평한 상태 이어서, 지수 상태를 갖는 곡선에 따른다. 최종적으로, 실험 시약을 다 사용했을 때, DNA 합성은 느려지며, 지수 곡선은 플래토 (plateau) 상태로 평평하게 된다.
- [0192] 대안적으로, mRNA 또는 표적 유전자(들)의 단백질 생성물은 노던 블롯 검정, 웨스턴 블롯 및/또는 면역조직화학법에 의해 측정될 수 있다.
- [0193] 일 양태에서, 프로필/시그니처를 확인하기 위한 분석을 교환암 항원이 발현되는 환자 샘플 상에서 수행한다.
- [0194] 단일 유전자가, 예를 들어 Q-PCR에 의해 분석되는 경우, 유전자 발현은 불변부를 보유하는 유전자를 참조로 하여 표준화될 수 있고, 예를 들어 기호 H3F3A, EIF4G2, HNRNPC, GUSB, PGK1, GAPDH 또는 TFRC를 갖는 유전자가 표준화에 적용하기에 적합할 수 있다. 표준화는 고려되는 유전자에 대해 수득된 Ct 값으로부터 불변 유전자에 대해 수득된 값을 감함으로써 수행될 수 있다.
- [0195] 유전자의 차별적인 발현을 정량화하는데 사용된 하나의 파라미터는 배수 변화 (fold chage)이며, 이는 두 개의 구별되는 실험 조건 사이의 유전자의 mRNA 발현 수준을 비교하기 위한 측정 기준(metric)이다. 이의 산술적 정의는 연구자 마다 상이하다. 그러나, 배수 변화가 높을수록, 관련 유전자의 차별적인 발현이 더욱 충분히 구별될 것이며, 이는 환자가 어느 범주 (반응자 또는 비-반응자)에 속할지를 용이하게 결정하게 한다.
- [0196] 배수 변화는, 예를 들어 2 이상, 10 이상, 15 이상, 20 또는 30 이상일 수 있다.
- [0197] 차별적인 발현을 정량화하는데 또한 사용된 또 다른 파라미터는 "p" 값이다. p 값이 더 낮을수록, 유전자는 더욱 차별적으로 발현할 것으로 여겨지며, 이로 인해 본 발명의 프로필에 사용하기 위한 우수한 후보가 된다. P 값은, 예를 들어 0.1 또는 그 미만, 예컨대, 0.05 또는 그 미만, 특히, 0.01 또는 그 미만을 포함할 수 있다. 본원에 사용된 P 값은 수정된 "P" 값 및/또는 또한 비수정된 "P" 값을 포함한다.
- [0198] 샘플 분류에 사용될 수 있었던 유전자를 확인하기 위한 또 다른 파라미터는 신호 대 노이즈이고, 이러한 알고리즘은 그룹내 표준 편차의 가중된 합계에 비해 두 그룹간 발현 수준의 차이를 측정한다. 따라서, 그룹내 편차가 적은 그룹들 간 가장 높은 발현 차이를 지니는 유전자를 랭크하는데 사용될 수 있다.
- [0199] 본 발명은 또한, 본원에 기술된 본 발명에 따른 분리된 구체예로 확장되며, 이는 본원에 기재된 구성요소/엘리먼트를 포함하거나, 이들을 필수적으로 포함하거나 이들로 이루어진다.
- [0200] 본 발명은, 예를 들어 문헌 [Hongwei Wu et al 2007 (Hierarchical classification of equivalent genes in

prokaryotes-Nucliec Acid Research Advance Access))에 기술된 바와 같이 유전자의 계층적 분류를 특징으로 하는 본원에 나열된 유전자의 기능적 등가물로 확장된다.

- [0201] 이론에 구속시키고자 하는 것은 아니지만, 유전자 자체가 반드시 시그너처의 특징일 필요는 없지만, 이는 근본적으로 중요한 유전자 기능인 것으로 여겨진다. 따라서, 예를 들어, 표 1에 나열된 바와 같은 면역 활성화 유전자와 기능적으로 동등한 유전자가 시그너처에 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Journal of the National Cancer Institute Vol 98, No. 7 April 5 2006] 참조).
- [0202] 유전자는 특이적 프로브에 의해 확인되었으며, 따라서, 당업자는 상기 유전자에 대한 기제가 무엇이 프로브에 하이브리드화되는 지에 대한 현재의 지식에 기반한 설명임을 이해할 것이다. 그러나, 규정된 조건하에 관련 프로브로의 하이브리드화를 반복함으로써 유전자에 대해 사용된 명명법과 상관없이, 필요한 유전자를 확인할 수 있다.
- [0203] 본 발명은 면역치료제, 예컨대 암 면역치료제, 예를 들어, 고환암 면역치료제, 구체적으로 특히 흑색종에 대한 Mage 면역치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 환자를 예측하거나 확인하기 위한 본 발명에 따른 프로필(들)의 용도로 확장된다.
- [0204] 이와 같이, 본 발명은 샘플이 유래된 환자를 본 발명에 따른 면역치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로 특성화하기 위해, 본 발명에 따라 프로필/유전자(들)의 차별적인 발현에 기반하여 환자 유래 샘플을 분석하는 방법을 포함한다.
- [0205] 일 양태에서, 본 발명은
- [0206] 샘플로부터 RNA를 분리하는 단계,
- [0207] 상기 유전자에 대해 샘플로부터의 cDNA의 복사체(copy)를 임의로 증폭시키는 단계, 및
- [0208] 샘플에서 cDNA의 수준을 정량화하는 단계를 포함하는, 샘플이 유래된 환자가 면역치료제, 예컨대 본 발명에 따른 암 면역치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자일지를 확인할 목적으로 샘플에서 본원에서 확인된 유전자로부터의 폴리뉴클레오티드의 발현 수준을 측정하는 방법을 제공한다.
- [0209] 일부 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 프로필을 확인하기 위해 환자로부터 유래된 샘플에 대한 분석을 수행하기 위한 하나 이상의 구성요소를 포함하는 진단 키트를 제공하고, 그 결과를 이용하여 샘플이 유래된 환자를 면역치료제에 대한 반응자 또는 비-반응자로서 지정할 수 있다.
- [0210] 키트는 PCR (예컨대, QPCR), 마이크로어레이 분석, 면역조직화학법 또는 하나 이상의 유전자의 차별적인 발현을 평가하는데 사용될 수 있는 기타 분석 기법을 위한 재료/시약을 포함할 수 있다.
- [0211] 본 발명은 또한 본 발명에 관해 본원에 기재된 하나 이상, 예컨대 5개 이상의 유전자의 mRNA 또는 cDNA에 하이브리드화될 수 있는 프로브의 세트를 포함하는 진단 키트를 제공하고, 예를 들어, 표 1의 적어도 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52,53, 54, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82 또는 83개 유전자의 mRNA 또는 이의 cDNA에 하이브리드화될 수 있는 프로브의 세트를 포함하는 진단 키트를 제공한다.
- [0212] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 진단 키트에 관한 것이다. 예를 들어, 진단 키트는, 예를 들어 본 발명의 유전자 시그너처를 나타낼 수 있는 표 1의 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82 또는 83개 유전자로부터의 mRNA 또는 cDNA에 하이브리드화될 수 있는 프로브 및 마이크로어레이 기제(substrate)를 포함하는 그러한 마이크로어레이를 포함한다.
- [0213] 일 양태에서, 본 발명은 본 발명에 따른 시그너처의 식별에 적합한 마이크로어레이를 제공한다.
- [0214] 일부 구체예에서, 본 발명은 또한 본 발명에 사용된, 예를 들어 표 1로부터의 하나 이상의 유전자로부터 발현된 mRNA 또는 cDNA 모이어티(moiety)에 하이브리드화되기에 적합한 프로브 및 기제로 확장된다.
- [0215] 시중에서 입수가 가능한 마이크로어레이는 분석의 정확성을 위해 임의의 한 시점에서 고려중인 유전자의 차별적인 발현을 특성화하는데 요구되는 것보다 매우 많은 프로브를 함유한다. 따라서, 하나 이상의 프로브 세트는 동일

한 유전자를 인지할 수 있다.

- [0216] 따라서, 일 구체예에서, 다중 프로브 또는 프로브 세트는 본원에 기재된 본 발명의 어떠한 양태에 따른 유전자의 차별적인 발현, 예컨대 상향조절을 확인하게 위해 사용된다.
- [0217] 진단 키트는, 예를 들어 마이크로어레이에서 정렬된 프로브를 포함한다.
- [0218] 특히, 예를 들어, 본원에 기술된 하나 이상의 프로브 세트를 함유하는 제조된 마이크로어레이는 Affimetrix와 같은 회사에 의해 용이하게 제조될 수 있어 본 발명에 따른 프로필을 확인하기 위한 특이적 시험 및 임의로 시약을 제공한다.
- [0219] 구체예에서, 마이크로어레이 또는 진단 키트는 추가적으로 Mage 유전자와 같은 관련 고환암 항원 발현 유전자의 존재 또는 부재에 대해 시험할 수 있을 것이다.
- [0220] 따라서, 일 양태에서, 본 발명은 적합한 조건하에 상기 하이브리드화에 적합한 프로브 및/또는 프로브 세트를 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명에 따른 유전자 프로필을 확인하기 위한, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 프로브 또는 이의 기능적 등가물의 사용으로 확장된다.
- [0221] 일부 구체예에서, 본원에 기술된 발명은 상기 시그너처의 확인을 위해 본원에 나열된 모든 순열의 프로브 (또는 이의 기능적 상동체)의 사용에까지 확장된다.
- [0222] 일 양태에서, 본 발명은 본 발명에 따른 유전자 프로필이 환자 유래 샘플에 존재하는지를 확립하기 위해 면역 활성화 유전자의 하나 이상의 유전자 생성물의 차별적인 발현을 확인하기 위한 프로브의 용도를 제공한다.
- [0223] 하이브리드화가 적용된 본 발명의 구체예에서, 하이브리드화는 일반적으로 엄격한 조건, 예컨대 3X SSC, 0.1% SDS하에 50°C에서 수행될 것이다.
- [0224] 일단 표적 유전자(들)/프로필이 확인되면, 당업자는 동일한 표적에 하이브리드화되는 대안적인 프로브를 설계할 수 있을 것이다. 따라서, 본 발명은 또한 적합한 조건하에, 기술된 바와 같은 시그너처/프로필을 제공하기 위해 본 발명의 유전자(들)의 동일한 차별적인 발현을 측정하는 프로브로 확장된다.
- [0225] 본 발명은 또한 암 환자가 적합한 면역치료제로의 치료에 대한 반응자 또는 비-반응자일 지의 여부를 분석하는데 있어서 관련 프로브의 용도로 확장된다.
- [0226] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 시그너처를 확인하기 위한 공지된 마이크로어레이의 용도 (및 이를 이용한 방법)로 확장된다.
- [0227] 핵산 프로브는 길이가 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 75, 100개 또는 그 초과인 뉴클레오티드일 수 있으며, 전장 유전자를 포함할 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 프로브는 엄격한 조건하에 표 1에 나열된 유전자로부터 발현된 mRNA (또는 이의 cDNA)에 특이적으로 하이브리드될 수 있는 것들이다.
- [0228] 본 발명은 추가로 본원에 기술된 본 발명의 어떠한 구체예를 적용하여 발현 프로필을 약물 처리 전 및 후에 분석하는 단계를 포함하여, 조직 또는 세포 샘플 상에서 약물의 효과를 스크리닝하는 방법에 관한 것이다. 따라서, 본 발명은, 예를 들어 Mage 항원 특이적 암 면역치료제로부터 환자가 이익을 얻을 수 있도록 (즉, 유전자 프로필을 반응자의 유전자 프로필로 변경시키기 위해), 예를 들어, Mage 항원 특이적 암 면역치료제로 치료 후 개선된 생존율을 갖는 환자의 유전자 프로필로 유전자 프로필을 변경시킬 약물을 스크리닝하는 방법을 제공한다.
- [0229] 본 발명은, 예를 들어 본원에 기재된 본 발명의 어떠한 구체예에 따른 발현 프로필을 분석하는 단계 및 이를 표준과 비교하여 환자가 Mage 특이적 면역치료제로부터 이익을 얻을지를 진단하는 단계를 포함하는, 환자의 진단 방법을 추가로 제공한다.
- [0230] 본 발명은 환자에 의해 제공된 종양 조직 샘플로부터 본 발명의 어떠한 구체예에 따라 발현 프로필을 분석하는 단계 및, 예를 들어 표 1의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82 또는 83개의 상기 유전자가 발현되는지의 여부를 평가하는 단계를 포함하는, 환자의 진단 방법을 제공한다.
- [0231] 이와 같이, 임상 적용에서, 인간 환자로부터의 조직 샘플은 본원에 기재된 본 발명의 어떠한 구체예의 발현의

존재 및/또는 부재에 대해 스크리닝될 수 있다.

- [0232] 대안적인 양태에서, 본 발명은 항원(들)이 종양에 의해 발현되는지를 측정하기 위해 종양 유래 샘플을 분석하는 단계 및 이에 따라 치료학적 유효량의 적합한 항원 특이적 암 면역치료제를 투여가능하게 하는 단계를 추가로 포함하는 방법을 제공하며, 예를 들어 여기서 종양이 MAGE (예컨대, Mage A3) 포지티브인 것으로 밝혀진 경우, 적합한 치료는, 예를 들어 Mage A3 항원 특이적 면역치료제를 투여하는 것을 포함할 수 있다.
- [0233] 하나 이상의 유전자, 예컨대 본 발명의 어떠한 구체예의 유전자가 실질적으로 모두 차별적으로 발현되고 (예컨대, 상향조절되고), 마이크로어레이 분석 또는 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 다른 적합한 분석에 의해 검출될 수 있는 경우, 환자의 종양 조직과 같은 샘플은 본 발명의 유전자 시그니처를 제공하는 것으로 간주된다.
- [0234] 추가의 특수한 구체예를 하기에 기술한다.
- [0235] 일부 구체예에서, 본 발명은,
- [0236] 1 표 1의 하나 이상의 유전자의 유전자 생성물의 발현을 위해 환자 유래 샘플을 분석하는 단계,
- [0237] 2 유전자 생성물의 발현 수준을 표준화하는 단계,
- [0238] 3 표준화된 발현 수준을 표준과 비교하는 단계로서, 상기 표준은 공지된 반응자 또는 비-반응자 상태인 환자 또는 환자들에서 표 1의 유전자 생성물 또는 생성물들을 발현하기 위한 값 또는 발현하기 위한 기능이어서, 표준 정보를 환자 유래 샘플에서 동일한 유전자의 발현과 관련된 정보와 비교하는 것은 환자가 반응자 또는 비-반응자 상태인지에 대한 결론을 도출할 수 있게 하는 단계,
- [0239] 4 샘플이 유래된 환자를 반응자 또는 비-반응자로서 특성화하는 단계를 포함하고,
- [0240] 5 환자가 면역치료제에 대한 반응자로서 특성화된 경우, 적합한 면역치료제의 하나 이상의 투여를 위해 환자를 선택하는 단계를 임의로 포함한다.
- [0241] 일 양태에서, 표준화는 동일한 샘플로부터의 유전자 또는 유전자들을 유지하는 하우스(house)의 발현과 같은 "내부(internal)" 참조를 이용하여 수행된다. 일 양태에서, 표준화는 상이한 개체 또는 개체들로부터 유래된 것과 같은, 외부 참조를 이용하여 수행된다.
- [0242] 일 양태에서, 샘플의 특성화는 마이크로어레이를 이용하여 수행된다. 일 양태에서, 샘플의 특성화는 PCR과 같은 핵산 증폭 기술을 이용하여 수행된다.
- [0243] 일 양태에서, 마이크로어레이-기반 기술을 이용한 신규한 샘플의 특성화는 표준 또는 트레이닝 세트에 필적하는 유전자 발현 값을 생산하기 위한 샘플의 전가공 단계 및 유전자 표준화를 포함한다. 샘플 표준화는, 예를 들어 적합한 트레이닝 데이터로부터 계산된 참조 GCRMA 파라미터를 지니는, 부록 1에 예시된 GCRMA 알고리즘 (Wu, 2004)을 이용하여 수행될 수 있다. 트레이닝 데이터 상에서 계산될 수 있는 파라미터의 예는 참조 분위수 및 프로브 효과이다. 유전자 표준화는 Z-점수 계산을 이용하여 수행될 수 있으며, 여기서 프로브 세트 특이적 평균은 프로브 세트 값에서 감해지고, 이러한 평균-중심 발현 값은 그 후 프로브 세트 특이적 표준 편차에 의해 가중된다.
- [0244] 일 양태에서, Q-PCR을 이용한 신규한 샘플의 특성화는 특정 참조 또는 살림(housekeeping) 유전자를 이용한 환자의 미가공 데이터의 표준화의 전가공 단계를 포함한다. Z-점수 계산은 표준 또는 트레이닝 세트로부터의 파라미터를 이용하여 수행될 수 있다.
- [0245] 일 양태에서, 흑색종 환자를 비교하고 특성화하는 단계는 하기 알고리즘을 이용하여 환자를 반응자 (R) 또는 유전자 시그니처 (GS)+ 또는 비-반응자 (NR, GS-)로 특성화하기 위해 표 1에 나열된 100개의 프로브 세트 또는 83개의 유전자를 이용한다:

```

library(genefilter)
##### load testset to classify (normalized microarray data)

```

알고리즘 1

[0246]

```
load("testset.RData") ### ExpressionSet containing samples to
classify

testset<-data ###(modify xx according to batch number)

### Load training set parameters #####
load("M8.train.parameters.RData")
PS<-M8.train.parameters[[1]]
M8.train.means<-M8.train.parameters[[2]]
M8.train.sd<-M8.train.parameters[[3]]
M8.train.U<-M8.train.parameters[[4]]
M8.trainPC1barRs<-M8.train.parameters[[5]]
M8.trainPC1sdRs<-M8.train.parameters[[6]]
M8.trainPC1barNRs<-M8.train.parameters[[7]]
M8.trainPC1sdNRs<-M8.train.parameters[[8]]

##### Use SPCA on test set -
#####
testset<-testset[PS,]

test<-(exprs(testset)-M8.train.means)/M8.train.sd

PCtest<-t(test) %*% M8.train.U
PC1test<-PCtest[,1]

distanceR<-c()
distanceNR<-c()
probR<-c()
probNR<-c()
SPCAclass<-c()

for (i in 1:ncol(test)) {
distancesR<-abs(PCtest[i,1]-M8.trainPC1barRs)/M8.trainPC1sdRs
```

[0247]

```
distancesNR<-abs(PCtest[i,1]-M8.trainPC1barNRs)/M8.trainPC1sdNRs

distanceR<-c(distanceR,distancesR)
distanceNR<-c(distanceNR,distancesNR)

probRs<-exp(-distancesR/2)/(exp(-distancesR/2)+exp(-
distancesNR/2))

probNRs<-exp(-distancesNR/2)/(exp(-distancesR/2)+exp(-
distancesNR/2))

probR<-c(probR,probRs)
probNR<-c(probNR,probNRs)
}

cutoff=0.43
clust<-ifelse(as.vector(probR)>cutoff, R,NR)
```

[0248]

[0249] 상기에서,

[0250] - testset은 100개 PS에 대해 표준화된 마이크로어레이 데이터를 함유하는 100개 행(row)을 지니는 매트릭스이다

[0251] - M8.train.파라미터는 하기를 함유하는 분류 목록의 객체이다:

[0252] 1. 100개 PS의 특성 목록

- [0253] 2. 트레인 세트에서 각각의 PS에 대한 100개 평균 값의 벡터
- [0254] 3. 트레인 세트에서 각각의 PS에 대한 100개 sd 값의 벡터
- [0255] 4. 트레인 매트릭스의 svd 분해의 U 매트릭스를 함유하는 100개 행 및 56개 열의 매트릭스
- [0256] 5. 트레인에서 반응자 그룹의 PC1 평균 값
- [0257] 6. 트레인에서 반응자 그룹의 PC1 sd 값
- [0258] 7. 트레인에서 비-반응자 그룹의 PC1 평균 값
- [0259] 8. 트레인에서 비-반응자 그룹의 PC1 sd 값
- [0260] 트레이닝 세트에서 각각의 그룹에 대한 평균 및 sd는 다음과 같다 (세 개의 유효 숫자까지 반올림됨):

평균_PC1R	-4.622
sd_PC1R	5.727
mean_PC1NR	2.991
sd_PC1NR	7.051

- [0261]
- [0262] 100개 PS 분류자 피처에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC₁ 계수

	평균	Sd	PC1
213793_s_at	6.638	1.437	0.0827
223593_at	4.245	1.721	0.0698
225996_at	5.369	2.116	0.0625
204556_s_at	3.515	1.49	0.0594
223575_at	5.664	1.785	0.0556
205097_at	7.907	1.526	0.0553
231229_at	6.464	1.711	0.0504
1562051_at	3.576	1.847	0.0503
244393_x_at	4.702	1.444	0.0494
200615_s_at	6.286	1.232	0.0407
228316_at	5.362	1.369	0.0402
201474_s_at	4.506	1.331	0.0376
222962_s_at	5.177	1.139	0.0372
236328_at	7.034	1.936	0.0339
232481_s_at	3.731	2.053	0.0328
228400_at	3.458	1.437	0.0279
211149_at	4.061	2.272	0.0266
228492_at	4.538	2.983	0.0254
237515_at	5.513	1.86	0.0245
226084_at	9.153	1.388	0.0234
205499_at	4.675	1.719	0.0002
234907_x_at	3.95	1.465	-0.0051
1553132_a_at	4.068	1.29	-0.0504
239012_at	6.533	1.694	-0.0656
238587_at	6.039	1.292	-0.0717
219551_at	4.637	1.569	-0.0789
AFFX-HUMISGF3A/M97935_MB_at	7.445	1.504	-0.0819
1562031_at	6.386	1.521	-0.0871
238524_at	4.961	1.623	-0.0883
217436_x_at	8.377	1.127	-0.0891

[0263]

	평균	Sd	PC1
1552612_at	7.216	1.841	-0.0929
244061_at	6.081	1.918	-0.0935
209774_x_at	6.653	1.952	-0.0953
221081_s_at	6.805	2.062	-0.0956
206082_at	6.505	2.038	-0.0988
209770_at	10.821	1.153	-0.1002
232375_at	8.732	1.379	-0.1007
211911_x_at	10.865	1.461	-0.1042
1552613_s_at	7.491	1.275	-0.1043
221875_x_at	10.907	1.258	-0.1044
214470_at	6.927	1.801	-0.1049
232311_at	7.001	1.484	-0.105
208729_x_at	10.389	1.419	-0.106
207536_s_at	4.073	1.75	-0.1061
204806_x_at	10.065	1.283	-0.1062
1554240_a_at	4.02	1.761	-0.1068
207795_s_at	3.698	1.803	-0.1073
202659_at	6.944	1.284	-0.1077
210606_x_at	3.915	1.892	-0.1083
235276_at	7.632	1.905	-0.1084
208885_at	10.544	1.865	-0.1084
202643_s_at	5.855	1.381	-0.1087
204533_at	8.875	3.111	-0.1088
229152_at	6.925	3.232	-0.1092
1563473_at	7.07	2.31	-0.1112
204529_s_at	7.139	2.08	-0.1115
235175_at	8.682	2.268	-0.1118
204897_at	9.206	1.692	-0.1123
204070_at	8.233	2.205	-0.1125
210439_at	4.539	1.825	-0.1131
1555759_a_at	4.213	1.638	-0.1133
204224_s_at	9.809	1.798	-0.1137
202644_s_at	8.64	1.472	-0.114
231577_s_at	8.659	1.996	-0.114
210982_s_at	11.946	1.662	-0.1145
1555852_at	6.989	1.89	-0.1149
209813_x_at	4.135	1.808	-0.1152
205685_at	6.927	1.728	-0.1153
238581_at	4.289	1.801	-0.1158
229543_at	8.937	2.328	-0.1159
229390_at	9.644	2.315	-0.1159
208894_at	11.493	1.628	-0.1161
222838_at	7.302	2.672	-0.1164
228532_at	8.693	1.684	-0.1165

[0264]

	평균	Sd	PC1
209606_at	5.957	2.038	-0.1168
217478_s_at	9.575	1.559	-0.1173
229391_s_at	9.135	2.228	-0.1175
211144_x_at	4.32	1.949	-0.1179
228362_s_at	8.288	2.398	-0.1179
212671_s_at	8.72	2.387	-0.1182
203915_at	9.242	3.331	-0.1191
229625_at	7.32	2.116	-0.1197
211902_x_at	7.387	1.956	-0.1197
209671_x_at	5.905	2.044	-0.1197
1552497_a_at	4.827	2.195	-0.1205
215806_x_at	4.544	1.973	-0.1215
216920_s_at	5.641	1.862	-0.1221
210972_x_at	7.322	2.354	-0.1224
205890_s_at	8.864	2.983	-0.1225
232234_at	6.877	2.249	-0.1228
207651_at	7.222	2.531	-0.1229
202531_at	7.451	1.809	-0.1234
206666_at	6.816	2.698	-0.1242
213193_x_at	6.825	2.768	-0.1257
204116_at	6.106	2.683	-0.126
213539_at	7.398	2.851	-0.1263
211339_s_at	5.602	2.061	-0.1266
210915_x_at	6.533	2.733	-0.1267
211796_s_at	6.946	2.921	-0.1271
205758_at	7.338	3.285	-0.1275

[0265]

[0266]

일 양태에서, 흑색종 환자를 비교하고 특성화하는 단계는, 단일 유전자 발현 값이 첫 번째 주요 성분 (PC1) 대신 사용된 상기 명시된 알고리즘을 이용하여 환자를 개별적으로 특성화하기 위해 표 13에 언급된 100개 프로브

세트 또는 83개 유전자 중 어느 하나를 이용한다.

[0267]

일 양태에서, 흑색종 환자를 비교하고 특성화하는 단계는, 하기 알고리즘을 이용하여 환자를 반응자 (R) 또는 유전자 시그니처 (GS)+ 또는 비-반응자 (NR, GS-)로서 특성화하기 위해 표 5에 나열된 22개 유전자를 이용한다.

알고리즘 2

[0268]

```

### Script for classification of test-samples fresh metatasic
melanoma TLDA2 22 genes

### based on Mage008TLDA.SPCA.DA.Me14patent.R

### needs M8.train.parameters.22genes.TLDA2.RData (training set
parameters)

library(genefilter)

#### load testset to classify (log-scaled normalized PCR data)

load("testset.RData") ### ExpressionSet containing samples to
classify

### Load training set parameters #####

load("M8.train.parameters.22genes.TLDA2.RData")

PS<-M8.train.parameters[[1]]

M8.train.means<-M8.train.parameters[[2]]

M8.train.sd<-M8.train.parameters[[3]]

M8.train.U<-M8.train.parameters[[4]]

M8.trainPC1barRs<-M8.train.parameters[[5]]

M8.trainPC1sdRs<-M8.train.parameters[[6]]

M8.trainPC1barNRs<-M8.train.parameters[[7]]

M8.trainPC1sdNRs<-M8.train.parameters[[8]]

##### Use SPCA on test set -
#####
testset<-testset[PS,]

test<-(exprs(testset)-M8.train.means)/M8.train.sd

PCtest<-t(test) %*% M8.train.U

PC1test<-PCtest[,1]

distanceR<-c()
distanceNR<-c()
probR<-c()
probNR<-c()
SPCAclass<-c()

```

[0269]

```

for (i in 1:ncol(test)) {
distancesR<-abs(PCtest[i,1]-M8.trainPC1barRs)/M8.trainPC1sdRs
distancesNR<-abs(PCtest[i,1]-M8.trainPC1barNRs)/M8.trainPC1sdNRs

distanceR<-c(distanceR,distancesR)
distanceNR<-c(distanceNR,distancesNR)

probRs<-exp(-distancesR/2)/(exp(-distancesR/2)+exp(-
distancesNR/2))

probNRs<-exp(-distancesNR/2)/(exp(-distancesR/2)+exp(-
distancesNR/2))

probR<-c(probR,probRs)
probNR<-c(probNR,probNRs)

}
cutoff=0.47
clust<-ifelse(as.vector(probR)>cutoff,R,NR)

#####

###(modify xx next line according to batch number)
write.table(cbind(pData(testset),probR),file="testset_batch_xx_T
LDA2_22genes_classification.txt",sep="\t")

```

[0270]

[0271]

상기에서,

[0272]

- testset.RData는 22개 유전자에 대해 표준화된 log-스케일 PCR 데이터를 함유하는 22개 행을 지니는 매트릭스 이다

[0273]

- M8.train. 파라미터는 하기를 함유하는 분류 목록의 객체이다:

[0274]

1. 22개 유전자 명칭의 특성 목록

[0275]

2. 트레인 세트에서 각각의 유전자에 대한 22개 평균 값의 벡터

[0276]

3. 트레인 세트에서 각각의 유전자에 대한 22개 sd 값의 벡터

[0277]

4. 트레인 매트릭스의 svd 분해의 U 매트릭스를 함유하는 22개 행 및 22개 열의 매트릭스

[0278]

5. 트레인에서 반응자 그룹의 PC1 평균 값

[0279]

6. 트레인에서 반응자 그룹의 PC1 sd 값

[0280]

7. 트레인에서 비-반응자 그룹의 PC1 평균 값

[0281]

8. 트레인에서 비-반응자 그룹의 PC1 sd 값

[0282] 22개 유전자 분류자 피처에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC1 계수

유전자	평균	Sd	PC1 계수
C4orf7	-1.397	1.244	-0.1834
CCL5	-0.545	0.691	-0.2441
JAK2	-1.105	0.354	-0.1636
IRF1	-0.430	0.500	-0.2345
CXCL9	-0.276	0.923	-0.2349
IL2RG	-0.657	0.721	-0.2444
CXCL10	-0.830	0.896	-0.2181
SLC26A2	-0.745	0.307	0.0660
CD86	-1.504	0.461	-0.2272
CD8A	-1.342	0.879	-0.1881
UBD	-0.570	0.945	-0.2385
GZMK	-1.470	0.734	-0.2414
GPR171	-1.683	0.698	-0.2180
PSCDBP	-1.335	0.647	-0.2212
CXCL2	-2.163	0.633	-0.1437
ICOS	-1.714	0.697	-0.2029
TRBC1	-2.714	1.313	-0.2026
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	-0.762	0.666	-0.2464
TARP;TRGC2	-2.405	0.877	-0.1904
ITK	-1.862	0.896	-0.2178
CD3D	-1.478	0.806	-0.2452
HLA-DMA	-0.380	0.470	-0.2284

[0283]

[0284] 트레이닝 세트에서 각각의 그룹에 대한 평균 및 sd는 다음과 같다 (세 개의 유효 숫자까지 반올림됨):

평균_PC1R	-2.055
sd_PC1R	2.920
mean_PC1NR	1.210
sd_PC1NR	3.951

[0285]

[0286] 일 양태에서, 흑색종 환자를 비교하고 특성화하는 단계는, 단일 유전자 발현 값이 첫 번째 주요 성분 (PC1) 대신 사용된 상기 명시된 알고리즘을 이용하여 환자를 개별적으로 특성화하기 위해 표 11에 언급된 22개 유전자 중 어느 하나를 이용한다.

[0287] 일 양태에서, NSCLC 환자를 비교하고 특성화하는 단계는, 하기 알고리즘을 이용하여 환자를 반응자 (비-재발 또는 유전자 시그너처 + (GS+), 1) 또는 비-반응자 (재발, GS-, 0)로서 특성화하기 위해 표 7에 나열된 23개 유전자를 이용한다.

알고리즘 3

```

### Script for classification of test-samples fresh resected
NSCLC TLDAmmerge 23 genes

### based on
Mage004.SPCA.Cox.classifier.contruction.TLDAmmerge.23genes.DFI.Sq
uamous.R

### needs M4.train.parameters.23genes.TLDAmmerge.RData (training
set parameters)

library(genefilter)

#### load testset to classify (log-scaled normalized PCR data)

load("testset.RData") ### ExpressionSet containing samples to
classify

### Load training set parameters #####

load("M4.train.parameters.23genes.TLDAmmerge.RData")

PS<-M4.train.parameters[[1]]

M4.train.means<-M4.train.parameters[[2]]

M4.train.sd<-M4.train.parameters[[3]]

M4.train.U<-M4.train.parameters[[4]]

M4.train.Btreatment<-M4.train.parameters[[5]]

M4.train.Binteraction<-M4.train.parameters[[6]]

M4.train.medianHR<-M4.train.parameters[[7]]

```

[0288]

```

##### Use SPCA on test set -
#####
testset<-testset[PS,]

test<-(exprs(testset)-M4.train.means)/M4.train.sd

PCtest<-t(test) %*% M4.train.U

PC1test<-PCtest[,1]

HR=M4.train.Btreatment+PC1test*M4.train.Binteraction
classification=ifelse(HR<M4.train.medianHR,1,0)

#####

###(modify xx next line according to batch number)
write.table(cbind(pData(testset),probR),file="testset_batch_xx_M
4_TLDAmmerge_23genes_classification.txt",sep="\t")

```

[0289]

[0290]

상기에서,

[0291]

- testset.RData는 23개 유전자에 대해 표준화된 log-스케일 PCR 데이터를 함유하는 23개 행을 지니는 매트릭스 이다

[0292]

- M4.train.파라미터는 하기를 함유하는 분류 목록의 객체이다:

[0293]

1. 23개 유전자 명칭의 특성 목록

[0294]

2. 트레인 세트에서 각각의 유전자에 대한 23개 평균 값의 벡터

[0295]

3. 트레인 세트에서 각각의 유전자에 대한 23개 sd 값의 벡터

[0296]

4. 트레인 매트릭스의 svd 분해의 U 매트릭스를 함유하는 23개 행 및 23개 열의 매트릭스

[0297]

5. 위험 점수 계산에서 B_{자료}

[0298] 6. 위험 점수 계산에서 B_{PC1} 상호작용

[0299] 7. 트레이너에서 정중(median) 위험 점수

[0300] 23개 유전자 분류자 피처에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC1 계수

[0301]

유전자	평균	sd	PC1 계수
C4orf7	-2.35768	1.455544	-0.12114

유전자	평균	sd	PC1 계수
CCL5	-0.9599	0.350039	-0.23097
JAK2	-1.36811	0.260374	-0.19931
IRF1	-0.52347	0.276644	-0.2256
CXCL9	-0.87804	0.563437	-0.21386
IL2RG	-0.83528	0.358042	-0.24997
CXCL10	-1.36857	0.615177	-0.17136
SLC26A2	-1.44043	0.255169	-0.05637
CD86	-1.7699	0.499237	-0.13267
CD8A	-1.33733	0.375334	-0.25173
UBD	-0.71367	0.546652	-0.21295
GZMK	-1.77411	0.529496	-0.24628
GPR171	-1.81327	0.32409	-0.19376
PSCDBP	-1.17746	0.387117	-0.24162
CXCL2	-1.16947	0.696255	-0.09696
ICOS	-2.15436	0.403522	-0.23497
TRBC1	-2.62512	1.013281	-0.12679
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	-1.19671	0.3944	-0.25817
TARP;TRGC2	-2.22752	0.481252	-0.19299
ITK	-1.85777	0.394118	-0.26077
CD3D	-1.64584	0.397626	-0.25514
HLA-DMA	-0.81144	0.380465	-0.22948
SLAMF7	-1.33744	0.464338	-0.21762

[0302]

[0303] 상기에서, $B_{치료0} = 0.2429033$

[0304] 및 B_{PC1} 상호작용 = 0.1720062가 트레이닝 세트로부터 획득되었다.

[0305] 신규한 샘플의 위험 점수를 트레이닝 세트의 정중 위험 점수 = -0.323947288과 비교하고, 위험 점수가 상기 값보다 낮은 경우, 샘플을 GS+ (반응자, 비-재발, 1)로 분류한다.

[0306] 일 양태에서, NSCLC 환자를 비교하고 특성화하는 단계는, 단일 유전자 발현 값이 첫 번째 주요 성분 (PC1) 대신 사용된 상기 명시된 알고리즘을 이용하여 환자를 개별적으로 특성화하기 위해 표 12에 언급된 23개 유전자 중 어느 하나를 이용한다.

[0307] 일 양태에서, NSCLC 환자를 비교하고 특성화하는 단계는, 상기 알고리즘을 이용하여 환자를 반응자 (비-재발 또는 유전자 시그너처 + (GS+), 1) 또는 비-반응자 (재발, GS-, 0)로서 특성화하기 위해 표 9에 나열된 22개 유전자를 이용한다:

알고리즘 4

```

### Script for classification of test-samples fresh resected
NSCLC TLDAmerge 22 genes

### based on Mage004.SPCA.Cox.classifier.contruction.
DFI.Squamous.R

### needs M4.train.parameters.22genes.TLDA2.RData (training set
parameters)

library(genefilter)

#### load testset to classify (log-scaled normalized PCR data)

load("testset.RData") ### ExpressionSet containing samples to
classify

### Load training set parameters #####

load("M4.train.parameters.22genes.TLDA2.RData")

PS<-M4.train.parameters[[1]]

M4.train.means<-M4.train.parameters[[2]]

M4.train.sd<-M4.train.parameters[[3]]

M4.train.U<-M4.train.parameters[[4]]

M4.train.Btreatment<-M4.train.parameters[[5]]

M4.train.Binteraction<-M4.train.parameters[[6]]

M4.train.medianHR<-M4.train.parameters[[7]]

##### Use SPCA on test set -
#####
testset<-testset[PS,]

test<-(exprs(testset)-M4.train.means)/M4.train.sd

```

[0308]

```

PCtest<-t(test) %*% M4.train.U

PCltest<-PCtest[,1]

HR=M4.train.Btreatment+PCltest*M4.train.Binteraction
classification=ifelse(HR<M4.train.medianHR,1,0)

#####

###(modify xx next line according to batch number)
write.table(cbind(pData(testset),probR),file="testset_batch_xx_M
4_TLDA2_22genes_classification.txt",sep="\t")

```

[0309]

[0310]

상기에서,

[0311]

- Testset.RData는 22개 유전자에 대해 표준화된 log-스케일 PCR 데이터를 함유하는 22개 행을 지니는 매트릭스 이다

[0312]

- M4.train.파라미터는 하기를 함유하는 분류 목록의 객체이다:

[0313]

1. 22개 유전자 명칭의 특성 목록

[0314]

2. 트레인 세트에서 각각의 유전자에 대한 22개 평균 값의 벡터

[0315]

3. 트레인 세트에서 각각의 유전자에 대한 22개 sd 값의 벡터

[0316]

4. 트레인 매트릭스의 svd 분해의 U 매트릭스를 함유하는 22개 행 및 22개 열의 매트릭스

[0317]

5. 위험 점수 계산에서 B_{자료}

[0318] 6. 위험 점수 계산에서 $B_{PC1상호작용}$

[0319] 7. 트레인에서 정중 위험 점수

[0320] 22개 유전자 분류자 피처에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC1 계수

유전자	평균	Sd	PC1 계수
C4orf7	-2.37682	1.432191	-0.12613
CCL5	-0.97196	0.363545	-0.23868
JAK2	-1.38351	0.272662	-0.20067
IRF1	-0.5328	0.284196	-0.23035
CXCL9	-0.88518	0.561561	-0.21758

[0321]

유전자	평균	Sd	PC1 계수
IL2RG	-0.84755	0.369696	-0.25893
CXCL10	-1.38526	0.608373	-0.17545
SLC26A2	-1.45138	0.259368	-0.06122
CD86	-1.78136	0.493304	-0.1445
CD8A	-1.35019	0.38214	-0.26018
UBD	-0.72426	0.545598	-0.21573
GZMK	-1.7857	0.526042	-0.25378
GPR171	-1.81382	0.353983	-0.1875
PSCDBP	-1.19407	0.398912	-0.24969
CXCL2	-1.17377	0.679063	-0.10145
ICOS	-2.16745	0.40877	-0.24479
TRBC1	-2.63145	0.999466	-0.12889
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	-1.20289	0.392963	-0.26276
TARP;TRGC2	-2.27109	0.528402	-0.19113
ITK	-1.87391	0.405727	-0.26852
CD3D	-1.66653	0.409356	-0.26013
HLA-DMA	-0.81888	0.400541	-0.23598

[0322]

[0323] 상기에서, $B_{치료} = -0.193146993$ 및 $B_{PC1상호작용} = -0.163704817$ 이 트레이닝 세트로부터 획득되었다.

