



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0089384  
(43) 공개일자 2014년07월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C12Q 1/68* (2006.01) *G01N 33/50* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2014-7014033
- (22) 출원일자(국제) 2012년11월09일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2014년05월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/064466
- (87) 국제공개번호 WO 2013/071119  
국제공개일자 2013년05월16일
- (30) 우선권주장  
61/558,197 2011년11월10일 미국(US)  
61/671,531 2012년07월13일 미국(US)

- (71) 출원인  
제넨테크, 임크.  
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자  
베렌스, 티모시, 더블유.  
미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1  
그레이엄, 로버트, 알.  
미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1  
방갈레, 투샤르  
미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

- (74) 대리인  
김영, 양영준

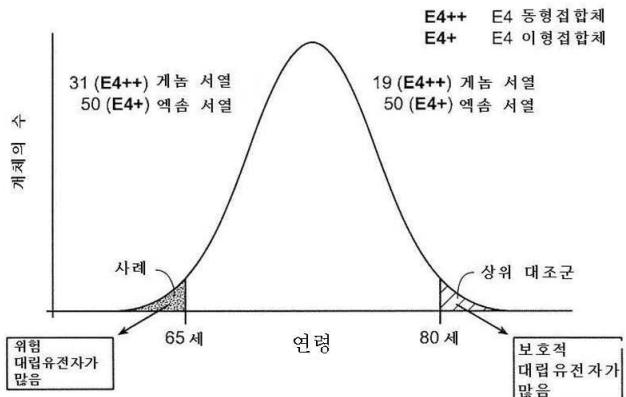
전체 청구항 수 : 총 98 항

- (54) 발명의 명칭 **알츠하이머병의 치료, 진단 및 모니터링 방법**

### (57) 요약

본 발명은 피험체로부터의 샘플 내 하나 이상의 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함하는 피험체에서 알츠하이머병(AD)의 진단 및 예후의 방법을 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다. AD의 치료를 위한 치료제에 대한 피험체의 반응을 예측하는 방법이 또한 제공된다.

### 대 표 도 - 도1



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

피험체에서 알츠하이머병(AD)을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출하는 방법으로서,

(a) IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자에서 상기 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 상기 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 유전적 변이의 상기 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하되,

상기 유전적 변이의 존재는 상기 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타내는 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 단일 뉴클레오타이드 다형성(single nucleotide polymorphism: SNP), 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

### 청구항 3

제2항에 있어서, 상기 유전적 변이는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 유전적 변이는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

### 청구항 5

제4항에 있어서, 상기 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

### 청구항 6

제3항에 있어서, 상기 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

### 청구항 7

제6항에 있어서, 상기 유전적 변이는 rs121918427에서 'T' 대립유전자인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

### 청구항 8

제3항에 있어서, 상기 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

### 청구항 9

제8항에 있어서, 상기 유전적 변이는 UNC5C의 위치 835(서열번호 3)에서 아미노산을 암호화하는 코돈 내 G를 A로 치환하는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

### 청구항 10

제1항에 있어서, 상기 시약은 올리고뉴클레오타이드, DNA 프로브, RNA 프로브 및 리보자임으로부터 선택된 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 상기 시약은 표지된 것인, 알츠하이머병을 나타내는 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

**청구항 12**

제1항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 IL6R, NTF4 및 UNC5C로부터 선택된 단백질에서 아미노산 치환, 삽입 또는 결실인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 D358A, 상기 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 R206W 및 상기 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 T835M으로부터 선택된 아미노산 치환인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

**청구항 14**

제12항에 있어서, 상기 시약은 상기 유전적 변이를 포함하는 단백질에 특이적으로 결합되는 항체인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

**청구항 15**

제1항에 있어서, 상기 샘플은 뇌척수액, 혈액, 혈청, 가래, 타액, 점막의 찰과표본, 조직생검, 눈물 분비물, 정액 또는 땀 중 하나로부터 선택된 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

**청구항 16**

제1항에 있어서, 단계 (b)의 결과를 기반으로 AD에 대해 상기 피험체를 치료하는 단계를 더 포함하는, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

**청구항 17**

제1항에 있어서, 상기 샘플에서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재를 검출하는 단계를 더 포함하는, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

**청구항 18**

제17항에 있어서, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재와 함께 적어도 하나의 유전적 변이의 존재는, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 가지면서 상기 적어도 하나의 유전적 마커의 상기 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 나타내는 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재의 검출 방법.

**청구항 19**

피험체에서 알츠하이머병(AD)을 나타내는 유전적 변이를 검출하는 방법으로서,

피험체로부터의 생물학적 샘플에서 IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하되, 상기 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타내는 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 20**

제19항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 21**

제20항에 있어서, 상기 유전적 변이는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 상기 유전적 변이는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 23**

제22항에 있어서, 상기 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 24**

제21항에 있어서, 상기 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 25**

제24항에 있어서, 상기 유전적 변이는 rs121918427에서 'T' 대립유전자인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 26**

제21항에 있어서, 상기 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 27**

제26항에 있어서, 상기 유전적 변이는 UNC5C의 위치 835(서열번호 3)에서 아미노산을 암호화하는 코돈 내 G를 A로 치환하는 SNP인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 28**

제19항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전적 변이의 상기 존재는 직접 시퀀싱, 대립유전자-특이적 프로브 혼성화, 대립유전자-특이적 프라이머 신장, 대립유전자-특이적 증폭, 대립유전자-특이적 뉴클레오파이어 포함, 5' 뉴클레아제 분해, 분자 비콘 분석, 올리고뉴클레오파이어 결찰 분석, 크기 분석 및 단일 가닥 구조 다형성으로 이루어진 군으로부터 선택된 과정에 의해 수행되는 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 29**

제25항에 있어서, 상기 샘플로부터의 핵산은 상기 하나 이상의 유전적 변이의 상기 존재를 결정하기 전에 증폭된 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 30**

제19항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 IL6R, NTF4 및 UNC5C로부터 선택된 단백질 내 아미노산 치환, 삽입 또는 결실인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 31**

제30항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 D358A, 상기 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 R206W 및 상기 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 T835M으로부터 선택된 아미노산 치환인 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 32**