[0324] 신규한 샘플의 위험 점수를 트레이닝 세트의 정중 위험 점수 = -0.25737421 과 비교하고, 위험 점수가 상기 값보다 낮은 경우, 샘플을 GS+ (반응자, 비-재발, 1)로 분류한다.

[0325] **면역치료제**

[0326] 추가의 양태에서, 본 발명은 환자를 면역치료제에 대한 반응자로서 확인한 후, 적합한 면역치료제, 예를 들어 암 면역치료제, 예컨대 고회암 면역치료제로 반응자 환자를 치료하는 방법을 제공한다.

[0327] 따라서, 일 구체예에서, 본 발명은, 예를 들어 환자로부터 유래된 샘플의 적합한 분석에 의해 입증된 바에 따라 하나 이상의 면역 활성화 유전자의 차별적인 발현에 기반하여 환자를 반응자로서 먼저 특성화한 후, 치료학적 유효량의 적합한 면역치료제 (예를 들어 암 면역치료제, 예컨대 Mage 암 면역치료제)를 투여하는 단계를 포함하는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 특히, 환자는 본원에 기술된 하나 이상의 구체예에 기반하여 반응자로서 특성화된다.

[0328] 일 양태에서, 면역치료제는 적합한 애주번트 (면역자극제)를 포함한다 (하기 설명 참조).

[0329] 본 발명의 또 다른 추가의 구체예에서, 예를 들어 Mage 발현 종양을 갖는 환자를 치료하는 방법으로서, 환자가 본 발명의 유전자 시그니처를 발현하는지의 여부를 결정한 후, 예를 들어 Mage 특이적 면역치료제를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 추가의 구체예에서, 환자는, 예를 들어 Mage 특이적 면역치료제로 처리되어, 어떠한 종양의 절제 수술 또는 다른 화학치료제 또는 방사선 치료와 같은 일차 처리 후 질환의 재발이 억제되거나 완화된다.

[0330] 본 발명의 추가의 양태는 Mage 발현 종양을 갖는 환자를 치료하는 방법으로서, 환자의 종양이 환자에 의해 제공된 생물학적 샘플로부터 본 발명의 어떠한 구체예에 따른 프로필을 발현하는지의 여부를 결정한 다음, Mage 특이적 면역치료제를 상기 환자에 투여하는 것을 포함하는 방법이다.

[0331] 또한, Mage 발현 종양을 제거/치료하기 위해 치료해왔던 Mage 발현 종양의 재발에 민감한 환자를 치료하는 방법으로서, 환자 종양이 환자에 의해 제공된 생물학적 샘플로부터 본 발명의 어떠한 구체예로부터 선택된 하나 이상의 유전자를 발현하는지의 여부를 결정한 후, Mage 특이적 면역치료제를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공

한다.

- [0332] 본 발명은 또한 하기를 사용한 치료 방법 또는 용도를 제공한다:
- [0333] - MAGE 항원 또는 이의 펩티드를 포함하는 MAGE 특이적 면역치료제,
- [0334] - MAGE-A3 단백질 또는 펩티드를 포함하는 MAGE 항원,
- [0335] - 펩티드 EVDPIGHLy를 포함하는 MAGE 항원,
- [0336] - 예를 들어, 단백질 D, NS1 또는 CLyA 또는 이의 단편으로부터 선택된 담체 단백질에 융합되거나 컨주게이션된 MAGE 항원 또는 펩티드, 및/또는
- [0337] - 예를 들어, 3D-MPL; 알루미늄 염; CpG 함유 올리고뉴클레오티드; 사포닌-함유 애주번트, 예컨대 QS21 또는 ISCOM; 수중유 에멀전; 및 리포솜 중 하나 이상 또는 이들의 조합물을 포함하는 애주번트를 추가로 포함하는 MAGE 특이적 면역치료제.
- [0338] 본 발명은 또한 면역치료제에 대한 반응자로서 지정된 암 환자와 같은 환자를 치료하기 위한 약제의 제조에서 면역치료제, 예컨대 암 면역치료제, 특히 Mage 면역치료제의 용도로 확장된다.
- [0339] 초기에 비-반응자로서 특성화된 한 환자가 방사선 치료 후에는 반응자로서 그 후에 특성화됨이 관찰되었다. 흥미롭게도, 본 발명자들은 또한, 예를 들어 환자를 방사선 치료하거나 염증 자극제, 예컨대 인터페론 또는 TLR3 (예를 들어, WO 2006/054177에 기술된 바와 같음), 4, 7, 8 또는 TLR 9 효능제 (예를 들어, CpG 모티프 함유, 특히 예를 들어, 매주 투여된 Kg 당 0.1 내지 75mg과 같은 이의 높은 용량 투여)를 투여함으로써 적어도 일부의 비-반응자에서 반응자 프로필을 유도하는 것이 가능할 수 있는 것으로 여겼다. 예를 들어, 문헌 [Krieg, A. M., Efler, S. M., Wittpoth, M., Al Adhami, M. J. & Davis, H. L. Induction of systemic TH1-like innate immunity in normal volunteers following subcutaneous but not intravenous administration of CPG 7909, a synthetic B-class CpG oligodeoxynucleotide TLR9 agonist. *J. Immunother.* 27, 460-471 (2004)] 참조.
- [0340] 고용량의 CpG는, 예를 들어 흡입되거나 피하 제공될 수 있다.
- [0341] 본 발명은 추가로 Mage 발현 증양을 갖는 환자 또는 Mage 발현 증양을 제거/치료하기 위해 처리 (예를 들어, 외과술, 화학요법 또는 방사선요법)되었던 환자를 치료하기 위한 약제의 제조에서 Mage 특이적 면역치료제의 용도를 추가로 제공하며, 상기 환자는 본 발명의 유전자 시그니처를 발현한다.
- [0342] 그 후, 반응자 프로필이 유도되면 면역치료제가 예를 들어 반응자에게 투여될 수 있다.
- [0343] 일 양태에서, 본 발명은 Mage 발현 증양을 갖는 환자를 치료하기 위한 약제의 제조에서 Mage 특이적 면역치료제의 용도를 제공하며, 상기 환자는 본 발명의 어떠한 구체체로부터 선택된 하나 이상의 유전자를 발현하는 증양을 특징으로 한다.
- [0344] 본 발명은 또한 Mage 발현 증양의 재발에 민감한 환자를 치료하기 위한 약제의 제조에서 Mage 특이적 면역치료제의 용도를 제공하며, 상기 환자는 본 발명의 어떠한 구체체로부터 선택된 하나 이상의 유전자를 발현하는 증양을 특징으로 한다.
- [0345] 유리하게는, 본 발명은 의사가 적합한 면역치료제를 투여받는 것으로부터 임상적 이익을 얻게 될 환자 집단을 대상으로 삼을 수 있도록 할 수 있다. 스크리닝 후, 반응자로서 간주/특성된 환자의 60% 이상, 예컨대 환자의 70, 75, 80, 85% 또는 그 초과가 면역치료제로부터 임상적 이익을 얻을 것으로 예상되며, 이는 일반적으로 암 요법과 같은 요법에서 관찰된 현행 수준에 비해 현저하게 증가된 수준이다.
- [0346] 유리하게는, 암 면역치료제가 화학요법과 동시에 또는 후속으로 제공되는 경우, 화학요법에 의해 고갈될 수 있는 환자의 면역 반응을 증가시키는 것을 도울 수 있다.
- [0347] 추가의 구체체에서, 면역치료제는 외과술, 화학요법 및/또는 방사선요법에 앞서 제공될 수 있다.
- [0348] 본 발명에 사용하기에 적합한 항원 특이적 암 면역치료제 (ASCI)는, 예를 들어 Mage 특이적 면역 반응을 일으킬 수 있는 것들을 포함할 수 있다. 이러한 면역치료제는 Mage 유전자 생성물, 예를 들어 Mage-A 항원, 예컨대 Mage-A3에 대한 면역 반응을 일으킬 수 있다. 면역치료제는 일반적으로 Mage 유전자 생성물로부터의 하나 이상의 에피토프를 함유할 것이다. 이러한 에피토프는 담체에 선택적으로 공유 결합된 펩티드 항원으로서 임의로 애주번트의 존재하에 제시될 수 있다. 대안적으로, 더 큰 단백질 단편이 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 사용하기 위한 면역치료제는 MAGE-A1의 아미노산 195-279에 상응하거나 이를 포함하는 항원을 포함할 수 있

다. 그러나, 적합하게 존재하는 경우, 사용을 위한 단편 및 펩티드는 Mage 특이적 면역 반응을 유발시킬 수 있어야 한다. 본 발명에 사용될 수 있는 펩티드의 예로는 MAGE-3.A1 나노펩티드 EVDPIGHLY [Seq. ID No] (문헌 [Marchand et al., International Journal of Cancer 80(2), 219-230] 참조), 및 하기 MAGE-A3 펩티드를 포함한다:

FLWGPRALV; [SEQ. ID NO:107]
 MEVDPIGHLY; [SEQ. ID NO: 108]
 VHFLLLYKYRA; [SEQ. ID NO:109]
 LVHFLLLYKYR; [SEQ. ID NO:110]
 LKYRAREPVT; [SEQ. ID NO:111]
 ACYEFLWGPRALVETS; 및 [SEQ. ID NO:112]
 TQHFVQENYLEY; [SEQ. ID NO:113]

[0349]

대안적인 ASCI는 고환암 항원, 예컨대 NY-ESO1, LAGE 1, LAGE 2 등을 포함하며, 예를 들어 이에 대한 더욱 상세한 내역은 www.cancerimmunity.org/CTdatabase로부터 얻을 수 있다. 또한 ASCI는 PRAME 및 WT1과 같이 고환암 특이적이 아닐 수 있는 그 밖의 항원을 포함한다.

[0350]

[0351]

암 면역치료제는, 예를 들어 하기 논의된 항원 중 하나 이상을 기반으로 할 수 있다.

[0352]

본 발명의 일 구체예에서, 사용되는 항원은 MAGE 종양 항원, 예를 들어 MAGE 1, MAGE 2, MAGE 3, MAGE 4, MAGE 5, MAGE 6, MAGE 7, MAGE 8, MAGE 9, MAGE 10, MAGE 11 또는 MAGE 12로 이루어지거나 이를 포함할 수 있다. 이러한 MAGE 항원을 엔코딩하는 유전자는 염색체 X에 위치하며, 이들의 코딩 서열에서 서로 64 내지 85% 상동성을 공유한다 (De Plaen, 1994). 이들 항원은 종종 MAGE A1, MAGE A2, MAGE A3, MAGE A4, MAGE A5, MAGE A6, MAGE A7, MAGE A8, MAGE A9, MAGE A10, MAGE A11 및/또는 MAGE A12 (AGE A 패밀리)로서 공지되어 있다. 일 구체예에서, 항원은 MAGE A3이다.

[0353]

일 구체예에서, 2개의 추가의 MAGE 패밀리 중 하나로부터의 항원을 사용할 수 있다: MAGE B 및 MAGE C 그룹. MAGE B 패밀리는 MAGE B1 (또한, MAGE Xp1, 및 DAM 10으로서 공지됨), MAGE B2 (또한, MAGE Xp2 및 DAM 6로서 공지됨) MAGE B3 및 MAGE B4를 포함한다 - MAGE C 패밀리는 현재 MAGE C1 및 MAGE C2를 포함한다.

[0354]

일반적으로, MAGE 단백질은 단백질의 C-말단부를 향하여 위치한 코어 서열 시그너처를 함유하는 것으로 규정될 수 있다 (예를 들어, MAGE A1에 있어서, 309 아미노산 단백질, 즉 코어 시그너처는 아미노산 195-279에 상응한다).

[0355]

따라서, 코어 시그너처의 컨센서스 패턴은 하기와 같이 기술되며, 여기서 x는 임의의 아미노산을 나타내며, 소문자로 나타낸 잔기는 보존되며 (허용된 보존적 변이체) 및 대문자로 나타낸 잔기는 완벽하게 보존된다.

[0356]

코어 서열 시그너처

[0357]

LixvL(2x)I(3x)g(2x)apEExiWex1(2x)m(3-4x)Gxe(3-4x)gxp(2x)IIt(3x)VqexYLxYxqVPxsxP(2x)yeFLWGprA(2x)Et(3x)kv

[0358]

보존적 치환은 널리 공지되어 있으며, 일반적으로 서열 정렬 컴퓨터 프로그램에서 디폴트 스코어링 매트릭스 (default scoring matrices)로서 세팅된다. 이러한 프로그램은 PAM250 (Dayhoff M.O. et al, (1978), "A model of evolutionary changes in proteins", In "Atlas of Protein sequence and structure" 5(3) M.O. Dayhoff (ed.), 345-352), National Biomedical Research Foundation, Washington, and Blosum 62 (Steven Henikoff and Jorja G. Henikoff (1992), "Amino acid substitution matrices from protein blocks", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 (Biochemistry): 10915-10919)을 포함한다.

[0359]

일반적으로, 하기 그룹 내에서의 치환은 보존적 치환이나, 그룹간 치환은 비보존적인 것으로 간주된다. 그룹은 다음과 같다:

[0360]

i) 아스파르테이트/아스파라긴/글루타메이트/글루타민

[0361]

ii) 세린/트레오닌

[0362]

iii) 리신/아르기닌

[0363]

iv) 페닐알라닌/티로신/트립토판

- [0364] v) 류신/이소류신/발린/메티오닌
- [0365] vi) 글리신/알라닌
- [0366] 일반적으로 그리고 본 발명의 문맥상, MAGE 단백질은 MAGE A1의 아미노산 195 내지 279를 갖는 이의 코어 영역에서 약 50% 이상 동일하고, 예컨대 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99% 동일할 것이다.
- [0367] MAGE 단백질 유도체는 또한 당 분야에 공지되어 있다. WO 99/40188 참조. 이러한 유도체는 다양한 유형의 종양의 치료에 적합한 치료학적 백신 제형 (면역치료제)에 사용하기 적합하다.
- [0368] MAGE-3 단백질 상의 여러 개의 CTL 에피토프는 동일하였다. 이러한 하나의 에피토프인 MAGE-3.A1은 MHC 클래스 I 분자 HLA.A1과 함께 존재하는 경우 CTL에 대해 특이적인 에피토프를 구성하는 MAGE-3 단백질의 아미노산 168 내지 176에 위치한 나노펩티드 서열이다. 최근에, 두 개의 추가적인 CTL 에피토프는 흑색종 세포 및 자가이식 림프구의 혼합된 배양에서 CTL 반응을 개시할 수 있는 이들의 능력에 의해 MAGE-3 단백질의 펩티드 서열상에서 확인되었다. 이들 두 에피토프는 HLA.A2 (Van der Bruggen, 1994) 및 HLA.B44 (Herman, 1996) 대립유전자 각각에 대한 특이적 결합 모티프를 갖는다.
- [0369] 본 발명의 추가의 구체예에서, 종양 항원은 하기 항원 중 하나 또는 항원에 대한 면역 반응을 유도할 수 있는 이의 면역원성 부분을 포함하거나 이들로 이루어질 수 있다: SSX-2; SSX-4; SSX-5; NA17; MELAN-A; 티로시나제; LAGE-1; NY-ESO-1; PRAME; P790; P510; P835; B305D; B854; CASB618 (W000/53748에 기술된 바와 같음); CASB7439 (W001/62778에 기술된 바와 같음); C1491; C1584; 및 C1585.
- [0370] 일 구체예에서, 항원은 P501S (또한 프로스테인으로서 공지됨)을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. P501S 항원은, 테타누스 독소이드의 P2 유니버설 T 헬퍼 펩티드가 삽입된 스트렙토코커스 뉴모니에(*Streptococcus pneumoniae*)의 단백질 LytA의 C 말단부를 포함하는 박테리아 융합 단백질 즉, W003/104272에 기술된 바와 같이 CLytA-P2-CLytA ("CPC" 융합 파트너)를 포함하는 융합체와 대부분의 P501S 단백질을 조합시킨 재조합 단백질일 수 있다.
- [0371] 일 구체예에서, 항원은 윌름즈(Wilm's) 종양 유전자에 의해 발현된 WT-1 또는 약 또는 대략적인 아미노산 1-249를 포함하는 이의 N-말단 단편 WT-1F; Her-2/neu 유전자에 의해 발현된 항원, 또는 이의 단편을 포함하거나 이들로 구성될 수 있다. 일 구체예에서, Her-2/neu 항원은 W000/44899에 기술된 하기 융합 단백질 중 하나일 수 있다.
- [0372] 추가의 구체예에서, 항원은 "ECD-ICD" 또는 "ECD-ICD 융합 단백질"로도 불리는 "HER-2/neu ECD-ICD 융합 단백질"을 포함하거나 이로 이루어질 수 있으며, 이는 HER-2/neu 단백질의 세포외 도메인 (또는 이의 단편) 및 세포내 도메인 (또는 이의 단편)을 포함하는 융합 단백질 (또는 이의 단편)을 나타낸다. 일 구체예에서, 이러한 ECD-ICD 융합 단백질은 HER-2/neu 트랜스멤브레인 도메인의 실질적인 부분을 포함하지 않거나, HER-2/neu 트랜스멤브레인 도메인의 어떤 부분도 포함하지 않는다.
- [0373] 추가의 구체예에서, 항원은 "ECD-PD" 또는 "ECD-PD 융합 단백질"로도 불리는 "HER-2/neu ECD-PD 융합 단백질" 또는 "ECD-ΔPD" 또는 "ECD-ΔPD 융합 단백질"로도 불리는 "HER-2/neu ECD-ΔPD 융합 단백질"을 포함하거나 이로 이루어질 수 있으며, 이는 HER-2/neu 단백질의 세포외 도메인 (또는 이의 단편) 및 포스포릴화 도메인 (또는 이의 단편 예를 들어, ΔPD)을 포함하는 융합 단백질 (또는 이의 단편)을 나타낸다. 일 구체예에서, ECD-PD 및 ECD-ΔPD 융합 단백질은 HER-2/neu 트랜스멤브레인 도메인의 실질적인 부분을 포함하지 않거나, HER-2/neu 트랜스멤브레인 도메인의 어떤 부분도 포함하지 않는다.
- [0374] 일 구체예에서, 항원은 면역학적 융합 또는 발현 인핸서 파트너에 연결된 Mage 또는 다른 적합한 단백질을 포함할 수 있다. 융합 단백질은 주어진 질환에 관련된 2개 또는 그 초과 항원을 포함하는 하이브리드 단백질을 포함할 수 있거나, 항원과 발현 인핸서 파트너의 하이브리드일 수 있다.
- [0375] 일 구체예에서, MAGE 항원은 전장 MAGE 단백질을 포함할 수 있다. 대안적인 구체예에서, Mage 항원은 MAGE 항원의 아미노산 3 내지 312를 포함할 수 있다.
- [0376] 대안적인 구체예에서, MAGE 항원은 MAGE 단백질로부터의 100, 150, 200, 250 또는 300개 아미노산을 포함할 수 있는데, 단, 항원은 면역치료 요법에 적용될 때 MAGE에 대한 면역 반응을 일으킬 수 있다.
- [0377] 항원 및 파트너는 화학적으로 컨주게이션될 수 있거나, 재조합 융합 단백질로서 발현될 수 있다. 항원 및 파트너가 재조합 융합 단백질로서 발현되는 구체예에서, 이것은 융합되지 않은 단백질과 비교하여 발현 시스템에서

증가된 수준으로 생성될 수 있다. 따라서, 융합 파트너는 T 헬퍼 에피토프 (면역학적 융합 파트너), 바람직하게는, 인간에 의해 인지된 T 헬퍼 에피토프를 제공하는 것을 돕고/거나 천연 재조합 단백질 보다 높은 수율로 단백질 (발현 인핸서)을 발현시키는 것을 도울 수 있다. 일 구체예에서, 융합 파트너는 면역학적 융합 파트너 및 발현 증강 파트너일 수 있다.

- [0378] 본 발명의 일 구체예에서, 사용될 수 있는 면역학적 융합 파트너는 단백질 D, 그람-네거티브 박테리아의 표면 단백질, 헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenza*) B (WO 91/18926) 또는 이의 유도체로부터 유래된다. 단백질 D 유도체는 단백질의 처음 1/3, 또는 단백질의 대략적으로 또는 거의 처음 1/3을 포함할 수 있으며, 특히, 처음 N-말단 100-110개 아미노산 또는 대략적으로 처음 N-말단 100-110개 아미노산을 포함할 수 있다.
- [0379] 일 구체예에서, 융합 단백질은 단백질 D의 처음 109개 잔기 (또는 이로부터의 108개 잔기) 또는 아미노산 20 내지 127을 포함한다.
- [0380] 사용될 수 있는 다른 융합 파트너는 인플루엔자 바이러스로부터의 비구조적 단백질, NS1 (헤마글루티닌)을 포함한다. 전형적으로, NS1의 N 말단 81개 아미노산이 사용될 수 있으며, 상이한 단편이 사용될 수 있지만, 단 이들은 T-헬퍼 에피토프를 포함한다.
- [0381] 또 다른 구체예에서, 면역학적 융합 파트너는 LytA로서 공지된 단백질이다. LytA는 N-아세틸-L-알라닌 아미다제, 아미다제 LytA (LytA 유전자에 의해 코딩됨 (Gene, 43 (1986) page 265-272)), 펩티도글리칸 백본에서 특정 결합을 특이적으로 분해하는 오토리신을 합성하는 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*)로부터 유래된다. LytA 단백질의 C-말단 도메인은 콜린 또는 DEAE와 같은 일부 콜린 유사체에 대한 친화도에 기여한다. 이러한 성향은 융합 단백질의 발현에 유용한 플라즈미드를 발현하는 이. 콜라이(*E.coli*) C-LytA의 개발에 이용되었다. 아미노산 말단에서 C-LytA 단편을 함유하는 하이브리드 단백질의 정제가 기술되어 있다 (Biotechnology: 10, (1992) page 795-798). 일 구체예에서, 분자의 C 말단 부분이 사용될 수 있다. 구체예는 잔기 178에서 개시되는 C 말단부에서 발견된 LytA 분자의 반복부를 이용할 수 있다. 일 구체예에서, LytA 부분은 잔기 188-305를 통합할 수 있다.
- [0382] 본 발명의 일 구체예에서, Mage 단백질은 유도체화된 유리 티올을 포함할 수 있다. 이러한 항원은 WO 99/40188에 기술되어 있다. 특히, 카르복시아미드화되거나 카르복시메틸화된 유도체가 이용될 수 있다.
- [0383] 본 발명의 일 구체예에서, 종양 관련 항원은 Mage-A3-단백질 D 분자를 포함한다. 이러한 항원 및 하기 요약된 항원은 WO 99/40188에 더욱 상세히 기술되어 있다.
- [0384] 본 발명의 추가의 구체예에서, 종양 관련 항원은 하기 융합 단백질 중 어느 것을 포함할 수 있다: 리포단백질 D 단편, MAGE1 단편, 및 히스티딘 꼬리의 융합 단백질; NS1-MAGE3 및 히스티딘 꼬리의 융합 단백질; CLYTA-MAGE1-히스티딘의 융합 단백질; CLYTA-MAGE3-히스티딘의 융합 단백질.
- [0385] 본 발명의 추가의 구체예는 핵산 면역치료제를 이용하는 것을 포함하며, 이는 본원에 기술된 바와 같은 Mage 특이적 종양 관련 항원을 엔코딩하는 핵산 분자를 포함한다. 이러한 서열을 적합한 발현 벡터로 삽입하고, DNA/RNA 백신화를 위해 사용할 수 있다. 핵산을 발현하는 미생물 벡터가 또한 벡터 전달된 면역치료제로서 사용될 수 있다. 이러한 벡터는, 예를 들어 포크스바이러스, 아데노바이러스, 알파바이러스 및 리스테리아를 포함한다.
- [0386] 핵산 서열을 수득하기 위한 통상적인 재조합 기법, 및 이의 발현 벡터의 생산은 문헌 [Maniatis et al, Molecular Cloning - A Laboratory Manual; Cold Spring Harbor, 1982-1989]에 기술되어 있다.
- [0387] 단백질 기반 면역치료제에 있어서, 본 발명의 단백질은 액체 형태 또는 동결건조된 형태로 제공된다.
- [0388] 일반적으로, 각각의 인간 용량은 1 내지 1000 μg 의 단백질, 예를 들어 30-300 μg , 예컨대 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 90 μg 의 단백질을 포함할 것이다.
- [0389] 본원에 기술된 바와 같은 방법(들)은 백신 애주번트 및/또는 면역자극 사이토킨 또는 케모킨을 추가로 포함하는 조성물을 포함할 수 있다.
- [0390] 본 발명에 사용하기에 적합한 백신 애주번트는 시중에서 입수가능하며, 예컨대 프로인트 불완전 애주번트 및 완전 애주번트 (Difco Laboratories, Detroit, MI); 머크 애주번트 65 (Merck Adjuvant 65) (Merck and Company, Inc., Rahway, NJ); AS-2 (SmithKline Beecham, Philadelphia, PA); 알루미늄 염, 예컨대 알루미늄 히드록시드 겔 (알룸) 또는 알루미늄 포스페이트; 칼슘, 철 또는 아연의 염; 아실화된 티로신의 불용성 현탁물; 아실화된

당; 양이온 또는 음이온 유도체화된 폴리사카라이드; 폴리포스포파젠; 생물분해성 미소구체; 모노포스포릴 지질 A 및 퀴1 (qui1) A. 사이토킨, 예컨대 GM-CSF 또는 인터류킨-2, -7, 또는 -12, 및 케모킨을 또한 애주번트로서 사용할 수 있다.

[0391] 제형에서, 애주번트 조성물이 Th1 타입의 면역 반응을 우세하게 유도하는 것이 바람직할 수 있다. 높은 수준의 Th1-타입 사이토킨 (예를 들어, IFN- γ , TNF α , IL-2 및 IL-12)은 투여된 항원에 대한 세포 매개 면역 반응 유도를 촉진하는 경향이 있다. 반응이 우세한 Th1-타입인 일 구체예에 있어서, Th1-타입 사이토킨의 수준은 Th2-타입 사이토킨의 수준 보다 더 큰 범위로 증가될 것이다. 이러한 사이토킨의 수준은 표준 검정을 이용하여 용이하게 평가될 수 있다. 사이토킨 패밀리에 있어서는, 문헌 [Mosmann and Coffman, Ann. Rev. Immunol. 7:145-173, 1989] 참조.

[0392] 따라서, 우세한 Th1-타입 반응을 유도하는데 사용될 수 있는 적합한 애주번트는, 예를 들어 알루미늄 염과 모노포스포릴 지질 A의 조합물, 예컨대 3-데-0-아실화된 모노포스포릴 지질 A (3D-MPL)를 포함한다. 3D-MPL 또는 기타 톨(toll) 유사 수용체 4 (TLR4) 리간드, 예컨대 WO 98/50399, WO 01/34617 및 WO 03/065806에 기술된 바와 같은 아미노알킬 글루코사미나이드 포스페이트가 또한 단독으로 사용되어 우세한 Th1-타입 반응을 생성시킬 수 있다.

[0393] 우선적으로 Th1-타입 면역 반응을 유도할 수 있는 기타 공지된 애주번트는 TLR9 효능제, 예컨대 비메틸화된 CpG 함유 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 올리고뉴클레오티드는 CpG 디뉴클레오티드가 비메틸화 (unmethylated)된 것을 특징으로 한다. 이러한 올리고뉴클레오티드는 널리 공지되어 있으며, 예를 들어, WO 96/02555에 기술되어 있다.

[0394] 적합한 올리고뉴클레오티드는 하기를 포함한다:

SEQ ID NO:102	TCC ATG ACG TTC CTG ACG TT (CpG 1826)
SEQ ID NO:103	TCT CCC AGC GTG CGC CAT (CpG 1758)
SEQ ID NO:104	ACC GAT GAC GTC GCC GGT GAC GGC ACC ACG
SEQ ID NO:105	TCG TCG TTT TGT CGT TTT GTC GTT (CpG 2006, CpG 7909)
SEQ ID NO:106	TCC ATG ACG TTC CTG ATG CT (CpG 1668)

[0395]

[0396] CpG-함유 올리고뉴클레오티드는 단독으로 또는 다른 애주번트와 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 향상된 시스템은 WO 00/09159 및 WO 00/62800에 기술된 바와 같이 CpG-함유 올리고뉴클레오티드와 사포닌 유도체의 조합물, 특히 CpG와 QS21의 조합물을 포함한다.

[0397] 제형은 수중유 에멀전 및/또는 토크페롤을 추가적으로 포함할 수 있다.

[0398] 또 다른 적합한 애주번트는 사포닌, 예를 들어 QS21 (Aquila Biopharmaceuticals Inc., Framingham, MA)이며, 이는 단독으로 또는 다른 애주번트와 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 향상된 시스템은 WO 94/00153에 기술된 바와 같이 QS21과 3D-MPL의 조합물과 같은 모노포스포릴 지질 A와 사포닌 유도체의 조합물, 또는 WO 96/33739에 기술된 바와 같이, QS21이 콜레스테롤로 쉐딩된 델 반응원성인 조성물을 포함한다. 기타 적합한 제형은 수중유 에멀전 및 토크페롤을 포함한다. 예를 들어, 수중유 에멀전으로 QS21, 3D-MPL 및 토크페롤을 포함하는 특히 유효한 애주번트 제형은 WO 95/17210에 기술되어 있다.

[0399] 또 다른 구체예에서, 애주번트는 리포솜 조성물로 제형화될 수 있다.

[0400] 사용된 3D-MPL의 양은 일반적으로 적으나, 면역치료제 제형에 따라, 용량 당 1-1000 μg , 예를 들어 용량 당 1-500 μg , 및 예컨대 용량 당 1 내지 100 μg , 특히 용량 당 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 90 μg 일 수 있다.

[0401] 구체예에서, 애주번트 시스템은 3개의 면역자극제를 포함한다: WO 95/17210에 기술된 바와 같은 리포솜 제형 또는 수중유 에멀전으로 존재하는 CpG 올리고뉴클레오티드, 3D-MPL, & QS21.

[0402] 본 발명의 애주번트 또는 면역치료제에서 CpG 또는 면역자극성 올리고뉴클레오티드의 양은 일반적으로 적으나, 면역치료제 제형에 따라, 용량 당 1-1000 μg , 예를 들어, 용량 당 1-500 μg 일 수 있다.

[0403] 본 발명의 애주번트에 사용하기 위한 사포닌의 양은 용량 당 1-1000 μg , 예를 들어 용량 당 1-500 μg , 예컨대

용량 당 1-100 μg , 특히 용량 당 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 90 μg 일 수 있다.

- [0404] 일반적으로, 각 인간 용량은 0.1-1000 μg 의 항원, 예를 들어 0.1-500 μg , 예컨대 0.1-100 μg , 특히 0.1 내지 50 μg , 특히 25 또는 50 μg 의 항원을 포함할 것으로 예상된다. 특정 면역치료제에 대한 최적량은 백신화된 피검체에서 적합한 면역 반응의 관찰을 포함하는 표준 연구에 의해 확인될 수 있다. 초기 백신화 후, 피검체는 적합하게 간격을 두고 1회 또는 수회의 부스터 면역화 처리될 수 있다.
- [0405] 기타 적합한 애주번트는 몬타니드 ISA 720 (Montanide ISA 720) (Seppic, France), SAF (Chiron, California, United States), ISCOMS (CSL), MF-59 (Chiron), 리비 데톡스 (Ribi Detox), RC-529 (GSK, Hamilton, MT) 및 기타 아미노알킬 글루코사미나이드 4-포스페이트 (AGPs)를 포함한다.
- [0406] 따라서, 본원에 기술된 항원 및 애주번트를 포함하는 본 발명의 방법에 사용하기 위한 면역원성 조성물이 제공되며, 여기서 애주번트는 3D-MPL, QS21, CpG 올리고뉴클레오티드, 또는 이러한 애주번트 중 두 개 이상의 조합물 중 하나 이상을 포함한다. 면역원성 조성물내의 항원은 수중유 또는 유중수 에멀전 비히클 또는 리포솜 제형 중에 존재할 수 있다.
- [0407] 일 구체예에서, 애주번트는 3D-MPL, QS21 및 면역자극성 CpG 올리고뉴클레오티드 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 구체예에서, 모든 세 개의 면역자극제가 존재한다. 또 다른 구체예에서, 3D-MPL 및 QS21이 CpG 올리고뉴클레오티드의 부재하에 수중유 에멀전 중에 존재한다.
- [0408] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 조성물은 본원에 기술된 바와 같은 중앙 관련 항원, 또는 이의 융합 단백질 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제 조성물을 포함할 수 있다.
- [0409] 본 명세서에서 포함이라는 용어의 사용은 비제한적인 것으로 해석되며, 즉 포함하는 것을 의미한다.
- [0410] 특정 엘리먼트 또는 엘리먼트들을 포함하는 본 발명의 양태를 분리된 구체예로서의 관련 엘리먼트로 이루어지거나 필수적으로 포함하는 상기 양태들로 제한시킨 구체예를 특히 구상한다.
- [0411] 하기 실시예는 본 발명의 입자를 제조하는데 이용될 수 있는 방법을 설명하기 위해 제시된다.
- [0412] 본 명세서에서 문헌들의 논의는 본 발명의 배경을 제공하고 본 발명의 이해를 돕기 위한 것이다. 문헌 또는 견해가 공지되어 있거나 관련 분야에서 보편적인 일반 상식임을 인정하려는 것은 결코 아니다.
- [0413] 하나 이상의 양태에서, 본 발명은 하기 문단 1 내지 101 중 어느 하나에 기재된 구체예를 제공한다.
- [0414] 1) 이와 같이, 본 발명은 표 1로부터의 하나 이상의 유전자를 사용할 수 있다.
- [0415] 2) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.2 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 STAT1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0416] 3) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 및 1.3 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 PSMB9을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0417] 4) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.2 및 1.4 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 JAK2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0418] 5) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.3 및 1.5 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ITGA3을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0419] 6) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.4 및 1.6 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 PSMB10을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0420] 7) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.5 및 1.7 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CXCL9을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0421] 8) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.6 및 1.8

내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 RARRES3을 갖는 유전자를 사용한다.

- [0422] 9) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.7 및 1.9 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 IL2RG을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0423] 10) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.8 및 1.10 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CXCL10을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0424] 11) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.9 및 1.11 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CD8A을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0425] 12) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.10 및 1.12 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 UBD을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0426] 13) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.11 및 1.13 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GPR171을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0427] 14) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.12 및 1.14 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 KLRD1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0428] 15) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.13 및 1.15 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-B을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0429] 16) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.14 및 1.16 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 LCP1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0430] 17) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.15 및 1.17 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-DRA을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0431] 18) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.16 및 1.18 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CYTIP을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0432] 19) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.17 및 1.19 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 IL23A을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0433] 20) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.18 및 1.20 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TRA@을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0434] 21) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.19 및 1.21 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-DRA을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0435] 22) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.20 및 1.22 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TARP을 갖는 유전자를 사용한다.

- [0436] 23) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.21 및 1.23 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ITK을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0437] 24) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.22 및 1.24 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 211796_s_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0438] 25) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.23 및 1.25 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-B을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0439] 26) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.24 및 1.26 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-DQA1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0440] 27) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.25 및 1.27 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HOMER1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0441] 28) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.26 및 1.28 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TRGC2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0442] 29) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.27 및 1.29 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 216920_s_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0443] 30) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.28 및 1.30 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-A을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0444] 31) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.29 및 1.31 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-DMA을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0445] 32) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.30 및 1.32 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-F을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0446] 33) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.31 및 1.33 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SLAMF7을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0447] 34) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.32 및 1.34 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 KIAA1549을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0448] 35) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.35 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 LONRF2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0449] 36) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.34 및 1.36 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FAM26F을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0450] 37) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.35 및 1.37 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호

Clorf162을 갖는 유전자를 사용한다.

- [0451] 38) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.36 및 1.38 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FAM26F을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0452] 39) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.37 및 1.39 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GBP5을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0453] 40) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.38 및 1.40 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 232375_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0454] 41) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.39 및 1.41 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SLITRK6을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0455] 42) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.40 및 1.42 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GBP4을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0456] 43) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.41 및 1.43 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 EPSTI1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0457] 44) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.42 및 1.44 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 AKR1C2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0458] 45) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.43 및 1.45 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ITGAL을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0459] 46) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.44 및 1.46 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CDC42SE2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0460] 47) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.45 및 1.47 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 DZIP1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0461] 48) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.46 및 1.48 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 PTGER4을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0462] 49) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.47 및 1.49 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HCP5을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0463] 50) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.48 및 1.50 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 UTY을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0464] 51) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.49 및 1.51 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 KLRB1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0465] 52) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.50 및

1.52 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FAM26F을 갖는 유전자를 사용한다.

- [0466] 53) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.51 및 1.53 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HILS1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0467] 54) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.52 및 1.54 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 C20orf24을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0468] 55) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.53 및 1.55 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 B2M을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0469] 56) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.54 및 1.56 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ZNF285A을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0470] 57) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.55 및 1.57 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TMEM56을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0471] 58) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.56 및 1.58 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 IRF1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0472] 59) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.57 및 1.59 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TRGV9을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0473] 60) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.58 및 1.60 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 238524_at에 의해 확인된 기호 NA을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0474] 61) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.59 및 1.61 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SLC26A2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0475] 62) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.60 및 1.62 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CXCL2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0476] 63) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.61 및 1.63 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ICOS을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0477] 64) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.62 및 1.64 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 213193_x_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0478] 65) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.63 및 1.65 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CCL5을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0479] 66) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.64 및 1.66 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 LOC284757을 갖는 유전자를 사용한다.

- [0480] 67) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.65 및 1.67 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CD86을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0481] 68) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.66 및 1.68 내지 4.488으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 KLRD1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0482] 69) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.67 및 1.69 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 211902_x_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0483] 70) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.68 및 1.70 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SLAMF6을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0484] 71) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.69 및 1.71 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TOX을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0485] 72) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.70 및 1.72 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GZMK을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0486] 73) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.71 및 1.73 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CDC42SE2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0487] 74) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.72 및 1.74 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 PPP1R16B을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0488] 75) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.73 및 1.75 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 EAF2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0489] 76) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.74 및 1.76 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 USP9Y을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0490] 77) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.75 및 1.77 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FAM26F를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0491] 78) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.76 및 1.78 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FLJ31438를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0492] 79) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.77 및 1.79 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SHROOM3를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0493] 80) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.78 및 1.80 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TNFAIP3를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0494] 81) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.79 및 1.81 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호

HLA-F를 갖는 유전자를 사용한다.

- [0495] 82) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.80 및 1.82 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CD3D를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0496] 83) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.81 및 1.83 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 MAP1B를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0497] 84) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.82 및 1.84 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SRPX2를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0498] 85) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.83 및 1.85 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 AADAT를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0499] 86) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.84 및 1.86 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ARHGAP15를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0500] 87) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.85 및 1.87 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 MCM10를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0501] 88) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.86 및 1.88 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TC2N를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0502] 89) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.87 및 1.89 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 AP2B1를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0503] 90) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.88 및 1.90 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GOLGA7를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0504] 91) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.89 및 1.91 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TNFRSF9를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0505] 92) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.90 및 1.92 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 RNF144B를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0506] 93) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.91 및 1.93 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 209671_x_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0507] 94) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.92 및 1.94 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 UBASH3B를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0508] 95) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.93 및 1.95 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 BTN3A1를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0509] 96) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.94 및

1.96 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GCH1를 갖는 유전자를 사용한다.