제19항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전적 변이의 상기 존재는 전기영동, 크로마토그래피, 질량 분석법, 단백질 분해, 단백질 시퀀싱, 면역친화도 분석, 또는 이들의 조합으로부터 선택된 과정에 의해 수행되는 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 33**

제25항에 있어서, 상기 샘플로부터의 단백질은 상기 하나 이상의 유전적 변이의 상기 존재를 결정하기 전에 상기 단백질에 결합되는 항체 또는 웹타이드를 사용하여 정제되는 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 34**

제19항에 있어서, 상기 샘플은 뇌척수액, 혈액, 혈청, 가래, 타액, 점막의 찰과표본, 조직생검, 눈물 분비물, 정액 또는 땀 중 하나로부터 선택된 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 35**

제19항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전적 변이의 상기 존재를 기반으로 AD에 대해 상기 피험체를 치료하는 단계를 더 포함하는, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 36**

제19항에 있어서, 상기 샘플에서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 상기 존재를 검출하는 단계를 더 포함하는, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 37**

제36항에 있어서, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재와 함께 상기 적어도 하나의 유전적 변이의 존재는, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 가지고, 상기 적어도 하나의 유전적 마커의 상기 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 나타내는 것인, 알츠하이머병을 나타내는 유전적 변이의 검출 방법.

**청구항 38**

피험체에서 AD의 진단 또는 예후 방법으로서,

- (a) IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 상기 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계; 및
- (b) 상기 유전적 변이의 상기 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하되,

상기 유전적 변이의 존재는 상기 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타내는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 39**

제38항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실인 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 40**

제39항에 있어서, 상기 유전적 변이는 SNP인 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 41**

제40항에 있어서, 상기 유전적 변이는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 D358A를 초래하는 SNP, 상기 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 R206W를 초래하는 SNP 및 상기 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 T835M을 초래하는 SNP로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 42**

제34항에 있어서, 상기 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자, rs121918427에서 'T' 대립유전자 및 UNC5C의 위치 835(서열번호 3)에서 상기 아미노산을 암호화하는 코돈에서 G를 A로 치환하는 SNP로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 43**

제38항에 있어서, 상기 시약은 올리고뉴클레오타이드, DNA 프로브, RNA 프로브 및 리보자임으로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 44**

제43항에 있어서, 상기 시약은 표지된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 45**

제38항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 IL6R, NTF4 및 UNC5C로부터 선택된 단백질 내 아미노산 치환, 삽입 또는 결실인 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 46**

제45항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 D358A, 상기 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 R206W 및 상기 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 T835M으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 47**

제45항에 있어서, 상기 시약은 상기 유전적 변이를 포함하는 단백질에 특이적으로 결합된 항체인 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 48**

제38항에 있어서, 상기 샘플은 뇌척수액, 혈액, 혈청, 가래, 타액, 점막의 찰과표본, 조직생검, 눈물 분비물, 정액 또는 땀 중 하나로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 49**

제38항에 있어서, 단계 (b)의 결과를 기반으로 AD에 대해 상기 피험체를 치료하는 단계를 더 포함하는, 진단 또는 예후 방법.

**청구항 50**

제38항에 있어서, 상기 샘플에서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 상기 존재를 검출하는 단계를 더 포함하는, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 51**

제50항에 있어서, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 상기 존재와 함께 적어도 하나의 유전적 변이의 존재는 상기 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 가지면서 상기 적어도 하나의 유전적 마커의 상기 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 나타내는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 52**

제38항에 있어서, 하나 이상의 추가적인 유전적 마커를 스크리닝하는 단계, 정신상태 검사를 실시하는 단계 또는 피험체에 영상화 절차를 실시하는 단계로 이루어진 군으로부터 선택된 AD에 대한 하나 이상의 추가적인 진단 시험을 상기 피험체에 실시하는 단계를 더 포함하는, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 53**

제38항에 있어서, APOE 변형제인 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커의 상기 존재를 검출하기 위해 상기 샘플을 분석하는 단계를 더 포함하되, 상기 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커는 상기 IL6R을 암호화하는 유전자, 상기 NTF4를 암호화하는 유전자, 상기 UNC5C를 암호화하는 유전자 및 표 3에 열거된 유전자로부터 선택된 유전자에 있는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

**청구항 54**

제53항에 있어서, 상기 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP, 상기 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP 및 상기 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835W을 초래하는 SNP 또는 표 3에 열거된 SNP인 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 55

피험체에서 AD의 진단 또는 예후 방법으로서,

상기 IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 상기 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하되, 상기 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타내는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 56

제55항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실인 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 57

제56항에 있어서, 상기 유전적 변이는 SNP인 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 58

제57항에 있어서, 상기 유전적 변이는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP, 상기 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP 및 상기 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 59

제57항에 있어서, 상기 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자, rs121918427에서 'T' 대립유전자 및 UNC5C의 위치 835(서열번호 3)에서 아미노산을 암호화하는 코돈에서 G를 A로 치환하는 SNP로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 60

제55항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전적 변이의 상기 존재는, 직접 시퀀싱, 대립유전자-특이적 프로브 혼성화, 대립유전자-특이적 프라이머 신장, 대립유전자-특이적 증폭, 대립유전자-특이적 뉴클레오타이드 포함, 5' 뉴클레아제 분해, 문자 비콘 분석, 올리고뉴클레오타이드 결찰 분석, 크기 분석 및 단일 가닥 구조 다형성으로 이루어진 군으로부터 선택된 과정에 의해 수행되는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 61

제60항에 있어서, 상기 샘플로부터의 핵산은 하나 이상의 유전적 변이의 존재를 결정하기 전에 증폭되는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 62

제55항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 IL6R, NTF4 및 UNC5C로부터 선택된 단백질 내 아미노산 치환, 삽입 또는 결실인 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 63

제62항에 있어서, 상기 적어도 하나의 유전적 변이는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A, 상기 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W 및 상기 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M으로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 64

제55항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전적 변이 내 상기 존재는 전기영동, 크로마토그래피, 질량 분석법, 단백질 분해, 단백질 시퀀싱, 면역친화도 분석, 또는 이들의 조합으로부터 선택된 과정에 의해 수행되는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 65