- [0510] 97) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.95 및 1.97 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 DENND2D를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0511] 98) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.96 및 1.98 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 C4orf7를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0512] 99) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.1 내지 1.97 및 1.99 내지 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TNFAIP3를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0513] 100) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.100으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GBP5를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0514] 101) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 1.1 내지 1.99으로서 표지된 유전자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GBP1를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0515] 하나 이상의 양태에서, 본 발명은 하기 문단 1 내지 101 중 어느 하나에 기재된 구체예를 제공한다. 문단 2 내지 100 중 어느 하나를 인용할 때 문단 3 내지 101의 "유전자"라는 표현은 문단 2 내지 100에서 언급된 특수한 유전자를 대체하려는 것이 아니라 이를 부가하려는 것이다.
- [0516] 1) 이와 같이, 본 발명은 표 1로부터의 하나 이상의 유전자를 사용할 수 있다.
- [0517] 2) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.2 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 STAT1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0518] 3) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1 또는 2에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.3 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 PSMB9을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0519] 4) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-3 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.4 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 JAK2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0520] 5) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-4 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.5 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ITGA3을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0521] 6) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-5 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.6 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 PSMB10을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0522] 7) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-6 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.7 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CXCL9을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0523] 8) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-7 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.8 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 RARRES3을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0524] 9) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-8 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.9 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 IL2RG을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0525] 10) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-9 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.10 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CXCL10을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0526] 11) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-10 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.11 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CD8A을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0527] 12) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-11 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.12 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 UBD을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0528] 13) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-12 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된

1.13 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GPR171을 갖는 유전자를 사용한다.

- [0529] 14) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-13 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.14 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 KLRD1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0530] 15) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-14 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.15 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-B을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0531] 16) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-15 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.16 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 LCP1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0532] 17) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-16 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.17 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-DRA을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0533] 18) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-17 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.18 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CYTIP을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0534] 19) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-18 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.19 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 IL23A을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0535] 20) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-19 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.20 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TRA@을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0536] 21) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-20 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.21 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-DRA을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0537] 22) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-21 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.22 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TARP을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0538] 23) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-22 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.23 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ITK을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0539] 24) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-23 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.24 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 211796_s_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0540] 25) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-24 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.25 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-B을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0541] 26) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-25 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.26 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-DQA1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0542] 27) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-26 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.27 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HOMER1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0543] 28) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-27 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.28 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TRGC2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0544] 29) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-28 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.29 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 216920_s_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0545] 30) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-29 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.30 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-A을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0546] 31) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-30 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.31 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-DMA을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0547] 32) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-31 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.32 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-F을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0548] 33) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-32 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된

1.33 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SLAMF7을 갖는 유전자를 사용한다.

- [0549] 34) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-33 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.34 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 KIAA1549를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0550] 35) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-34 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.35 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 LONRF2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0551] 36) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-35 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.36 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FAM26F을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0552] 37) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-36 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.37 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 Clorf162을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0553] 38) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-37 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.38 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FAM26F을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0554] 39) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-38 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.39 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GBP5을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0555] 40) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-39 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.40 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 232375_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0556] 41) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-40 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.41 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SLITRK6을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0557] 42) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-41 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.42 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GBP4을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0558] 43) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-42 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.43 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 EPSTI1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0559] 44) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-43 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.44 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 AKR1C2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0560] 45) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-44 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.45 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ITGAL을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0561] 46) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-45 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.46 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CDC42SE2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0562] 47) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-46 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.47 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 DZIP1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0563] 48) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-47 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.48 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 PTGER4을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0564] 49) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-48 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.49 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HCP5을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0565] 50) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-49 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.50 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 UTY을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0566] 51) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-50 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.51 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 KLRB1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0567] 52) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-51 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.52 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FAM26F을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0568] 53) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-52 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.53 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HILS1을 갖는 유전자를 사용한다.

- [0569] 54) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-53 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.54 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 C2orf24을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0570] 55) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-54 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.55 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 B2M을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0571] 56) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-55 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.56 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ZNF285A을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0572] 57) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-56 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.57 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TMEM56을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0573] 58) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-57 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.58 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 IRF1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0574] 59) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-58 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.59 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TRGV9을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0575] 60) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-59 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.60 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 238524_at에 의해 확인된 기호 NA을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0576] 61) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-60 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.61 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SLC26A2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0577] 62) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-61 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.62 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CXCL2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0578] 63) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-62 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.63 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ICOS을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0579] 64) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-63 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.64 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 213193_x_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0580] 65) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-64 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.65 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CCL5을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0581] 66) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-65 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.66 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 LOC284757을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0582] 67) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-66 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.67 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CD86을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0583] 68) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-67 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.68 내지 4.488으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 KLRD1을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0584] 69) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-68 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.69 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 211902_x_at에 의해 확인된 것을 사용한다.
- [0585] 70) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-69 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.70 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SLAMF6을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0586] 71) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-70 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.71 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TOX을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0587] 72) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-71 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.72 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GZMK을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0588] 73) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-72 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된

1.73 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CDC42SE2을 갖는 유전자를 사용한다.

- [0589] 74) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-73 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.74 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 PPP1R16B을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0590] 75) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-74 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.75 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 EAF2을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0591] 76) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-75 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.76 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 USP9Y을 갖는 유전자를 사용한다.
- [0592] 77) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-76 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.77 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FAM26F를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0593] 78) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-77 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.78 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 FLJ31438를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0594] 79) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-78 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.79 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SHROOM3를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0595] 80) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-79 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.80 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TNFAIP3를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0596] 81) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-80 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.81 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 HLA-F를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0597] 82) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-81 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.82 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 CD3D를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0598] 83) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-82 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.83 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 MAP1B를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0599] 84) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-83 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.84 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 SRPX2를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0600] 85) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-84 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.85 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 AADAT를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0601] 86) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-85 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.86 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 ARHGAP15를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0602] 87) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-86 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.87 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 MCM10를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0603] 88) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-87 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.88 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TC2N를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0604] 89) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-88 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.89 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 AP2B1를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0605] 90) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-89 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.90 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GOLGA7를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0606] 91) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-90 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.91 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TNFRSF9를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0607] 92) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-91 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.92 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 RNF144B를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0608] 93) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-92 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.93 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 프로브 세트 209671_x_at에 의해 확인된 것을 사용한다.

- [0609] 94) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-93 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.94 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 UBASH3B를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0610] 95) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-94 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.95 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 BTN3A1를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0611] 96) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-95 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.96 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GCH1를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0612] 97) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-96 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.97 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 DENND2D를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0613] 98) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-97 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.98 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 C4orf7를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0614] 99) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-98 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.99 내지 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 TNFAIP3를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0615] 100) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-99 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 표 1에서 확인된 1.100으로서 표지된 하나 이상의 유전자와 임의로 조합된 기호 GBP5를 갖는 유전자를 사용한다.
- [0616] 101) 또 다른 양태에서, 본 발명은 문단 1-100 중 어느 하나에 따른 하나 이상의 유전자로서, 기호 GBP1를 갖는 유전자를 사용한다.

[0617] **실험 실시예**

[0618] **실시예 1**

[0619] MAGE008 Mage 흑색종 임상 실험:

[0620] 이러한 진행중인 실험에서, recMAGE-A3 단백질 (재조합 mage 융합 단백질)은 두 개의 상이한 면역학적 애주번트와 조합된다: AS02B (QS21, MPL) 또는 AS15 (QS21, MPL 및 CpG7909). 목적은 안전한 프로파일, 임상 반응 및 면역학적 반응에 있어서 애주번트를 구별하기 위한 것이었다.

[0621] 본 실험에서, 두 개의 애주번트 조성물은 두 개의 면역자극제의 혼합물로 이루어졌다:

[0622] 1. QS21 (남미 나무 켈라자 사포나리아 몰리나 (*Quillaja Saponaria Molina*)로부터의 정제된 천연 발생 사포닌 분자), 및

[0623] 2. MPL (S. 미네소타(*S. minnesota*) LPS로부터 유래된 3 데-O-아세틸화된 모노포스포릴 지질 A - 지질 A의 탈독소화된 유도체).

[0624] AS02B는 QS21 및 MPL의 수중유 에멀전이다.

[0625] 동물 모델에서, 이들 애주번트는 IFN α 를 생성하는 CD4 및 CD8 T-세포를 포함하는, 체액성 및 TH1 타입의 세포 매개 면역 반응 둘 모두를 유도하는 것으로 성공적으로 입증되었다 (Moore et al, 1999; Gerard et al, 2001). 게다가, 이러한 유형의 애주번트에서 제형화된 재조합 단백질의 주입은 전신 항종양 반응의 유도를 유도하며; 실제로, 백신화된 동물은 종양 항원을 발현하도록 유전적으로 공학처리된 뮤린 종양 세포로의 챌린지에 대해 보호되는 것으로 나타났으며, 퇴화되는 종양은 CD8, CD4 및 NK 세포에 의해 그리고, 대식세포에 의해 고도로 침윤되는 것으로 나타났다.

[0626] 두 번째 애주번트 시스템은 AS15이다: 이는 리포솜 제형 중에 MPL 및 QS21 이외에 제 3의 면역자극제 즉, CpG7909 (다르게는, CpG 2006으로 공지됨, 상기 참조)를 함유한다. 동물 모델 (주로, 마우스)에서, CpG7909의 첨가는 유도된 면역 및 항종양 반응을 추가로 향상시키는 것으로 나타났다 (Krieg and Davis, 2001; Ren et al, 2004). CpG 올리고데옥시뉴클레오티드 (ODN)는 TLR9 촉발을 통해 수지 세포 활성화를 직접적으로 자극한다. 또한, 마우스에서, CpG7909의 전신 적용은 종양으로 이동된 T-세포의 침윤을 크게 증가시킨다 (Meidenbauer et al, 2004).

[0627] **연구 개요**

[0628] 1. **계획**

- [0629] MAGE008 실험은 다음과 같다:
- [0630] · 개방형
- [0631] · 무작위형
- [0632] · 투-암 (two-arm) (AS02B 대 AS15)
- [0633] · 총 68명 환자
- [0634] 상기 기술된 바와 같이, recMAGE-A3 단백질은 AS02B 또는 AS15 애주번트 시스템과 조합된다.
- [0635] 2. 환자 집단
- [0636] recMAGE-A3 단백질을 국소 또는 원위 피부 및/또는 림프절 병변 (절제불가능한 단계 III 및 단계 IV M1a)을 갖는 진행성 전이 흑색종 환자에게 투여하였다. 종양에 의한 MAGE-A3 유전자의 발현은 정량적 PCR에 의해 평가하였다. 선택된 환자는 흑색종에 대해 이전에 치료를 받은 적이 없고 (recMAGE-A3는 일차선 치료로서 제공됨), 내장 질환을 갖지 않았다.
- [0637] 3. 면역화 스케줄
- [0638] **처리 스케줄의 방법**
- [0639] MAGE008 임상 시험으로 이어진 면역화 스케줄은 다음과 같았다:
- [0640] **사이클 1:** 2주 간격으로 6회 백신접종 (1, 3, 5, 7, 9, 11 주)
- [0641] **사이클 2:** 3주 간격으로 6회 백신접종 (15, 18, 21, 24, 27, 30 주)
- [0642] **사이클 3:** 6주 간격으로 4회 백신접종 (34, 40, 46, 52 주)
- [0643] **장기간 치료:** 예를 들어 3개월 간격으로 4회 백신접종, 이어서 6개월 간격으로 4회 백신접종
- [0644] 상기 치료 계획 둘 모두에 있어서, 추가적인 백신화가 필요에 따라 치료 후에 제공될 수 있다.
- [0645] 상기 임상 시험에서 잠재적인 관여인자를 스크리닝하기 위해, 본 발명자들은 임의의 면역화 전에 종양 생검을 수행하였다. MAGE-A3 정량적 PCR을 위해 RNA를 생검으로부터 추출하였고 이러한 RNA를 또한 마이크로어레이에 의해 유전자 발현 프로파일링에 이용하였다. 목적은 백신화 전 생검에서 임상 반응과 관련된 유전자 세트를 확인하고 환자의 임상 결과를 예측할 수리적 모델을 개발하여, 이러한 항원-특이적 암 면역치료제가 유리할 것 같은 환자를 적절히 확인하고 선택하는 것이었다. 유전자 프로파일링 분석은 마이크로어레이 분석을 위한 동의서에 서명한 환자로부터의 생검에 대해서만 수행하였다.
- [0646] 1. 재료 및 방법
- [0647] 1.1. 종양 건본 및 RNA 정제
- [0648] Mage008 Mage-3 흑색종 임상 시험으로부터 65명 환자로부터의 백신화 전 취해진 65개의 종양 생검을 사용하였다. 이들을 RNA 안정화 용액 RNAlater에서 신선하게 냉동 보존하였다.
- [0649] 총 RNA를 트리퓨어 방법 (Tripure method, Roche Cat. No. 1 667 165)을 이용하여 정제하였다. 제공된 프로토콜에 따른 후, DNase 처리와 함께 RNeasy 미니 키트-클린-업 프로토콜 (RNeasy Mini kit-clean-up protocol)을 사용하였다 (Qiagen Cat. No. 74106). 멜라닌 함량이 높은 (가시적인 검사에 의해 측정됨) 샘플로부터의 RNA를 CsCl 원심분리를 이용하여 추가로 처리하였다.
- [0650] RNA의 정량은 260 nm에서의 광학 밀도 및 Quant-IT 리보그린(RiboGreen) RNA 검정 키트 (Invitrogen - Molecular probes R11490)를 이용하여 초기에 완료되었다.
- [0651] 1.2. 마이크로어레이 분석을 위한 RNA 표지화 및 증폭
- [0652] 임상 연구 동안 얻은 작은 생검 크기로 인해, 마이크로어레이 분석을 위해 RNA의 표지화와 함께 증폭 방법을 이용하였다: 뉴젠 3' 오베이션 바이오틴 키트 (Nugen 3' ovation biotin kit) (50 ng의 RNA로 표지화-Ovation biotin system Cat; 2300-12, 2300-60). 50 ng의 총 RNA의 출발 투입량을 이용하였다.
- [0653] 1.3. 마이크로어레이 칩, 하이브리드화 및 스캐닝

- [0654] Affymetrix HU-U133.플러스 2.0 유전자 칩을 표준 Affymetrix 프로토콜에 따라 하이브리드화하고, 세척하고, 스캐닝하였다.
- [0655] 1.1.1. 유전자 시그너처 분석에 사용된 환자의 정의
- [0656] 이원 분류 접근법을 이용하여 환자를 유전자 시그너처 (GS) 포지티브 (GS+) 또는 GS 네거티브 (GS-) 그룹으로 지정하였다. 트레이닝 세트는 양호한 품질의 마이크로어레이 데이터를 지니고 6회 이상 백신화된 유전자 시그너처 분석에 동의한 56명의 유효한 환자로 이루어졌다.
- [0657] 이러한 유전자 시그너처 분석을 위해, 반응자 (R)는 임상 활성의 객관적인 표시를 나타내는 환자로서 정의되었고 하기를 포함하였다; 객관적인 반응 (완전 반응 (CR), 부분 반응 (PR), 안정한 질환 (SD), 혼합된 반응 (MR)). 비-반응자 (NR)는 진행성 질환 (PD)으로서 정의되었다.
- [0658] 6회 이상 백신화된 유효한 환자만이 유전자 프로파일 분석에 이용되었는데, 그 이유는 대체로 그 때 면역 반응이 검출되었기 때문이다.
- [0659] 유전자 프로파일 분석을 위한 **반응자 (R)**은 생물학적 활성의 표시를 나타내는 환자이며 하기를 포함한다: 완전 및 부분 반응자 (CR, PR), 안정한 질환 (SD), 혼합된 반응 1 (MxR1)을 지니는 진행성 질환 (PD) 및 하나 이상의 표적 병변이 사라진 PD MxR2.
- [0660] **비-반응자 (NR)**: PD No MxR, 하나 이상의 표적 병변의 소실을 나타내지 않는 PD MxR2 및 진행성 질환 No MxR
- [0661] 이러한 임상 연구에서 두 아암(arm)에서의 트레이닝 세트 분포는 (두 면역학적 애주버트 비교) 22 R (AS15 아암 중 14 및 AS02B 아암 중 8개) 및 34 NR (13 AS15, 21 AS02B)로 이루어졌다.
- [0662] 샘플 표준화
- [0663] RNA의 증폭 및 표준화 후에, HG-U133 플러스 2 Affymetrix 유전자 칩으로의 하이브리드화를 수행하였다. 스캐닝 후에 취득한 CEL 파일을 양호한 품질의 마이크로어레이 데이터 (스케일링 인자 및 gcrma 표준화 기반)를 지니는 모든 환자를 이용하여 Bioconductor로부터의 gcrma 패키지에서 변형된 버전의 GCRMA 알고리즘 (Wu, 2004)을 이용하여 표준화하였다. 상기 알고리즘은 이러한 세트의 어레이로 취득된 전가공 파라미터를 저장하도록 형성되었다. 파라미터는 하기 두 유형이다: 분위수 표준화에 필요한 평균 경험적 분포, 및 프로브 세트(PS) 요약을 수행하기 위한 프로브-특이적 효과. 이러한 파라미터를 65개 샘플로부터 취득하고 트레이닝 세트의 56개 샘플에 적용시켜 각각의 프로브 세트에 대한 요약된 값을 취득하였다.
- [0664] 1.1. 부재/존재 및 비-특이적 필터링
- [0665] 표준화에 사용된 65개 모든 샘플에서 부재로 명명된 Affymetrix 프로브 세트 (PS)를 PANP 프로그램 (1.8.0 소프트웨어 버전)의 R 임플리멘테이션을 이용하여 제거하였다. 이것은 데이터세트를 54,613에서 약 28,100 PS로 감소시킨다.
- [0666] 표준화된 하이브리드화 샘플의 4분위 범위 (IQR) 필터링된 프로브 세트 (PS)를 각각의 샘플과 관련된 결과와 별개로 필터링하였다. 이러한 비-특이적 필터링의 목적은 샘플들을 가로질러 대충 일정한 발현을 나타내는 유전자를 제거하는 것인데, 그 이유는 이러한 유전자가 분별력을 거의 제공하지 않는 경향이 있기 때문이다 (Heidebreck et al., 2004).
- [0667] 트레이닝 세트 (56개 샘플)의 발현 매트릭스에서 1.7과 같거나 이보다 높은 4분위 범위를 갖는 PS만을 보유하는 4분위 필터를 실행시켰다. 이러한 단계는 PS 크기를 28,100에서 약 5045로 감소시켰다.
- [0668] 피쳐 표준화
- [0669] 요약되고 필터링된 PS를 후속하여 Z-점수 계산으로 표준화하였다. 각각의 개별적인 환자 발현 PS 값에 대한 Z-점수는 다음과 같이 계산된다: PS-특이적 평균을 PS 값으로부터 감하고, 이러한 평균-중심 발현 값을 이어서 PS-특이적 표준 편차에 의해 가중시킨다. Z-점수 계산에 포함된 PS-특이적 평균 및 표준 편차는 트레이닝 세트로부터 계산된 것이다.
- [0670] 피쳐 선택
- [0671] 신호 대 노이즈 점수로 된 임상 결과 환자 데이터의 분류에 있어서 피쳐로서 사용되는 관련 PS의 선택은 트레이닝 세트에서 56개 샘플에 대해 표준화되고 Z-점수화된 발현 매트릭스를 이용하여 취득된다:

$$s2n = \frac{\bar{x}_R - \bar{x}_{NR}}{sd_R + sd_{NR}}$$

\bar{x}_R = 반응자의 평균

\bar{x}_{NR} = 평균 또는 비-반응자

sd_R = 표준 편차 반응자

sd_{NR} = 표준 편차 비-반응자

- [0672]
- [0673] 가장 높은 절대 신호 대 노이즈 점수를 지닌 100개 PS를 분류자 피처로서 선택하였다 (표 1). 이러한 숫자는 적절한 것으로 판단되는데, 그 이유는 이것이 또 다른 기법으로 측정하기에 가능한 수의 유전자이기 때문이다 (즉, Q-RT-PCR).
- [0674] 유전자 선택의 상기 방법을 다음 섹션에 기재한 대로 크로스확인 (crossvalidation)에 의해 시험하였다.
- [0675] 분류 방법의 리브 원 아웃 (Leave one out) 크로스확인 (LOOCV)
- [0676] 방법의 성능을 판단하고 분류자에 대한 적합한 컷오프(cutoff)를 선택하기 위해; 분류 계획을 개발하고 각각의 크로스확인 루프에서 리포터 목록의 재-계산을 이용하여 리브-원-아웃에 의한 크로스확인을 이용하여 시험하였다.
- [0677] 먼저, 비-특이적 필터를 적용시켜 4분위 범위 (IQR)가 1.7 미만인 프로브 세트 (PS)를 폐기하였다 (각각의 크로스확인에서 남아 있는 ~5000개 PS). 후속하여, Z-점수 표준화를 각각의 트레이닝 세트 내에서 수행하였고 시험 샘플에 적용시켰다. 유전자를 문헌[Golub et al. (Golub, 1999)]에 기재된 바와 같은 신호-대-노이즈 (s2n)를 이용하여 랭킹하였고, 가장 좋은 100개 PS (절대 s2n 점수)를 분류자 피처로서 선택하였다.
- [0678] 관리된 주요 성분 - 분별 분석 (SPCA)에 기반한 분류 알고리즘을 선택된 PS를 이용하여 수립하였다 (Bair and Tibshirani, PLOS Biol 2004 and Tibshirani et al., PNAS 2002). 분류자는 분류자 피처로서 선택된 PS만을 지니는 트레이닝 세트의 발현 매트릭스의 특이값 분해(singular value decomposition)에 기반한다. 첫 번째 주요 성분 (PC₁)에서 트레이닝 세트의 각각의 그룹 (R 및 NR)의 평균 및 표준 편차를 계산하였다. 시험 샘플을 분류하기 위해, 이의 Z-점수화된 발현 값을 트레이닝 세트에 의해 정의된 PC₁에 넣고 PC₁에서 각각의 그룹의 평균까지의 차이를 이용하여 샘플이 반응자 또는 비-반응자 그룹에 속할 가능성을 계산하였다. 이에 따라, 분류자 결과는 샘플이 반응자 (GS+)일 가능성이 지수이며, 0 내지 1의 범위이다.
- [0679] 도 1/21는 LOOCV에 대한 계획을 도시한다.
- [0680] 도 2/21는 각각의 루프에서 분류에 가장 좋은 100개 PS를 선택하는 LOOCV의 결과를 도시한다.
- [0681] 민감성 (Se) 및 특이성 (Sp)을 성능 지수로서 이용하였다. Se는 반응자로서 예측된 샘플들 중에서 진정한 포지티브 (TP)의 비율로서 정의되며, Sp는 비-반응자로서 예측된 환자들 중에서 진정한 네거티브 (TN)의 비율로서 정의된다.
- [0682] 도 2/21의 그래프로부터, 0.41 내지 0.47 사이의 어떠한 값이 동일한 민감성 및 특이성을 지닐 것임을 알 수 있다. 0.43의 컷오프를 취하도록 결정되었다. 이러한 컷오프는 56개 샘플에 대해 32개 샘플을 반응자 (R)로서 분류할 것이고 민감성은 19/34 (0.56)의 특이성과 함께 17/22 (0.77)일 것이다. 주목할 만하게는, 단지 AS15 아암에서 민감성 및 특이성이 더 높으며, 각각 0.79 및 0.69이다. 중요하게는, 모든 대상 반응자 (CR 및 PR)가 정확하게 분류된다.
- [0683] LOOCV에 의해 수립된 56개 분류자 각각에서의 선택된 피처의 안정성을 모든 샘플을 이용하여 선택된 피처와 비교하였다.

[0684] 표 1A. 모든 샘플을 이용하여 선택된 100개 PS 및 LOOCV에서 선택된 시간

	Affy ID	R2.9 주석에 따른 유전자 기호	Affymetrix 주석에 따른 유전자 기호	LOOCV에서 선택된 시간
1.1	1554240 a_at	ITGAL	ITGAL	56
1.2	1555852 at	PSMB9	NA	56
1.3	1562031 at	JAK2	JAK2	56
1.4	201474 s_at	ITGA3	ITGA3	56
1.5	202659 at	PSMB10	PSMB10	56
1.6	203915 at	CXCL9	CXCL9	56
1.7	204070 at	RARRES3	RARRES3	56
1.8	204116 at	IL2RG	IL2RG	56
1.9	204533 at	CXCL10	CXCL10	56
1.1	205758 at	CD8A	CD8A	56

[0685]

	Affy ID	R2.9 주석에 따른 유전자 기호	Affymetrix 주석에 따른 유전자 기호	LOOCV에서 선택된 시간
1.11	205890 s_at	UBD	GABBR1 /// UBD	56
1.12	207651 at	GPR171	GPR171	56
1.13	207795 s_at	KLRD1	KLRD1	56
1.14	208729 x_at	HLA-B	HLA-B	56
1.15	208885 at	LCP1	LCP1	56
1.16	208894 at	HLA-DRA	HLA-DRA	56
1.17	209606 at	CYTIP	CYTIP	56
1.18	210915 x_at	IL23A	TRBC1	56
1.19	210972_x_at		TRA@ /// TRAC /// TRAJ17 /// TRAV20	56
1.20	210982 s_at	HLA-DRA	HLA-DRA	56
1.21	211144 x_at	TARP	TARP /// TRGC2	56
1.22	211339 s_at	ITK	ITK	56
1.23	211796 s_at	IL23A	TRBC1 /// TRBC2	56
1.24	211911 x_at	HLA-B	HLA-B	56
1.25	212671 s_at	HLA-DQA1	HLA-DQA1 /// HLA-DQA2	56
1.26	213793 s_at	HOMER1	HOMER1	56
1.27	215806 x_at	TRGC2	TARP /// TRGC2	56
1.28	216920 s_at	TARP	TARP /// TRGC2	56
1.29	217436_x_at		HLA-A /// HLA-A29.1 /// HLA-B /// HLA-G /// HLA-H /// HLA-J	56
1.30	217478 s_at	HLA-DMA	HLA-DMA	56
1.31	221875 x_at	HLA-F	HLA-F	56
1.32	222838 at	SLAMF7	SLAMF7	56
1.33	223575 at	KIAA1549	KIAA1549	56
1.34	225996 at	LONRF2	LONRF2	56
1.35	228362 s_at	FAM26F	FAM26F	56
1.36	228532 at	C1orf162	C1orf162	56
1.37	229391 s_at	FAM26F	FAM26F	56
1.38	229625 at	GBP5	GBP5	56
1.39	232375 at	STAT1*	NA	56
1.40	232481 s_at	SLITRK6	SLITRK6	56
1.41	235175 at	GBP4	GBP4	56
1.42	235276 at	EPSTI1	EPSTI1	56
1.43	244393 x_at	AKR1C2*	NA	56
1.44	AFFX-HUMISGF3A/M9793 5 MB at	STAT1	STAT1	56
1.45	1552613 s_at	CDC42SE2	CDC42SE2	55
1.46	204556 s_at	DZIP1	DZIP1	55

[0686]

	Affy ID	R2.9 주석에 따른 유전자 기호	Affymetrix 주석에 따른 유전자 기호	LOOCV에서 선택된 시간
1.47	204897_at	PTGER4	PTGER4	55
1.48	206082_at	HCP5	HCP5	55
1.49	211149_at	UTY	LOC100130224 /// UTY	55
1.50	214470_at	KLRB1	KLRB1	55
1.51	229543_at	FAM26F	FAM26F	55
1.52	231229_at	HILS1	HILS1	55
1.53	232234_at	C20orf24	SLA2	55
1.54	232311_at	B2M	B2M	55
1.55	236328_at	ZNF285A	ZNF285A	55
1.56	237515_at	TMEM56	TMEM56	55
1.57	202531_at	IRF1	IRF1	54
1.58	209813_x_at	TRGV9	TARP	54
1.59	238524_at	NA	NA	54
1.60	205097_at	SLC26A2	SLC26A2	53
1.61	209774_x_at	CXCL2	CXCL2	53
1.62	210439_at	ICOS	ICOS	53
1.63	213193_x_at	IL23A	TRBC1	53
1.64	1555759_a_at	CCL5	CCL5	52
1.65	1562051_at	LOC284757	LOC284757	52
1.66	205685_at	CD86	CD86	50
1.67	210606_x_at	KLRD1	KLRD1	50
1.68	211902_x_at	TRA@	TRA@	50
1.69	1552497_a_at	SLAMF6	SLAMF6	48
1.70	204529_s_at	TOX	TOX	48
1.71	206666_at	GZMK	GZMK	48
1.72	1552612_at	CDC42SE2	CDC42SE2	47
1.73	1563473_at	PPP1R16B*	NA	45
1.74	219551_at	EAF2	EAF2	45
1.75	228492_at	USP9Y	LOC100130216 /// USP9Y	44
1.76	229390_at	FAM26F	FAM26F	43
1.77	228316_at	FLJ31438*	C2orf63	42
1.78	228400_at	SHROOM3	SHROOM3	42
1.79	202643_s_at	TNFAIP3	TNFAIP3	41
1.80	204806_x_at	HLA-F	HLA-F	41
1.81	213539_at	CD3D	CD3D	41
1.82	226084_at	MAP1B	MAP1B	41
1.83	205499_at	SRPX2	SRPX2	40
1.84	223593_at	AADAT	AADAT	40
1.85	244061_at	ARHGAP15*	NA	40
1.86	222962_s_at	MCM10	MCM10	39

[0687]

	Affy ID	R2.9 주석에 따른 유전자 기호	Affymetrix 주석에 따른 유전자 기호	LOOCV에서 선택된 시간
1.87	1553132_a_at	TC2N	TC2N	38
1.88	200615_s_at	AP2B1	AP2B1	38
1.89	234907_x_at	GOLGA7*	NA	38
1.90	207536_s_at	TNFRSF9	TNFRSF9	36
1.91	239012_at	RNF144B	RNF144B	34
1.92	209671_x_at	TRA@	TRA@ /// TRAC	32
1.93	238587_at	UBASH3B	UBASH3B	31
1.94	209770_at	BTN3A1	BTN3A1	27
1.95	204224_s_at	GCH1	GCH1	25
1.96	221081_s_at	DENND2D	DENND2D	25
1.97	229152_at	C4orf7	C4orf7	24
1.98	202644_s_at	TNFAIP3	TNFAIP3	19
1.99	238581_at	GBP5	GBP5	17
1.100	231577_s_at	GBP1	GBP1	15

[0688]

[0689]

*: R2.9에서 NA가 된 R2.6으로부터의 주석

[0690]

도 3/21은 PS가 각각의 LOOCV에서 100개의 상위 s_{2n} 내에 있는 갯수를 나타낸다. 또한 모든 샘플을 이용하여 선택된 PS를 검정색으로 나타내었다. 모든 샘플을 이용하여 선택된 100개 PS 중 68개를 또한 LOOCV의 적어도 50개에서 선택하였고, 모든 샘플을 이용하여 선택된 100개 PS의 목록은 독립적인 환자의 반응을 예측하는데 사용되는 분류자 피쳐일 것이다 (표 1).

[0691]

전반적인 생존 (OS)에 대한 유전자 시그니처의 영향

[0692]

Cox 회귀에서, 위험성은 사건 (사망, 질환 진행)이 기간 동안 일어날 가능성을 나타낸다. 기준 위험성은 모든

샘플이 공유하는 것으로 가정되며 위험성에 영향을 미치는 설명 변수인 공변량이 모델에 부가된다. 위험성 비율은 위험성에 대해 공변량이 지니는 영향력을 정량한 것이다. 이것은 변수의 상대적인 위험성을 반영한다.

[0693] 예를 들어, 하기 표 2에서와 같은 위험성 비가 0.4인 치료는, 유전자 시그너처 포지티브 환자가 유전자 시그너처 네거티브 환자에 비해 기간 동안 60% 감소된 사망 위험을 지님을 의미한다. 0.4는 예상되는 HR의 평균이고, 95% 신뢰 구간이 또한 상기 모델에서 추정됨을 주목한다.

[0694] 도 4/21은 II상 흑색종 임상에서 모든 환자에 대하여 애주번트에 의한 OS에 대한 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 곡선(KM)을 도시한다; 위험성 비율 (HR): 0.55 (95%CI [0.28; 1.06]). 트레이닝 세트의 단지 56명 환자 이용시에 추정된 위험성 비율은 0.41이다 (95% CI [0.191; 0.88]). 전반적인 생존 (OS)에 대한 GS의 영향을 추정하기 위해, 0.43의 컷오프를 이용하여 LOOCV에 의해 수득된 분류를 이용하였다 (섹션 1.4); 도 5/21의 그래프는 GS에 의한 OS에 대한 KM을 도시한다.

[0695] 다변량 Cox-모델에 애주번트와 GS를 공변량으로서 핏팅시켜 GS에 대한 하기 HR을 수득하였다:

	HR	낮은 0.95	높은 0.95
GS+ vs GS-	0.4	0.197	0.813

[0696]

[0697] GS에 의해 추정된 정중 생존 시간은 다음과 같았다:

	정중 생존 (개월)	낮은 0.95	높은 0.95
GS-	16.2	9.4	Inf
GS+	28	20.5	Inf

[0698]

[0699] LOOCV 분류에 기반한 유전자 시그너처 및 애주번트에 의한 전반적인 생존 카플란-마이어 곡선을 도 6/21에 도시하며, HR은 다음과 같았다:

	HR	낮은 0.95	높은 0.95
AS15 GS+ vs GS-	0.268	0.080	0.896
AS02B GS+ vs GS-	0.433	0.165	1.140

[0700]

[0701] 상기 논의된 대로, MAGE-A3 ASCI에 대한 임상 반응을 예측하기 위해 주어진 유전자 발현 프로필에 기반한 분류자를 개발하였고 II상 흑색종 임상에서 크로스확인하였다 (GSK 249553/008). 분류자 성능은 0.77의 민감성 및 0.56의 특이성을 수득하는 LOOCV를 이용하여 추정되었다. AS15 아암에서의 특이성은 단지 0.79 및 민감성은 0.69였다. 이러한 분류는 GS+ 집단에서 전반적인 생존에 대한 위험성 비율의 현저한 감소를 초래하였으며, AS15 아암에서 더욱 중요한 효과를 지녔다.

[0702] 분류자 피쳐 선택의 안정성을 또한 평가하였고, 이것은 트레이닝 세트에서 하나의 샘플을 제거하는 것에 대해 강건(robust) 것으로 나타났다. MAGE-A3-ASCI (트레이닝 세트의 56명 환자를 모두 이용하여 s2n에 의해 상위 100 PS; 표 1)의 임상 효능에 결부된 시그너처의 생물학은 ASCI의 작용 모드와 관련되는데, 그 이유는 이것이 T-세포 마커의 상향조절을 나타내는 반응자 환자의 종양에서 면역 이펙터 세포의 존재에 유리한 특이적 종양 미세환경 (케모킨)의 존재를 암시하는 유전자를 함유하기 때문이다. 전이 흑색종에서 최근의 유전자 발현 프로파일링 연구는 종양이 T-세포 관련 전사체의 존재 또는 부재에 기반하여 분리될 수 있었음을 밝혀내었다 (Harlin, 2009). 종양에서 림프구의 존재는 6개 케모킨 (CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9, CXCL10)의 서브세트의 발현과 관련되었고, 이러한 6개의 유전자 중 3개(CCL5, CXCL9, CXCL10)는 100개 PS에 존재한다. 흥미롭게도, HLA 분자가 또한 반응자 환자에서 상향조절되는 것으로 나타났다. 종양 세포에서 HLA 분자의 하향조절은 면역 감시를 피하는 메커니즘일 수 있는 것으로 여겨져 왔다 (Aptsiauri, 2008).

[0703] 독창적 경로 분석(Ingenuity Pathway Analysis)으로부터 최고의 생물학적 기능은 100개 PS 시그너처에서 면역 관련 유전자를 풍부하게 하는 것임이 확인되었다 (p-값은 서브-기능에 대해 수득된 범위이다):

생물학적 기능	p-값	유전자 번호
항원 제시	5.53E-14 - 5.06E-03	27
세포-대-세포 신호 및 상호작용	5.40E-13 - 7.60E-03	28
세포 발생	1.58E-11 - 6.75E-03	27
세포 사멸	1.18E-09 - 5.80E-03	28
세포 이동	3.56E-08 - 7.60E-03	19
세포 매개 면역 반응	5.53E-14 - 7.60E-03	32
체액 면역 반응	5.53E-14 - 7.60E-03	29
혈액계 발생 및 기능	4.44E-13 - 7.60E-03	32
조직 형태학	4.44E-13 - 7.60E-03	23
면역 세포 트래피킹(Trafficking)	6.77E-13 - 7.60E-03	23

[0704]

[0705]

4. 신규한 샘플의 임상 결과 예측

[0706]

임상 결과 예측을 수행하기 위해 본원에 기재된 단계들은 R 스크립트로서 기록되었다. 주어진 환자에 대한 임상 결과 예측을 수행하기 전에, 환자 Affymetrix 유전자칩 데이터의 2회 연속 표준화를 수행하였다. 이러한 표준화의 목적은 트레이닝 세트 데이터로 정확하게 스케일링됨에 의해, 유사할 환자에 대한 유전자 발현 값을 생산하는 것이고, 이로부터 예측 계획을 전개시켰다. 트레이닝 세트는 II상 흑색종 임상으로부터의 56개 샘플로 이루어진다. 트레이닝 세트 및 샘플 표준화에 관한 상세한 설명은 이전의 섹션에 기재되어 있고 하기 문단에서 더욱 상세히 기재되었다.

[0707]

4.1 샘플 표준화

[0708]

전가공으로도 알려진 샘플 표준화는 각각의 샘플에 대한 CEL 파일에서 출발함으로써 수행되며 하기 양태를 처리할 것이다:

[0709]

1. 배경 미가공 Affymetrix 올리고뉴클레오티드 프로브 세기에 대한 수정

[0710]

2. 분위수 표준화 절차를 이용하여 배경 수정된 프로브 세기의 표준화

[0711]

3. 칩 정의 파일(Chip Definition File (CDF))에서 정의된 프로브-대-PS 맵핑에 따라서 프로브 세기를 단일 프로브 세트 세기로 전환. CDF 파일은 Affymetrix에 의해 사용되고 제공된 유전자칩 어레이 (hgu133plus2)에 특이적이다. 이러한 마지막 단계를 요약이라고 부른다.

[0712]

이러한 단계의 목적은 알려지지 않은 환자 데이터의 프로브 세트 (PS) 세기의 분포를 트레이닝 세트의 PS 세기 분포에 맞추는 것이다. 이것은 GCRMA 알고리즘 (Wu, 2004)을 이용하여 수행된다. 이러한 알고리즘은 참조 마이크로어레이 데이터 세트 상에 정의된 전가공 파라미터를 설명하도록 구성되었다. 파라미터는 하기 두 유형이다: 분위수 표준화에 필요한 평균 경험적 분포, 및 PS 요약을 수행하기 위한 프로브-특이적 효과.

[0713]

참조 GCRMA 파라미터를 II상 흑색종 임상 연구로부터의 65개 샘플로 수립하였고, 이들을 refplus R 패키지에 기반한 코드를 이용하여 신규한 환자 샘플에 적용하였다.

[0714]

부록 1 코드 청크(chunk)는 Bioconductor에서 이용가능한 Refplus R 패키지 (Harbron et al., 2007)에 함유된 코드의 변형이다. RefPlus 코드는 참조 데이터 세트로부터 계산된 표준화 파라미터를 고려하여, 주어진 샘플 하이브리드화의 GCRMA 표준화를 수행하도록 변형된다. 참조 데이터 세트는 이전 섹션에 기재된 데이터 세트이다 (65명 환자). RefPlus는 참조 데이터 세트 표준화를 위해 초기에 정해지나, GCRMA 보다는 RMA 알고리즘을 이용한다. RMA와 GCRMA 사이의 유일한 차이는 배경 수정 단계에 있다. RefPlus는 rmaplus R 기능에 내장된 bg.correct.rma R 기능을 bg.adjust.gcrma R 기능으로 대체시킴에 의해 GCRMA 배경을 수정하는 것이 가능해졌다. RefPlus 코드 변형은 2007년 10월에 수행되었고 글락소스마스클라인으로부터 이용가능하다. 부록 1의 GCRMA-가능해지고, 변형된 RefPlus 코드로 샘플을 표준화하기 위해서는, 표준화하기 위한 데이터 외에 (부류 AffyBatch의), 참조 데이터 세트에 대해 계산된 참조 분위수 (r.q 옵션) 및 프로브 효과 (p.e 옵션)를 파라미터로서 이용한 GCRMA 배경 수정 가능해진 rmaplus 기능을 불러 와야 할 것이다. 참조 분위수 및 프로브 효과는 GSK로부터 이용가능하고 상기 언급된 대로 USPTO에 콤팩트 디스크로 제출된 rq.txt 및 pe.txt 파일에 포함되어 있다.