제64항에 있어서, 상기 샘플로부터의 단백질은 하나 이상의 유전적 변이의 존재를 결정하기 전에 단백질에 결합된 항체 또는 펩타이드를 사용하여 정제된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 66

제55항에 있어서, 상기 샘플은 뇌척수액, 혈액, 혈청 가래, 타액, 점막의 찰과표본, 조직생검, 눈물 분비물, 정액 또는 땀 중 하나로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 67

제55항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전적 변이의 상기 존재를 기반으로 한 AD에 대해 상기 피험체를 치료하는 단계를 더 포함하는, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 68

제55항에 있어서, 상기 샘플에서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 상기 존재를 검출하는 단계를 더 포함하는, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 69

제68항에 있어서, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 상기 존재와 함께 적어도 하나의 상기 유전적 변이의 존재는, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 가지면서 상기 적어도 하나의 유전적 마커의 상기 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 나타내는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 70

제55항에 있어서, 하나 이상의 추가적인 유전적 마커를 스크리닝하는 단계, 정신상태 검사를 실시하는 단계 또는 피험체에 영상화 절차를 실시하는 단계로 이루어진 군으로부터 선택된 AD에 대한 하나 이상의 추가적인 진단 시험을 상기 피험체에 실시하는 단계를 더 포함하는, AD의 진단 또는 예후 방법..

#### 청구항 71

제55항에 있어서, APOE 변형체인 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커의 상기 존재를 검출하기 위해 상기 샘플을 분석하는 단계를 더 포함하되, 상기 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커는 상기 IL6R을 암호화하는 유전자, 상기 NTF4를 암호화하는 유전자, 상기 UNC5C를 암호화하는 유전자 및 표 3에 열거된 유전자로부터 선택된 유전자에 있는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 72

제71항에 있어서, 상기 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커는 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP, 상기 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP 및 상기 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835W를 초래하는 SNP 또는 표 3에 열거된 SNP로부터 선택된 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 73

더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 갖는 피험체의 확인방법으로서,

피험체로부터의 생물학적 샘플에서 IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계, 및

적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하되,

상기 유전적 변이 및 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 상기 존재는 상기 피험체가 상기 유전적 변이 및 적

어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 상기 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 가진다는 것을 나타내는 것인, 확인방법.

#### 청구항 74

피험체에서 AD의 하위표현형의 진단 보조방법으로서, 상기 방법은 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP의 상기 존재를 검출하는 단계를 포함하되, 상기 AD의 하위표현형은 하나 이상의 대조군 피험체에 비해 상기 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 적어도 부분적으로 가용성 IL6R의 증가된 수준을 특징으로 하는 것인, AD의 하위표현형의 진단 보조방법.

#### 청구항 75

IL6R을 표적화하는 AD 치료제에 대한 피험체의 반응 예측방법으로서, 상기 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 상기 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP를 검출하는 단계를 포함하되, 상기 SNP의 상기 존재는 IL6R을 표적화하는 치료제에 대한 반응을 표시하는 것인, 반응 예측방법.

#### 청구항 76

제75항에 있어서, 상기 치료제는 항-IL6R 항체인 것인, 반응 예측방법.

#### 청구항 77

피험체에서 AD의 하위표현형의 진단 보조방법으로서, 상기 방법은 상기 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2) 내 상기 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP의 상기 존재를 검출하는 단계를 포함하되, 상기 AD의 하위표현형은 하나 이상의 대조군 피험체에 비해 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 TrkB의 적어도 부분적으로 감소된 활성화를 특징으로 하는 것인, 진단 보조방법.

#### 청구항 78

TrkB를 표적화하는 AD 치료제에 대한 피험체의 반응 예측방법으로서, 상기 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2) 내 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP를 검출하는 단계를 포함하되, 상기 SNP의 존재는 TrkB를 표적화하는 치료제에 대한 반응을 나타내는 것인, 반응 예측방법.

#### 청구항 79

제78항에 있어서, 상기 치료제는 TrkB 작용물질인 것인, 반응 예측방법.

#### 청구항 80

피험체에서 AD의 하위표현형의 진단 보조방법으로서, 상기 방법은 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3) 내 상기 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP의 상기 존재를 검출하는 단계를 포함하되, 상기 AD의 하위표현형은 하나 이상의 대조군 피험체에 비해 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 적어도 부분적으로 UNC5C의 증가된 아포토시스 활성을 특징으로 하는 것인, 진단 보조방법.

#### 청구항 81

UNC5C를 표적화하는 AD 치료제에 대한 피험체의 반응 예측방법으로서, 상기 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3) 내 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP를 검출하는 단계를 포함하되, 상기 SNP의 존재는 UNC5C를 표적화하는 치료제에 대한 반응을 나타내는 것인, 반응 예측방법.

#### 청구항 82

제81항에 있어서, 상기 치료제는 UNC5C 죽음 도메인을 표적화하는 것인, 반응 예측방법.

#### 청구항 83

피험체에서 알츠하이머병(AD)의 진단 또는 예후 방법으로서,

- (a) IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP, NTF4의 아미노산 서열 내 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP 및 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3) 내 아미노산 치환 T835M을 초래하는

SNP로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 SNP의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계, 및

(b) 상기 하나 이상의 SNP의 상기 존재를 검출하기 위해 상기 샘플을 분석하는 단계를 포함하되, 상기 샘플 내 상기 하나 이상의 SNP의 상기 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 발생될 위험에 있다는 것을 나타내는 것인, 알츠하이머병의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 84

제85항에 있어서, 표 3에 열거된 SNP로부터 선택된 하나 이상의 SNP를 검출하는 단계를 더 포함하는, 알츠하이머병의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 85

제83항의 방법을 수행하기 위한 키트로서, 적어도 하나의 올리고뉴클레오타이드 검출 시약을 포함하되, 상기 올리고뉴클레오타이드 검출 시약은 상기 하나 이상의 SNP에서 적어도 2종의 상이한 대립유전자의 각각을 구별하는 것인 키트.