[0715]

부록 1의 GCRMA-가능해지고, 변형된 RefPlus 코드로 샘플을 표준화하기 위해서는 (도 5), 표준화하기 위한 데이터 외에 (부류 AffyBatch의), 참조 데이터 세트에 대해 계산된 참조 분위수 (r.q 옵션) 및 프로브 효과 (p.e 옵션)를 파라미터로서 이용한 GCRMA 배경 수정 가능해진 rmaplus 기능을 불러 와야 할 것이다. 참조 분위수 및 프로브 효과는 GSK의 헤드 오프 코퍼레이트 인텔렉추얼 프로퍼티(Head of Corporate Intellectual Property)로

부터 이용가능한 rq.txt 및 pe.txt 파일에 포함되어 있고, 각각의 명칭은 VR63933P_rq.txt 및 VR63933P_pe.txt 이다. 이러한 파일들이 또한 2009년 10월 6일 출원된 미국 우선권 출원 61/278387호에 관해 콤팩트 디스크로 USPTO에 제출되었고 이용가능한 시간에 미국 가특허출원 61/278387호의 파일 히스토리를 요청함에 의해 USPTO로부터 입수할 수 있다.

[0716] 한편, 이러한 파일들은 또한 zip 파일로서 https://sites.google.com/site/vr63933/vr63933r_files에서 이용 가능하다 (https 주소에서 문자 "r"과 단어 "files" 사이에 "_"이 존재함을 주의한다). 웹사이트 상의 파일의 명칭은 각각 VR63933P_rq.zip 및 VR63933P_pe.zip이다. 이러한 두 파일의 사본을 얻기 위해, 본 문단에서 제공된 주소를 네비게이션하고 각각의 파일에 대해 하이퍼텍스트 "다운로드"를 선택한다. 즉시 "저장" 옵션을 선택하고 요망되는 위치에 저장한다. 일반적으로 zip 파일을 여는 바와 같이 파일을 열고 이들을 ASCII (.txt) 파일로서 요망되는 위치에 저장한다. 이어서, 본 출원의 처음 두 문단에서의 지시에 따른다.

[0717] 요약된 프로브 세트 (PS)를 후속하여 Z-점수 계산으로 표준화한다; 이것을 분류자 피처로서 선택된 PS에 적용한다. 이러한 두 번째 표준화 단계의 목적은 데이터의 전체에 걸쳐서 유사한 발현 패턴을 공유하지만 상이한 절대 발현 값 범위를 지니는 유전자를 동일하게 만드는 것이다.

[0718] 각각의 개별적인 환자 발현 PS 값에 대한 Z-점수는 다음과 같이 계산된다: PS-특이적 평균을 PS 값으로부터 감하고, 이러한 평균-중심 발현 값을 이어서 PS-특이적 표준 편차에 의해 가중시킨다. Z-점수 계산에 포함된 PS-특이적 평균 및 표준 편차는 트레이닝 세트로부터 계산된 것들이다 (표 4).

[0719] 일단 환자의 미가공 데이터가 트레이닝 세트 파라미터로 표준화되면, 이들은 환자에 대한 임상 결과를 예측하기 위한 판단 규칙 (분류자 또는 분류 계획)으로 처리될 수 있다.

[0720] 4.2 새로운 샘플의 분류용 알고리즘

[0721] 표준화된 환자 PS에 기반하여 환자 임상 결과를 예측하기 위해, 관리된 주요 성분 (SPCA) - 분별인자 분석 (DA) 판단 규칙을 이용하였다 (adapted from Bair, 2004; Tibshirani, 2002). SPCA-DA를 호출하는 예측 공정은 다음과 같이 구동된다:

[0722] - 분류에 사용된 프로브 세트는 단지 분류자 피처이며 (100개 PS) 트레이닝 세트에 기반한 모델 개발 동안 확인되었다 (표 1).

[0723] - 분류를 위한 환자의 표준화된 발현 프로파일 (분류자 피처)를 분류자 피처의 선형 결합을 이용하여 트레이닝 세트에 의해 정의된 첫 번째 주요 성분 (PC₁) 스페이스에 투입하였다 (선형 결합에서 각각의 피처에 대한 계수는 트레이닝 세트의 특이값 분해에 의해 획득되었고 이들은 표 4에 제공된다).

[0724] - 반응자 및 비-반응자 그룹의 평균에 대한 PC₁에서의 시험 샘플의 표준화된 간격은 다음 방정식을 이용하여 획득된다:

[0725]
$$d_{ik} = \frac{|PC_{1i} - \text{평균}_{PC_{1k}}|}{sd_{PC_{1k}}}$$

[0726] i =시험 샘플

[0727] k = 반응자 (R) 또는 비-반응자 (NR)

[0728] 평균_PC_{1k} = 트레이닝 세트에서 R 또는 NR 그룹의 PC₁ 평균

[0729] sd_PC_{1k} = 트레이닝 세트에서 R 또는 NR 그룹의 PC₁ 표준 편차

[0730] - 트레이닝 세트에서 각각의 그룹의 평균 및 sd는 다음과 같다 (세 개의 유효 숫자까지 반올림됨):

평균_PC _{1R}	-4.622
sd_PC _{1R}	5.727
평균_PC _{1NR}	2.991
sd_PC _{1NR}	7.051

[0731]

[0732] - 각각의 샘플에 대한 지수 (샘플이 반응자일 가능성)를 하기를 이용하여 수득하였다:

$$P_R = \frac{e^{\frac{dx}{2}}}{e^{\frac{dx}{2}} + e^{-\frac{dx}{2}}}$$

[0733]

[0734] - P_R 이 0.43보다 큰 경우 샘플을 유전자 시그너처 포지티브 (반응자, R)로서 분류하였다.

[0735] 본 방법을 예시할 목적으로 상기 분류자를 트레이닝 세트에 적용시켜, 도 7/21을 생산한다.

[0736] **새로운 샘플을 예측하기 위한 알고리즘**

```

library(genefilter)

#### load testset to classify (normalized microarray data)

load("testset.RData") ### ExpressionSet containing samples to
classify

testset<-data ###(modify xx according to batch number)

### Load training set parameters #####
load("M8.train.parameters.RData")
PS<-M8.train.parameters[[1]]
M8.train.means<-M8.train.parameters[[2]]
M8.train.sd<-M8.train.parameters[[3]]
M8.train.U<-M8.train.parameters[[4]]
M8.train.PC1barRs<-M8.train.parameters[[5]]
M8.train.PC1sdRs<-M8.train.parameters[[6]]
M8.train.PC1barNRs<-M8.train.parameters[[7]]
M8.train.PC1sdNRs<-M8.train.parameters[[8]]

##### Use SPCA on test set -
#####
testset<-testset[PS,]

test<-(exprs(testset)-M8.train.means)/M8.train.sd

PCtest<-t(test) %*% M8.train.U

PC1test<-PCtest[,1]

distanceR<-c()
distanceNR<-c()
probR<-c()
    
```

[0737]

```

probNR<-c()
SPCAclass<-c()

for (i in 1:ncol(test)) {
distancesR<-abs(PCtest[i,1]-M8.trainPC1barRs)/M8.trainPC1sdRs

distancesNR<-abs(PCtest[i,1]-M8.trainPC1barNRs)/M8.trainPC1sdNRs

distanceR<-c(distanceR,distancesR)
distanceNR<-c(distanceNR,distancesNR)

probRs<-exp(-distancesR/2)/(exp(-distancesR/2)+exp(-
distancesNR/2))

probNRs<-exp(-distancesNR/2)/(exp(-distancesR/2)+exp(-
distancesNR/2))

probR<-c(probR,probRs)
probNR<-c(probNR,probNRs)
}

cutoff=0.43
clust<-ifelse(as.vector(probR)>cutoff, R,NR)

```

[0738]

[0739]

상기에서,

[0740]

- testset은 100개 PS에 대해 표준화된 마이크로어레이 데이터를 함유하는 100개 행을 지니는 매트릭스이다

[0741]

- M8.train. 파라미터는 하기를 함유하는 분류 목록의 객체이다:

[0742]

1. 100개 PS의 특성 목록

[0743]

2. 트레인 세트에서 각각의 PS에 대한 100개 평균 값의 벡터

[0744]

3. 트레인 세트에서 각각의 PS에 대한 100개 sd 값의 벡터

[0745]

4. 트레인 매트릭스의 svd 분해의 U 매트릭스를 함유하는 100개 행 및 56개 열의 매트릭스

[0746]

5. 트레인에서 반응자 그룹의 PC1 평균 값

[0747]

6. 트레인에서 반응자 그룹의 PC1 sd 값

[0748]

7. 트레인에서 비-반응자 그룹의 PC1 평균 값

[0749]

8. 트레인에서 비-반응자 그룹의 PC1 sd 값

[0750]

표 4. 100개 PS 분류자 피처에 대한 평균, 표준 편차(Sd) 및 PC₁ 계수

	평균	Sd	PC1
213793_s_at	6.638	1.437	0.0827
223593_at	4.245	1.721	0.0698
225996_at	5.369	2.116	0.0625
204556_s_at	3.515	1.49	0.0594
223575_at	5.664	1.785	0.0556
205097_at	7.907	1.526	0.0553
231229_at	6.464	1.711	0.0504
1562051_at	3.576	1.847	0.0503
244393_x_at	4.702	1.444	0.0494
200615_s_at	6.286	1.232	0.0407
228316_at	5.362	1.369	0.0402
201474_s_at	4.506	1.331	0.0376
222962_s_at	5.177	1.139	0.0372
236328_at	7.034	1.936	0.0339
232481_s_at	3.731	2.053	0.0328
228400_at	3.458	1.437	0.0279
211149_at	4.061	2.272	0.0266
228492_at	4.538	2.983	0.0254
237515_at	5.513	1.86	0.0245

[0751]

	평균	Sd	PC1
226084_at	9.153	1.388	0.0234
205499_at	4.675	1.719	0.0002
234907_x_at	3.95	1.465	-0.0051
1553132_a_at	4.068	1.29	-0.0504
239012_at	6.533	1.694	-0.0656
238587_at	6.039	1.292	-0.0717
219551_at	4.637	1.569	-0.0789
AFFX-HUMISGF3A/M97935_MB_at	7.445	1.504	-0.0819
1562031_at	6.386	1.521	-0.0871
238524_at	4.961	1.623	-0.0883
217436_x_at	8.377	1.127	-0.0891
1552612_at	7.216	1.841	-0.0929
244061_at	6.081	1.918	-0.0935
209774_x_at	6.653	1.952	-0.0953
221081_s_at	6.805	2.062	-0.0956
206082_at	6.505	2.038	-0.0988
209770_at	10.821	1.153	-0.1002
232375_at	8.732	1.379	-0.1007
211911_x_at	10.865	1.461	-0.1042
1552613_s_at	7.491	1.275	-0.1043
221875_x_at	10.907	1.258	-0.1044
214470_at	6.927	1.801	-0.1049
232311_at	7.001	1.484	-0.105
208729_x_at	10.389	1.419	-0.106
207536_s_at	4.073	1.75	-0.1061
204806_x_at	10.065	1.283	-0.1062
1554240_a_at	4.02	1.761	-0.1068
207795_s_at	3.698	1.803	-0.1073
202659_at	6.944	1.284	-0.1077
210606_x_at	3.915	1.892	-0.1083
235276_at	7.632	1.905	-0.1084
208885_at	10.544	1.865	-0.1084
202643_s_at	5.855	1.381	-0.1087
204533_at	8.875	3.111	-0.1088
229152_at	6.925	3.232	-0.1092
1563473_at	7.07	2.31	-0.1112
204529_s_at	7.139	2.08	-0.1115
235175_at	8.682	2.268	-0.1118
204897_at	9.206	1.692	-0.1123
204070_at	8.233	2.205	-0.1125
210439_at	4.539	1.825	-0.1131
1555759_a_at	4.213	1.638	-0.1133
204224_s_at	9.809	1.798	-0.1137
202644_s_at	8.64	1.472	-0.114

[0752]

	평균	Sd	PC1
231577_s_at	8.659	1.996	-0.114
210982_s_at	11.946	1.662	-0.1145
1555852_at	6.989	1.89	-0.1149
209813_x_at	4.135	1.808	-0.1152
205685_at	6.927	1.728	-0.1153
238581_at	4.289	1.801	-0.1158
229543_at	8.937	2.328	-0.1159
229390_at	9.644	2.315	-0.1159
208894_at	11.493	1.628	-0.1161
222838_at	7.302	2.672	-0.1164
228532_at	8.693	1.684	-0.1165
209606_at	5.957	2.038	-0.1168
217478_s_at	9.575	1.559	-0.1173
229391_s_at	9.135	2.228	-0.1175
211144_x_at	4.32	1.949	-0.1179
228362_s_at	8.288	2.398	-0.1179
212671_s_at	8.72	2.387	-0.1182
203915_at	9.242	3.331	-0.1191
229625_at	7.32	2.116	-0.1197
211902_x_at	7.387	1.956	-0.1197
209671_x_at	5.905	2.044	-0.1197
1552497_a_at	4.827	2.195	-0.1205
215806_x_at	4.544	1.973	-0.1215
216920_s_at	5.641	1.862	-0.1221
210972_x_at	7.322	2.354	-0.1224
205890_s_at	8.864	2.983	-0.1225
232234_at	6.877	2.249	-0.1228
207651_at	7.222	2.531	-0.1229
202531_at	7.451	1.809	-0.1234
206666_at	6.816	2.698	-0.1242
213193_x_at	6.825	2.768	-0.1257
204116_at	6.106	2.683	-0.126
213539_at	7.398	2.851	-0.1263
211339_s_at	5.602	2.061	-0.1266
210915_x_at	6.533	2.733	-0.1267
211796_s_at	6.946	2.921	-0.1271
205758_at	7.338	3.285	-0.1275

[0753]

[0754] 실시예 2

[0755] Q-RT-PCR 데이터를 이용한 흑색종 분류자

[0756] 마이크로어레이에 의한 유전자 발현 프로파일링에 이용된 RNA를 100개 PS(83개 유전자)로부터의 22개 유전자 및 표준화를 위한 5개 참조 유전자 (GUSB, PGK1, H3F3A, EIF4G2, HNRNPC)를 함유하는 커스텀 Taqman 로우 덴시티 어레이 (ABI, PN 4342259)에서 시험하였다 (표 3).

[0757] 상기 분석을 위해; 총 54개의 흑색종 샘플을 포함시켰다 (마이크로어레이 분석에 사용된 52개와 마이크로어레이 하이브리드화가 양호한 품질을 지니지 않았던 두 개의 추가의 샘플도 이용하였다).

[0758] 표 5. 흑색종 샘플에서 PCR 기반 분류자를 확립하는데 사용된 22개 유전자 플러스 참조 유전자에 대한 ABI Taqman 검정 번호들

PCR에 의해 측정된 100PS에서의 22개 유전자		
유전자 기호	유전자 명칭	Taqman 검정
CCL5	케모킨 (C-C 모티프) 리간드 5	Hs00174575_m1
JAK2	Janus 키나제 2 (단백질 티로신 키나제)	Hs01078136_m1
IRF1	인터페론 조절 인자 1	Hs00971960_m1
CXCL9	케모킨 (C-X-C 모티프) 리간드 9	Hs00171065_m1
IL2RG	인터류킨 2 수용체, 감마 (중중 복합 면역결핍증)	Hs00173950_m1
CXCL10	케모킨 (C-X-C 모티프) 리간드 10	Hs00171042_m1
SLC26A2	용질 담체 패밀리 26 (슬레이트 운반체), 구성원 2	Hs00164423_m1
CD86	CD86 분자	Hs01567025_m1
CD8A	CD8a 분자	Hs00233520_m1
UBD	유비퀴틴 D	Hs00197374_m1

[0759]

PCR에 의해 측정된 100PS에서의 22개 유전자		
유전자 기호	유전자 명칭	Taqman 검정
GZMK	그랜자임 K (그랜자임 3; 트립타제 II)	Hs00157878_m1
GPR171	G 단백질-커플링된 수용체 171	Hs00664328_s1
PSCDBP (synonym: CYTIP)	플렉스트린 상동성, Sec7 및 코일링된-코일 도메인, 결합 단백질	Hs00188734_m1
CXCL2	케모킨 (C-X-C 모티프) 리간드 2	Hs00236966_m1
ICOS	유도성 T-세포 공-자극인자	Hs99999163_m1
TRBC1	T 세포 수용체 베타 불변부 2	Hs00411919_m1
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	T 세포 수용체 알파 유전자좌	Hs00948942_m1
TARP;TRGC2	TCR 감마 교대 리딩 프레임 단백질; T 세포 수용체 감마 불변부 2	Hs00827007_m1
ITK	IL-2 유도성 T-세포 키나제	Hs00950634_m1
C4orf7	염색체 4 오픈 리딩 프레임 7	Hs00395131_m1
CD3D	CD3d 분자, 델타 (CD3-TCR 복합체)	Hs00174158_m1
HLA-DMA	주요 조직적합성	Hs00185435_m1

[0760]

PCR에 의해 측정된 100PS에서의 22개 유전자		
유전자 기호	유전자 명칭	Taqman 검정
	복합체, 클래스 II, DM 알파	
PGK1	살림 유전자	Hs99999906_m1
GUSB	살림 유전자	Hs99999908_m1
HNRNPC	살림 유전자	Hs01028910_g1
EIF4G2	살림 유전자	Hs01034743_g1
H3F3A	살림 유전자	Hs02598545_g1

[0761]

[0762]

500ng (OD₂₆₀ 측정)의 총 RNA로부터의 cDNA 합성을 1x 첫 번째 가닥 완충제, 0.5 mM의 각각의 dNTP, 10 mM의 디티오프라이트, 20 U의 rRNase 억제제 (Promega cat.N2511), 250ng의 랜덤 헥사머 및 200 U의 M-MLV 역전사효소 (Life Technologies cat. 28025-013)를 함유하는 20 μl의 혼합물에서 1시간 30분간 42°C에서 수행하였다. 200 ng의 총 RNA에 상응하는 cDNA를 TaqMan 완충제, 5mM MgCl₂, 0.4 mM dUTP, 0.625 U의 Ampli Taq Gold DNA 증합 효소, 0.05 U의 UNG를 포함시켜 200 μl의 총 부피로 혼합시키고 제조사의 추천에 따라 TaqMan 로우 덴시티 어레이에 로딩시켰다. Taqman 로우 덴시티 어레이를 어플라이드 바이오시스템 7900HT 상에서 진행시켰다. 증폭 프로파일은 50°C에서 2분의 1회 사이클, 94.5°C에서 10분의 1회 사이클 및 97°C에서 30초와 59.7°C에서 1분의 40회 사이클이었다. 미가공 데이터를 SDS 2.2 소프트웨어 (ABI)를 이용하여 분석하였다. Ct 값을 자동 기준선 및 0.15를 역치로서 이용하여 획득하였다.

[0763]

22개 유전자 Q-PCR 데이터를 이용한 SPCA-DA 분류의 리브 원 아웃 교차확인:

[0764]

분류 계획을 세우고 Q-PCR에 의해 측정된 22개 모든 유전자를 이용하여 리브-원-아웃에 의한 교차확인을 이용하여 시험하였다 (즉, 분류자 피쳐 재계산 없이).

[0765]

먼저, 각각의 트레이닝 세트 내에서 Z-점수 표준화를 수행하고 시험 샘플에 적용하였다. 다음으로, 관리된 주요 성분에 기반한 마이크로어레이 데이터에 적용된 동일한 분류 알고리즘 - 분별인자 분석(SCPA-DA)을 확립하고 그 루프에 남아 있는 각각의 샘플에 적용하였다 (Bair and Tibshirai, PLOS Biol 2004 and Tibshirani et al., PNAS 2002).

[0766]

마이크로어레이로부터 0.43 컷오프를 이용하여, 54개 샘플 중 33개를 GS+로서 분류하였고, 민감성은 85% (17/20)이고 특이성은 53%였다 (18/34). 마이크로어레이에서와 같이, AS15 아암은 보다 나은 성능을 지녔고, 민감성 92% 및 특이성 57%였다.

[0767]

PCR 데이터 상에서 계산된 0.47의 컷오프를 이용하여, 54개 샘플 중 31개를 GS+로서 분류하였고, 민감성은 85% (17/20)이고 특이성은 59%였다 (20/34).

[0768]

PCR 상에서 시험된 52개 샘플은 마이크로어레이 모델이었다. 본 발명자들은 100PS는 지니는 LOO SPCA-DA 마이크로어레이 (피쳐 선택됨) 및 22개 유전자를 지니는 LOO SPCA-DA PCR (피쳐 선택되지 않음) 상에서 상응하는 샘플의 분류를 비교하였는데, 상기 둘 모두의 가능성 컷오프는 0.43이었다. 리브 원 아웃 모델간 샘플 분류의 일치하는 두 분류 모두에서 동일한 표지를 지니는 52개 샘플 중 49개였다 (잘못 분류된 것은 경계에 있는 샘플이다).

[0769]

도 8/21은 22개 유전자를 이용한 LOO SPCA-DA PCR에 의해 획득된 분류자 지수를 나타낸다 (피쳐 선택되지 않음).

[0770]

트레이닝 세트로부터 유래된 파라미터를 이용한 새로운 샘플의 분류

[0771]

분류자에서 22개 유전자에 대한 Q-PCR 발현 수준에 기반하여 새로운 환자의 임상 결과를 예측하기 위해, 실시예 1의 마이크로어레이 기반 분류자에 대해 앞서 제시된 대로 관리된 주요 성분 (SPCA) - 분별인자 분석 (DA) 판단 규칙을 이용하였다 (adapted from Bair, 2004; Tibshirani, 2002).

[0772]

일단 환자 미가공 데이터를 참조 유전자를 이용하여 표준화하고 log 변환시키고 나서 (이것은 발현 매트릭스로 불릴 것이다), 이것을 판단 규칙 (분류자 또는 분류 계획)으로 처리하여 환자에 대한 임상 결과를 예측할 수 있다.

[0773]

- 발현 매트릭스는 트레이닝 세트로부터의 평균 및 표준 편차 (Sd)를 이용하여 z-점수화된다 (표 6)

[0774] - 분류를 위한 환자의 z-점수화된 표준화된 발현 프로파일 (분류자 피처)을 분류자 피처의 선형 결합을 이용하여 트레이닝 세트에 의해 정의된 첫 번째 주요 성분 (PC₁) 스페이스에 투입하였다 (선형 결합에서 각각의 22개 피처에 대한 계수는 트레이닝 세트의 특이값 분해에 의해 수득되었고 이들은 표 6에 제공된다).

[0775] 표 6. 22개 유전자 분류자 피처에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC1 계수

유전자	평균	Sd	PC1 계수
C4orf7	-1.397	1.244	-0.1834
CCL5	-0.545	0.691	-0.2441
JAK2	-1.105	0.354	-0.1636
IRF1	-0.430	0.500	-0.2345
CXCL9	-0.276	0.923	-0.2349
IL2RG	-0.657	0.721	-0.2444
CXCL10	-0.830	0.896	-0.2181
SLC26A2	-0.745	0.307	0.0660
CD86	-1.504	0.461	-0.2272
CD8A	-1.342	0.879	-0.1881
UBD	-0.570	0.945	-0.2385
GZMK	-1.470	0.734	-0.2414
GPR171	-1.683	0.698	-0.2180
PSCDBP	-1.335	0.647	-0.2212
CXCL2	-2.163	0.633	-0.1437
ICOS	-1.714	0.697	-0.2029
TRBC1	-2.714	1.313	-0.2026
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	-0.762	0.666	-0.2464
TARP;TRGC2	-2.405	0.877	-0.1904
ITK	-1.862	0.896	-0.2178
CD3D	-1.478	0.806	-0.2452
HLA-DMA	-0.380	0.470	-0.2284

[0776]

[0777] - 반응자 및 비-반응자 그룹의 평균에 대한 PC1에서의 시험 샘플의 표준화된 간격은 다음 방정식을 이용하여 수득된다:

[0778]
$$d_{ik} = \frac{|PC_{1j} - \text{평균}_{PC_{1k}}|}{sd_{PC_{1k}}}$$

[0779] j=시험 샘플

[0780] k= 반응자 (R) 또는 비-반응자 (NR)

[0781] 평균_PC_{1k} = 트레이닝 세트에서 R 또는 NR 그룹의 PC₁ 평균

[0782] sd_PC_{1k} = 트레이닝 세트에서 R 또는 NR 그룹의 PC₁ 표준 편차

[0783] 트레이닝 세트에서 각각의 그룹의 평균 및 sd는 다음과 같다 (세 개의 유효 숫자까지 반올림됨):

평균_PC _{1R}	-2.055
sd_PC _{1R}	2.920
mean_PC _{1NR}	1.210
sd_PC _{1NR}	3.951

[0784]

[0785] - 각각의 샘플에 대한 지수 (샘플이 반응자일 가능성)를 하기를 이용하여 수득하였다:

[0786]
$$P_R = \frac{e^{-\frac{d_{iR}}{2}}}{e^{-\frac{d_{iR}}{2}} + e^{-\frac{d_{iNR}}{2}}}$$

[0787]

[0787] - P_R이 0.47보다 큰 경우 샘플을 유전자 시그너처 포지티브 (반응자, R)로서 분류하였다.

[0788] 이러한 분류자를 트레이닝 세트에 적용시켜, 도 9/21을 생산하는데, 상기 도면에서 22개 유전자가 69% 일치에 대해 민감성 0.85 (17/20) 및 특이성 0.59 (20/34)로 트레인 세트를 분류할 수 있는 것으로 나타났다.

[0789] 결과 예측 코드

```

### Script for classification of test-samples fresh metatasic
melanoma TLDA2 22 genes

### based on Mage008TLDA.SPCA.DA.Mel4patent.R

### needs M8.train.parameters.22genes.TLDA2.RData (training set
parameters)

library(genefilter)

#### load testset to classify (log-scaled normalized PCR data)

load("testset.RData") ### ExpressionSet containing samples to
classify

### Load training set parameters #####

load("M8.train.parameters.22genes.TLDA2.RData")

PS<-M8.train.parameters[[1]]

M8.train.means<-M8.train.parameters[[2]]

M8.train.sd<-M8.train.parameters[[3]]

M8.train.U<-M8.train.parameters[[4]]

M8.trainPC1barRs<-M8.train.parameters[[5]]

M8.trainPC1sdRs<-M8.train.parameters[[6]]

M8.trainPC1barNRs<-M8.train.parameters[[7]]

M8.trainPC1sdNRs<-M8.train.parameters[[8]]

##### Use SPCA on test set -
#####
testset<-testset[PS,]

test<-(exprs(testset)-M8.train.means)/M8.train.sd

PCtest<-t(test) %*% M8.train.U

PC1test<-PCtest[,1]

distanceR<-c()
distanceNR<-c()
probR<-c()
probNR<-c()
SPCAclass<-c()

for (i in 1:ncol(test)) {
distancesR<-abs(PCtest[i,1]-M8.trainPC1barRs)/M8.trainPC1sdRs

distancesNR<-abs(PCtest[i,1]-M8.trainPC1barNRs)/M8.trainPC1sdNRs

distanceR<-c(distanceR,distancesR)
distanceNR<-c(distanceNR,distancesNR)

probRs<-exp(-distancesR/2)/(exp(-distancesR/2)+exp(-
distancesNR/2))

probNRs<-exp(-distancesNR/2)/(exp(-distancesR/2)+exp(-
distancesNR/2))

probR<-c(probR,probRs)
probNR<-c(probNR,probNRs)

}
cutoff=0.47
clust<-ifelse(as.vector(probR)>cutoff,R,NR)

#####

###(modify xx next line according to batch number)
write.table(cbind(pData(testset),probR),file="testset_batch_xx_TLD
A2_22genes_classification.txt",sep="\t")

```

[0792]

- [0793] 상기에서,
- [0794] - Testset.RData은 22개 유전자에 대한 표준화된 로그-스케일 PCR 데이터를 함유하는 22개 행을 지니는 매트릭스이다
- [0795] - M8.train.파라미터는 하기를 함유하는 분류 목록의 객체이다:
- [0796] 1. 22개 유전자 명칭의 특성 목록
- [0797] 2. 트레인 세트에서 각각의 유전자에 대한 22개 평균 값의 벡터
- [0798] 3. 트레인 세트에서 각각의 PS에 대한 22개 sd 값의 벡터
- [0799] 4. 트레인 매트릭스의 svd 분해의 U 매트릭스를 함유하는 22개 행 및 22개 열의 매트릭스
- [0800] 5. 트레인에서 반응자 그룹의 PC1 평균 값
- [0801] 6. 트레인에서 반응자 그룹의 PC1 sd 값
- [0802] 7. 트레인에서 비-반응자 그룹의 PC1 평균 값
- [0803] 8. 트레인에서 비-반응자 그룹의 PC1 sd 값
- [0804] **실시예 3**
- [0805] **PCR에 의해 평가된 23개 유전자의 서브세트를 이용한 NSCLC 샘플의 분류**
- [0806] **배경: NSCLC II상 임상 시험**
- [0807] 이것은 종양의 외과적 완전 절제술 후에 MAGE-A3 포지티브, IB기 및 II기 NSCLC 환자에서의 이중 맹검 플라시보 제어된 개념 증명 시험이다 (CPMS 249553/004). ASCI제 (항원-특이적 암 면역치료제)는 단백질-D 및 Hist-끄리 와 융합된 재조합 MAGE-A3 융합 단백질이다. 상기 단백질을 AS02B 면역학적 애주번트와 조합시킨다. AS02B는 QS21 및 MPL의 수중유 에멀전이다. QS21은 남미 나무 켈라자 사포나리아 몰리나 (*Quillaja Saponaria Molin a*)로부터의 정제된 천연 발생 사포닌 분자이고, MPL은 3 데-O-아세틸화된 모노포스포릴 지질 A - S. 미네소타 (*S. minnesota*) LPS로부터 유래된 지질 A의 탈독소화된 유도체이다. 이러한 이중 맹검 랜덤화된 플라시보 제어 된 시험은 재발까지의 시간을 평가하기 위해 설계되었다 (도 11/21).
- [0808] 도 10/21은 NSCLC II상 시험 설계를 도시한다. MAGE-A3-포지티브이고 완전히 절제된 IB기 또는 II기 NSCLC를 지니는 총 182명의 환자를 2년에 걸쳐 등재시키고 ASCI 표적화 MAGE-A3 또는 플라시보 (2:1 비)를 투여받도록 임의로 할당하였다. 27개월의 기간에 걸쳐 최대 13회 용량을 투여하였다. 절제한 날로부터 28개월의 정중 추적검사 기간 후에 주요 분석을 수행하였고 2006년 11월에 공개하였다.
- [0809] 이러한 시험은 상기 환자 집단에서 암 면역치료제에 대한 활성의 첫 번째 증거를 제공하였다. 주요 분석 시점에, 67명의 환자가 질환 재발을 나타내었다: recMAGE-A3 + AS02B ASCI 아암에서 41명 (33.6%) 및 플라시보 아 암에서 26명 (43.3%). Cox 회귀 분석을 이용하여 각각의 환자의 개별적인 시간-대-사건을 고려하면서, 질환이 없는 간격 (DFI)의 상대적인 개선을 계산하였다. 그 결과는, 28개월의 정중 추적검사 후에 플라시보에 비해 ASCI를 투여받은 그룹에서 암 재발 위험성에 있어서 27%의 상대적 감소를 나타내었다 (위험성 비 = 0.73; CI = 0.44 - 1.2; $p = 0.108$, 일측 로그랭크 시험) (도 11/21).
- [0810] 질환이 없는 생존 (DFS) 및 전반적인 생존 (OS)에 대한 위험성 비는 각각 0.73 (CI: 0.45 - 1.16) 및 0.66 (CI = 0.36 - 1.20)이었다.
- [0811] 이러한 결과는 최종 분석 시점에 추가로 확인되었다 (2007년 12월 - 44개월의 정중 추적검사): DFI에 대한 HR 0.75 (CI = 0.46 - 1.23), DFS에 대해 0.76 (CI = 0.48 - 1.21) 및 OS에 대해 0.81 (CI = 0.47 - 1.40).
- [0812] 도 11/21은 NSCLC 시험에 있어서 질환이 없는 간격에 대한 카플란-마이어 곡선을 나타낸다. 이러한 연구로부터의 샘플을 이용하여 이러한 환자 집단에서 ASCI-치료의 임상 반응을 예측하는 잠재적인 바이오마커로서 흑색종 시그너처의 이용을 결정하였다.
- [0813] **PCR 데이터로 NSCLC 샘플의 분류:**
- [0814] 100PS로부터 23개 유전자의 서브세트 (표-1)를 이용하여 MAGE-A3 NSCLC 임상 시험으로부터의 샘플로 L00 분류자를 확립하였다 (MAGE004; 글락소스미스클라인).

[0815] 표 7. NSCLC 샘플에서 PCR 기반 분류자를 확립하기 위해 사용된 23개 유전자에 대한 ABI Taqman 검정 번호들 (실시예 2에서의 흑색종 분류자와 동일한 참조 유전자)

PCR에 의해 측정된 100PS에서의 23개 유전자		
유전자 기호	유전자 명칭	Taqman 검정
CCL5	케모킨 (C-C 모티프) 리간드 5	Hs00174575_m1
JAK2	Janus 키나제 2 (단백질 티로신 키나제)	Hs01078136_m1
IRF1	인터페론 조절 인자 1	Hs00971960_m1
CXCL9	케모킨 (C-X-C 모티프) 리간드 9	Hs00171065_m1
IL2RG	인터류킨 2 수용체, 감마 (중증) 복합 면역결핍증)	Hs00173950_m1
CXCL10	케모킨 (C-X-C 모티프) 리간드 10	Hs00171042_m1
SLC26A2	용질 담체 패밀리 26 (설페이트 운반체), 구성원 2	Hs00164423_m1
CD86	CD86 분자	Hs01567025_m1
CD8A	CD8a 분자	Hs00233520_m1
UBD	유비퀴틴 D	Hs00197374_m1
GZMK	그랜자임 K (그랜자임 3: 트립타제 II)	Hs00157878_m1
GPR171	G 단백질-커플링된 수용체 171	Hs00664328_s1
PSCDBP	플렉스트린 상동성, Sec7 및 코일링된 코일 도메인, 결합 단백질	Hs00188734_m1
CXCL2	케모킨 (C-X-C 모티프) 리간드 2	Hs00236966_m1
ICOS	유도성 T-세포 공-자극인자	Hs99999163_m1

[0816]

PCR에 의해 측정된 100PS에서의 23개 유전자		
유전자 기호	유전자 명칭	Taqman 검정
TRBC1	T 세포 수용체 베타 불변부 2	Hs00411919_m1
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	T 세포 수용체 알파 유전자좌	Hs00948942_m1
TARP;TRGC2	TCR 감마 교대 리딩 프레임 단백질, T 세포 수용체 감마 불변부 2	Hs00827007_m1
ITK	IL2- 유도성 T-세포 키나제	Hs00950634_m1
C4orf7	염색체 4 오픈 리딩 프레임 7	Hs00395131_m1
CD3D	CD3d 분자, 델타 (CD3-TCR 복합체)	Hs00174158_m1
HLA-DMA	주요 조직적합성 복합체, 클래스 II, DM 알파	Hs00185435_m1
SLAMF7	SLAM 패밀리 구성원 7	Hs00900280_m1

[0817]

[0818]

[0819]

방법

129개 중앙 건본 (백신화 전)을 MAGE-A3 NSCLC 임상 시험 (MAGE004; 글락소스미스클라인)으로부터 이용하였다. 이들은 RNAlater, RNA 안정화 용액에 보존된 것 동결된 샘플이었다. 총 RNA를 트리퓨어 방법 (Roche Cat. No. 1 667 165)을 이용하여 정제하였다. 제공된 프로토콜에 따른 후, DNase 처리와 함께 RNeasy 미니 키트-클린-업 프로토콜을 사용하였다 (Qiagen Cat. No. 74106). RNA의 정량은 260 nm에서의 광학 밀도를 이용하여 초기에 완료되었다.

[0820]

500ng의 총 RNA로부터의 cDNA 합성을 1x 첫 번째 가닥 완충제, 0.5 mM의 각각의 dNTP, 10 mM의 디티오테이틀, 20 U의 rRNase 억제제 (Promega cat.N2511), 250ng의 랜덤 헥사머 및 200 U의 M-MLV 역전사효소 (Life Technologies cat. 28025-013)를 함유하는 20 μ l의 혼합물에서 1시간 30분간 42°C에서 수행하였다.

200 ng의 총 RNA에 상응하는 cDNA를 TaqMan 완충제, 5mM MgCl₂, 0.4 mM dUTP, 0.625 U의 Ampli Taq Gold DNA 중합효소, 0.05 U의 UNG를 포함시켜 200 μl의 총 부피로 혼합시키고 제조사의 추천에 따라 TaqMan 로우 텐시티 어레이에 로딩시켰다.

[0821] Taqman 로우 텐시티 어레이를 어플라이드 바이오시스템 7900HT 상에서 진행시켰다. 증폭 프로파일은 50°C에서 2분의 1회 사이클, 94.5°C에서 10분의 1회 사이클 및 97°C에서 30초와 59.7°C에서 1분의 40회 사이클이었다. 미가공 데이터를 SDS 2.2 소프트웨어 (ABI)를 이용하여 분석하였다. Ct 값을 자동 기준선 및 0.15를 역치로서 이용하여 수득하였다.

[0822] **23개 유전자 Q-PCR 데이터를 이용한 SPCA-Cox 분류의 리브 원 아웃 교차확인:**

[0823] 이러한 임상 시험은 플라시보 및 치료된 아암을 포함하였고, 공변량으로서 치료, 유전자 프로파일, 단계, 외과술 및 조직학적 유형 외에 치료와 유전자 프로파일간 상호작용을 갖는 (주요 성분으로서 요약됨) Cox 비례적 위험성 모델에 기반한 위험 점수를 추정하기 위해 질환이 없는 간격 (DFI)을 이용한 분류자를 개발하였다.

[0824] 각각의 유전자에 대한 Ct 값을 5개 참조 유전자의 기하 평균으로 표준화하고 log 변환시켰다. 후속하여, 유전자를 각각의 트레이닝 세트에서 Z-점수로 표준화하였고 이러한 파라미터를 시험 세트에 적용시켰다.

[0825] z-점수 표준화 후에, 트레이닝 세트에서 특이값 분해 (SVD)를 수행하여 첫 번째 주요 성분 (PC1)을 수득하였다. 이러한 첫 번째 성분을 치료와 상호작용을 갖는 Cox 회귀에 이용하여 트레이닝 세트에서 공변량 계수를 추정하였다; Cox 회귀를 조직학, 단계 및 외과술 효과의 유형에 대해 조정하였다. 이러한 회귀로부터의 계수를 이용하여 트레이닝 세트 및 시험 샘플 (남아 있는 샘플)에서 위험 점수를 계산하였다. 트레이닝 세트의 정중 위험 점수를 컷오프 값으로서 이용하여 환자 유전자 시그너처 (GS)+ 또는 유전자 시그너처 (GS)-를 불러왔다. 상기 방법을 Cox-SPCA라고 하며 도 12/21에 예시되어 있다.

[0826] 도 13/21 및 14/21은 정중값이 컷오프인 LOOCV 분류에 기반한 유전자 프로필에 의한 생존 곡선 및 플라시보와 백신 아암간에 위험 점수의 분포를 각각 도시한다. 위험 점수 분포는 다음과 같다:

HR에 대한 GS의 영향		
	HR 치료	CI
GS+	0.466	[0.187;1.162]
GS-	1.216	[0.555;2.67]

[0827] **Cox-SPCA 알고리즘을 이용한 새로운 샘플의 분류**

[0829] 분류자에서 23개 유전자에 대한 Q-PCR 발현 수준에 기반하여 새로운 환자의 임상 결과를 예측하기 위하여, 관리된 주요 성분 (SPCA) - Cox 판단 규칙을 이용하였다:

[0830] 일단 환자 미가공 데이터를 참조 유전자를 이용하여 표준화하고 log 변환시키고 나서, 이것을 판단 규칙 (분류자 또는 분류 계획)으로 처리하여 환자에 대한 임상 결과를 예측할 수 있다.

[0831] - 발현 매트릭스는 트레이닝 세트의 파라미터를 이용하여 z-점수화된다 (표 8)

[0832] **표 8. 23개 유전자 분류자 피처에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC1 계수**

유전자	평균	sd	PC1 계수
C4orf7	-2.35768	1.455544	-0.12114
CCL5	-0.9599	0.350039	-0.23097
JAK2	-1.36811	0.260374	-0.19931
IRF1	-0.52347	0.276644	-0.2256
CXCL9	-0.87804	0.563437	-0.21386
IL2RG	-0.83528	0.358042	-0.24997
CXCL10	-1.36857	0.615177	-0.17136
SLC26A2	-1.44043	0.255169	-0.05637
CD86	-1.7699	0.499237	-0.13267
CD8A	-1.33733	0.375334	-0.25173
UBD	-0.71367	0.546652	-0.21295
GZMK	-1.77411	0.529496	-0.24628
GPR171	-1.81327	0.32409	-0.19376

[0833]

유전자	평균	sd	PC1 계수
PSCDBP	-1.17746	0.387117	-0.24162
CXCL2	-1.16947	0.696255	-0.09696
ICOS	-2.15436	0.403522	-0.23497
TRBC1	-2.62512	1.013281	-0.12679
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	-1.19671	0.3944	-0.25817
TARP;TRGC2	-2.22752	0.481252	-0.19299
ITK	-1.85777	0.394118	-0.26077
CD3D	-1.64584	0.397626	-0.25514
HLA-DMA	-0.81144	0.380465	-0.22948
SLAMF7	-1.33744	0.464338	-0.21762

[0834]

[0835]

- 분류를 위한 환자의 z-점수화된 표준화된 발현 프로필 (분류자 피처)를 분류자 피처의 선형 결합을 이용하여 트레이닝 세트에 의해 정의된 첫 번째 주요 성분 (PC₁) 스페이스에 투입하였다 (선형 결합에서 각각의 23개 피처에 대한 계수는 트레이닝 세트의 특이값 분해에 의해 수득되었고 이들은 표 8에 제공된다).

[0836]

- 새로운 샘플에 대한 위험 점수를 하기 방정식을 이용하여 계산하였다:

[0837]

$$\log \frac{h(t)}{h_0(t)} = \hat{\beta}_{\text{치료}} (t) + \hat{\beta}_{\text{PC1 상호작용}} (t) \text{PC1}_k$$

[0838]

상기에서, B_{치료} = -0.232051457

[0839]

및 B_{PC1상호작용} = 0.176736586을 트레이닝 세트로부터 수득하였다.

[0840]

새로운 샘플의 위험 점수를 트레이닝 세트의 정중 위험 점수=-0.315324195와 비교하였고, 위험 점수가 상기 값보다 낮은 경우 샘플을 GS+ (반응자, 비-재발, 1)로서 분류하였다.

[0841]

도 15/21 및 16/21은 분류자에서 23개 유전자에 대한 Q-PCR 발현 수준에 기반한 임상 결과를 도시한다. HR에 대한 GS의 영향은 다음과 같았다:

HR에 대한 GS의 영향		
	HR 치료	CI
GS+	0.426	[0.167;1.090]
GS-	1.248	[0.572;2.720]

[0842]

[0843] 결과 예측 코드

```
### Script for classification of test-samples fresh resected
NSCLC TLDAmmerge 23 genes

### based on
Mage004.SPCA.Cox.classifier.construction.TLDAmmerge.23genes.DFI.Sq
uamous.R

### needs M4.train.parameters.23genes.TLDAmmerge.RData (training
set parameters)

library(genefilter)

#### load testset to classify (log-scaled normalized PCR data)

load("testset.RData") ### ExpressionSet containing samples to
classify

### Load training set parameters #####

load("M4.train.parameters.23genes.TLDAmmerge.RData")

PS<-M4.train.parameters[[1]]

M4.train.means<-M4.train.parameters[[2]]

M4.train.sd<-M4.train.parameters[[3]]

M4.train.U<-M4.train.parameters[[4]]

M4.train.Btreatment<-M4.train.parameters[[5]]

M4.train.Binteraction<-M4.train.parameters[[6]]

M4.train.medianHR<-M4.train.parameters[[7]]
```

[0844]

```
##### Use SPCA on test set -
#####
testset<-testset[PS,]

test<-(exprs(testset)-M4.train.means)/M4.train.sd

PCtest<-t(test) %*% M4.train.U

PC1test<-PCtest[,1]

HR=M4.train.Btreatment+PC1test*M4.train.Binteraction
classification=ifelse(HR<M4.train.medianHR,1,0)

#####

###(modify xx next line according to batch number)
write.table(cbind(pData(testset),probR),file="testset_batch_xx_M
4_TLDAmmerge_23genes_classification.txt",sep="\t")
```

[0845]

[0846]

상기에서,

[0847]

- Testset.RData는 23개 유전자에 대한 표준화된 log-스케일 PCR 데이터를 함유하는 23개 행을 지니는 매트릭스 이다

[0848]

- M4.train.파라미터는 하기를 함유하는 분류 목록의 객체이다:

[0849]

1. 23개 유전자 명칭의 특성 목록

[0850]

2. 트레이 세트에서 각각의 유전자에 대한 23개 평균 값의 벡터

[0851]

3. 트레이 세트에서 각각의 유전자에 대한 23개 sd 값의 벡터

[0852]

4. 트레이 매트릭스의 svd 분해의 U 매트릭스를 함유하는 23개 행 및 23개 열의 매트릭스

[0853]

5. 위험 점수 계산에서 B_{치료}

[0854]

6. 위험 점수 계산에서 B_{PC1상호작용}

[0855] 7. 트레인에서 정중 위험 점수

[0856] 실시예 4

[0857] PCR에 의해 평가된 22개 유전자의 서브셋으로 NSCLC 샘플의 분류:

[0858] MAGE-A3 NSCLC 임상 시험으로부터의 샘플로 L00 분류자를 확립하기 위해 100PS로부터의 22개 유전자의 서브셋 (표-1)을 이용하였다 (MAGE004; 글락소스미스클라인)

[0859] 표 9. NSCLC 샘플에서 PCR 기반 분류자를 확립하기 위해 이용된 22개 유전자에 대한 ABI Taqman 검정 번호들 (실시예 2에서의 흑색종 분류자와 동일한 참조 유전자)

PCR에 의해 측정된 100PS에서의 22개 유전자		
유전자 기호	유전자 명칭	Taqman 검정
CCL5	케모킨 (C-C 모티프) 리간드 5	Hs00174575_m1
JAK2	Janus 키나제 2 (단백질 티로신 키나제)	Hs01078136_m1
IRF1	인터페론 조절 인자 1	Hs00971960_m1
CXCL9	케모킨 (C-X-C 모티프) 리간드 9	Hs00171065_m1
IL2RG	인터류킨 2 수용체, 감마 (중증 복합 면역결핍증)	Hs00173950_m1
CXCL10	케모킨 (C-X-C 모티프) 리간드 10	Hs00171042_m1
SLC26A2	용질 담체 패밀리 26 (슬레이트 운반체). 구성원 2	Hs00164423_m1
CD86	CD86 분자	Hs01567025_m1
CD8A	CD8a 분자	Hs00233520_m1
UBD	유비퀴틴 D	Hs00197374_m1
GZMK	그랜자임 K (그랜자임 3; 트립타제 II)	Hs00157878_m1
GPR171	G 단백질-커플링된 수용체 171	Hs00664328_s1
PSCDBP (CYTIP)	플렉스트린 상호성, Sec7 및 코일링된 코일 도메인, 결합 단백질	Hs00188734_m1
CXCL2	케모킨 (C-X-C 모티프) 리간드 2	Hs00236966_m1
ICOS	유도성 T-세포 공-자극인자	Hs99999163_m1
TRBC1	T 세포 수용체 베타 불변부 2	Hs00411919_m1
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	T 세포 수용체 알파 유전자좌	Hs00948942_m1
TARP;TRGC2	TCR 감마 교대 리딩 프레임 단백질; T 세포 수용체 감마 불변부 2	Hs00827007_m1
ITK	IL2-유도성 T-세포 키나제	Hs00950634_m1

[0860]

PCR에 의해 측정된 100PS에서의 22개 유전자		
유전자 기호	유전자 명칭	Taqman 검정
C4orf7	염색체 4 오픈 리딩 프레임 7	Hs00395131_m1
CD3D	CD3d 분자, 말타 (CD3-TCR 복합체)	Hs00174158_m1
HLA-DMA	주요 조직적합성 복합체, 클래스 II DM 알파	Hs00185435_m1

[0861]

[0862] 방법

[0863] 137개 종양 견본 (백신화 전)을 MAGE-A3 NSCLC 임상 시험 (MAGE004; 글락소스미스클라인)으로부터 이용하였다. 이들은 RNAlater, RNA 안정화 용액에 보존된 것 동결된 샘플이었다.

[0864] 총 RNA를 트리퓨어 방법 (Roche Cat. No. 1 667 165)을 이용하여 정제하였다. 제공된 프로토콜에 따른 후, DNase 처리와 함께 RNeasy 미니 키트-클린-업 프로토콜을 사용하였다 (Qiagen Cat. No. 74106). RNA의 정량은 260 nm에서의 광학 밀도를 이용하여 초기에 완료되었다.

[0865] 500ng의 총 RNA로부터의 cDNA 합성을 1x 첫 번째 가닥 완충제, 0.5 mM의 각각의 dNTP, 10 mM의 디티오테이틀, 20 U의 rRNase 억제제 (Promega cat.N2511), 250ng의 랜덤 헥사머 및 200 U의 M-MLV 역전사효소 (Life Technologies cat. 28025-013)를 함유하는 20 µl의 혼합물에서 1시간 30분간 42°C에서 수행하였다. 200 ng의 총 RNA에 상응하는 cDNA를 TaqMan 완충제, 5mM MgCl2, 0.4 mM dUTP, 0.625 U의 Ampli Taq Gold DNA 중합효소, 0.05 U의 UNG를 포함시켜 200 µl의 총 부피로 혼합시키고 제조사의 추천에 따라 TaqMan 로우 텐시티 어레이에 로딩시켰다.

[0866] Taqman 로우 텐시티 어레이를 어플라이드 바이오시스템 7900HT 상에서 진행시켰다. 증폭 프로파일은 50°C에서 2

분의 1회 사이클, 94.5℃에서 10분의 1회 사이클 및 97℃에서 30초와 59.7℃에서 1분의 40회 사이클이었다. 미가공 데이터를 SDS 2.2 소프트웨어 (ABI)를 이용하여 분석하였다. Ct 값을 자동 기준선 및 0.15를 역치로서 이용하여 수득하였다.

[0867] **22개 유전자 Q-PCR 데이터를 이용한 SPCA-Cox 분류의 리브 윈 아웃 교차확인:**

[0868] 이러한 임상 시험은 플라시보 및 치료된 아암을 포함하였고, 공변량으로서 치료, 유전자 프로파일, 단계, 외과술 및 조직학적 유형 외에 치료와 유전자 프로파일간 상호작용을 갖는 (주요 성분 1로서 요약됨) Cox 비례적 위험성 모델에 기반한 위험 점수를 추정하기 위해 질환이 없는 간격 (DFI)을 이용한 분류자를 개발하였다.

[0869] 각각의 유전자에 대한 Ct 값을 5개 참조 유전자의 기하 평균으로 표준화하고 log 변환시켰다. 후속하여, 유전자를 각각의 트레이닝 세트에서 Z-점수로 표준화하였고 이러한 파라미터를 시험 세트에 적용시켰다.

[0870] z-점수 표준화 후에, 트레이닝 세트에서 특이값 분해 (SVD)를 수행하여 첫 번째 주요 성분 (PC1)을 수득하였다. 이러한 첫 번째 성분을 치료와 상호작용을 갖는 Cox 회귀에 이용하여 트레이닝 세트에서 공변량 계수를 추정하였다; Cox 회귀를 조직학, 단계 및 외과술 효과의 유형에 대해 조정하였다. 이러한 회귀로부터의 계수를 이용하여 트레이닝 세트 및 시험 샘플 (남아 있는 샘플)에서 위험 점수를 계산하였다. 트레이닝 세트의 정중 위험 점수를 컷오프 값으로서 이용하여 환자 GS+ 또는 GS-를 불러왔다. 상기 방법을 추가의 문서에서 Cox-SPCA라고 한다. 상기 방법이 도 12/21에 예시되어 있다.

[0871] 도 17/21 및 18/21은 정중값이 컷오프인 LOOCV 분류에 기반한 유전자 프로필에 의한 생존 곡선 및 플라시보와 백신 아암간에 위험 점수의 분포를 각각 도시한다.

[0872] 위험 점수 분포

HR에 대한 GS의 영향		
	HR 치료	CI
GS+	0.460	[0.193;1.097]
GS-	1.197	[0.564;2.541]

[0873]

[0874] **Cox-SPCA 알고리즘을 이용한 새로운 샘플의 분류**

[0875] 분류자에서 22개 유전자에 대한 Q-PCR 발현 수준에 기반하여 새로운 환자의 임상 결과를 예측하기 위하여, 관리된 주요 성분 (SPCA) - Cox 판단 규칙을 이용하였다:

[0876] 일단 환자 미가공 데이터를 참조 유전자를 이용하여 표준화하고 log 변환시키고 나서, 이것을 판단 규칙 (분류자 또는 분류 계획)으로 처리하여 환자에 대한 임상 결과를 예측할 수 있다.

[0877] - 발현 매트릭스는 트레이닝 세트의 파라미터를 이용하여 z-점수화된다 (표 10)

[0878] 표 10. 22개 유전자 분류자 피처에 대한 평균, 표준 편차 (Sd) 및 PC1 계수

유전자	평균	Sd	PC1 계수
C4orf7	-2.37682	1.432191	-0.12613
CCL5	-0.97196	0.363545	-0.23868
JAK2	-1.38351	0.272662	-0.20067
IRF1	-0.5328	0.284196	-0.23035
CXCL9	-0.88518	0.561561	-0.21758
IL2RG	-0.84755	0.369696	-0.25893
CXCL10	-1.38526	0.608373	-0.17545
SLC26A2	-1.45138	0.259368	-0.06122
CD86	-1.78136	0.493304	-0.1445
CD8A	-1.35019	0.38214	-0.26018
UBD	-0.72426	0.545598	-0.21573
GZMK	-1.7857	0.526042	-0.25378
GPR171	-1.81382	0.353983	-0.1875
PSCDBP	-1.19407	0.398912	-0.24969
CXCL2	-1.17377	0.679063	-0.10145
ICOS	-2.16745	0.40877	-0.24479
TRBC1	-2.63145	0.999466	-0.12889
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	-1.20289	0.392963	-0.26276
TARP;TRGC2	-2.27109	0.528402	-0.19113
ITK	-1.87391	0.405727	-0.26852
CD3D	-1.66653	0.409356	-0.26013
HLA-DMA	-0.81888	0.400541	-0.23598

[0879]

[0880] - 분류를 위한 환자의 z-점수화된 표준화된 발현 프로파일 (분류자 피처)를 분류자 피처의 선형 결합을 이용하여 트레이닝 세트에 의해 정의된 첫 번째 주요 성분 (PC₁) 스페이스에 투입하였다 (선형 결합에서 각각의 22개 피처에 대한 계수는 트레이닝 세트의 특이값 분해에 의해 수득되었고 이들은 표 10에 제공된다).

[0881]

- 새로운 샘플에 대한 위험 점수를 하기 방정식을 이용하여 계산하였다:

$$\log \frac{h_i(t)}{h_0(t)} = \hat{\beta}_{\text{치료}} (1) + \hat{\beta}_{\text{PC1상호작용}} (1) \text{PC1}_{ik}$$

[0882]

[0883] 상기에서, B_{치료} = -0.193146993 및 B_{PC1상호작용} = 0.163704817을 트레이닝 세트로부터 수득하였다.

[0884]

새로운 샘플의 위험 점수를 트레이닝 세트의 정중 위험 점수=-0.25737421과 비교하였고, 위험 점수가 상기 값보다 낮은 경우 샘플을 GS+ (반응자, 비-재발, 1)로서 분류하였다.

[0885]

도 19/21 및 20/21은 분류자에서 22개 유전자에 대한 Q-PCR 발현 수준에 기반한 임상 결과를 도시한다.

HR에 대한 GS의 영향		
	HR 치료	CI
GS+	0.474	[0.1990;1.130]
GS-	1.143	[0.542;2.438]

[0886]

[0887] **결과 예측 코드**

```
### Script for classification of test-samples fresh resected
NSCLC TLDAmmerge 22 genes

### based on Mage004.SPICA.Cox.classifier.construction.
DFI.Squamous.R

### needs M4.train.parameters.22genes.TLDA2.RData (training set
parameters)

library(genefilter)

#### load testset to classify (log-scaled normalized PCR data)
```

[0888]

```

load("testset.RData") ### ExpressionSet containing samples to
classify

### Load training set parameters #####
load("M4.train.parameters.22genes.TLDA2.RData")

PS<-M4.train.parameters[[1]]

M4.train.means<-M4.train.parameters[[2]]

M4.train.sd<-M4.train.parameters[[3]]

M4.train.U<-M4.train.parameters[[4]]

M4.train.Btreatment<-M4.train.parameters[[5]]

M4.train.Binteraction<-M4.train.parameters[[6]]

M4.train.medianHR<-M4.train.parameters[[7]]

##### Use SPCA on test set -
#####
testset<-testset[PS,]

test<-(exprs(testset)-M4.train.means)/M4.train.sd

PCtest<-t(test) %*% M4.train.U

PC1test<-PCtest[,1]

HR=M4.train.Btreatment+PC1test*M4.train.Binteraction
classification=ifelse(HR<M4.train.medianHR,1,0)

#####

###(modify xx next line according to batch number)
write.table(cbind(pData(testset),probR),file="testset_batch_xx_M
4_TLDA2_22genes_classification.txt",sep="\t")

```

[0889]

[0890]

상기에서,

[0891]

- Testset.RData는 22개 유전자에 대한 표준화된 log-스케일 PCR 데이터를 함유하는 22개 행을 지니는 매트릭스이다

[0892]

- M4.train.파라미터는 하기를 함유하는 분류 목록의 객체이다:

[0893]

1. 22개 유전자 명칭의 특성 목록

[0894]

2. 트레이닝 세트에서 각각의 유전자에 대한 22개 평균 값의 벡터

[0895]

3. 트레이닝 세트에서 각각의 유전자에 대한 22개 sd 값의 벡터

[0896]

4. 트레이닝 매트릭스의 svd 분해의 U 매트릭스를 함유하는 22개 행 및 22개 열의 매트릭스

[0897]

5. 위험 점수 계산에서 $B_{지표}$

[0898]

6. 위험 점수 계산에서 $B_{PC1상호작용}$

[0899]

7. 트레이닝에서 정중 위험 점수

[0900]

실시예 5

[0901]

흑색종 샘플에서 Q-PCR에 의해 측정된 개별적인 유전자의 분류 성능

[0902]

실시예 2로부터의 각각의 22개 유전자를, 첫 번째 주요 성분 대신 단일 유전자 발현 값을 이용하여 흑색종 샘플에서 다변량 분류에 적용된 알고리즘을 이용함에 의해 다변량 분류 성능에 대해 평가하였다. 발현 값을 참조 유전자를 이용하여 표준화시키고 z-점수를 실행한 후에, 각각의 개별적인 유전자에 대한 발현 수준을 이용하여 트레이닝 세트에서 모든 샘플을 이용하여 분류자를 확립하였다. 트레이닝 세트에서 각각의 유전자의 차별적인 발현에 대한 t-시험 p-값 및 반응자 대 비-반응자의 배수 변화를 계산하였다. 트레이닝 세트에 있는 각각의 샘플

플이 반응자일 가능성을 수득하고, 임상 표지와 일치율을 최대화시켜 각각의 유전자에 대해 가장 좋은 컷오프를 결정하였고, 결과는 하기 표에 제시된다:

표 11

유전자	일치(%)	t-시험 p-값	배수 변화
CCL5	72	0.003	3.7
JAK2	67	0.010	1.8
IRF1	72	0.004	2.5
CXCL9	76	0.010	4.6

유전자	일치(%)	t-시험 p-값	배수 변화
IL2RG	69	0.006	3.5
CXCL10	69	0.004	5.2
SLC26A2	63	0.030	0.7
CD86	67	0.049	1.8
CD8A	74	0.095	2.6
UBD	70	0.001	7.0
GZMK	67	0.023	2.9
GPR171	65	0.084	2.2
PSCDBP	65	0.005	3.1
CXCL2	83	0.003	3.3
ICOS	67	0.004	3.5
C4orf7	74	0.008	8.2
TRA@;TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	72	0.001	4.1
TARP;TRGC2	70	0.003	5.1
ITK	76	0.062	3.0
TRBC1	74	0.076	4.5
CD3D	69	0.011	3.7
HLA-DMA	70	0.012	2.1

개별적인 유전자에 대해 수득된 상기 결과는 실시예 2에서 모든 유전자를 이용한 다변량 분류에서 수득된 69%의 일치율에 필적한다.

실시예 6

NSCLC 샘플에서 Q-PCR에 의해 측정된 개별적인 유전자의 분류 성능

실시예 3으로부터의 각각의 23개 유전자를, 첫 번째 주요 성분 대신 단일 유전자 발현 값을 이용하여 NSCLC 샘플 (Cox-SPCA)에서 다변량 분류에 적용된 알고리즘을 이용함에 의해 분류 성능에 대해 평가하였다.

발현 값을 참조 유전자를 이용하여 표준화시키고 z-점수를 실행한 후에, 각각의 개별적인 유전자에 대한 발현 수준을 이용하여 실시예 3에 기재된 분류자를 확립하였다. 트레이닝 세트에서 각각의 샘플에 대한 위험 점수를 수득하였고, 상이한 컷오프에 기반하여 샘플을 GS+ 또는 GS-로 할당하였다. 각각의 GS+ 및 GS- 그룹에서 이러한 컷오프와 관련된 치료 HR을 계산함에 의해 각각의 컷오프의 성능을 평가하였다. 분류의 상호작용 계수를 최대화함에 의해, 즉 GS+ 및 GS-에서 치료 HR간에 차이를 최대화함에 의해, 유전자에 대해 가장 좋은 컷오프를 개별적으로 결정하였다. 하기 표는 최적화 공정을 이용하여 수득된 GS+ 및 GS-에서의 치료 HR 및 그러한 HR과 관련된 p-값을 나타낸다.

[0911] 표 12

유전자	GS+ HR	GS+ p-값	GS- HR	GS- p-값
C4orf7	0.182	0.03	1.133	0.71
CCL5	0.169	0.04	1.061	0.86
JAK2	0.427	0.091	0.992	0.98
IRF1	0.521	0.088	1.567	0.46
CXCL9	0.166	0.027	1.040	0.91
IL2RG	0.244	0.056	1.162	0.66
CXCL10	0.648	0.2	1.607	0.57
SLC26A2	0.680	0.25	1.910	0.35
CD86	0.479	0.13	1.159	0.7
CD8A	0.209	0.024	1.204	0.6
UBD	0.230	0.016	1.413	0.37
GZMK	0.086	0.0082	1.364	0.37
GPR171	0.402	0.045	1.715	0.23
PSCDBP	0.340	0.025	1.514	0.28
CXCL2	0.635	0.16	2.476	0.26
ICOS	0.585	0.13	2.122	0.2
TRBC1	0.387	0.12	1.101	0.78
TRA@:TRAJ17;TRDV2;TRAC;TRAV20	0.288	0.026	1.413	0.36
TARP;TRGC2	0.747	0.51	1.003	1
ITK	0.152	0.039	1.167	0.65
CD3D	0.217	0.033	1.202	0.59
HLA-DMA	0.394	0.17	1.094	0.79
SLAMF7	0.354	0.029	1.222	0.63

[0912]

실시예 7

[0913]

흑색종 샘플에서 마이크로어레이에 의해 측정된 개별적인 유전자의 분류 성능

[0914]

[0915] 실시예 1로부터의 각각의 100개 PS를, 첫 번째 주요 성분 대신 단일 유전자 발현 값을 이용하여 흑색종 샘플에서 다변량 분류에 적용된 알고리즘을 이용함에 의해 단변량 분류 성능에 대해 평가하였다.

[0916]

발현 값을 표준화시키고 (gcrma) z-점수를 실행한 후에, 각각의 개별적인 PS에 대한 발현 수준을 이용하여 트레이닝 세트의 모든 샘플을 이용한 분류자를 확립하였다. 트레이닝 세트에서 각각의 PS의 차별적인 발현에 대한 t-시험 p-값 및 반응자 대 비-반응자의 배수 변화를 계산하였다. 트레이닝 세트에 있는 각각의 샘플이 반응자일 가능성을 획득하고, 임상 표지와 일치율을 최대화시켜 각각의 유전자에 대해 가장 좋은 컷오프를 결정하였고, 결과는 하기 표에 제시된다:

[0917] 표 13

프로브 세트	일치(%)	p-값 t-시험	FC
225996_at	71	0.0002	0.2
205890_s_at	75	0.0002	7.4
223575_at	75	0.0002	0.3
232481_s_at	73	0.0011	0.3
213793_s_at	77	0.0004	0.4
217436_x_at	77	0.0004	2.1
228400_at	70	0.0025	0.4
204116_at	73	0.0005	5.4
232375_at	75	0.0005	2.4
244393_x_at	70	0.0007	0.4
215806_x_at	75	0.0004	3.6
221875_x_at	75	0.0005	2.2
1555852_at	79	0.0010	3.1
208729_x_at	75	0.0007	2.4
204806_x_at	75	0.0006	2.2
211144_x_at	75	0.0006	3.4
222838_at	73	0.0018	4.6
211911_x_at	79	0.0008	2.4
208894_at	71	0.0018	2.6
203915_at	71	0.0023	6.5
226084_at	79	0.0007	0.4
216920_s_at	75	0.0010	3.1
236328_at	75	0.0008	0.3
1562031_at	77	0.0012	2.5
212671_s_at	71	0.0018	3.9
204533_at	68	0.0018	6.0
207795_s_at	75	0.0009	3.0
217478_s_at	73	0.0020	2.4
209606_at	73	0.0014	3.3
201474_s_at	71	0.0037	0.5
211796_s_at	73	0.0019	5.3
204070_at	71	0.0017	3.6
204556_s_at	68	0.0031	0.4

[0918]

프로브 세트	일치(%)	p-값 t-시험	FC
1554240_a_at	75	0.0012	2.9
235276_at	71	0.0022	2.9
202659_at	73	0.0018	2.1
210982_s_at	71	0.0028	2.5
205758_at	70	0.0020	6.5
211149_at	66	0.0042	0.3
237515_at	68	0.0024	0.4
210972_x_at	68	0.0019	3.8
231229_at	71	0.0018	0.4
208885_at	68	0.0031	2.8
211339_s_at	71	0.0022	3.2
235175_at	73	0.0026	3.5
229391_s_at	73	0.0037	3.3
214470_at	64	0.0030	2.7
210915_x_at	73	0.0031	4.5
AFFX- HUMISGF3A/M97935_MB_at	71	0.0033	2.3
206082_at	75	0.0027	3.1
228362_s_at	73	0.0040	3.6
1562051_at	63	0.0076	0.4
205097_at	68	0.0028	0.4
229625_at	70	0.0032	3.2
228532_at	70	0.0044	2.4
222962_s_at	71	0.0036	0.5
209774_x_at	73	0.0032	2.9
238524_at	73	0.0030	2.4
202643_s_at	66	0.0034	2.1
232234_at	73	0.0030	3.4
204897_at	68	0.0044	2.4
232311_at	70	0.0037	2.2
229543_at	73	0.0051	3.3
202531_at	71	0.0031	2.7
210606_x_at	71	0.0028	2.8
207651_at	75	0.0036	3.9
209813_x_at	73	0.0028	2.7
228492_at	64	0.0059	0.2
219551_at	71	0.0031	2.4
1555759_a_at	75	0.0031	2.4
205499_at	66	0.0063	0.4
1552613_s_at	66	0.0048	1.9
228316_at	70	0.0041	0.5
210439_at	70	0.0042	2.6
234907_x_at	77	0.0029	2.2

[0919]

프로브 세트	일치(%)	p-값 t-시험	FC
211902_x_at	70	0.0035	2.9
205685_at	71	0.0049	2.5
213193_x_at	73	0.0044	4.3
1552612_at	70	0.0054	2.6
1552497_a_at	70	0.0034	3.3
223593_at	75	0.0068	0.4
200615_s_at	71	0.0041	0.5
206666_at	66	0.0050	4.1
204529_s_at	70	0.0037	3.1
1563473_at	66	0.0050	3.3
1553132_a_at	73	0.0033	2.0
229390_at	71	0.0064	3.2
213539_at	68	0.0058	4.3
244061_at	66	0.0043	2.8
209770_at	68	0.0047	1.8
238587_at	66	0.0088	1.9
207536_s_at	71	0.0037	2.6
221081_s_at	64	0.0070	2.8
209671_x_at	71	0.0041	3.0
239012_at	68	0.0069	2.3
229152_at	68	0.0052	5.3
202644_s_at	66	0.0065	2.1
238581_at	71	0.0048	2.6
231577_s_at	75	0.0065	2.7
204224_s_at	64	0.0091	2.4

[0920]

[0921]

개별적인 PS에 대해 취득된 상기 결과는 실시예 1에서 모든 유전자를 이용한 다변량 분류에서 취득된 68%의 일치에 필적한다.

[0922] 참조문헌

Dave SS, Wright G, Tan B et al. Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. *N.Engl.J.Med.* 2004;351:2159-2169

Hu Z, Fan C, Oh DS et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC.Genomics* 2006;7:96.

Weigelt B, Hu Z, He X et al. Molecular portraits and 70-gene prognosis signature are preserved throughout the metastatic process of breast cancer. *Cancer Res.* 2005;65:9155-9158.

[0923]

Golub T, Slonim D, Tamayo P et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999; 286: 531–536

Bair E, Tibshirani R. Semi-supervised methods to predict patient survival from gene expression data. *PLoS Biology* 2004;2(4):511-522.

Tibshirani R, Hastie T, Narasimhan B et al. Diagnosis of multiple cancer types by shrunken centroids of gene expression. *PNAS* 2002; 99(10): 6567–6572

Harlin H, Meng Y, Peterson AC et al. Chemokine expression in melanoma metastases associated with CD8+ T-cell recruitment. *Cancer Res.* 2009;69(7):3077-85. Epub 2009 Mar 17

Wu H, Mao F, Olman V, Xu Y Hierarchical classification of functionally equivalent genes in prokaryotes. *Nucleic Acids Res.* 2007;35(7):2125-40. Epub 2007 Mar 11.

Van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, et al. (2002)

Van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, et al. (2002) Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*, **415**(6871), 530–556.

Ginzinger DG. Gene quantification using real-time quantitative PCR: an emerging technology hits the mainstream *Exp Hematol.* 2002 Jun;30(6):503-12. Review.

Balch CM. Cutaneous melanoma: prognosis and treatment results worldwide. *Semin Surg Oncol.* 1992 Nov-Dec;8(6):400-14.

Weynants P, Lethé B, Brasseur F, Marchand M, Boon T. Expression of mage genes by non-small-cell lung carcinomas. *Int J Cancer.* 1994 Mar 15;56(6):826-9.

Gaugler B, Van den Eynde B, van der Bruggen P, Romero P, Gaforio JJ, De Plaen E, Lethé B, Brasseur F, Boon T. Human gene MAGE-3 codes for an antigen recognized on a melanoma by autologous cytolytic T lymphocytes. *J Exp Med.* 1994 Mar 1;179(3):921-30.

Patard JJ, Brasseur F, Gil-Diez S, Radvanyi F, Marchand M, François P, Abi-Aad A, Van Cangh P, Abbou CC, Chopin D, et al. Expression of MAGE genes in transitional-

[0924]

cell carcinomas of the urinary bladder. *Int J Cancer*. 1995 Feb 20;64(1):60-4.

Moore A, McCarthy L, Mills KH. The adjuvant combination monophosphoryl lipid A and QS21 switches T cell responses induced with a soluble recombinant HIV protein from Th2 to Th1. *Vaccine*. 1999 Jun 4;17(20-21):2517-27.

Gérard CM, Baudson N, Kraemer K, Bruck C, Garçon N, Paterson Y, Pan ZK, Pardoll D. Therapeutic potential of protein and adjuvant vaccinations on tumour growth. *Vaccine*. 2001 Mar 21;19(17-19):2583-9.

Maniatis *et al.*, *Molecular Cloning - A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor, 1982-1989.

Krieg AM, Davis HL. Enhancing vaccines with immune stimulatory CpG DNA. *Curr Opin Mol Ther*. 2001 Feb;3(1):15-24. Review.

Ren J, Zheng L, Chen Q, Li H, Zhang L, Zhu H. Co-administration of a DNA vaccine encoding the prostate specific membrane antigen and CpG oligodeoxynucleotides suppresses tumor growth. *J Transl Med*. 2004 Sep 9;2(1):29.

Wu Z, Irizarry RA, Gentleman R, Martinez-Murillo F, Spencer F. A model-based background adjustment for oligonucleotide expression arrays. *J Am Stat Ass*. 2004; 99: 909-917

[0925]

[0926]

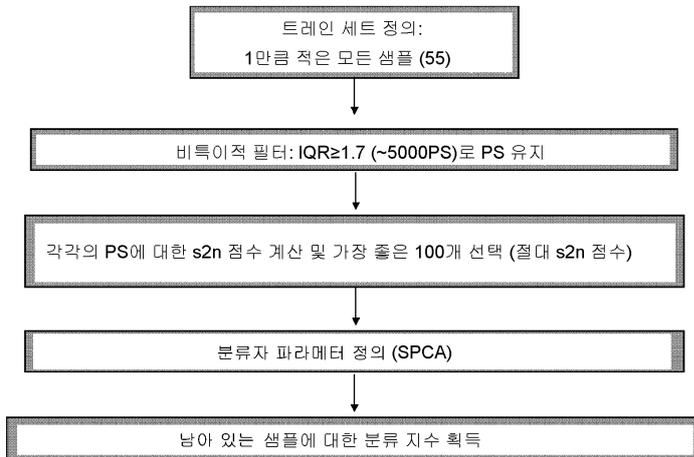
부록 1 - GCRMA-가능해지고, 변형된 RefPlus R 코드

```
require(affyPLM)
pe <- read.table("VR63933P_pe.txt")
pe <- unstack(pe)
rq <- scan("VR63933P_rq.txt ")
gcrmaplus <- function (Future, gcrmapara, r.q, p.e, bg = TRUE)
{
  if (missing(r.q) & (missing(gcrmapara))) {
    stop("Missing Reference Quantiles")
  }
  if (missing(p.e) & (missing(gcrmapara))) {
    stop("missing Probe Effects")
  }
  if (!missing(gcrmapara)) {
    r.q = gcrmapara[[1]]
    p.e = gcrmapara[[2]]
    cat("Use gcrmapara.\n")
  }
  else {
    cat("Use Reference.Quantiles and Probe.Effects.\n")
  }
  if (bg == TRUE)
    Future <- bg.adjust.gcrma(Future)
  PM = pm(Future)
  pm(Future) <- normalize.quantiles2(PM, r.q)
  rm(PM)
  future <- gcrmaref.predict(Future, p.e)
  return(future)
}
gcrmaref.predict <- function (Future, p.e)
{
  PMindex <- pmindex(Future)
  PM <- log2(pm(Future))
  PM <- sweep(PM, 1, unlist(p.e))
  pm(Future) <- PM
  PMList <- lapply(PMindex, function(x, y) intensity(y)[x,
    ], Future)
  future <- t(sapply(PMList, colMedians))
  colnames(future) <- sampleNames(Future)
  return(future)
}
normalize.quantiles2 <- function (X, Reference.Quantiles)
{
  apply(X, 2, function(x, y) y[rank(x)], Reference.Quantiles)
}
colMedians <- function (mat) rowMedians(t(mat))
```

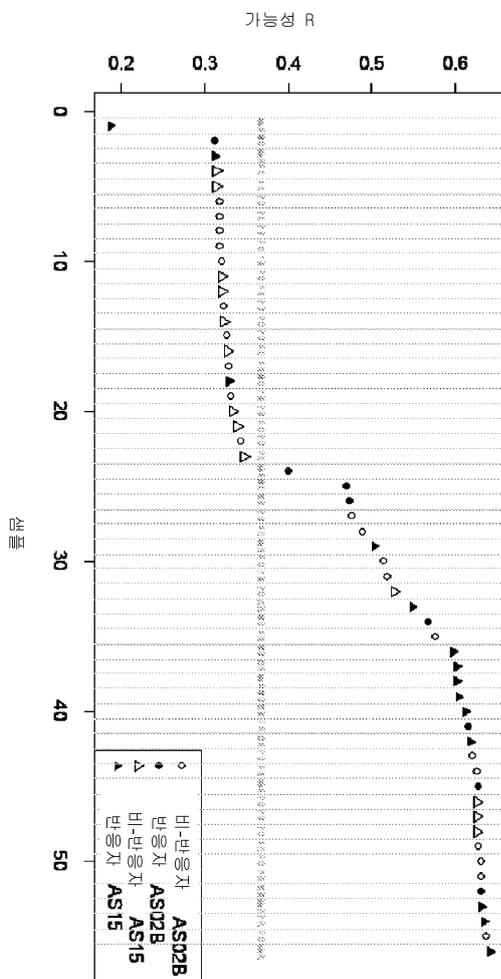
[0927]