#### 청구항 86

제85항에 있어서, 상기 검출은 직접 시퀀싱, 대립유전자-특이적 프로브 혼성화, 대립유전자-특이적 프라이머 신장, 대립유전자-특이적 증폭, 시퀀싱, 5' 뉴클레아제 분해, 문자 비콘 분석, 올리고뉴클레오타이드 결찰 분석, 크기 분석, 및 단일 가닥 구조 다형성으로 이루어진 군으로부터 선택된 과정에 의해 수행되는 것인 키트.

#### 청구항 87

제85항에 있어서, 상기 올리고뉴클레오타이드 검출 시약은 기판에 고정된 것인 키트.

#### 청구항 88

제87항에 있어서, 상기 올리고뉴클레오타이드 검출 시약은 어레이 상에 배열된 것인 키트.

#### 청구항 89

피험체에서 알츠하이머병(AD)의 진단 또는 예후 방법으로서,

(a) IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A, NTF4의 아미노산 서열 내 아미노산 치환 R206W 및 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3) 내 아미노산 치환 T835M으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 상기 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계, 및

(b) 상기 하나 이상의 아미노산 치환의 존재를 검출하기 위해 상기 샘플을 분석하는 단계를 포함하되,

상기 샘플 내 상기 하나 이상의 아미노산 치환의 상기 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 발생될 위험에 있다는 것을 나타내는 것인, AD의 진단 또는 예후 방법.

#### 청구항 90

제89항의 방법을 수행하기 위한 키트로서, 적어도 하나의 항체 검출 시약을 포함하되, 상기 항체 검출 시약은 상기 하나 이상의 아미노산 치환에서 적어도 2종의 상이한 아미노산의 각각을 구별하는 것인 키트.

#### 청구항 91

AD의 치료를 위한 치료적 표적으로서, 상기 치료적 표적은 IL6R, NTF4 및 UNC5C로부터 선택된 유전자에 의해 암호화된 단백질 중 하나 또는 조합인 것인 치료적 표적.

#### 청구항 92

AD의 진단 또는 예후를 위한 문자 프로브의 세트로서, IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP, NTF4의 아미노산 서열 내 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP, 및 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3) 내 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP를 포함하는 군으로부터 선택된 적어도 2종의 마커를 직접적으로 또는 간접적으로 검출할 수 있는 적어도 2종의 프로브를 포함하되, 상기 문자 프로브는 1000개 초과의

구성요소의 마이크로어레이와 결합되지 않는 것인 문자 프로브 세트.

### 청구항 93

제92항에 있어서, 표 3에 열거된 SNP로부터 선택된 적어도 2종의 마커를 직접적으로 또는 간접적으로 검출할 수 있는 하나 이상의 프로브를 더 포함하는 문자 프로브 세트.

### 청구항 94

적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 AD의 발생에 대해 해로운 또는 유리한 효과를 갖는 유전적 변이체의 스크리닝 방법으로서, 상기 방법은, AD가 없으면서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 75세 초과의 대조군 피험체에 비해 AD를 가지면서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 65세 미만의 피험체에서 증가되거나 또는 감소된 빈도에서 존재하는 유전적 변이체를 확인하는 단계를 포함하되, 대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 증가된 빈도는 상기 유전적 변이가 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 해로운 효과와 관련된다는 것을 나타내고, 대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 감소된 빈도는 상기 유전적 변이가 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 유리한 효과와 관련된다는 것을 나타내는 것인, 유전적 변이체의 스크리닝 방법.

### 청구항 95

제94항에 있어서, 상기 유전적 변이는 제놈-와이드 관련 스캔을 사용하여 확인되는 것인, 유전적 변이체의 스크리닝 방법.

### 청구항 96

제94항에 있어서, 상기 해로운 효과는 AD가 발생할 증가된 위험 또는 더 낮은 연령의 AD 개시인 것인, 유전적 변이체의 스크리닝 방법.

### 청구항 97

제94항에 있어서, 상기 유리한 효과는 AD가 발생할 감소된 위험 또는 더 후기 연령의 AD 개시인 것인, 유전적 변이체의 스크리닝 방법.

### 청구항 98

적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 AD의 발생에 대해 해로운 또는 유리한 효과를 갖는 유전적 변이체에 대한 스크리닝 방법으로서, 상기 방법은,

- (a) AD를 가지면서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 65세 미만의 다수의 피험체의 하나 이상의 유전자 좌위에서 유전자형을 결정하는 단계;
- (b) AD가 없으면서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 75세 초과의 다수의 대조군 피험체의 하나 이상의 유전자 좌위에서 상기 유전자형을 결정하는 단계; 및
- (c) 대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 증가된 또는 감소된 빈도에서 존재하는 유전적 변이체를 확인하는 단계를 포함하되,

대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 증가된 빈도는 상기 유전적 변이가 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 해로운 효과와 관련된다는 것을 나타내고, 대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 감소된 효과는 상기 유전적 변이가 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 유리한 효과와 관련된다는 것을 나타내는 것인, 유전적 변이체에 대한 스크리닝 방법.

## 명세서

### 기술 분야

[0001] AD의 특정 하위표현형을 포함하는 알츠하이머병(Alzheimer's Disease: AD)의 확인, 진단 및 진단 방법뿐만 아니라 환자의 특정 하위집단을 포함하는 AD의 치료방법이 제공된다. 또한 효과적인 AD 치료제를 확인하고, AD 치료제에 대한 반응을 예측하는 방법이 제공된다.

## 배경기술

[0002]

알츠하이머병(AD)은 인지 및 기억 기능의 진행성 상실 및 궁극적으로는 치매와 관련된 중추신경계의 신경퇴행성 질병이다. AD는 개발도상국에서 가장 중요하고 흔한 치매의 원인이며, 모든 치매 경우의 60%이상을 차지한다. 검시에서 AD 환자에서 2가지 병리학적 특징이 관찰된다: 해마, 대뇌피질 및 인지기능에 필수적인 다른 뇌 영역에서 세포밖 플라크 및 세포내 매듭. 플라크는 주로 아밀로이드 전구체 단백질(amyloid precursor protein: APP)로부터 유래된 웹타이드인 아밀로이드  $\beta$ (A $\beta$ )의 침착으로부터 형성된다.