도면

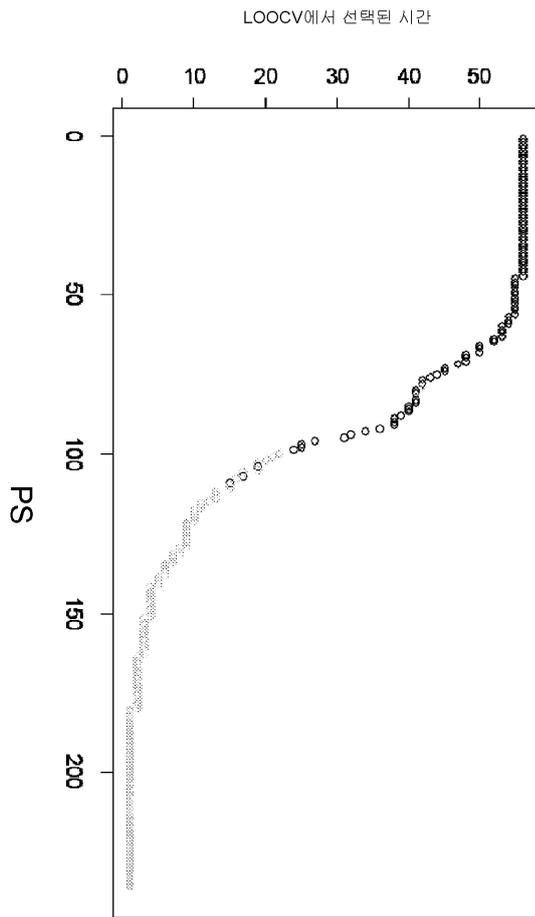
도면1



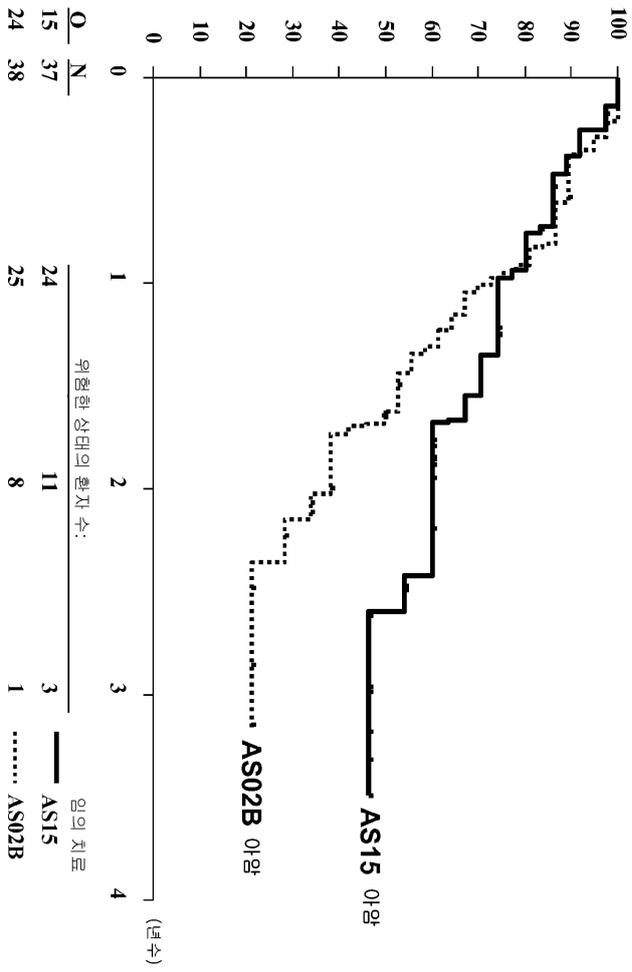
도면2



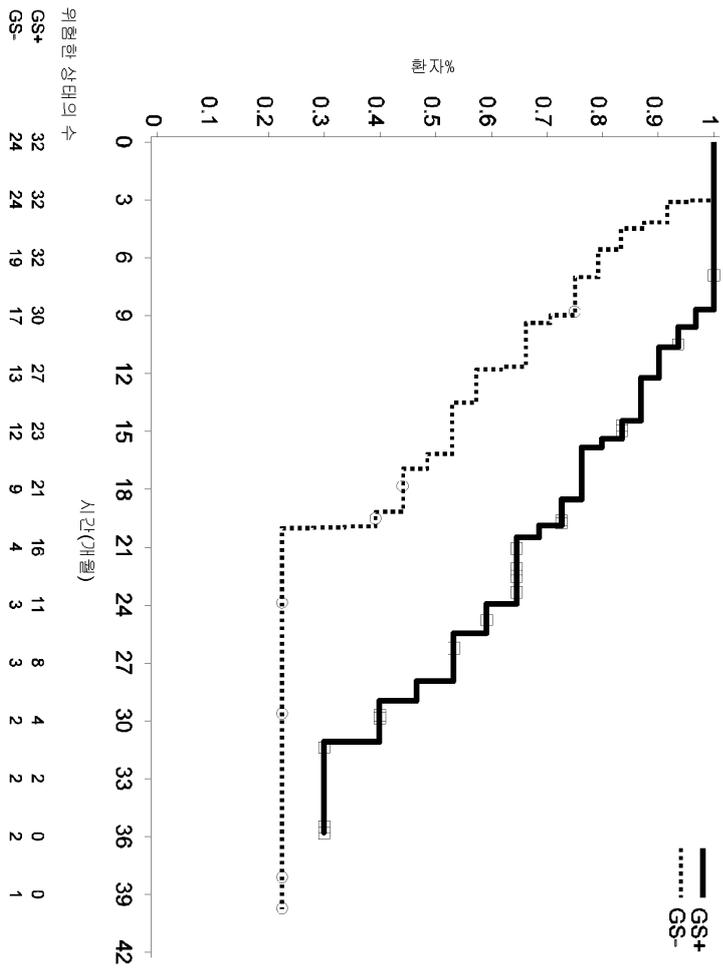
도면3



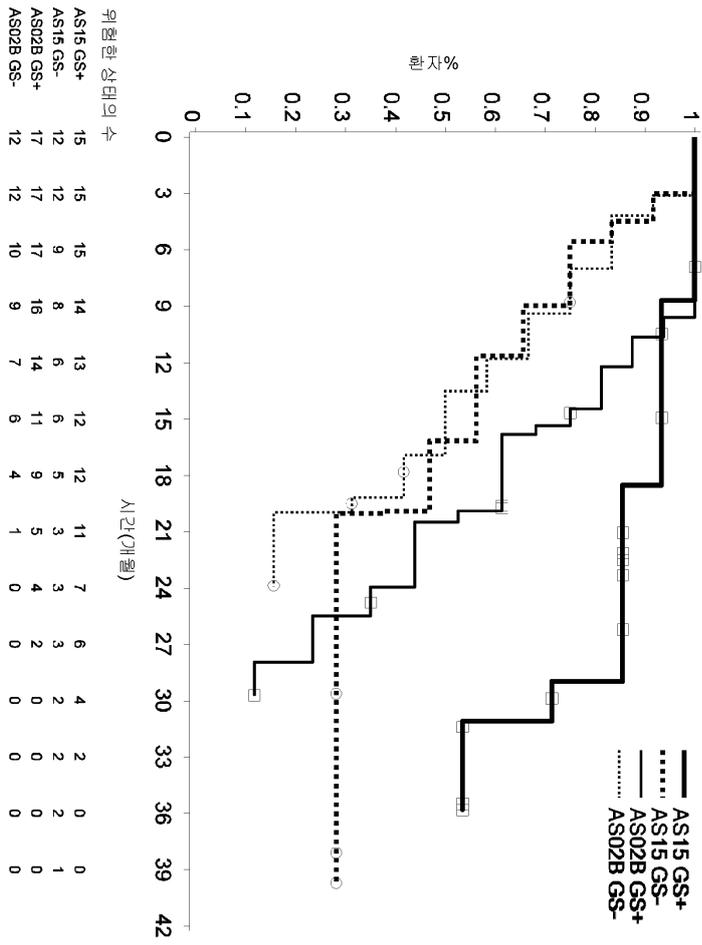
도면4



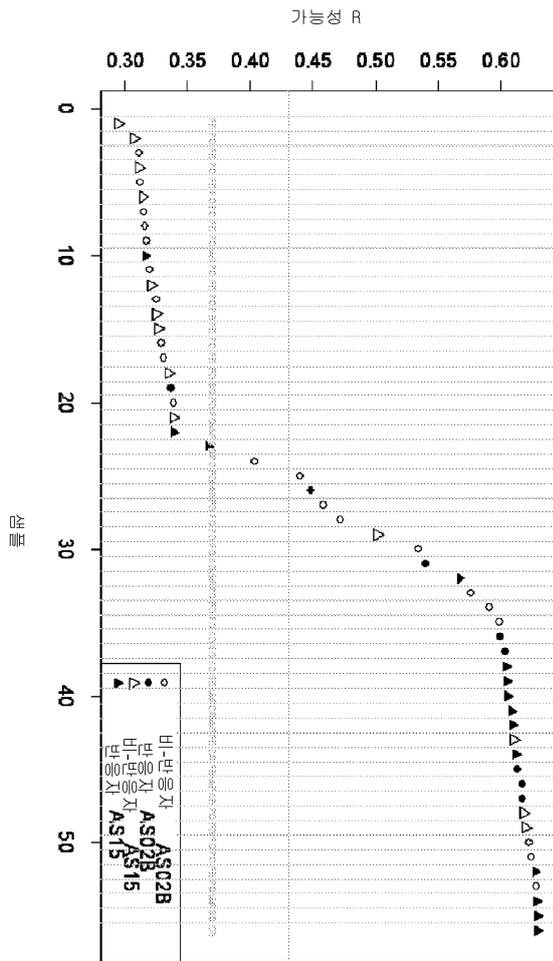
도면5



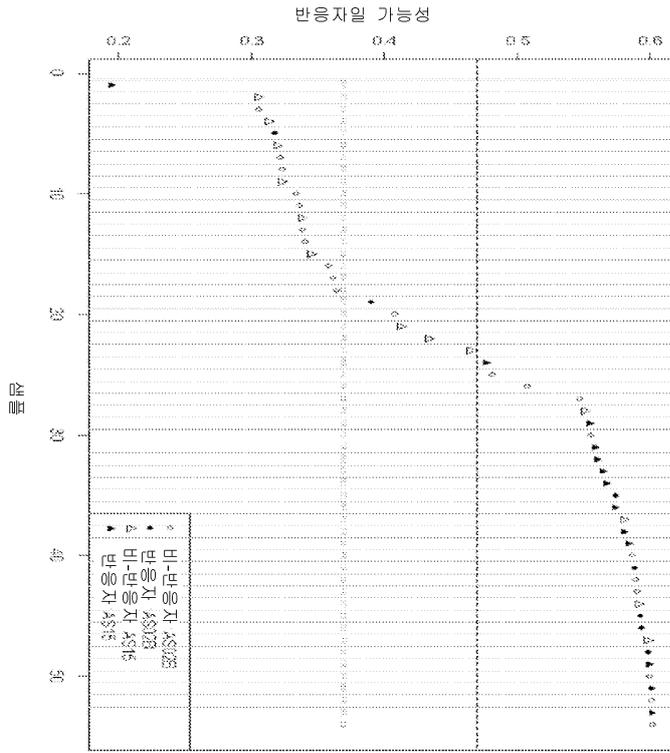
도면6



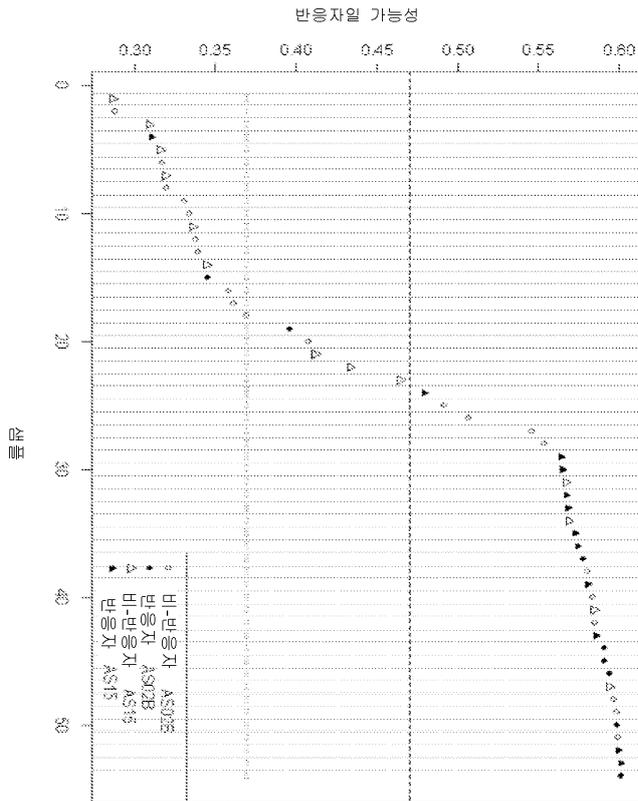
도면7



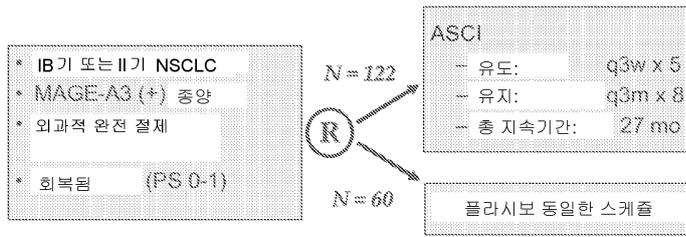
도면8



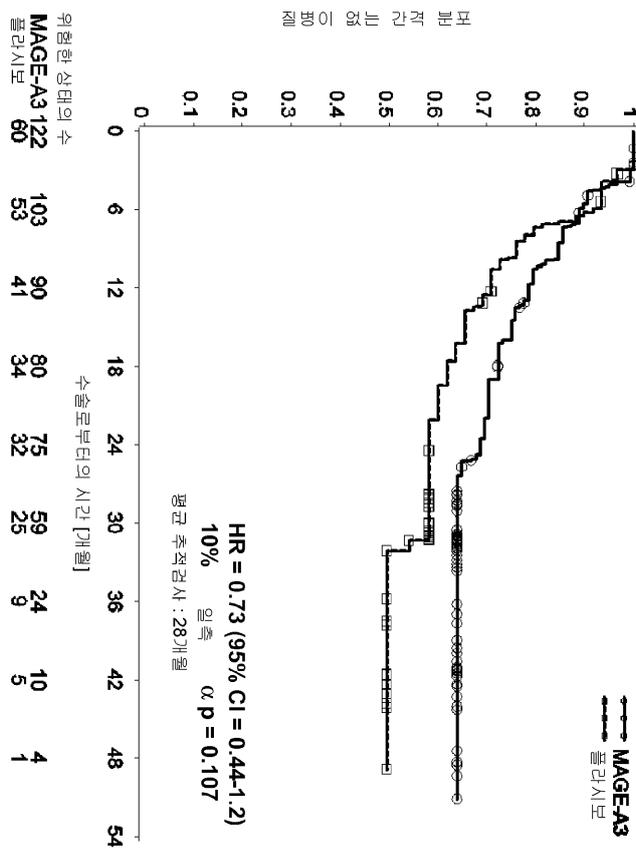
도면9



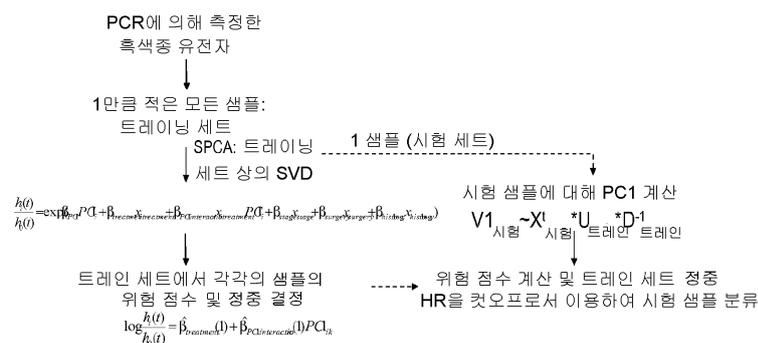
도면10



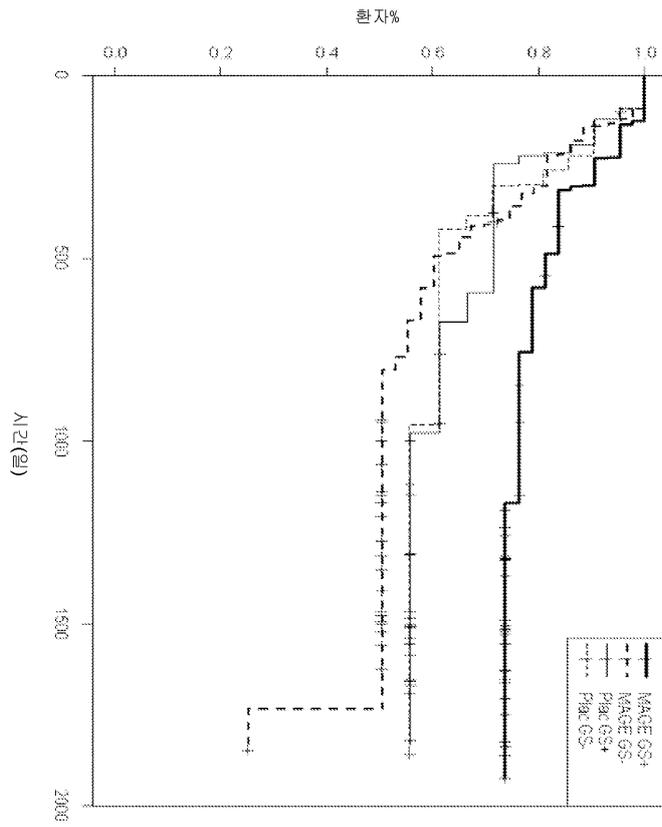
도면11



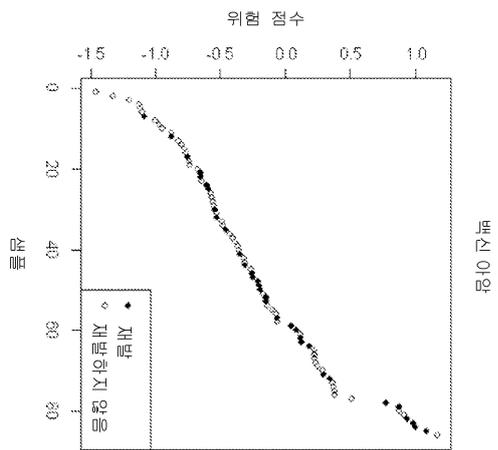
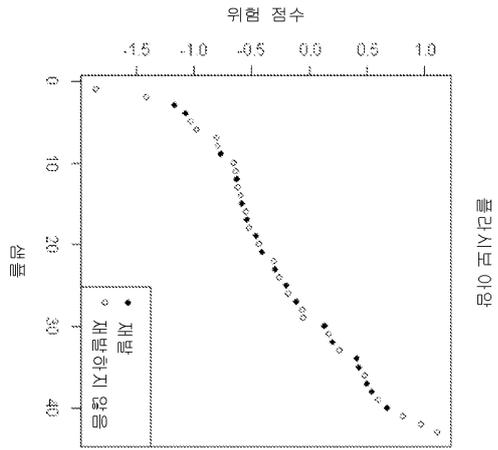
도면12



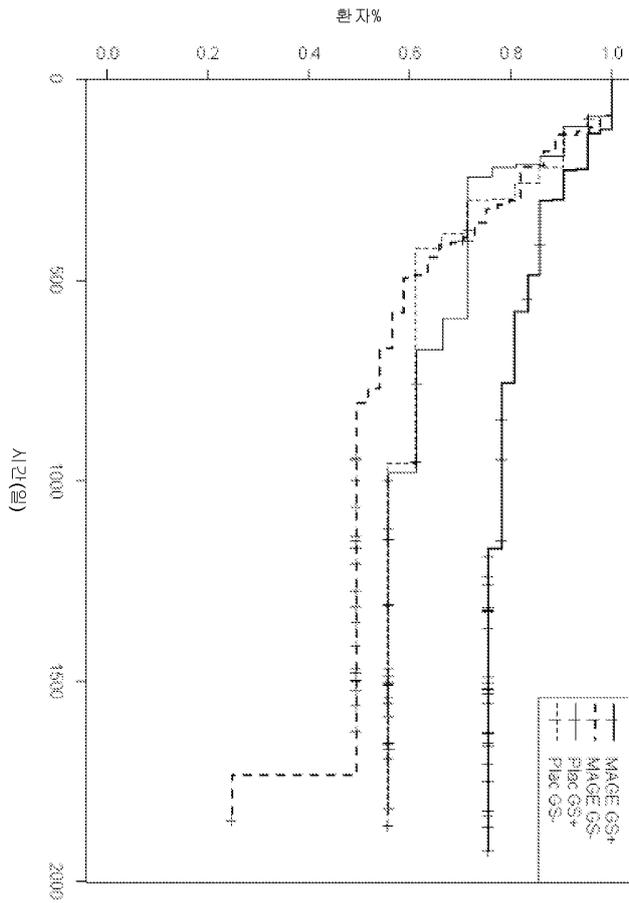
도면13



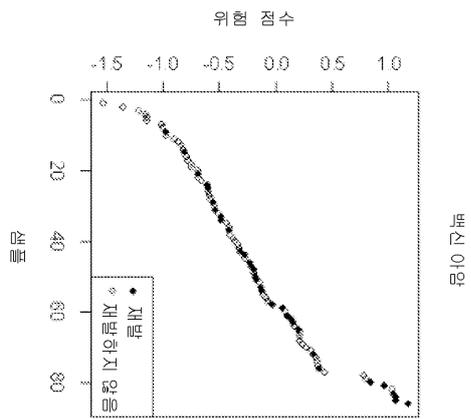
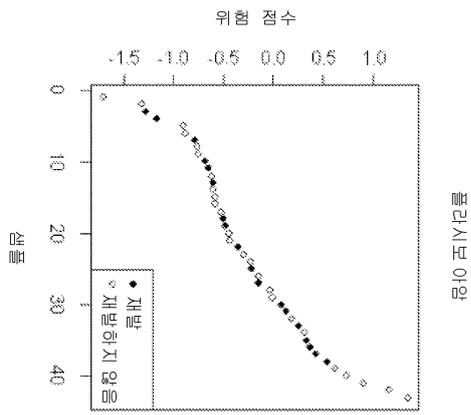
도면14



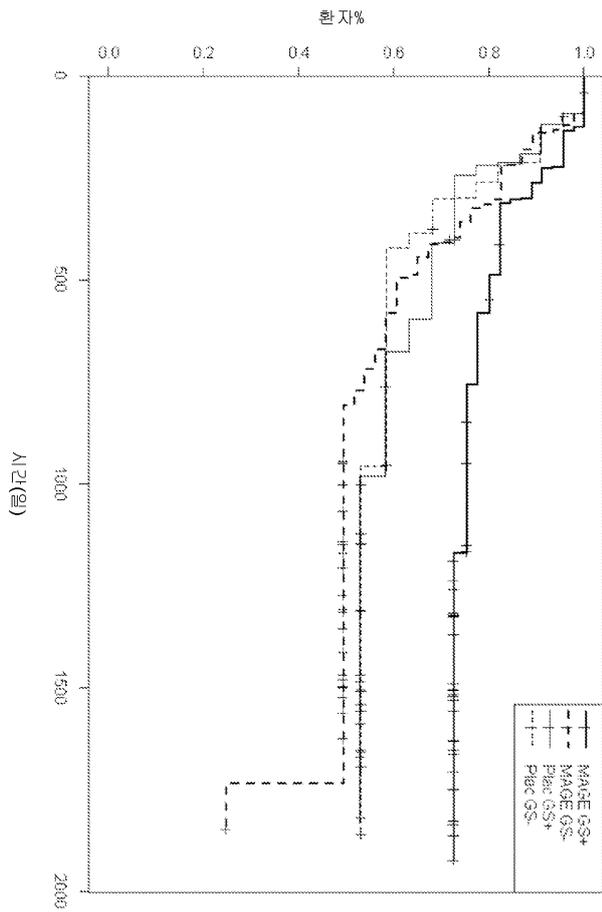
도면15



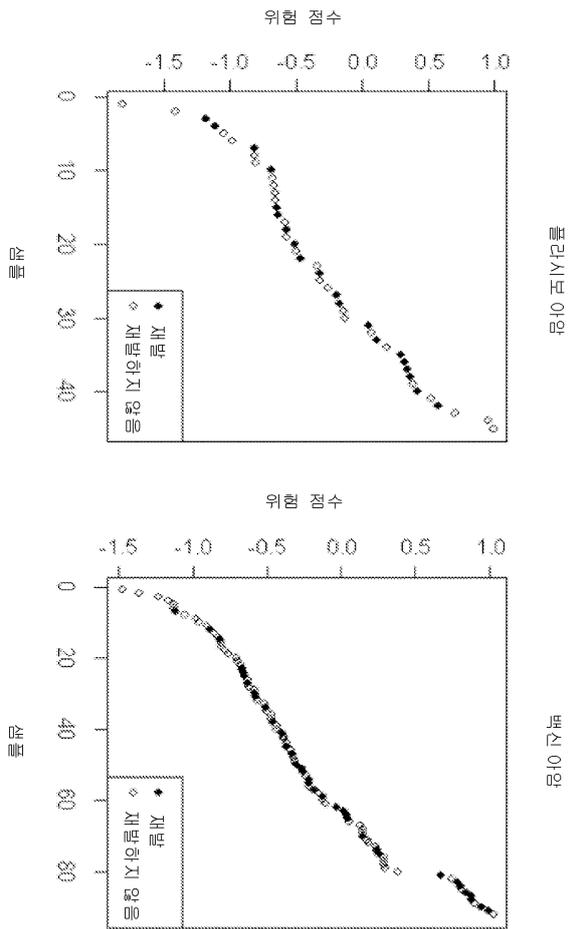
도면16



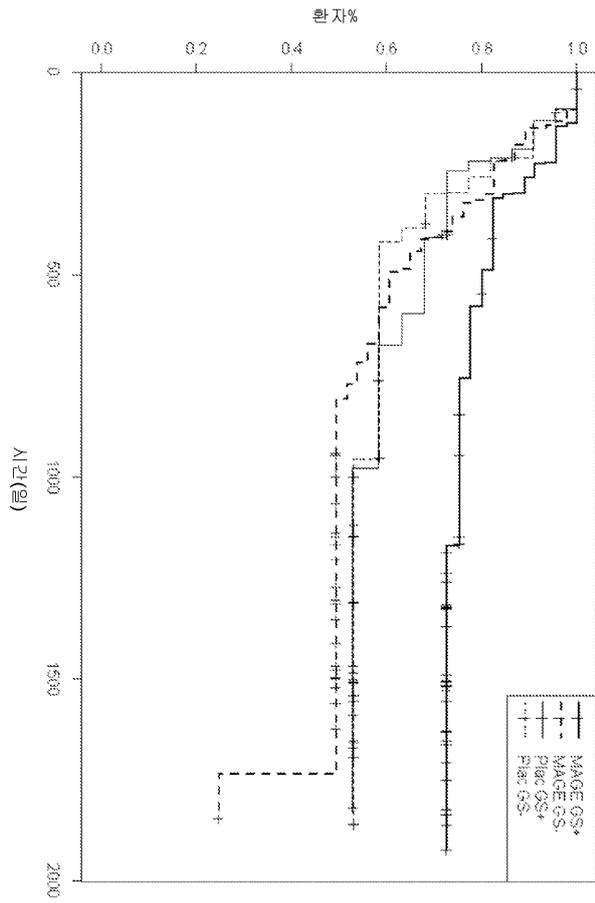
도면17



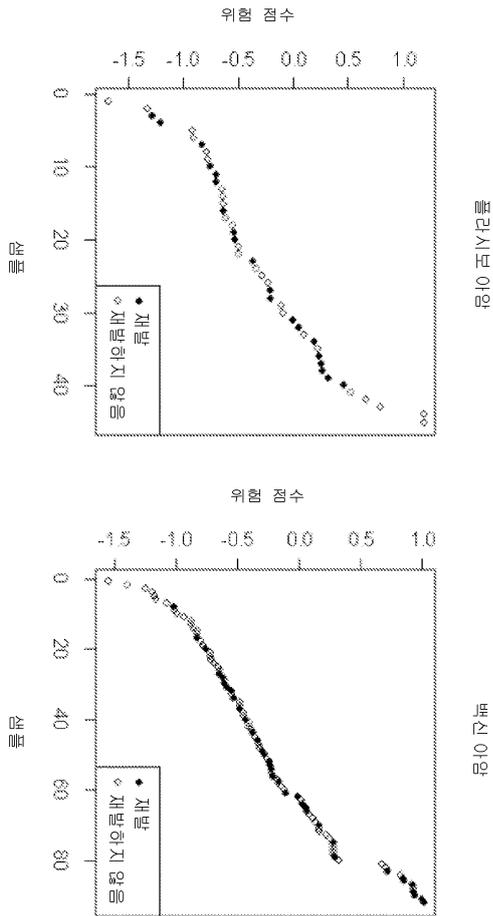
도면18



도면19



도면20



도면21

단백질 D 1/3 - MAGE3 - HIS 단백질 :

N term	MDP	protD 1/3	MD	MAGE-A3	GG 7xHis	C term
		2	124	3		314

SEQ ID NO: 101

```

MDPKTLALSLLAAGVLAGCSSHSSNMANTQMKSDKIIIAH 40
RCASGYLPEHTLESKALAFQAQADVLEQDLAMTKDGRIVV 80
IHDHFLDGLTDVAKKFFHRRKDGRIYVIDFTLKEIQSLE 120
MTENFETVDLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPAT 160
EEQEAASSSTLVEVTLGEVPAAESPDPPQSPQGASSLPT 200
TMNYPLWSQSYEDSSNOEEGPSTFPDLESEFQAALSRKV 240
AELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSK 280
ASSSLQLVFGIELMEVDPIGHLIYIFATCLGLSYDGLLDN 320
QIMPKAGLLIIVLAIIAREGDCAPEEKIWEELSVLEVFEG 360
REDSILGDPKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPACYEFLW 400
GPRALVETSIVKVLHMHMVKISGGPHISYPPLHEWVLRGE 440
EGGHHHHHHH. 451
    
```

굵은 체 = 신호 서열 15aa

밑줄 친 굵은 체 = 단백질 D의 처음 109개 아미노산

이중 밑줄 = 관련이 없는 아미노산

- * (인플루엔자의 처음 aa MDP)
- * (글로빈 부위 생성을 위한 aa 128-129에 있는 Met-Asp)
- * (442-443에 Gly-Gly)

밑줄 = MAGE3의 단편; MAGE3의 아미노산 3-314 (총 312개 aa)

HHHHHHH = 7 his 꼬리

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Vincent Brichard

Benjamin Georges Elie Lea Ghislain Dizier

Olivier Gruselle

Jamila Louahed

Fernando Olloa-Montoya

<120> Method

<130> VR63933W0

<140> to be assigned

<141> - -

<150> GB0917457.4

<151> 2009-10-06

<150> 61/278387

<151> 2009-10-06

<150> 61/277046

<151> 2009-09-18

<160> 113

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 471

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SLAMF6

Affymetrix annotation

<400> 1

tagcattacc ctctgacac tctctatgta gcctccctga tcttctttca gtcctctat 60
 taaaggaaaa gttctttatg ttaattatit acatcttctt gcaggccctt cctctgcctg 120
 ctgggtctct cctattcttt aggtttaatt ttaaataatgt cacctcctaa gagaaacctt 180
 cccagaccac tctttctaaa atgaatcttc taggctgggc atggtggctc acacctgtaa 240
 tcccagtact ttgggaggcc aaggggggag atcacttgag gtcaggagtt caagaccagc 300

ctggccaact tggtgaaacc ccgtctttac taaaaataga aaaaaattag ccaggcgtgg 360

tggcgcacc ctaaaatccc agctacttga gagactgagg caggagaatc gcttgaacc 420

aggaggtgga ggttccagtg agccaaaatc atgccaatgt attccagtct g 471

<210> 2

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CDC42SE2

Affymetrix annotation

<400> 2

tgttctgctc tgaagaagat actgtcagac gaatcctgca tttccttcag ctggc 55

<210> 3

<211> 507

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 33, 95, 161, 165, 166, 167, 183, 184, 199, 210, 211, 213,

239, 240, 267, 278, 282, 286, 289, 290, 294, 333, 395, 419,

432, 464

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 33, 95, 161, 165, 166, 167, 183, 184, 199, 210, 211, 213,

239, 240, 267, 278, 282, 286, 289, 290, 294, 333, 395, 419,

432, 464

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> CDC42SE2

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 33, 95, 161, 165, 166, 167, 183, 184, 199, 210, 211, 213,
 239, 240, 267, 278, 282, 286, 289, 290, 294, 333, 395, 419,
 432, 464

<223> n = A,T,C or G

<400> 3

gcatgccttt ggactcatgg acagagtctt ttinggattgt cactgaattt tcaatgttta 60

atcagtatgg atctgatctt cgcatgatct ttttngtgaa tgctaacacc attttgcagt 120

tttttttttc tattttaaac atttttcttt tcaactgccga ncccnngcc ttacgatttt 180

atnnggaaag caaggacnt gctattatn ntntaattg ccatcattta tgtatattnn 240

ggaaggtatg agaccacaa gcacaantga tcattttnat tngtngtnn gtngaaact 300

tcagcagaat agatatctgc atgctttatg aangttgttg cttcgtaag agcccatggg 360

atgccagaaa ttaacatttc tttgctgcca tggngtgatg atgctgctat tagataaang 420

tttagctgtg gnaccaagtc acatcatttt catagaaaa gatnacttgt agcttatttt 480

agaagtatga ctttttggtc tgtttga 507

<210> 4

<211> 486

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 373

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 373

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> TC2N

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 373

<223> n = A,T,C or G

<400> 4

caggtggcac aaattaaatc catcttgaag acttcacaca ttaatttggg gaagaacttg 60
 acattctttt agaagactta tgatttcaat ttgctaccaa tgagaagagg caaatcaaca 120
 aatttgcata ttiatggggg ctataattat ggtatataat gtatctgata gaaaatttga 180

 taagaaaatg taatgaattt tatcagatat ccaaagtaaa ggaaatgttt taaaactgca 240
 acaagagaca cagacagtaa aatcaaagta ttattaggat gactaaataa attataaagt 300
 ctgtgagaat atcaaccata gatagtctt tctatattat gtttttgctt ttgtatttta 360
 agctttactt agnatattca aaacctggta tatcaagtct ctgttagtac tattggcatt 420
 tagaagactt taccattatt tcagtgctag gcattattga ttaggtcttg gctccactgt 480
 ttacct 486

<210> 5

<211> 239

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> ITGAL

Affymetrix annotation

<400> 5

acacttgggt gggctctcac atctttcaca cttccaccag cctgcactac tccctcaaag 60
 cacacgtcat gtttcttcat ccggcagcct ggatgttttt tccctgttta atgattgacg 120
 tacttagcag ctatctctca gtgaactgtg agggtaaagg ctatacttgt ctgttccacc 180
 ttgggatgat gcctcatgat atgtcagggc gtgggacatc tagtaggtgc ttgacataa 239

<210> 6

<211> 128

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CCL5

Affymetrix annotation

<400> 6

cccgtgccca catcaaggag tatttctaca ccagtggcaa gtgctccaac ccagcagtcg 60

 tctttgtcac ccgaaagaac cgccaagtgt gtgccaacc agagaagaaa tgggttcggg 120

agtacatc 128

<210> 7

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 152, 157, 169

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> PSMB9

R2.9 annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 152, 157, 169

<223> n = A,T,C or G

<400> 7

ccattctgag tacttctccg caaaccttt gtttcattaa ggactgtttt acatgaaggg 60

tgcaaaagta ggataaaaat gagaacctta gggtgaaaca cgtgacagaa gaataaagac 120

tattgaatag tectcttctc tacccatgga cnttgnatt tttatattng attttaagga 180

aatataactt agtagtaaag agatgagcat tcaagtcagg cagacctgaa tttgggtcaa 240

ggctgcgcca ctcaaaagct atatgacctc tatatgagca gcttattcaa cctcttttaa 300

cctccatfff gtcatctgta gaatgatgat aaatgcctag ctcagaagga ttcc 354

<210> 8

<211> 206

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> JAK2

Affymetrix annotation

<400> 8

atgttcaactg tatgtgcaa gcctaatatg agagctatgt attatagagt ttatgctaca 60

gccttacctt caggaaactt atctactgga caaacaaaaa tttcaaata tacaaaaaat 120

tctaaatcga acattgtaat tatctagcat aggcaaatat agacagtaac agacaggttt 180
acaattatta agaaaggcca gccagg 206

<210> 9

<211> 391

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LOC284757

Affymetrix annotation

<400> 9

atcgaggaag atatactgcc aagtcaggaa gaaaaaatcc acctgttcag tgatttcagg 60
aactgctgaa gaaaatcacc agtgagtatc agtttctgca agagaatcta atgcaggctt 120
tgcttctcat cggaatcccc cagctggtgt cttggttgac tgagagtctg ggggagaggg 180
cagagaatgg atttattctc tgctaggttt ttaacagtca agaaggctg tggctcctaag 240

gggcactggt caaaccttag tgtgcatcag aattatctgg ataaggctag gcacagtggc 300
tcacgcctgt aatcacagca ctttgggagg ctgaggcgcg tggatcacct gaggtcagaa 360
gttcaagacc agcctggtct ttttagtaga g 391

<210> 10

<211> 500

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> PPP1R16B

Annotation from R2.6 that became NA in R2.9

<400> 10

gaaaattcct ggcagtttca actgtgatag acattgctaa cctgttctcc aaagaggctg 60
aaccaatttc tgtttctca acagtgtatg actgtttccc ccatctattc tccagcactg 120
aggattaagt aactttcatt tttgctcagc tgacagatat aaagcagaac atttctgcat 180
aaggttctac agtaattttt agattttatg accctttgga ttatgcttac ataatgatga 240
tcaaataatc agaaactaca ttgtacctgg ccttaggctt ggaattggat acaaaattaa 300
atgaaaccag cttttgcctc cagggtgatc ccatctctctg gagttggcag acaaatgaac 360
aaataaaatg agagcaaaac tgtatggttc acattgtgct agagaaatgc ataagcttag 420

ctaacttttg tttgataaac tctatattca ttaatatcac aaatgaattc ataaaatacc 480
 gtagcatta tgtcccaggg 500

<210> 11

<211> 462

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> AP2B1

Affymetrix annotation

<400> 11

gggcaggaca tgctgtacca atccctgaag ctactaatg gcatttggat ttggccgaa 60
 ctacgtatcc agccaggaaa cccaattac acgtgtcac tgaagtgtag agtcctgaa 120
 gtcttcaat acatctatca ggtctacgac agcatttga aaaactaaca agactggtcc 180
 agtaccttc aaccatgctg tgatcgggtc aagtcaagaa ctcttaactg gaagaaattg 240
 tattgctgcg tagaatctga acacactgag gccacctagc aaggtagtaa ctagtctaac 300
 ctgtgctaac attagggcac aacctgttgg atagttttag cttcctgtga acatttgtaa 360

ccactgcttc agtcacctcc cacctcttgc cacctgctgc tgctatctgt cttacttgt 420
 gggttctcc atgctgtgcc aatggctggc tttttctaca cc 462

<210> 12

<211> 432

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> ITGA3

Affymetrix annotation

<400> 12

gccacagact gaactcgcag ggagtgcagc aggaaggaac aaagacagc aaacggcaac 60
 gtagcctggg ctactgtgc tgggcatgg cgggatcctc cacagagagg aggggaccaa 120
 ttctggacag acagatgttg ggaggataca gaggagatgc cacttctcac tcaccactac 180
 cagccagcct ccagaaggcc ccagagagac cctgcaagac cacggaggga gccgacactt 240

gaatgtagta ataggcaggg ggccctgccca ccccatccag ccagacccca gctgaacct 300
 gcgtcagggg cctagaggtg gaggttcttag ctatccttgg ctttctgtgc cagcctggct 360
 ctgccctcc cccatgggct gtgtcctaag gcccatttga gaagctgagg ctagttccaa 420
 aaacctctcc tg 432

<210> 13

<211> 502

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IRF1

Affymetri x annotation

<400> 13

acaggagtca gtgtctggct ttttctctg agcccagctg cctggagagg gtctcgctgt 60
 cactggctgg ctctagggg aacagaccag tgacccaga aaagcataac accaatccca 120

gggctggctc tgcactaagc gaaaattgca ctaaatgaat ctctgtccaa agaactacce 180
 cttttcagct gagccctggg gactgttcca aagccagtga atgtgaagga aactcccctc 240
 cttcggggca atgtccctc agcctcagag gagctctacc ctgctccctg ctttggctga 300
 ggggcttggg aaaaaaactt ggcacttttt cgtgtggatc ttgccacatt tctgatcaga 360
 ggtgtacact aacatttccc ccgagctctt ggcctttgca tttatttata cagtgccttg 420
 ctcggggccc accaccct caagccccag cagccctcaa caggcccagg gagggaagtg 480
 tgagcgcctt ggtatgactt aa 502

<210> 14

<211> 521

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TNFAIP3

Affymetri x annotation

<400> 14

tctttgggtt attactgtct ttacttctaa agaagttagc ttgaactgag gagttaaagt 60
 gtgtacatat ataataacc cttacattat gtatgaggga tttttttaa ttatattgaa 120

atgctgccct agaagtacaa taggaaggct aaataataat aacctgtttt ctggttggtg 180
 ttggggcatg agcttggtga tacactgctt gcataaactc aaccagctgc ctttttaaag 240
 ggagctctag tcctttttgt gtaattcact ttatttattt tattacaaac ttcaagatta 300
 ttttaagtga gatatttctt cagctctggg gaaaatgcc aagtgttctc ctgagagaac 360

atccttgctt tgagtcaggc tgtgggcaag ttctgacca caggagtaa attggcctct 420
 ttgatacact ttgcttgcc tccccaggaa agaaggaatt gcatccaagg tatacataca 480
 tattcatcga tgtttcgtgc ttctccttat gaaactccag c 521

<210> 15

<211> 502

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TNFAIP3

Affymetrix annotation

<400> 15

catccatgg taccctggta ttgggacagc aaaagccagt aaccatgagt atgaggaaat 60
 ctctttctgt tgctggctta cagtttctct gtgtgctttg tggttgctgt catatttgct 120
 ctagaagaaa aaaaaaaaaag gaggggaaat gcattttccc cagagataaa ggctgccatt 180

ttgggggtct gtacttatgg cctgaaaata ttgtgatcc ataactctac acagccttta 240
 ctcatactat taggcacact ttccccttag agccccctaa gtttttcca gacgaatctt 300
 tataatttcc tttccaaaga taccaaataa acttcagtgt tttcatctaa ttctcttaaa 360
 gttgatatct taatattttg tgttgatcat tatttcatt cttaatgtga aaaaaagtaa 420
 ttatttatac ttattataaa aagtatttga aatttgcaca ttaattgtc cctaataгаа 480
 agccacctat tctttgttgg at 502

<210> 16

<211> 511

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> PSMB10

Affymetrix annotation

<400> 16

tacacgcgtt atctacgggc cgcgagcccc gcgtggccac ggtcactcgc atcctgcgcc 60
 agacgctctt caggtaccag ggccacgtgg gtgcatcgct gatcgtgggc ggcgtagacc 120
 tgactggacc gcagctctac ggcgtgcac cccatggctc ctacagccgt ctgcccttca 180
 cagccctggg ctctggtcag gacgcggccc tggcggtgct agaagaccgg ttccagccga 240
 acatgacgct ggaggctgct caggggctgc tggtggaagc cgtcaccgcc gggatcttgg 300
 tgacactggg ctccgggggc aatgtggacg catgtgtgat cacaagact ggcgccaage 360
 tgctgcggac actgagetca cccacagagc ccgtgaagag gtctggccgc taccactttg 420

 tgccctggaac cacagctgtc ctgaccaga cagtgaagcc actaacctg gagctagtgg 480
 aggaaactgt gcaggctatg gaggtggagt a 511

<210> 17

<211> 367

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CXCL9

CXCL9

Affymetrix annotation

<400> 17

gattatcaat taccacacca tctcccatga agaaagggaa cgggaagta ctaagcgcta 60
 gaggaagcag ccaagtcggt tagtggaagc atgattggtg cccagttagc ctctgcagga 120
 tgtggaaac tecttcagg ggaggttcag tgaattgtgt aggagaggtt gtctgtggcc 180
 agaatttaaa cctatactca ctttccaaa ttgaatcact gctcactg ctgatgattt 240

 agagtgtgt cgggtggaga tcccaccga acgtcttate taatcatgaa actccctagt 300
 tccttcatgt aacttcctg aaaaatctaa gtgtttcata aattgagag tctgtgacce 360
 acttacc 367

<210> 18

<211> 358

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> RARRES3

Affymetrix annotation

<400> 18

gaaacggggg cgctggaag atgtggtggg aggctgttgc tatcgggtca acaacagctt 60
 ggaccatgag taccaaccac ggcccgtgga ggtgatcatc agttctgcga aggagatggt 120
 tggtcagaag atgaagtaca gtattgtgag caggaactgt gagcactttg tcgcccagct 180

gagatatggc aagtcccgt gtaaacaggt ggaaaaggcc aaggttgaag tcggtgtggc 240
 cacggcgctt ggaatcctgg ttgttctggt atgctctttt gcgattagga gatacaaaaa 300
 aaaagcaaca gcctgaagca gccacaaaat cctgtgttag aagcagctgt ggggggtcc 358

<210> 19

<211> 411

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IL2RG

Affymetrix annotation

<400> 19

ttctggtgg aacggacgat gccccgaatt ccaccctga agaacctaga ggatcttgtt 60
 actgaatacc acgggaactt ttggcctgg agtgggtgtg ctaagggact ggctgagagt 120
 ctgcagccag actacagtga acgactctgc ctgctcagtg agattcccc aaaaggaggg 180

gccttgggg aggggcctgg ggctcccca tgcaaccage atagecccta ctgggcccc 240
 ccatgttaca ccctaaagcc tgaaacctga accccaatcc tctgacagaa gaaccccagg 300
 gtctgtagc ctaagtgt actaactttc cttcattcaa cccactgcg tctcatactc 360
 acctacccc actgtggctg atttggaatt ttgtgcccc atgtaagcac c 411

<210> 20

<211> 464

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GCH1

Affymetrix annotation

<400> 20

gtgatggttg gcttgagtac ctttttaa atagccagc ataacatta gcctgcttaa 60
 tatttagaca tttataggta gaattctgag cactcaactc atgtttggca ttttaaagta 120

 aaaacaagtg tgacttcgag gaccaaagaa attgtcagct atacatttat ctttatgaac 180
 tcatttatat tcctttttaa tgactcgttg ttctaacatt tcctagaagt gttcttataa 240
 aggtctaagt tatccacagg ctgttgctct attagtaaat gcaaagtaat gactttgtct 300
 gttttactct agtctttagt acttcaaaat taccttttca tatccatgat ctgagtcaca 360
 tttgggggat ttttaagaat ttgatgtatt tcaatacact gttcaaaatt aaattgttta 420
 attttatgta tgagtatgta tgttctgaa gttggtccta tttta 464

<210> 21

<211> 551

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TOX

Affymetrix annotation

<400> 21

atggcttgat gtagcagca tagcaagttt gtaaatagca tctatgttac actctcctag 60
 agtataaaat gtgaatggtt ttgtagctaa attgtaattg aaactggctc attccagttt 120
 attgatttca caataggggt taaattggca aacattcata tttttacttc atttttaaaa 180
 caactgactg atagtcttat attttcaaaa ttttgaaaa taaaaagtat tcccaagtga 240
 ttttaattta aaaacaatt ggctttgtct cattgatcag acaaaaagaa actagtatta 300
 agggaagcgc aaacacattt atttgtact gcagaaaaat tgcttttttg taccactttt 360
 tgtgtaattg ttagtaaatg tcatttaagt ctttttatgt ataaaactgc caaatgetta 420

 cctggtatth tattagatgc agaaacagat tgaaacagc taaattaca cttttacata 480
 tggctctgtc ttattgttcc ttactactgt gctctgattt aatctttttt tatggaacct 540
 gttgcgccta t 551

<210> 22

<211> 544

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CXCL10

Affymetrix annotation

<400> 22

taactctacc ctggcactat aatgtaagct ctaactgaggt gctatgttct tagtggatgt 60
 tctgaccctg cticaaatat ttcctcacc tttcccatct tccaagggtta ctaaggaatc 120
 tttctgcttt ggggtttatc agaattctca gaatctcaaa taactaaaag gtatgcaatc 180

 aaatctgctt tttaaagaat gctctttact tcatggactt ccaactgcat cctccaagg 240
 ggcccaaatt cttcagtggt ctacctacat acaattccaa acacatacag gaaggtagaa 300
 atatctgaaa atgtatgtgt aagtattctt atttaatgaa agactgtaca aagtataagt 360
 cttagatgta tatatttctt atattgtttt cagtgtacat ggaataacat gtaattaagt 420
 actatgtatc aatgagtaac aggaaaattt taaaataca gatagatata tgctctgcat 480
 gttacataag ataatgtgc tgaatggttt tcaataaaaa atgaggtact ctcttggaag 544
 tatt

<210> 23

<211> 548

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DZIP1

Affymetrix annotation

<400> 23

ggaactaatg tcctgagat gtttatcaaa aaagaagaat tacaagaact aaagtgtgcg 60
 gatgtggagg atgaagactg ggacatatca tcctagagg aagagatattc tttgggaaaa 120
 aaatctggga aagaacagaa ggaacctcca cctgcgaaaa atgaaccaca ttttgctcat 180
 gtgctaaatg cctggggcgc atttaactct aaggggceaa agggagaagg acttcaagaa 240
 aatgaatcaa gcacattaaa aagcagctta gtaactgtga ctgattggag cgacacttca 300
 gatgtctaat tccacatgct agaagattat tccagaagcc agcagtattt cagtatcaca 360

 gtgtttcagt aatttgctc catgattcta gtgcttctgc cttaccgtgt ttcccacagc 420
 aacacagaga ctgattcaaa gaacaatggt ctctttaatg gcaccaata cagtattgaa 480

aatcagatca tcaacagtat ttcgaagcat gtaaagggtgt ttaagacttc cgctgctgct 540
 taaaaata 548

<210> 24

<211> 503

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HLA-F

Affymetrix annotation

<400> 24

cagatcctcc aaagccacac gttgeccacc accccatctc tgaccatgag gccaccctga 60
 ggtgctgggc cctgggcttc taccctgcgg agatcacgct gacctggcag cgggatgggg 120

aggaacagac ccaggacaca gagcttgtgg agaccaggcc tgcaggggat ggaaccttcc 180
 agaagtgggc cgctgtggtg gtgccttctg gagaggaaca gagatacaca tgccatgtgc 240
 agcacgaggg gctgccccag cccctcatcc tgagatggga gcagtctccc cagcccacca 300
 tccccatcgt gggcatcgtt gctggccttg ttgtccttgg agctgtggtc actggagctg 360
 tggtcgctgc tigtatgtgg aggaagaaga gctcagatag aaacagaggg agctactctc 420
 aggctgcagt cactgacagt gcccagggct ctggggtgtc tctcacagct aataaagtgt 480
 gagacagctt ccttgtgtgg gac 503

<210> 25

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> PTGER4

Affymetrix annotation

<400> 25

agcagcttat tgtttctctg aaagtgtgtg tagttttact ttcctaagga attaccaaga 60
 atatccttta aaatttaaaa ggatggcaag ttgcatcaga aagctttatt ttgagatgta 120
 aaaagattcc caaacgtggt tacattagcc attcatgtat gtcagaagtg cagaattggg 180
 gcacttaatg gtcaccttgt aacagttttg tgtaactccc agtgatgctg tacacatatt 240
 tgaagggtct ttctcaaaga aatattaagc atgttttgtt gctcagtgtt tttgtgaatt 300

gcttggttgt aattaaattc tgagcctgat attgatatg 339

<210> 26

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 353

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 353

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> SLC26A2

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 353

<223> n = A,T,C or G

<400> 26

tactcatgcc ttttgttta ggataaatag gtaagcacia agagctcttc aaaatcagaa 60
 aaaacaatag gaggctcttc ttgtcttttc tgtgatctct gtccttgttt ctgagacttt 120
 ctctaccatt aagctctatt ttagctttca gttattctag tttgtttccc atggaatctg 180

tcctaaactg gtgtttttgt cagtgacagt cttgccagtc agcaatttct aacagcattt 240
 taaatgagtt tgatgtacag taaatattga tgacaatgac agcttttaac tcttcaagtc 300
 acctaaagct attatgcagg aggatttaga agtcacattc ataaaacca agngctatgg 360
 gtgtattatt catgatagct ggcccacagg tcatgaattg ag 402

<210> 27

<211> 503

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SRPX2

Affymetrix annotation

<400> 27

gcggcatgtg accatcattg aactggtggg acagccacct caggaggtgg ggcgcatccg 60
 ggagcaacag ctgtcagcca acatcatcga ggagctcagg caatttcagc gcctcactcg 120

 ctctacttc aacatggtgt tgattgacaa gcagggtatt gaccgagacc gctacatgga 180
 acctgtcacc cccgaggaaa tcttcacatt cattgatgac tacctactga gcaatcagga 240
 gttgaccag cgtcgggagc aaaggacat atcggagtga acttgagcca gggcatggtt 300
 aaagtcaagg gaaaagctcc tctagttagc tgaactggg acctaataaa aggaggaaat 360
 gttttccac agttctaggg acaggactct gaggtgggtg agtttgacaa atcctgcagt 420
 gtttcaggc atccttttag gactgtgtaa tagtttcctt agaagctagg tagggactga 480
 ggacaggcct tgggcagtgg gtt 503

<210> 28

<211> 446

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD86

Affymetrix annotation

<400> 28

gaaggaggct taggactttc cactcctggc tgagagagga agagctgcaa cggaaattagg 60
 aagaccaaga cacagatcac ccggggctta cttagcctac agatgtccta cgggaacgtg 120
 ggctggccca gcatagggct agcaaatttg agttggatga ttgtttttgc tcaaggcaac 180
 cagaggaaac ttgcatacag agacagatat actgggagaa atgactttga aaactggct 240
 ctaagtgagg atcactaagg gatggggcag tctctgccca aacataaaga gaactctggg 300
 gagcctgagc cacaaaaatg ttcctttatt ttatgtaaac cctcaagggt tatagactgc 360

 catgctagac aagcttgccc atgtaatatt cccatgtttt taccctgccc ctgccttgat 420
 tagactccta gcacctggct agtttc 446

<210> 29

<211> 436

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 199

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 199

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> CD8A

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 199

<223> n = A,T,C or G

<400> 29

cagcccttgc attgcagagg ggcccatgaa agaggacagg ctacccttt acaaatagaa 60

tttgagcatc agtgaggta aactaaggcc ctcttgaatc tctgaattg agatacaaac 120

atgttctcgg gatcactgat gactttttat actttgtaaa gacaattgtt ggagagcccc 180

tcacacagcc ctggcctcng ctcaactagc agatacaggg atgaggcaga cctgactctc 240

ttaaggaggc tgagagccca aactgctgtc ccaaacatgc acttccttgc ttaaggtatg 300

gtacaagcaa tgctgcccc ttggagagaa aaaacttaag tagataagga aataagaacc 360

actcataatt cttcacctta ggaataatct cctgttaata tgggtacat tcttctgat 420

tattttctac acatac 436

<210> 30

<211> 508

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GABBR1 /// UBD

Affymetrix annotation

<400> 30

gatcttaag ccacggagaa gcctctcatc ttatggcatt gacaaagaga agaccatcca 60

ccttacctg aaagtgggta agcccagtga tggagagctg cccttgttc ttgtggagtc 120
aggtgatgag gcaagaggc acctcctca ggtgcgaagg tccagctcag tggcacaagt 180
gaaagcaatg atcgagacta agacgggtat aatccctgag acccagattg tgacttgcaa 240
tggaaagaga ctggaagatg ggaagatgat ggcagattac ggcatcagaa agggcaactt 300
actcttctg gcatcttatt gtattggagg gtgaccacc tgggatggg gtgttggcag 360

gggtcaaaaa gcttatttct tttaatctct tactcaacga acacatcttc tgatgatttc 420
ccaaaattaa tgagaatgag atgagtagag taagatttgg gtgggatggg taggatgaag 480
tatattgccc aactctatgt ttctttga 508

<210> 31

<211> 473

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HCP5

Affymetrix Annotation

<400> 31

tgaaggatgg tgactgcgcc atggcctgga tetgctgcag tgtcctttcc tgtggaggt 60
ccactcaaag ctggcatcct cctatgtcac ctgagtggt ggtcaaagca atacacctac 120
atgtagaatg tgatgtcaga actcaaacag gctcaccagg cagtgtgctt cttccttgca 180

tgaggatgca agatgcaaca gtttgtcttc acattggaag gacaccctg gatgccecta 240
accactagac ctgtaaaact tcactgcagt ggccacttct gaatctctgt aaggtttatt 300
tatcttcacc cctctggaga gaagatgttt taccaaagcc tctagtgtac cgtcctcctc 360
ttactcatcc atcccagtca acatgatggt gtcaatgaaa taaaggaatt taatattcta 420
tagtatatcc aggttctcca gatctcttaa gactgtacta tagaggcctg ggg 473

<210> 32

<211> 489

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GZMK

Affymetrix annotation

<400> 32

aaacctctct tagatctgga accaaatgca aggttactgg ctggggagcc accgatccag 60
 attcattaag accttctgac accctgcgag aagtcactgt tactgtccta agtcgaaaac 120
 ttgcaacag ccaaagttac tacaacggcg acccttttat caccaaagac atggctctgtg 180
 caggagatgc caaaggccag aaggattcct gtaagggtga ctgagggggc cccttgatct 240
 gtaaagggtg ctccacgct atagtctctg gaggtcatga atgtggtgtt gccacaaagc 300
 ctggaatcta caccctgta accaagaaat accagacttg gatcaaaagc aaccttgtec 360
 cgccatcac aaattaagtt acaataaatt ttattggatg cacttgcttc ttttttcta 420
 atatgctcgc aggttagagt tgggtgtaag taaagcagag cacatatggg gtccattttt 480
 gcacttgta 489

<210> 33

<211> 556

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TNFRSF9

Affymetrix annotation

<400> 33

agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 60
 gaaggaggat gtgaactgtg aaatggaagt caatagggt gttgggactt tcttgaaaag 120
 aagcaaggaa atatgagtca tccgetatca cagctttcaa aagcaagaac accatcctac 180
 ataataccca ggattcccc aacacagtt cttttctaaa tgccaatgag ttggccttta 240
 aaaatgcacc actttttttt tttttttgga cagggtctca ctctgtcacc caggctggag 300
 tgcagtggca ccacatggc tctctgcagc cttgacctct gggagctcaa gtgatcctcc 360
 tgccctcagtc tctgagtag ctggaactac aaggaaggc caccacacct gactaacttt 420
 ttgtttttt gtggtaaag atggcatttc gccatgttgt acaggctggt ctcaaactcc 480
 taggttcaact ttggcctccc aaagtgctgg gattacagac atgaactgcc aggccccggc 540
 aaaataatgc accact 556

<210> 34

<211> 405

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GPR171

Affymetrix annotation

<400> 34

ttgccttgta attcgacagc tctacagaaa caaagataat gaaaattacc caaatgtgaa 60
aaaggctctc atcaacatac ttttagtgac cacgggctac atcatatgct ttgttcctta 120

ccacattgtc cgaateccgt ataccctcag ccagacagaa gtcataactg attgctcaac 180
caggatttca ctcttcaaag ccaaagaggc tacactgctc ctggctgtgt cgaacctgtg 240
ctttgatcct atcctgtact atcacctctc aaaagcattc cgctcaaagg tcaactgagac 300
ttttgcctca cctaaagaga ccaaggctca gaaagaaaaa ttaagatgtg aaaataatgc 360
ataaaagaca ggattttttg tgctaccaat tctggcctta ctgga 405

<210> 35

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> KLRD1

Affymetrix annotation

<400> 35

ttctctactt cgctcttgga acataatttc tcatggcagc ttttactaaa ctgagtattg 60

agccagcatt tactccagga cccaacatag aactccagaa agactctgac tgctgttctt 120
gccaaagaaaa atgggttggg taccggtgca actgttactt catttccagt gaacagaaaa 180
cttggaacga aagtggcat ctctgtgctt ctcagaaatc cagcctgctt cagcttcaaa 240
acacagatga actggatttt atgagctcca gtcaacaatt ttactggatt ggactctctt 300
acagtgagga gcacaccgcc tgggttggg agaatggctc tgcactctcc cagtatctat 360
ttccatcatt tg 372

<210> 36

<211> 517

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HLA-B

Affymetrix annotation

<400> 36

gtggcggagc agctgagagc ctacctggag ggcgagtgcg tggagtggct ccgcagatac 60
 ctggagaacg ggaaggagac gctgcagcgc gcggaccccc caaagacaca cgtgacccac 120
 caccatct ctgacctga ggccaccctg aggtgctggg ccctgggctt ctacctgcg 180
 gagatcacac tgacctggca gcgggatggc gaggacaaa ctcaggacac tgagcttgtg 240
 gagaccagac cagcaggaga tagaaccttc cagaagtggg cagctgtggt ggtgccttct 300
 ggagaagagc agagatacac atgccatgia cagcatgagg ggctgccgaa gccctcacc 360
 ctgagatggg agccgtcttc ccagtcacc gtcccatcg tgggcattgt tgctggcctg 420

gctgtcctag cagtgtggt catcgagct gtggtcgtg ctgtgatgtg taggaggaag 480
 agctcaggtg gaaaaggagg gagctactct caggctg 517

<210> 37

<211> 514

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LCP1

Affymetrix annotation

<400> 37

gaagtaagcc tcatcatcag agcctttcct caaaactgga gtcccaaagc tcatcaggtt 60
 ttgtttttt tcaagcacta agaacccttc tcttttaac tctagaattt gggcttggac 120
 cagatctaac atcttgaata ctctgccctc tagagccttc agccttaatg gaaggttga 180
 tccaaggagg tgtaatggaa tcggaatcaa gccactcggc aggcattggag ctataactaa 240

 gcatccttag ggttctgect ctccaggcat tagccctcac attagatcta gttactgtgg 300
 tatggctaac acctgtcaac atttggaggc aatcctacct tgcttttct tctagagctt 360
 agcatatctg attgttgca ggccatatta tcaatgttta ctttttgggt actataaaag 420
 ctttctgcca ccctaaact ccagggggga caatatgtgc caatcaatag caccctact 480
 cacatacaca cacactagc cagctgtcaa gggc 514

<210> 38

<211> 101

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HLA-DRA

Affymetrix annotation

<400> 38

cgatcaccaa tgtacctcca gaggtaactg tgctcacgaa cagccctgtg gaactgagag 60

agcccaacgt cctcatctgt ttcatagaca agttcacccc a 101

<210> 39

<211> 540

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CYTIP

Affymetrix annotation

<400> 39

gaattgcaaa actgacatcc catttcacag caatagtgac ctttatttaa attgttgtgt 60

tatagtttat gcttcttaaa tcatTTTTca acctaaacag ccaatttcta agcagacagg 120

aaaactaaat aataagttaa ttaatataac aaagatgcag gttcctgctc attccagtaa 180

tgtctttgaa agcaaaacta atatttattt tctagattat ccctgtgaat aattgagaac 240

tttttggagt caagtatgaa taaagggtg gcagaatata ataactgga ctattttcta 300

taggataatt gctgggttat aaaatcttag gtttgcttat gcccagtagc tctgcggag 360

gcttaataat aggcaatTTT gaatttgTTC aaacctgtaa tggcttGtaa acaaagatga 420

ccatcagctg ttctcacat ctatagtgac aataaagcgg gaagtataag atttaatagg 480

aggggttaag gttcatgaga accatggaaa gatgtggtct gagatgggtg ctgcaaagat 540

<210> 40

<211> 527

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TRA@ /// TRAC

Affymetrix annotation

<400> 40

tctcgaaccg aacagcagtg cttccaagat aatctttgga tcagggacca gactcagcat 60

ccggccaat atccagaacc ctgaccctgc cgtgtaccag ctgagagact ctaaattccag 120

tgacaagtct gtctgcctat tcaccgattt tgattctcaa acaaatgtgt cacaaagtaa 180

ggattctgat gtgtatatca cagacaaaac tgtgctagac atgaggtcta tggacttcaa 240
 gagcaacagt gctgtggcct ggagcaacaa atctgacttt gcatgtgcaa acgccttcaa 300
 caacagcatt attccagaag acaccttctt ccccagccca gaaagttcct gtgatgtcaa 360
 gctggtcgag aaaagctttg aaacagatac gaacctaaac tttcaaaacc tgcagtgat 420
 tgggttccga atcctctccc tgaagtggc cgggtttaat ctgctcatga cgctcggct 480
 gtggtccage tgagatctgc aagattgtaa gacagcctgt gtcacct 527
 <210> 41

<211> 521

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BTN3A1

Affymetrix annotation

<400> 41

ggaaatttgg atgaaggag ctagaagaaa tacagggatt ttttttttt ttaagatgg 60
 agtcttactc tgttgctagg ctggagtgca gtggtgcat ctcagctccc tgcaacctcc 120
 acctctggg ttcaacaat tctctgect cagcctcccg agtactggga atatagtg 180
 acgccaccac acccaacaaa ttttgtact tttagtacag atgagggttc actatgttg 240
 ccaggatggt ctgatctct tgacctcatg atccaccac ctcggtctcc caaagtctg 300
 ggattacagg ctgagccac cgggtgaccg gtttacaggg atatttttaa tcccgttatg 360

 gactctgtct ccaggagagg ggtctatcca ccctgctca ttggtggatg ttaaccaat 420
 attcctttca actgctgect gctagggaaa aactactcct cattatcatc attattattg 480
 ctctccactg tatcccctct acctggcatg tgcttgtaa g 521

<210> 42

<211> 571

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CXCL2

Affymetrix annotation

<400> 42

agagagacac agctgcagag gccacctgga ttgcgcctaa tgtgtttgag catcacttag 60
 gagaagtctt ctatttattt atttatttatt ttatttattt gtttgtttta gaagattcta 120

tgtaaatt ttatgtgtaa aataaggta tgattgaatc tacttgaca ctctccatt 180
 atatttattg tttattttag gtcaaacca agttagtca atcctgattc atatttaatt 240
 tgaagataga aggtttgcag atattctcta gtcatttggt aatatttctt cgtgatgaca 300
 tatcacatgt cagccactgt gatagaggct gaggaatcca agaaaatggc cagtaagatc 360
 aatgtgacgg cagggaaatg tatgtgtgtc tttttgtaa ctgtaaagat gaatgtcagt 420
 tgttatttat tgaatgatt tcacagtgtg tggtaacat ttctcatgtt gaagctttaa 480
 gaactaaaat gtctaaata tccttggac atttatgtc tttctgtaa gatactgcct 540
 tgtttaatgt taattatgca ggtttccct c 571

<210> 43

<211> 532

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TARP

Affymetrix annotation

<400> 43

aatgataca ctactgtgc agctcacaaa cacctctgca tattacatgt acctctctct 60
 gctctcaag agtgtggtct attttgccat catcacctgc tgtctgctta gaagaacggc 120
 tttctgctgc aatggagaga aatcataaca gacggtggca caaggaggcc atcttttct 180
 catcggttat tgccttaga agcgtcttct gaggatctag ttgggcttct tttctgggtt 240
 tgggccattt cagttctcat gtgtgtaacta ttctatcatt attgtataac ggttttcaa 300
 ccagtgggca cacagagaac ctactctgt aataacaatg aggaatagcc acggcgatct 360
 ccagcaccaa tctctcatg tttccacag ctctccagc caacccaaat agcgcctgct 420
 atagttaga catcctgagg cttctagcct tgcctctc ttagtggttct ttaatcagat 480
 aactgcctgg aagccttca ttttacagc cctgaagcag tcttcttgc ta 532

<210> 44

<211> 459

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> ICOS

Affymetrix annotation

<400> 44

gcttctgaag cagccaatgt cgatgcaaca acatttgtaa ctttaggtaa actgggatta 60
 tgttgtagtt taacattttg taactgtgtg cttatagttt acaagtgaga cccgatatgt 120
 cattatgcat acttatatta tcttaagcat gtgtaatgct ggatgtgtac agtacagtac 180

 ttaacttgta atttgaatct agtatggtgt tctgttttca gctgacttgg acaacctgac 240
 tggctttgca caggtgttcc ctgagttggt tgcaggtttc tgtgtgtggg gtggggtatg 300
 gggaggagaa ccttcatggt ggcccacctg gcctggttgt ccaagctgtg cctcgacaca 360
 tcctcatccc aagcatggga cacctcaaga tgaataataa ttcacaaaat ttctgtgaaa 420
 tcaaatccag ttttaagagg agccacttat caaagagat 459

<210> 45

<211> 484

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> KLRD1

Affymetrix annotation

<400> 45

gaaagactct gactgctggt cttgccaaga aaaatgggtt gggtaccggt gcaactgtta 60

 cttcatttcc agtgaacaga aaacttggaa cgaaagtgg catctctgtg cttctcagaa 120
 atccagcctg cttcagcttc aaaacacaga tgaactggat tttatgagct ccagtcaaca 180
 attttactgg attggactct cttacagtga ggagcacacc gcctggttgt gggagaatgg 240
 ctctgcactc tcccagtatc tatttccatc atttгааact tttaatataa agaactgcat 300
 agcgtataat ccaaattggaa atgctttaga tgaatcctgt gaagataaaa atcgttatat 360
 ctgtaagcaa cagctcattt aatgtttct tggggcagag aaggtggaga gtaaagaccc 420
 aacattacta acaatgatac agttgcatgt tatattatta ctaattgtct acttctggag 480
 tcta 484

<210> 46

<211> 532

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TRBC1

Affymetrix annotation

<400> 46

aaagccaca ctggtgtgcc tggccacagg tatcttcct gaccacgtgg agctgagctg 60
 gtgggtgaat gggaaggagg tgcacagtgg ggtcagcacg gaccgcagc ccctcaagga 120
 gcagcccgc ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgcctgaggg tctcgccac 180
 cttctggcag aacccccgca accacttccg ctgtcaagtc cagtctctac ggctctcgga 240
 gaatgacgag tggaccagg atagggcaa acccgtcacc cagatcgtca gcgccgagc 300
 ctgggtaga gcagactgtg gctttacctc ggtgtcctac cagcaagggg tctgtctgc 360

caccatctc tatgagatcc tgctagggaa ggccaccatg tatgctgtgc tggtcagcgc 420
 cttgtgttg atggccatgg tcaagagaaa ggatttctga aggcagccct ggaagtggag 480
 ttaggagctt ctaaccgcg atggtttcaa tacacattct tctttgccgc gc 532

<210> 47

<211> 484

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TRA@ /// TRAC /// TRAJ17 /// TRAV20

Affymetrix annotation

<400> 47

ggaacaagac ttcaggtcac gctcgatc cagaacctg acctgccgt gtaccagctg 60
 agagactcta aatccagtga caagtctgtc tgctattca ccgattttga ttctcaaca 120

 aatgtgtcac aaagtaagga ttctgatgtg tatatcacag acaaaactgt gctagacatg 180
 aggtctatgg acttcaagag caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca 240
 tgtgcaaagc cttcaaca cagcattatt ccagaagaca cttcttccc cagcccagaa 300
 agttcctgtg atgtcaagct ggtcgagaaa agctttgaaa cagatagaa cctaaacttt 360
 caaaactgt cagtattgg gtccgaatc ctctctga aagtgccgg gtttaactctg 420
 ctcatgacgc tgcggctgtg gtccagctga gatctgcaag attgtaagac agcctgtgct 480
 ccct 484

<210> 48

<211> 445

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HLA-DRA

Affymetrix annotation

<400> 48

gaaggagacg gctcggcggc ttgaagaatt tggacgattt gccagctttg aggctcaagg 60
 tgcattggcc aacatagctg tggacaaagc caacttggaa atcatgacaa agcgcctcaa 120
 ctatactccg atcaccaatg acaagttcac ccaccagtg gtcaatgtca cgtggcttcg 180
 aaatggaaaa cctgtcacca caggagtgtc agagacagtc ttctgcca gggaagacca 240
 ccttttccgc aagtccact atctcccctt cctgccetca actgaggacg tttacgactg 300
 cagggtggag cactggggct tggatgagcc tcttctcaag cactgggagt ttgatgctcc 360

aagccctctc ccagagacta cagagaacgt ggtgtgtgcc ctgggcctga ctgtgggtct 420
 ggtgggcatc attattggga ccac 445

<210> 49

<211> 512

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TARP /// TRGC2

Affymetrix annotation

<400> 49

aaatgataca ctactgctgc agctcacaaa cacctctgca tattacatgt acctcctcct 60
 gctcctcaag agtgtggtct attttgccat catcacctgc tgtctgcttg gaagaacggc 120
 tttctgctgc aatggagaga aatcataaca gacggtggca caaggaggcc atcttttct 180
 catcggttat tgtccctaga agcgtcttct gaggatctag ttgggcttct tttctgggtt 240

tgggccattt cagttctcat gtgtgtacta ttctatcatt attgtataat ggttttcaaa 300
 ccagtgggca cacagagaac ctcagtctgt aataacaatg aggaatagcc atggcgatct 360
 ccagcaccia tctctccatg ttttccacag ctctccagc caacccaaat agcgcctgct 420
 atagttaga cagcctgagg cttctagcct tgcctctc ttagtgttct ttaatcagat 480
 aactgcctgg aagcctttca ttttacagc cc 512

<210> 50

<211> 408

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LOC100130224 /// UTY

Affymetrix annotation

<400> 50

cagaaacctc gatataaat tgtatagatt ttaaaagttt tttttttac atctatgga 60

gtttttgagg tgcctattat aaagtattac ggaagtttgc tgtttttaa gtaaagtct 120

tttagtgtga tttattaagt ttagtcacc atagtgatag cccataaata attgctggaa 180

aattgtattt tataacagta gaaaacatat agtcagttaa gtaaataatt taaaggaaac 240

attatataga ttgataaat gttgtttata attaagagtt tcttatggaa aagagattca 300

gaatgataac ctctttttaga gaacaataa gtgacttatt tttttaaagc tagatgactt 360

tgaaatgcta tactgtcctg cttgtacaac atggtttggg gtgaaggg 408

<210> 51

<211> 444

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> ITK

Affymetrix annotation

<400> 51

ggtgttgcaa ttggctcttt ctaaatacatg tgacgttttg actggcttga gattcagatg 60

cataattttt aattataatt attgtgaagt ggagagcctc aagataaaac tctgtcattc 120

agaagatgat ttactcagc ttatccaaaa ttatctctgt ttacttttta gaattttgta 180

cattatcttt tgggatcctt aattagagat gatttctgga acattcagtc tagaaagaaa 240

acattggaat tgactgatct ctgtggtttg gtttagaaaa tcccctgtg catggtatta 300

cttttttcaa gctcagattc atctaactct caactgtaca tgtgtacatt ctccacctcc 360

tggtgccta tccgcacaaa tgggcttctt gcctggtttt tctcttctca cattttttaa 420

atggtcccct gtgtttgtag agaa 444

<210> 52

<211> 483

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TRBC1 /// TRBC2

Affymetrix annotation

<400> 52

gccatcagaa gcagagatct cccacaccca aaaggccaca ctggtgtgcc tggccacagg 60
 tttctacccc gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat gggaaggagg tgcacagtgg 120
 ggtcagcaca gacccgcagc ccctcaagga gcagcccgcc ctcaatgact ccagatactg 180
 cctgagcagc cgctgaggg tctcggccac ctctggcag aacccccga accacttccg 240
 ctgtcaagtc cagtctacg ggctctcgga gaatgacgag tggaccagg ataggccaa 300

acctgtcacc cagatcgtca gcgccgaggc ctggggtaga gcagactgtg gcttcacctc 360
 cgagtcttac cagcaagggg tctgtctgc caccatctc tatgagatct tgctagggaa 420
 ggccaccttg tatgtctgtc tggtcagtgc cctcgtctg atggccatgg tcaagagaaa 480
 gga 483

<210> 53

<211> 592

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TRA@

Affymetrix annotation

<400> 53

gaatcgtttc tctgtgaact tccagaaagc agccaaatcc ttcagtctca agatctcaga 60
 ctcacagctg ggggatgccg cgatgtattt ctgtgcttat aggagtgcac actctggggc 120

tgggagttac caactcactt tcgggaaggg gaccaaactc tcggtcatac caaatatcca 180
 gaacctgac cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg 240
 cctattcacc gatthtgatt ctcaacaaa tgtgtcaca agtaaggatt ctgatgtgta 300
 tatcacagac aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtctg 360
 ggctggagc aacaaatctg actttgcatg tgcaaagcc ttcaacaaca gcattattcc 420
 agaagacacc ttcttccca gccagaaaag ttctgtgat gteaagctgg tcgagaaaag 480
 ctttgaaca gatacgaacc taaactttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct 540
 cctctgaaa gtggccgggt ttaatctgct catgacgctg cggttgtggt cc 592

<210> 54

<211> 505

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HLA-B

Affymetrix annotation

<400> 54

ctgagagcct acctggaggg cctgtgctgt gagtggctcc gcagatacct ggagaacggg 60
 aaggagagcg tgcagcgcgc ggacccccca aagacacatg tgaccacca ccccatctct 120
 gaccatgagg ccacctgag gtgctgggcc ctgggcttct accctgcgga gatcacactg 180
 acctggcagc gggatggcga ggaccaaact caggacaccg agcttgtgga gaccagacca 240
 gcaggagata gaaccttcca gaagtgggca gctgtgtggtg tgccttctgg agaagagcag 300
 agatacacat gccatgtaca gcatgagggg ctgccgaagc cctcaccct gagatgggag 360

ccatcttccc agtccacat ccccatcgtg ggcattgttg ctggcctggc tgccttagca 420
 gttgtggtca tggagctgt ggtcgctact gtgatgtgta ggaggaagag ctgaggtgga 480
 aaaggaggga gctactctca ggctg 505

<210> 55

<211> 295

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 114, 224

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 114, 224

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> HLA-DQA1 /// HLA-DQA2

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 114, 224

<223> n = A,T,C or G
 <400> 55
 accaatgagg ttctgaggt cacagtgttt tccaagtctc ccgtgacct gggtcagccc 60
 aacacctca tctgtcttgt ggacaacatc tttctcctg tggtaacat cacntggctg 120
 agcaatgggc actcagtcac agaaggtgtt tctgagacca gcttcctctc caagagtgat 180
 cattccttct tcaagatcag ttacctcacc ttctctcctt ctgntgatga gatttatgac 240
 tgcaaggtgg agcactgggg cctggatgag cctcttctga aacctggga gcctg 295

<210> 56

<211> 519

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 284

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 284

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> TRBC1

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 284

<223> n = A,T,C or G

<400> 56

tgactccaga tactgcctga gcagccgctt gaggtctctg gccaccttct ggcagaacct 60
 ccgcaaccac ttccgtgtc aagtccagtt ctacgggctc tcggagaatg acgagtggac 120
 ccaggatagg gccaaaccg tcaccagat cgtcagcgcg gaggcctggg gtagagcaga 180
 ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg tctgccacca tctctatga 240
 gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc agnccttgg tgttgatggc 300
 catggtcaag agaaaggatt tctgaaggca gccctggaag tggagttagg agcttctaac 360

ccgtcatggt ttcaatacac attcttcttt tgccagcgct tctgaagagc tgctctcacc 420
 tctctgcac ccaatagata tccccctatg tgcatgcaca cctgcacact cacggctgaa 480
 atctccctaa cccaggggga ccttagcatg cctaagtga 519

<210> 57

<211> 419

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD3D

Affymetrix annotation

<400> 57

gggaacactg ctctcagaca ttacaagact ggacctggga aaacgcatcc tggacceacg 60
 aggaatatat aggtgtaatg ggacagatat atacaaggac aaagaatcta cctgcaagt 120

t cattatcga atgtgccaga gctgtgtgga gctggatcca gccaccgtgg ctggcatcat 180
 t gtcactgat gtcattgcca ctctgctcct tgctttggga gtcttctgct ttgctggaca 240
 t gagactgga aggctgtctg gggctgccga cacacaagct ctgttgagga atgaccaggt 300
 c taticagccc ctccgagatc gagatgatgc tcagtacagc caccttgag gaaactgggc 360
 t cggaacaag tgaacctgag actggtggct tctagaagca gccattacca actgtacct 419

<210> 58

<211> 540

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 56, 165, 168, 171, 172, 174, 178, 183, 455, 480, 486

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 56, 165, 168, 171, 172, 174, 178, 183, 455, 480, 486

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> HOMER1

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 56, 165, 168, 171, 172, 174, 178, 183, 455, 480, 486

<223> n = A,T,C or G

<400> 58

tgctggagtc cactgccaat gtgaaacaat ggaacacagca acttgctgcc tatcangagg 60
 aagcagaacg tctgcacaag cgggtgactg aacttgaatg tgtagtagc caagcaaatg 120
 cagtacatac tcataagaca gaattaaatc agacaataca agaantgnaa nngncacnga 180

aantgaagga agaggaaata gaaaggtaa aacaagaaat tgataatgcc agagaactac 240
 aagaacagag ggattctttg actcagaaac tacaggaagt agaaattcgg aacaagacc 300
 tggagggaca actgtctgac ttagagcaac gtctggagaa aagtcagaat gaacaagaag 360
 cttttcgcaa taacctgaag acactcttag aaattctgga tggaaagata ttgaaactaa 420
 cagaattacg agataacttg gccaaagctac tagantgcag ctaaggaaag tgaatttcn 480
 gtgccnatta attaaaagat acactgtctc tcttcatagg actgtttagg ctctgcatca 540