[0003]

AD의 빈도는 성인 삶의 각 삽 년에 따라 증가되며, 85세 이상의 집단에서 20 내지 40%에 이른다. 점점 더 많은 사람들이 80대 및 90대에 생존할 것이기 때문에, 환자 수는 다음 20년에 걸쳐 3배가 될 것으로 예상된다. 미국에서 5 백만명 이상의 사람들이 AD를 겪고 있으며, 해마다 800,000건의 사망이 AD와 관련된다. 2011년에, AD 환자를 들보는 비용은 전체 1천 8백 3십억 달러가 되는 것으로 추정된다. AD는 또한 가족 구성원 및 간호자에 대해 굉장한 감정적 느끼게 한다: 미국에서 약 1천 4백 9십 만명의 사람이 AD 환자를 돌본다. AD 환자는 진단 후 평균 7 내지 10년 동안 생존하며, 가정에서 또는 요양원에서 보살핌 하에 평균 5년을 소비한다.

[0004]

조발성 알츠하이머병(Early-onset Alzheimer's disease: EOAD)은 개체가 65세 전에 알츠하이머병으로 진단된 드문 형태의 알츠하이머병이다. 모든 알츠하이머병 환자의 10% 미만은 EOAD를 가진다. EOAD 경우의 대략 절반은 가족성인데, 질병 유전은 상염색체 우성형태에 따른다. 분명한 유전형태가 발견되지 않는 AD 경우는 "산발성"으로 칭해진다. 지금까지, 염색체 21에 대한 아밀로이드 전구체 단백질(amyloid precursor protein: APP), 염색체 14 상의 프리세닐린 1(PSEN1) 및 염색체 1 상의 프리세닐린 2(PSEN2)를 포함하는 3가지 유전자에서 돌연변이는 가족성 EOAD를 지니는 가족에서 확인되었다. APP 및 프리세닐린 유전자에서 대부분의 병원성 돌연변이는 비정상적 APP처리와 관련되는데, 이는 아밀로이드 플라크에서 주된 성분인 A $\beta$  42의 생성에서의 증가를 야기한다.

[0005]

후발성 알츠하이머병(Late-onset Alzheimer's disease: LOAD)은 약 90%를 차지하고, 보통 65세 후 생기는 가장 흔한 형태의 알츠하이머병이다. LOAD는 85세를 초과하는 모든 개체의 거의 절반에서 발생하며, 전형적으로 산발성이다. 쌍둥이 연구를 기반으로, 질병에 대한 유전율은 79%로 추정되었으며, 출현율 또는 유전율에서 남성과 여성 간의 차이는 없었다(연령에 대한 통제 후)(Gatz, et al., Arch. Gen. Psychiatry, 63:168-74 (2006)). 지금까지 조발성 알츠하이머병과 관련되는 것으로 확인된 단일 유전자 돌연변이는 후발성 알츠하이머병에 연루되는 것으로 보이지 않는다.

[0006]

후발성 형태의 AD를 야기하는 특이적 유전자는 발견되지 않았지만, 질병이 발생할 사람의 위험을 증가시키는 하나의 유전적 위험인자는 염색체 19에서 발견된 아폴리포단백질 E(apolipoprotein: APOE) 유전자에 관련된다. AD의 초기 유전적 연구는 APOE 유전자를 함유하는 염색체 19 상의 동일 영역에 결합 및 연결을 보여주었다 (Schellenberg, et al., J. Neurogenet., 4:97-108 (1987); Pericak-Vance, et al., Am. J. Hum. Gen., 48:1034-1050 (1991)). APOE 유전자는  $\epsilon$  2,  $\epsilon$  3 및  $\epsilon$  4로 지정되는 3가지 흔한 대립유전자를 가진다. 보통의  $\epsilon$  3 대립유전자에 비해,  $\epsilon$  4 대립유전자는 AD의 위험을 증가시키는 반면,  $\epsilon$  2 대립유전자는 AD 위험을 감소시킨다 (Corder, et al. (1993) Science, 281:921-923; Corder et al. (1994) Nat. Genet. 7: 180-184). 일반 집단에 대해 85세까지 AD의 수명위험(lifetime risk: LTR)은 11% 내지 14%인 반면, LTR은 APOE 3/4 보유자에 대해 23% 내지 35%로 상승되었고, APOE 4/4 보유자에 대해 51% 내지 68%로 상승되었다(Genin et al. (2011) Molecular Psychiatry 16: 903-907). APOE 2/4 보유자에 대한 AD 위험은 중성 유전자형 APOE 3/3을 갖는 피험체에 대해서와 동일한 반면, APOE 2/3 보유자는 감소된 위험을 가진다. AD 환자의 40% 내지 65%는 APOE- $\epsilon$  4 대립유전자 중 적어도 하나의 복제물을 가지지만, APOE- $\epsilon$  4는 질병의 필요한 결정요인이 아니며, 즉, AD를 지니는 환자의 적어도 1/3은 APOE- $\epsilon$  4 음성이고, 일부 APOE- $\epsilon$  4 동형접합체는 질병이 결코 발생하지 않는다. 따라서, 이 대립유전자는 그 자체가 AD의 진단에 충분하지 않다(Ertekin-Taner (2007) Neurol. Clin. 25: 811).

[0007]

현재, AD를 진단하는 주된 방법은 상세한 환자 이력을 취하는 단계, 기억 및 심리학적 시험을 실시하는 단계, 및 일시적(예를 들어, 우울증 또는 비타민 B12 결핍증) 또는 영구적(예를 들어, 뇌졸중) 질병을 포함하는 기억 상실의 다른 설명을 제외하는 단계를 수반한다. 이 접근 하에, 검시가 환자 뇌에서 질병의 특징적 아밀로이드 플라크 및 신경섬유매듭을 나타낼 때, AD는 사망 후까지 확정적으로 진단될 수 없다. 추가로, 임상적 진단 절차는 환자가 유의하고, 비정상적인 기억 상실 또는 성격 변화를 나타내기 시작한 후에만 도움이 된다. 그때까지, 환자는 수년 동안 AD를 가질 가능성이 있다. 예를 들어 의사가 질병과정에서 조기에 AD를 확인하거나 또는 질병이 진행할 고위험에 있는 개체를 확인하게 할 수 있는 진단 시험은 질병 과정에서 조기 단계에 개입되는 선택사항을 제공할 것이다. 질병 과정에서의 조기 개입은 이후의 개입에 비해 질병 개시 또는 진행을 지연시킴으로써 더 양호한 치료 결과를 초래한다. 따라서, AD를 진단하고, 진단을 보조하는 다른 방법에 대한 필요가 있다.

## 발명의 내용

- [0008] 본 발명은 피험체로부터의 샘플 내 하나 이상의 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함하는, 피험체에서 알츠하이머병(AD)의 진단 및 예후 방법을 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 본 명세서에 개시된 바와 같은 AD로 고통받는지 또는 진행될 위험에 있는지를 나타낸다.
- [0009] 실시형태에서, 본 발명은 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 AD 발생에 대해 해로운 또는 유리한 효과를 갖는 유전적 변이체에 대한 스크리닝 방법을 제공하며, 해당 방법은 AD가 없으면서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 75세 초과의 대조군 피험체에 비해, AD를 가지면서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 65세 미만의 피험체에서 증가되거나 또는 감소된 빈도로 존재하는 유전적 변이체를 확인하는 단계를 포함하되, 대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 증가된 빈도는 유전적 변이가 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 해로운 효과와 관련된다는 것을 나타내며, 대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 감소된 빈도는 유전적 변이가 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 유리한 효과와 관련된다는 것을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 게놈-와이드(genome-wide) 관련 스캔을 사용하여 확인된다.
- [0010] 본 발명은 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 AD의 발생에 대해 해로운 또는 유리한 효과를 갖는 유전적 변이체에 대한 스크리닝 방법을 추가로 제공하며, 해당 방법은 (a) AD를 가지면서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 65세 미만의 다수의 피험체의 하나 이상의 유전자 좌위에서 유전자형을 결정하는 단계; (b) AD가 없으면서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 75세 초과의 다수의 대조군 피험체의 하나 이상의 유전자 좌위에서 유전자형을 결정하는 단계; 및 (c) 대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 증가되거나 또는 감소된 빈도에서 존재하는 유전적 변이체를 확인하는 단계를 포함하되, 대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 증가된 빈도는 유전적 변이가 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 해로운 효과와 관련된다는 것을 나타내고, 대조군 피험체에 비해 AD를 갖는 피험체에서 감소된 빈도는 유전적 변이가 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖는 피험체에서 유리한 효과와 관련된다는 것을 나타낸다.
- [0011] 이들 스크리닝 방법의 일부 실시형태에서, 해로운 효과는 AD가 발생할 증가된 위험이다. 일부 실시형태에서, 해로운 효과는 더 낮은 연령의 AD 개시이다. 일부 실시형태에서, 유리한 효과는 AD가 발생할 감소된 위험이다. 일부 실시형태에서, 유리한 효과는 후발 연령의 AD 개시이다.
- [0012] 실시형태에서, 본 발명은 (a) IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자에서 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계; 및 (b) 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는, 피험체에서 알츠하이머병(AD)을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출하는 방법을 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 발생될 위험에 있다는 것을 나타낸다.
- [0013] 다양한 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 단일 뉴클레오타이드 다형성(single nucleotide polymorphism: SNP), 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs121918427에서 'T' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 위치 835(서열번호 3)에서 아미노산을 암호화하는 코돈에서 G를 A로 치환하는 SNP이다.
- [0014] 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 아미노산 치환, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 아미노산 치환이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M이다.
- [0015] 해당 방법의 일부 실시형태에서, 시약은 올리고뉴클레오타이드, DNA 프로브, RNA 프로브 및 리보자임으로부터 선택된다. 다른 실시형태에서, 시약은 유전적 변이를 포함하는 단백질에 특이적으로 결합되는 항체이다. 일부 실시형태에서, 시약은 표지된다.
- [0016] 해당 방법의 일부 실시형태에서, 샘플은 뇌척수액, 혈액, 혈청, 가래, 타액, 점막의 찰과표본, 조직생검, 눈물분비물, 정액 또는 땀 중 하나로부터 선택된다.

- [0017] 실시형태에서, 해당 방법은 단계 (b)의 결과를 기반으로 AD에 대해 피험체를 치료하는 단계를 추가로 포함한다. 실시형태에서, 해당 방법은 샘플에서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재를 검출하는 단계를 추가로 포함한다. 실시형태에서, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재와 함께 적어도 하나의 유전적 변이의 존재는, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 가지고, 적어도 하나의 유전적 변이 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 나타낸다.
- [0018] 본 발명은 IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자에서 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는, 피험체에서 알츠하이머병(AD)을 나타내는 유전적 변이를 검출하는 방법을 추가로 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다.
- [0019] 다양한 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs121918427에서 'T' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 위치 835(서열번호 3)에서 아미노산을 암호화하는 코돈에서 G를 A로 치환하는 SNP이다.
- [0020] 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 아미노산 치환, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 아미노산 치환이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M이다.
- [0021] 해당 방법의 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 유전적 변이의 존재 검출은 직접 시퀀싱, 대립유전자-특이적 프로브 혼성화, 대립유전자-특이적 프라이머 신장, 대립유전자-특이적 증폭, 대립유전자-특이적 뉴클레오타이드 포함, 5' 뉴클레아제 분해, 분자 비콘(molecular beacon) 분석, 올리고뉴클레오타이드 결찰 분석, 크기 분석, 및 단일 가닥 구조 다형성으로 이루어진 군으로부터 선택된 과정에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, 샘플로부터의 핵산은 하나 이상의 유전적 변이의 존재를 결정하기 전에 증폭된다.
- [0022] 해당 방법의 다른 실시형태에서, 단백질 내 하나 이상의 유전적 변이의 존재 검출은 전기영동, 크로마토그래피, 질량 분석법, 단백질 분해, 단백질 시퀀싱, 면역친화도 분석, 또는 이들의 조합으로부터 선택된 공정에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, 샘플로부터의 단백질은 하나 이상의 유전적 변이의 존재를 결정하기 전에 단백질에 결합되는 항체 또는 웨타이드를 사용하여 정제된다.
- [0023] 해당 방법의 일부 실시형태에서, 샘플은 뇌척수액, 혈액, 혈청, 가래, 타액, 점막의 찰과표본, 조직생검, 눈물 분비물, 정액 또는 땀 중 하나로부터 선택된다.
- [0024] 실시형태에서, 해당 방법은 단계 (b)의 결과를 기반으로 AD에 대해 피험체를 치료하는 단계를 추가로 포함한다. 실시형태에서, 해당 방법은 샘플에서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재를 검출하는 단계를 추가로 포함한다. 실시형태에서, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재와 함께 적어도 하나의 유전적 변이의 존재는, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 가지고, 적어도 하나의 유전적 마커의 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 나타낸다.
- [0025] 본 발명은 (a) IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자에서 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계; 및 (b) 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는, 피험체에서 AD를 진단하거나 또는 예후하기 위한 방법을 추가로 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다.
- [0026] 다양한 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs121918427에서 'T' 대립유전자이다. 실시형태