<210> 59

<211> 485

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 407

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 407

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> KLRB1

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 407

<223> n = A,T,C or G

<400> 59
 ggttcacctt ggcatcaatt tgcctgaaa cttagctgtg ctgggattat tctcctgtc 60
 ttggttgtta ctgggttgag tgtttcagt acatccttaa tacagaaatc atcaatagaa 120
 aatgcagtg tggacattca acagagcagg aataaaacaa cagagagacc ggtctctta 180
 aactgccaa tatattgga gcaactccga gagaaatgct tgttatttc tcacactgtc 240

 aacccttga ataacagtct agctgattgt tccaccaaag aatccagcct getgettatt 300
 cgagataagg atgaattgat acacacacag aacctgatac gtgacaaagc aattctgttt 360
 tggattggat taaattttc attatcagaa aagaactgga agtgganaaa cggtctttt 420
 ttaaattcta atgacttaga aattagaggt gatgctaaag aaaacagctg tatttccatc 480
 tcaca 485
 <210> 60
 <211> 532
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 108, 111, 121, 122, 123, 142, 171, 172, 174, 176, 187, 188,
 431, 433, 434
 <223> n = A,T,C or G
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 108, 111, 121, 122, 123, 142, 171, 172, 174, 176, 187, 188,
 431, 433, 434
 <223> n = A,T,C or G
 <220>
 <223> TARP /// TRGC2
 Affymetrix annotation
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 108, 111, 121, 122, 123, 142, 171, 172, 174, 176, 187, 188,
 431, 433, 434
 <223> n = A,T,C or G
 <400> 60

aaatgataca ctactgctgc agctcacaaa cacctctgca tattacatgt acctcctcct 60
 gctcctcaag agtgtggtct attttgccat catcacctgc tgtctgcntg naagaacggc 120

nnctgctgc aatggagaga antcataaca gacggtggca caaggaggcc ncnctntcct 180
 catcggnnat tgcctctaga agcgtcttct gaggatctag ttgggcttct tttctgggtt 240
 tgggccattt cagttctcat gtgtgtacta ttctatcatt attgtataat ggttttcaaa 300
 ccagtgggca cacagagaac ctctctctgt aataacaatg aggaatagcc atggcgatct 360
 ccagcaccaa tctctccatg ttttcacag ctctccagc caacccaaat agcgcctgct 420
 atagtgtaga nanntgctgg cttctagcct tgcctctctc ttagtgcttct ttaatcagat 480
 aactgcctgg aagcctttca ttttacacgc cctgaagcag tcttctttgc ta 532
 <210> 61

<211> 553

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 102, 199, 200, 202, 203, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211,
 212

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 102, 199, 200, 202, 203, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211,
 212

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> TARP /// TRGC2

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 102, 199, 200, 202, 203, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211,
 212

<223> n = A,T,C or G

<400> 61

cactactgct gcagctcaca aacacctctg catattacat gtacctctc ctgctcctca 60
 agagtgtggt ctatnttggc atcatcacct gctgtctgct tngaagaacg gctttctgct 120
 gcaatggaga gaaatcataa cagacggtgg cacaaggagg ccatcttttc ctcacggtt 180
 attgtcccta gaagcgtcmn cnnannnnnn nnttgggctt tctttctggg ttggggccat 240
 ttcagttctc atgtgtgtac tattctatct attgtataat ggttttcaa ccagtgggca 300
 cacagagaac ctactctgt aataacaatg aggaatagcc atggcgatct ccagcaccaa 360
 tctctccatg tttccacag ctctccagc caacccaaat agcgctgct atagttaga 420
 cagcctgcgg ctctagcct tgcctctc ttagtgttct ttaatcagat aactgcctgg 480

aagcctttca ttttacagc cctgaagcag tcttctttgc tagttgaatt atgtggtgtg 540
 tttttccgta ata 553

<210> 62

<211> 523

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 82, 102, 107, 108, 134, 323, 426, 427, 428, 429, 430, 431,
 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 82, 102, 107, 108, 134, 323, 426, 427, 428, 429, 430, 431,
 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> HLA-A /// HLA-A29.1 /// HLA-B /// HLA-G /// HLA-H

///

HLA-J

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 82, 102, 107, 108, 134, 323, 426, 427, 428, 429, 430, 431,
 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440

<223> n = A,T,C or G

<400> 62

tacctggagg gcacctgcat ggagtggctc cgcagacacc tggagaacgg gaaggagacg 60
 ctgcagcgcg cggacccccc cnaagacaca cgtgaccac cncctnct ctgaacatga 120
 ggcataacga ggtinctgggt tctgggcttc tacctgcgg agatcacatt gacctggcag 180

cgggatgggg aggaccagac ccaggacatg gagctcgtgg agaccaggcc cacaggggat 240
 ggaaccttc agaagtgggc ggttgtggtg gtgccttctg gagaggaaca gagatacaca 300
 tgccatgtgc agcacaagg gcntgcccaa gccctcctc ctgagatggg agcctctcc 360
 ccagcccacc atccccattg tgggtatcat tctggcctg gttctcttg gagctgtggt 420
 cactgnnnnn nnnnnnnnnn ctgtgatgtg gaggaagaag agctcagata gaaaaggagg 480
 gagctactct caggctgcaa gcagccaaag tgcccagggc tct 523

<210> 63

<211> 424

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HLA-DMA

Affymetrix annotation

<400> 63

ctgttttgc agtaatctct tcccacccat gctgacagtg aactggcagc atcattccgt 60
 ccctgtggaa ggatttgggc ctactttgt ctcagctgtc gatggactca gttccaggc 120
 cttttcttac ttaaacttca caccagaacc ttctgacatt ttctctgca ttgtgactca 180
 cgaattgac cgctacacag caattgccta ttgggtaccc cggaacgcac tgcctcaga 240
 tctgctggag aatgtgctgt gtggcgtggc ctttggcctg ggtgtgctgg gcatcatcgt 300
 gggcattggt ctcatcatct acttccggaa gccttgcctca ggtgactgat tcttccagac 360
 cagagtttga tgccagcagc ttcggccatc caaacagagg atgctcagat ttctcacatc 420

ctgc 424

<210> 64

<211> 429

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> EAF2

Affymetrix annotation

<400> 64

gaacaggtga ccataactct gccaaatata gaaagttgaa ggaagtagta aaattcagta 60
 tcgtaaagaa caacagcaac aacaaatgtg gaattcagcc aggactecca atcttgtaaa 120
 acattctcca tctgaagata agatgtcccc agcatctcca atagatgata tcgaaagaga 180
 actgaaggca gaagctagtc taatggacca gatgagtagt tgtgatagtt catcagattc 240
 caaaagtcca tcatcttcaa gtagtgagga tagttctagt gactcagaag atgaagattg 300

caaatcctct acttctgata caggaattg tgtctcagga catctacca tgacacagta 360
 caggattcct gatatagatg ccagtcataa tagatttcca gacaacagtg gccttctgat 420
 gaatacttt 429

<210> 65

<211> 514

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> DENND2D

Affymetrix annotation

<400> 65

ttctcacttt tcatccagga agccgagaag agcaagaatc ctctgcagg ctatttccaa 60
 cagaaaatac ttgaatatga ggaacagaag aacagaaga aaccaaggga aaaaactgtg 120
 aaataagagc tgtggtgaat aagaatgact agagctacac accatttctg gacttcagcc 180

cctgccagtg tggcaggatc agcaaaactg tcagctccca aaatccatat ctcactctg 240
 agtcttggtta tccaggtatt gcttcaaact ggtgtctgag atttggatcc ctggtattga 300
 tttctcagga ctttggaggg ctctgacacc atgctcacag aactgggctc agagctccat 360
 tttttgcaga ggtgacacag gtaggaaaca gtagtacatg tgtttagac acttggttag 420
 aagctgctgc aactgccctc tccatcatt ataacatctt caacacagaa cacactttgt 480
 ggtcgaaagg ctcagcctct ctacatgaag tctg 514

<210> 66

<211> 429

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 129

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 129

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> HLA-F

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 129

<223> n = A,T,C or G

<400> 66

tctacctgc ggagatcacg ctgacctggc agcgggatgg ggaggaacag acccaggaca 60
 cagagcttgt ggagaccagg cctgcagggg atggaacctt ccagaagtgg gccgctgtgg 120
 tggctcctnc tggagaggaa cagagataca catgccatgt gcagcacgag gggctgcccc 180
 agccccctcat cctgagatgg gagcagtctc cccagcccac catccccatc gtgggcatcg 240

ttgctggcct tgttgtcctt ggagctgtgg tctactggagc tgtggtcgct gctgtgatgt 300
 ggaggaagaa gagctcagat agaaacagag ggagctactc tcaggctgca gtgtgagaca 360
 gcttccttgt gtgggactga gaagcaagat atcaatgtag cagaattgca cttgtgctc 420
 acgaacata 429

<210> 67

<211> 299

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SLAMF7

Affymetrix annotation

<400> 67

aacacctgtg ctaggtcagt ctggcagta agatgaacat ccctaccaac acagagctca 60

ccatctctta tacttaagtg aaaaacatgg ggaaggggaa aggggaatgg ctgcttttga 120

tatgttcctt gacacatc ttgaatggag acctccctac caagtgatga aagtgtttaa 180

aaacttaata acaaatgctt gttgggcaag aatgggattg aggattatct tetctcagaa 240

aggcattgtg aaggaattga gccagatctc tctccctact gcaaaaccct attgtagta 299

<210> 68

<211> 307

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MCM10

Affymetrix annotation

<400> 68

aaactttccc atctagataa tgatgatcac atagtcttga tgtacggaca ttaaaagcca 60

gatttcttca ttcaattctg ttatctctgt tttactcttt gaaattgatc aagccactga 120

atcactttgc atttcagttt atatatatag agagaaagaa ggtgtctgct cttacattat 180

tgtggagccc tgtgatagaa atatgtaaaa tctcatatta tttttttttt aattttttta 240

ttttttatga cagggtctca ctatgtcacc ctggctggag tgcagtagtg cgatcgcggc 300

aactgc 307

<210> 69

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> KIAA1549

Affymetrix annotation

<400> 69

aatgactgc atcgtctct tttttaaagg tagagattaa actgtataga cagcataggg 60

atgaaaggaa ccaagcgttt ctgtgggatt gagactggta cgtgtacgat gaacctgctg 120

ctttgttttc tgagaagagg tttgaagaca ttttattaac agcttaattt ttctctttta 180

ctccatagga acttatttta atagtaacat taacaacaag aataactaaga ctgtttggga 240

attttaaaaa gctactagtg agaaaccaa tgataggttg tagagcctga tgactccaaa 300

caaagccatc accgcattc ttctccttc ttctggtgct acagctcaa gggcccttca 360

ccttcatgtc tgaatgg 378

<210> 70

<211> 492

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> AADAT

Affymetrix annotation

<400> 70

ggcagctgca gacaagtgg taactggttt ggcagaatgg catgttcctg ctgctggaat 60

gtttttatgg attaaagtta aaggcattaa tgatgtaaaa gaactgattg aagaaaaggc 120

cgttaagatg ggggtattaa tgctccctgg aaatgctttc tacgtcgata gctcagctcc 180

tagcccttac ttgagagcat ctttctcttc agcttctcca gaacagatgg atgtggcctt 240

ccaggtatta gcacaactta taaaagaatc tttatgaaga aattaaacta ggttgggcat 300

ggtgctcac acctataatc ccagcacttt gggaggcaga ggaggaggga tcaactgaac 360

ccaggaatc aggctgcagt aagctacgat cacaccactg cactctggcc tgcattgact 420

ctggcctgca tggcagaaca agacctgtc tctaaaaaaaa gagaaagaaa tcaaactaat 480

catgctgctc at 492

<210> 71

<211> 474

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LONRF2

Affymetrix annotation

<400> 71

acagttcaac cagtgaccga cttctctctc atgctgttta cccacacac aatttccac 60

tcaattctga aaataagaac ctgttaatag gttggaaagc tgtgtactct attcatatat 120

tgttctttca tgctagtgga gagtgggtgc attagcatct taattttaga gttgtgaaat 180

gattttacca attaggaatt gaatgtgtat ttttttctg ttttaataaga agagcaaatt 240

tgaataaata agctgggtga gataaactta ataactatgc ttttcttctg ttggagatag 300

gtgatgtgtt gtcatatcct gtgatacagg tcaactcatct ggccttctgt ttctgaagtt 360

taagtctggt ttgaatatgt aataatacta ctcagcattt cttgttgct aagtgagacg 420
 aaacttaa at gttatgatat ttacttcatg tattcttgta ctgttcattt caat 474
 <210> 72
 <211> 563
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 35, 55, 96
 <223> n = A,T,C or G
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 35, 55, 96
 <223> n = A,T,C or G
 <220>
 <223> MAP1B
 Affymetrix annotation
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 35, 55, 96
 <223> n = A,T,C or G
 <400> 72
 aatggcttct atgatacaga ctgggaaaac agtgnatctt atggtggaag aggtncctcag 60

 caagtgtaca gtatttacct tcctttgtct tacatnggct ttttaaattt tccattaatt 120
 tcaacataat tatgggaaca agtgtacaga agaatttttt ttttaagata tgtgagaact 180
 ttctatagat gaacttttta acaaatgttt tcatttacag gaaattgcaa agaaaattct 240
 caagtgatag tcittttttt taagtgtttc gtaagacaaa aattgaataa tgttttttga 300
 agttctggca agattgaagt ctgatattgc agtaatgata tttattaaaa acccataact 360
 accaggaata atgatacctc ccacccttg attcccataa cataaaagtg ctacttgaga 420
 gtgggggaga atggcatggt aggtactttt tcagggcctt gacaagtaca tcaccagtg 480
 gtatcctaca tacttctttc aagatcttca accatgaggt aaaagagcca agttcaaaga 540

 accctagcac aaatttgctt tgg 563
 <210> 73

<211> 480

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C2orf63

Affymetrix annotation

<400> 73

acagggtcag actcataggg tcatggagta catacagcag ttgaaggact ttactaccga 60
 tgacctgttg cagctattaa tgtcatgtcc ccaagttgaa ttaattcagt gtctcactaa 120
 agagttgaat gagaacaac catctttatc ttttggcttt gctatacttc atctgttctc 180
 tgcagacatg aaaaaagttg gcattaagct acttcaagaa atcaataaag gtgggataga 240
 tgcagtagaa agtcttatga taaatgattc cttttgctcc atagaaaagt ggcaagaagt 300

ggcaaatata tgttcacaga atggctttga caaattatct aatgacatca cgtctattct 360
 tcgatctcag gctgcagtta cagaaatttc tgaagaggat gacgcagtca acctaattga 420
 acatgtgttt tggtagtctt atatcttaac cagctgaggg agcttgtaca acaccttatg 480

<210> 74

<211> 289

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FAM26F

Affymetrix annotation

<400> 74

gtactggccc ttcggattga aagtatacag tgatgaaatt tgctgccact ctttcatgct 60
 tggagtgtta tattcttttg gatgcgagcc ctcaaagaaa catttaatat tctcttttgc 120
 caattcagtt gcatgctctg tggctttact ttaaggatc tgctgctcct gttccaaata 180

gattttccag aatttcagct gcagaaaact aactggagat aggcacgagg tgacagatgt 240
 aaaaatcaga agaattgatga taacaactgc tatcaagatc cagcccaac 289

<210> 75

<211> 410

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SHROOM3

Affymetrix annotation

<400> 75

aataacttca ttcctacaa ggtataaaaa gtggtcaagt gaatgtgaag gggcttttct 60
 acacaggaat atattatcgg gaacaaagta ttcctgctg ccttaactct ttgggatgca 120
 taggataaaa tgataaagac cattttaata tcagaaaggg ttgtcttatt aatttttaa 180
 taaaacttca ctttcttaa tggggagctc attcagaaac taaataatgg tttctcaaag 240

tggtgctcagg atacgatctg catcagaatc cttggaatgc ttgttaaaaa taccaattgc 300
 tatgacaaaa ccaagtctgc tggaaactgc atttcagcag gtttcccatg ttattctgat 360
 gtattttaac attgagagc cactaccaat catctgtaca gttcctactg 410

<210> 76

<211> 488

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LOC100130216 /// USP9Y

Affymetrix annotation

<400> 76

aaccaataca caaaatttcc ctatgtcaga atgtggtgga gcataataga ttgtatttgg 60
 tgtgcttgcg atttttttt tccatagaat ttattaagtg aagtttctaa aactttgctt 120
 ctctgatcc cggatgaagtg tacatcataa gaatccatag tactttgaag taccattgca 180

ccaagatgtc tgactgaatt catagtcaca cttttatttg aaagaaagaa ttgtttagt 240
 ttttttcat tattctaaaa ctcttgttgt tagatacaag atttaattaa gatctaagct 300
 cctgcttatt taatgaatt ctaaggtacc attttagaaa aacatttgt ttaagattc 360
 caagaaacct gtgagttaat actatattta aaagagaatt ggtaaatttt gaatgtgtgt 420
 aatattttgg aacctgttta aaaaccaa atacctgcaa atagatacag cctatcctat 480
 actattta 488

<210> 77

<211> 537

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171,
172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 439,
440, 492

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171,
172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 439,
440, 492

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> Clorf162

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171,

172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 439,
440, 492

<223> n = A,T,C or G

<400> 77

tgctgctgat agcctttatc ttectcatca taaagagcta cagaaaatat cactccaagc 60
cccaggcccc agatcctcac tcagatcctc cagccaagct ttcattccatc ccagggggaat 120
cattaccta tgccagcaca actttcaaac tctcagaagn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 180
nmatgctcaa attaaagtaa caaactaact cagcttttcc aatgaggctt gaatccattt 240
cctctcatct cagccctatc ttacacatc actttcactt ttttaciaat tttggaccac 300
cacctgtgtg aaactgcagt cggagttggt tagatgtgat ctggcaatgc tatccagcat 360

ctttggagac caatggtcag tcttttctcg gccagaggaa agattgatgg ccttcccact 420
tgaactgaca gcctgtgann cccttggggg catagactgc cttccttgga cccttccaaa 480
gtgtgtggtg cngagctcag tgacacagat attcaccag catcatgaat caacttg 537

<210> 78

<211> 413

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> C4orf7

Affymetrix annotation

<400> 78

tgaagaaagt tctcctcctg atcacagcca tcttggcagt ggctgttggg ttcccagtct 60

ctcaagacca ggaacgagaa aaaagaagta tcagtgcagc cgatgaatta gcttcagggt 120

tttttgtgtt cccttaccca tatccatttc gcccaattcc accaattcca tttccaagat 180

ttccatgggt tagacgtaat tttcctattc caatacctga atctgccctt acaactcccc 240

ttcctagcga aaagtaaaca agaaggaaaa gtcacgataa acctgggtcac ctgaaattga 300

aattgagcca cttccttgaa gaatcaaaat tctgttaat aaaagaaaaa caaatgtaat 360

tgaaatagca cacagcattc tctagtcaat atctttagtg atcttcttta ata 413

<210> 79

<211> 494

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 50

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 50

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> FAM26F

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 50

<223> n = A,T,C or G

<400> 79

gctgatttag cttatggaag aggaaccaga aatttgcct tgaataatgn ttcccgtgtt 60
 gggtggatc ttgatagcag ttgttatcat cattctctg attttacat ctgtcacccg 120
 atgcctatct ccagttagtt ttctgcagct gaaattctgg aaaatctatt tggaacagga 180
 gcagcagatc cttaaaagta aagccacaga gcatgcaact gaattggcaa aagagaatat 240
 taaatgtttc tttgaggct cgcatccaaa agaataaac actccaagca tgaaagagtg 300
 gcagcaaatt tcatcaactg atactttcaa tccgaagggc cagtactaca gcatgttgca 360
 caaatatgtc aacagaaaag agaagactca cagtatcagg tctactgaag gagatacgg 420

gattcctgtt cttggctttg tagattcacc tggataaac agcactcctg agttatgacc 480
 ttttgaatga gtag 494

<210> 80

<211> 299

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FAM26F

Affymetrix annotation

<400> 80

gtgttgggct ggatcttgat agcagttggt atcatcattc ttctgatttt tacatctgtc 60
 acccgatgcc tatctccagt tagttttctg cagctgaaat tctggaaaat ctatttggaa 120
 caggagcage agatccttaa aagtaaagcc acagagcatg caactgaatt ggcaaaagag 180
 aatattaat gtttctttga gggctcgcat caaaagaat ataactcc aagcatgaaa 240

gagtggcage aaatttcacc actgtatact ttcaatccga agggccagta ctacagcat 299

<210> 81

<211> 136

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FAM26F

Affymetrix annotation

<400> 81

tctactcatt caaaaggcca taactcagga gtgctgttta taccagatga atctacaaag 60
 ccaagaacag gaatcacctg atctccttca gtagacctga tactgtgagt cttctctttt 120
 ctgttgacat atttgt 136

<210> 82
 <211> 549
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc_feature
 <222>
 > 128, 129, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 167
 <223> n = A,T,C or G
 <220>
 <223> GBP5
 Affymetrix annotation
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 128, 129, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 167
 <223> n = A,T,C or G
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 128, 129, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 167
 <223> n = A,T,C or G
 <400> 82

```

ttagctcctc aagcatatct gactggcatg atcctgcatt gtggttacct ggaagggaaa 60
aacaaccctt ggaatttita tccaggaagt tgaacaatc acaacaaaa gtgggaggca 120

gaaggaanng gcacattaat cctnnnnnnn nttatctttt tctcctnaga ggcacaagtg 180
aaagcagaag ctgaaaaggc tgaagcgcaa aggttgccgg cgattcaaag gcagaacgag 240
caaatgatgc aggagagggg gagactccat caggaacaag tgagacaaat ggagatagcc 300
aaacaaaatt ggctggcaga gcaacagaaa atgcaggaac aacagatgca ggaacaggct 360
gcacagctca gcacaacatt ccaagctcaa aatagaagcc ttctcagtga gctccagcac 420
gcccagagga ctgttaataa cgatgatcca tgtgttttac tctaaagtgc taaatatggg 480
agtttctttt tttactctt tgtcactgat gacacaacag aaaagaaact gtagaccttg 540
ggacaatca                                         549
    
```

<210> 83
 <211> 435

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 36, 55, 64, 65, 96, 177, 410

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> HILS1

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 36, 55, 64, 65, 96, 177, 410

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 36, 55, 64, 65, 96, 177, 410

<223> n = A,T,C or G

<400> 83

gcacgtccaa ggtgatcctg agggctgtgg cggacnaagg ggacctgcaa gtatntgtcc 60
ctgmnccacc tgaagaaggc tgtttccacc acgggntacg acatggccccg aaatgcctat 120

cacttcaagc gtgtgctcaa ggggctgggtg gacaaggct cagcaggtga cggcanggg 180
ggcctcagc tccttcacc tgggcaagaa gcaggcctcc aagtccaagc tcaaggtcaa 240
gaggcaacga cagcagaggt ggcgctctgg gcagcgcccc tttggacagc acaggtcact 300
actgggctcc aaacaggggc acaagcggct tatcaagggg gttcgaaggg tggccaagtg 360
ccactgcaat taatgaggca ggccaggcaa gcagtcaggg gtgccaagan cgccattggc 420
tcagtgcagt gggaa 435

<210> 84

<211> 262

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GBP1

Affymetrix annotation

<400> 84
 ggaacaggag caactactaa aagagggatt tcaaaaagaa agcagaataa tgaaaaatga 60
 gatacaggat ctccagacga aaatgagacg acgaaaaggca tgtaccataa gctaaagacc 120
 agagccttcc tgcaccctc aaccaaggca taattgaaac aattttagaa ttggaacaa 180
 gcgtcactac attgataat aattagatct tgcatcataa caccaaaagt ttataaaggc 240
 atgtggtaca atgatcaaaa tc 262

<210> 85

<211> 413

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> SLA2

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375

<223> n = A,T,C or G

<400> 85

aacacctctt aagtctagca cactgcagtg aggccaggca cctcagtgct gggcaggggc 60
 atcagaaggt gctaagccct ctctccacaa tgccaagacg gagaccacag cctacaccaa 120
 atccagccct tgatttcctt gctgcctcca taaacagaaa gaggtctgct ggatccgcta 180
 agggatcagg gagaggaaga aagagggatg ggggtggagg cacccctcc agtgctccta 240

 ctggttccca agctacaggt ggggtgggaa aggctttatc aggtatcadc aacaggttct 300
 caattaaaga ttgatttat tcaagtatgt gaaaaaatc tacaatggaa actcttatta 360
 gatgctgcnm nnnnngtget atggaccacg cacatacagc catgctgttt cag 413

<210> 86

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 189

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> B2M

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 189

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 189

<223>

> n = A,T,C or G

<400> 86

```
acataccttg ggttgatcca cttaggaacc tcagataata acatctgcca cgtatagagc 60
aattgctatg tcccaggcac tctactagac acttcataca gtttagaaaa tcagatgggt 120
gtagatcaag gcaggagcag gaaccaaaaa gaaaggcata aacataagaa aaaaaatgga 180
aggggtggnn aacagagtac aataacatga gtaatttgat gggggctatt atgaactgag 240
aaatgaactt tgaaaagtat cttggggcca aatcatgtag actcttgagt gatgtgttaa 300
ggaatgctat gaggctgag agggcatcag aagtccttga gagcctcc          348
```

<210> 87

<211> 411

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 26, 28, 32, 38, 46, 49, 60, 63, 64, 65, 68, 76, 79, 80, 81,

90, 98, 214

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> STAT1

Annotation from R2.6 that became NA in R2.9

<220>

<221> misc_feature

<222> 26, 28, 32, 38, 46, 49, 60, 63, 64, 65, 68, 76, 79, 80, 81,

90, 98, 214

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 26, 28, 32, 38, 46, 49, 60, 63, 64, 65, 68, 76, 79, 80, 81,

90, 98, 214

<223> n = A,T,C or G

<400> 87

gaatatTTga atctacctag tgagtntnta gngcatgntt ttgtcnggna tcttggaan 60

gcnmncnca aaaagniam ntttgcccn ttcaaaaanca tgcacctga agaagctgtt 120

tgtacaggat tgggtttatt ctgttattaa gacaaaggca tcatggcctt tgggtgagag 180

gcccgtgtgt gtttgggatt tggcaatcag catnccatct ctgtcatcac cattattgag 240

aaaatagatg gattggttcc ctctctgcag tctgtggag cagttggact gctctctctg 300

ctctcaggat gatactgtga gaacaattta aatatgctaa gcacatgtca ggaaacagtt 360

ttgtgtctt tggacactcg ctgtagccat tccgttccat ttcaggtgat t 411

<210> 88

<211> 559

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SLITRK6

Affymetrix annotation

<400> 88

gaagtccatc ctttgggtcca aagcatctgg aagaggaaga agagaggaat gagaaagaag 60

gaagtgatgc aaaacatctc caaagaagtc ttttgaaca ggaaaatcat tcaccactca 120

cagggtcaaa tatgaaatac aaaaccacga accaatcaac agaattttta tccttccaag 180
 atgccagctc attgtacaga aacatttttag aaaaagaaag ggaacttcag caactgggaa 240
 tcacagaata cctaaggaaa aacattgctc agctccagcc tgatatggag gcacattatc 300
 ctggagccca cgaagagctg aagttaatgg aaacattaat gtactcacgt ccaaggaagg 360
 tattagtgga acagacaaaa aatgagtatt ttgaacttaa agctaattta catgctgaac 420

ctgactattht agaagtctcg gagcagcaaa catagatgga gagtttgagg gctttcgag 480
 aaatgctgtg attctgtttt aagtcatac cttgtaaata agtgccttac gtgagtgtgt 540
 catcaatcag aacctaagc 559

<210> 89

<211> 107

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GOLGA7

Annotation from R2.6 that became NA in R2.9

<400> 89

agaagagatt ctgctgtcta catcaataca cctgaatagt tggacagaaa attgaaatct 60
 tttaactaat tctaactatg aagcacagtg aatagaaaag ttaggct 107

<210

> 90

<211> 517

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 152, 197, 233, 234, 241, 249, 262, 279, 285, 297, 311, 312,
 313, 314

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> GBP4

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 152, 197, 233, 234, 241, 249, 262, 279, 285, 297, 311, 312,

313, 314

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 152, 197, 233, 234, 241, 249, 262, 279, 285, 297, 311, 312,

313, 314

<223> n = A,T,C or G

<400> 90

gacagtgagc tggcacagag ttagggaaat tgactgtgtc tcatattggc tagtgagagt 60
 gatctgttgg aattgtatat caaaatttta atgtacatac atttgtcta gcaattctac 120
 tattgggtat ttatatagta catataaata tnaatgtata tgtttagtaa atatatactt 180
 atagttagta aatatanttt atatctatit agtaaataata ctaaagtca ggnntctgag 240
 nccaagctna agccatcata tncctgtga cctgcatgnt acatncgtcc agatggngctg 300
 aagcaagtga nmntcacia aagaagtga aatggcctgt tctgcctta actgatgaca 360
 ttacctgtg aaattccttc tctggctca tctggctca aaagctcccc cactaagcaa 420

cttgtgacac ccacctctgc cgcgagagaa caacccctt tgactgtaat tttcctttac 480
 caacccaat cctgtaaaat ggteccaacc tatctcc 517

<210> 91

<211> 305

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 41

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> EPST11

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 41

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature
 <222> 41
 <223> n = A,T,C or G
 <400> 91
 accctgcact cccaaagatt ttgtgcagat ggtagttcc ntttttaaa aattgtgcag 60

 atatggaaaa ttgtgactta cttcatgacc agaactatct agaatatgtg tgggggtata 120
 aacatcttgc ttaaccaa atctatgtag gcagaggtaa ccaggagaga agcaagactt 180
 gctgcctaaa ggagcccacc attttacttt tcacatttaa tctgccacgt tgaatcaatt 240
 ggaataaaac ctgactcgca ggtgactgga caggaaatcc caaagttcca ccatttctat 300
 gctta 305
 <210> 92
 <211> 361
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> ZNF285A
 Affymetrix annotation
 <400> 92
 gaaacccatg ctcttactat gaaagaacgt tagtaccag gttttccatg agattctcta 60

 cacaggcaag aagctccata gaagtggcat ttgaagggtg tggcagaggc agtgctgtgt 120
 ttatcacact ggttccattt cttgcaa at aagaagtcta tttccagta acccttgcag 180
 ttaagagtgt gccatgtga ttgagttcta gccaatggag tgtgagcaaa agtgatataa 240
 gccactttca ggictagcct ttacaacat cctcaggctt ctctatcct gccaaagtga 300
 ccttgaggc tgcttattcc agactgggtt gatagaaggt cactacttca tctgtgttg 360
 a 361
 <210> 93
 <211> 350
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 26, 324

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> TMEM56

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 26, 324

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 26, 324

<223> n = A,T,C or G

<400> 93

atgaatcagt gttactagga cttatncagt acttaaaata gcaacttggc attctttatt 60
 ttgtttcctg gttgttttat ttggagggat aataaatgtc taagttattt ccattaaaat 120
 tttgaaatgt ttgtatactt tatgtgtgcc attttaaagt atatgcaagt tctaagcaat 180
 aatctgcatg ttatacaagg ttgacatatt ttgtcctgaa atttttagtt aacatttcaa 240

gaatgataaa atgaacaccc tgtaaattac ctttctcccc ctcccctcca tgaaaacctt 300
 gggattttct tgtgctagaa cacntaccac aatgtggtgc aaagctttgt 350

<210> 94

<211> 536

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 117, 137, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 149,
 152, 153, 154, 155, 221

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> NA

<220>

<221> misc_feature

<222> 117, 137, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 149,
 152, 153, 154, 155, 221

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 117, 137, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 149,
152, 153, 154, 155, 221

<223> n = A,T,C or G

<400> 94

aatgtacc ttgattgat gctaagtctg tatttagggc tgaaggaagc acacactaaa 60
tatctgagtg ctttcagat tccatctatg ctgaaaaaga atctaggaga ataaacncat 120
ttcaattagc ccitaanann nnnnnnana annnnagccc actaaagccc agtagggcat 180
aggagagaac actgcaccag gattcagatc tggattctaa nttttgttct gaaaaatagc 240
aagtgcact ggcatgccat ttaacctctc cgggcctcaa tttccactat agatagtacc 300

tgatgtgca gtaagacaac tgatgtaact ttgccaaca agtagaatta tccttcctcc 360
tttgcctgc tctgctag cttttaatac ttggtctgcc ctaacatttt cctgtatgta 420
ttctttatc ccagatattc gaacaattgc tagcaaggaa aagtaatgac ggattttcat 480
ttccaatat agtctgcaa agaaatgaaa ggtttacttc tccttgctaa ttcaat 536

<210> 95

<211> 403

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GBP5

Affymetrix annotation

<400> 95

aacaatgtgc agctttcaac tgggtggagg ctgctattct gtggacagtg agatgtttcc 60
ttggcactgt caatagacaa tctgcgtaga gaaattccaa gctgaaagcc aataatgta 120

taataaaata gagattcttc agaagatgaa aggaattacc agcatggaaa ttgtgtcata 180
ggcttaaggg ctaaagaaga agccttttct tttctgttca cctcaccaa gagcacaact 240
taaatagggc atttataac ctgaacacaa tttatattgg acttaattat tatgtgtaat 300
atgtttataa tcctttagat cttataaata tgtggtataa ggaatgcat ataatgtgcc 360
aaaaatctga gtgcatttaa tttaatgctt gcttatagtg cta 403

<210> 96

<211> 346

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> UBASH3B

Afymetrix annotation

<400> 96

gcttctacaa gtgtgccaca tcaatccggt aatgccccag tgttattcac agacagaact 60

ttgtttcctg tgattttaa ataccgcgtc tgttctcca tggaccagag taattggcac 120

atntaatgc ataagctggg ggtttcattt tcccagctc tcttaccat cactgcattg 180

gtagctagga gcttattgct tcacccagct atggagtca gattacagtg ttttcatta 240

catttagatt catagaatct gaatggctga ttaaattggc atctgatgc tgaaagaggg 300

gcgtatnttt cactctgtag tgaaaggctt ggaggagttt ctactt 346

<210> 97

<211> 435

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 220, 221, 225, 229, 231, 245, 248, 332

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> RNF144B

Affymetrix annotation

<220>

<221> misc_feature

<222> 220, 221, 225, 229, 231, 245, 248, 332

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 220, 221, 225, 229, 231, 245, 248, 332

<223> n = A,T,C or G

<400> 97

taaaaataag tcgccagctc tctcctttat aaacagtcctt tagactgggtt tgtatcatgc 60
 cccttgatgt accagagata tgtttaacca acctagtttt gttgattctg acaatctcac 120
 acacatttaa gaatttacca tttttcaggc acttttcaat gttaaaaaaaa attaaatcca 180
 attattgaaa atcagtttga caaacaaccc ccaactccatn ncccnggcna naaaaaaaaa 240

aaaanaanaa caaaagcagc taattcagtg atacaaactc tgtaaggtgg caaattcccc 300
 caactcgcca aggaaatagc acatatttat tntctccat ctttactcca aatttgggac 360
 ctcttctct gataacacag tcttttaggt tacttgaat cagcccccat ttaaagactc 420
 tttgcggcac caagc 435

<210> 98

<211> 320

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 94, 95

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> ARHGAP15

Annotation from R2.6 that became NA in R2.9

<220>

<221

> misc_feature

<222> 94, 95

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 94, 95

<223> n = A,T,C or G

<400> 98

gaaatggcac attttctgga tgtgagagtt ggtcaaaaga tcacaaaaaa agtcaaaaaa 60
 taattctact ctgtgaatga aaaatggata tttnngtact tacctcata agcattaaaa 120
 gaaaataatg catgaaatc catagaaatg tgcctatcat gttatactga ctcaaaccag 180
 aagacctaga gtatgatatt gctaataata tacatgtggt gggtatgagt ggaagtatgt 240
 gtgtgagatt tatcattgcc atagtgtaaa agagttgaat tagcttccac ttgactagat 300

gagagctctt agttcttatt

320

<210> 99

<211> 259

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> 103, 130

<223> n = A,T,C or G

<220>

<223> AKR1C2*

Annotation from R2.6 that became NA in R2.9

<220>

<221> misc_feature

<222> 103, 130

<223> n = A,T,C or G

<220>

<221> misc_feature

<222> 103, 130

<223> n = A,T,C or G

<400> 99

cccagccgct ataactttta acaattcca tatgtccttt attccactaa gatgagtgca 60

gtatatattt ccatctgtcc aaggettect aatgtagcc aangccaagc caacaccagt 120

cacatgatcn aaatcaaagg gcatttgggg aatccaggct gtgattcagg gaagttccaa 180

gtgtctgatg aagtgtttgt tttacatctt tgtgtccctt gcaggcttag cactgtgcta 240

tgttagtaac atgtgctcc 259

<210> 100

<211> 589

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> STAT1

Affymetrix annotation

<400> 100

ctggatatat caagactgag ttgatttctg tgtctgaagt tcacccttct agacttcaga 60
 ccacagacaa cctgctcccc atgtctcctg aggagtttga cgagggtctc cggatagtgg 120
 gctctgtaga attcgacagt atgatgaaca cagtatagag catgaatfff tttcatcttc 180

 tctggcgaca gttttccttc tcatctgtga ttccctcctg ctactctgtt ccttcacatc 240
 ctgtgtttct agggaaatga aagaaaggcc agcaaattcg ctgcaacctg ttgatagcaa 300
 gtgaatffff ctctaactca gaaacatcag ttactctgaa gggcatcatg catcttactg 360
 aaggtaaaat tgaaggcat tctctgaaga gtgggtttca caagtgaaaa acatccagat 420
 acacccaaag taticaggacg agaatgaggg tcctttggga aaggagaagt taagcaacat 480
 ctagcaaatg ttatgcataa agtcagtgcc caactgttat aggttgttgg ataaatcagt 540
 ggttatffag ggaactgctt gacgtaggaa cggtaaatff ctgtgggag 589

<210> 101

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Proetin D MAGEA3 fuison protein

<400> 101

Met Asp Pro Lys Thr Leu Ala Leu Ser Leu Leu Ala Ala Gly Val Leu
 1 5 10 15
 Ala Gly Cys Ser Ser His Ser Ser Asn Met Ala Asn Thr Gln Met Lys
 20 25 30
 Ser Asp Lys Ile Ile Ile Ala His Arg Gly Ala Ser Gly Tyr Leu Pro
 35 40 45
 Glu His Thr Leu Glu Ser Lys Ala Leu Ala Phe Ala Gln Gln Ala Asp

 50 55 60
 Tyr Leu Glu Gln Asp Leu Ala Met Thr Lys Asp Gly Arg Leu Val Val
 65 70 75 80
 Ile His Asp His Phe Leu Asp Gly Leu Thr Asp Val Ala Lys Lys Phe
 85 90 95
 Pro His Arg His Arg Lys Asp Gly Arg Tyr Tyr Val Ile Asp Phe Thr
 100 105 110

Leu Lys Glu Ile Gln Ser Leu Glu Met Thr Glu Asn Phe Glu Thr Met
 115 120 125
 Asp Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu Glu
 130 135 140
 Ala Arg Gly Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala Pro Ala Thr
 145 150 155 160
 Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Ser Thr Leu Val Glu Val Thr
 165 170 175
 Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Pro Asp Pro Pro Gln Ser Pro
 180 185 190
 Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp Ser
 195 200 205
 Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Glu Gly Pro Ser Thr
 210 215 220
 Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys Val
 225 230 235 240
 Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu Pro
 245 250 255
 Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln Tyr
 260 265 270
 Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu Val
 275 280 285
 Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr Ile
 290 295 300
 Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp Asn
 305 310 315 320
 Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile Ile
 325 330 335
 Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu Leu
 340 345 350
 Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly Asp

<220>
 <223> CpG 1758

<400> 104
 accgatgacg tcgccggtga cggcaccacg 30

<210> 105
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> CpG 2006, CpG 7909

<400> 105
 tcgtcgtttt gtcgttttgt cgtt 24

<210> 106
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> CpG 1668

<400> 106
 tccatgacgt tectgatgct 20

<210> 107
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223>
 MAGE A3 peptide

<400> 107
 Phe Leu Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val
 1 5

<210> 108
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAGE A3 peptide

<400> 108

Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr

1 5 10

<210> 109

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAGE A3 peptide

<400> 109

Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala

1 5 10

<210> 110

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAGE A3 peptide

<400> 110

Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg

1 5 10

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAGE A3 peptide

<400> 111

Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu Pro Val Thr

1 5 10

<210> 112

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAGE A3 peptide

<400> 112

Ala Cys Tyr Glu Phe Leu Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser

1 5 10 15

<210> 113

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MAGE A3 peptide

<400> 113

Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10