에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 위치 835(서열번호 3)에서 아미노산을 암호화하는 코돈에서 G를 A로 치환 하는 SNP이다.

[0027] 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 아미노산 치환, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 아미노산 치환이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M이다.

[0028] 해당 방법의 일부 실시형태에서, 시약은 올리고뉴클레오타이드, DNA 프로브, RNA 프로브 및 리보자임으로부터 선택된다. 다른 실시형태에서, 시약은 유전적 변이를 포함하는 단백질에 특이적으로 결합되는 항체이다. 일부 실시형태에서, 시약은 표지된다.

[0029] 해당 방법의 일부 실시형태에서, 샘플은 뇌척수액, 혈액, 혈청, 가래, 타액, 점막의 찰과표본, 조직생검, 눈물 분비물, 정액 또는 땀 중 하나로부터 선택된다.

[0030] 실시형태에서, 해당 방법은 단계 (b)의 결과를 기반으로 AD에 대해 피험체를 치료하는 단계를 추가로 포함한다. 실시형태에서, 해당 방법은 샘플에서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재를 검출하는 단계를 추가로 포함한다. 실시형태에서, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재와 함께 적어도 하나의 유전적 변이의 존재는, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 갖고, 적어도 하나의 유전적 마커의 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 나타낸다.

[0031] 일부 실시형태에서, 해당 방법은 하나 이상의 추가적인 유전적 마커를 스크리닝하는 단계, 정신상태 검사를 실시하는 단계 또는 피험체에 영상화 절차를 실시하는 단계로 이루어진 군으로부터 선택된 AD에 대한 하나 이상의 추가적인 진단 시험을 피험체에 실시하는 단계를 추가로 포함한다.

[0032] 일부 실시형태에서, 해당 방법은 샘플을 분석하여 APOE 변형제인 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커의 존재를 검출하는 단계를 추가로 포함하되, 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커는 IL6R을 암호화하는 유전자, NTF4를 암호화하는 유전자, UNC5C를 암호화하는 유전자, 및 표 3에 열거된 유전자로부터 선택된 유전자이다. 다양한 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP, NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W을 초래하는 SNP, UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835W을 초래하는 SNP, 또는 표 3에 열거된 SNP이다.

[0033] 본 발명은 피험체로부터의 생물학적 샘플에서 IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자에서 유전자 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는, 피험체에서 AD를 진단하거나 또는 예후하기 위한 방법을 추가로 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다.

[0034] 다양한 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W을 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs121918427에서 'T' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 위치 835(서열번호 3)에서 아미노산을 암호화하는 코돈에서 G를 A로 치환 하는 SNP이다.

[0035] 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 아미노산 치환, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 아미노산 치환이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M이다.

[0036] 해당 방법의 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 유전적 변이의 존재 검출은 직접 시퀀싱, 대립유전자-특이적 프로브 혼성화, 대립유전자-특이적 프라이머 신장, 대립유전자-특이적 증폭, 대립유전자-특이적 뉴클레오타이드 포함, 5' 뉴클레아제 분해, 문자 비콘 분석, 올리고뉴클레오타이드 결찰 분석, 크기 분석, 및 단일 가닥 구조 다형성으로 이루어진 군으로부터 선택된 과정에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, 샘플로부터의 핵산은 하나

이상의 유전적 변이의 존재를 결정하기 전에 증폭된다.

- [0037] 해당 방법의 다른 실시형태에서, 단백질 내 하나 이상의 유전적 변이의 존재 검출은 전기영동, 크로마토그래피, 질량 분석법, 단백질 분해, 단백질 시퀀싱, 면역친화도 분석, 또는 이들의 조합으로부터 선택된 과정에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, 샘플로부터의 단백질은 하나 이상의 유전적 변이의 존재를 결정하기 전에 단백질과 결합되는 항체 또는 웨타이드를 사용하여 정제된다.
- [0038] 해당 방법의 일부 실시형태에서, 샘플은 뇌척수액, 혈액, 혈청, 가래, 타액, 점막의 찰과표본, 조직생검, 눈물 분비물, 정액 또는 땀 중 하나로부터 선택된다.
- [0039] 실시형태에서, 해당 방법은 단계 (b)의 결과를 기반으로 AD에 대한 피험체를 치료하는 단계를 추가로 포함한다. 실시형태에서, 해당 방법은 샘플에서 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재를 검출하는 단계를 추가로 포함한다. 실시형태에서, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재와 함께 적어도 하나의 유전적 변이의 존재는, 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자를 가지고, 적어도 하나의 유전적 마커의 존재를 결여하는 피험체에 비해, 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 나타낸다.
- [0040] 일부 실시형태에서, 해당 방법은 APOE 변형체인 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커의 존재를 검출하기 위한 샘플을 분석하는 단계를 추가로 포함하되, 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커는 IL6R을 암호화하는 유전자, NTF4를 암호화하는 유전자, UNC5C를 암호화하는 유전자, 및 표 3에 열거된 유전자로부터 선택된 유전자이다. 다양한 실시형태에서, 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP, NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP, UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835W를 초래하는 SNP, 또는 표 3에 열거된 SNP이다.
- [0041] 본 발명은 (a) 피험체로부터의 생물학적 샘플에서 IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 이들의 유전자 산물로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및 (b) 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는 더 조기 연령의 AD의 개시의 증가된 위험을 갖는 피험체를 확인하는 방법을 추가로 제공하되, 유전적 변이 및 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재는 피험체가 유전적 변이 및 적어도 하나의 APOE-ε 4 대립유전자의 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 가진다는 것을 나타낸다.
- [0042] 다양한 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 rs121918427에서 'T' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP이다. 추가 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 위치 835(서열번호 3)에서 아미노산을 암호화하는 코돈에서 G를 A로 치환하는 SNP이다.
- [0043] 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 아미노산 치환, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 아미노산 치환이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2) 내 아미노산 치환 R206W이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3) 내 아미노산 치환 T835M이다.
- [0044] 해당 방법의 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 유전적 변이의 존재 검출은 직접 시퀀싱, 대립유전자-특이적 프로브 혼성화, 대립유전자-특이적 프라이머 신장, 대립유전자-특이적 증폭, 대립유전자-특이적 뉴클레오타이드 포함, 5' 뉴클레아제 분해, 문자 비콘 분석, 올리고뉴클레오타이드 결찰 분석, 크기 분석 및 단일 가닥 구조 다형성으로 이루어진 군으로부터 선택된 과정에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, 샘플로부터의 핵산은 하나 이상의 유전적 변이의 존재를 결정하기 전에 증폭된다.
- [0045] 해당 방법의 다른 실시형태에서, 단백질 내 하나 이상의 유전적 변이의 존재 검출은 전기영동, 크로마토그래피, 질량 분석법, 단백질 분해, 단백질 시퀀싱, 면역친화도 분석, 또는 이들의 조합으로부터 선택된 과정에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, 샘플로부터의 단백질은 하나 이상의 유전적 변이의 존재를 결정하기 전에 단백질과 결합되는 항체 또는 웨타이드를 사용하여 정제된다.
- [0046] 해당 방법의 일부 실시형태에서, 샘플은 뇌척수액, 혈액, 혈청, 가래, 타액, 점막의 찰과표본, 조직생검, 눈물

분비물, 정액 또는 땀 중 하나로부터 선택된다.

- [0047] 본 발명은 피험체에서 AD의 하위표현형의 진단을 보조하는 방법을 추가로 제공하며, 해당 방법은 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP의 존재를 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 검출하는 단계를 포함하되, AD의 하위표현형은 하나 이상의 대조군 피험체에 비해 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 적어도 부분적으로 적용성 IL6R의 증가된 수준을 특징으로 한다.
- [0048] 본 발명은 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP를 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 검출하는 단계를 포함하는, IL6R을 표적화하는 AD 치료제에 대한 피험체의 반응을 예측하는 방법을 추가로 제공하되, SNP의 존재는 IL6R을 표적화하는 치료제에 대한 반응을 표시한다. 실시형태에서, 치료제는 항-IL6R 항체이다.
- [0049] 본 발명은 피험체에서 AD의 하위표현형의 진단을 보조하는 방법을 추가로 제공하며, 해당 방법은 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP의 존재를 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 검출하는 단계를 포함하되, AD의 하위표현형은 하나 이상의 대조군 피험체에 비해 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 적어도 부분적으로 TrkB의 감소된 활성화를 특징으로 한다.
- [0050] 본 발명은 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP를 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 검출하는 단계를 포함하는, TrkB를 표적화하는 AD 치료제에 대한 피험체의 반응을 예측하는 방법을 추가로 제공하되, SNP의 존재는 TrkB를 표적화하는 치료제에 대한 반응을 나타낸다. 실시형태에서, 치료제는 TrkB 작용물질이다.
- [0051] 본 발명은 피험체에서 AD의 하위표현형의 진단을 보조하는 방법을 추가로 제공하며, 해당 방법은 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP의 존재를 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 검출하는 단계를 포함하되, AD의 하위표현형은 하나 이상의 대조군 피험체에 비해 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 적어도 부분적으로 UNC5C의 아포토시스 활성을 특징으로 한다.
- [0052] 본 발명은 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP를 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 검출하는 단계를 포함하는, UNC5C를 표적화하는 AD 치료제에 대한 피험체의 반응을 예측하는 방법을 추가로 제공하되, SNP의 존재는 UNC5C를 표적화하는 치료제에 대한 반응을 나타낸다. 실시형태에서, 치료제는 UNC5C 죽음 도메인을 표적화한다.
- [0053] 본 발명은 (a) IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP, NTF4의 아미노산 서열에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP, 및 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 SNP의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계, 및 (b) 상기 하나 이상의 SNP의 존재를 검출하기 위한 샘플을 분석하는 단계를 포함하는, 피험체에서 알츠하이머병(AD)의 진단 또는 예후 방법을 추가로 제공하되, 샘플 내 하나 이상의 SNP의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 발생될 위험에 있다는 것을 나타낸다. 실시형태에서, 해당 방법은 표 3에 열거된 SNP로부터 선택된 하나 이상의 SNP를 검출하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0054] 본 발명은 적어도 하나의 올리고뉴클레오타이드 검출 시약을 포함하는, 해당 방법을 수행하기 위한 키트를 제공하되, 올리고뉴클레오타이드 검출 시약은 하나 이상의 SNP에서 적어도 2종의 상이한 대립유전자의 각각을 구별한다. 다양한 실시형태에서, 검출 단계는 직접 시퀀싱, 대립유전자-특이적 프로브 혼성화, 대립유전자-특이적 프라이머 신장, 대립유전자-특이적 증폭, 시퀀싱, 5' 뉴클레아제 분해, 분자 비콘 분석, 올리고뉴클레오타이드 결찰 분석, 크기 분석 및 단일 가닥 구조 다형성으로 이루어진 군으로부터 선택된 과정에 의해 수행된다.
- [0055] 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 검출 시약은 기판에 고정된다. 추가 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 검출 시약은 어레이 상에 배열된다.
- [0056] 본 발명은 (a) IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A, NTF4의 아미노산 서열에서 아미노산 치환 R206W 및 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계, 및 (b) 상기 하나 이상의 아미노산 치환의 존재를 검출하기 위한 샘플을 분석하는 단계를 포함하는, 피험체에서 알츠하이머병(AD)의 진단 또는 예후 방법을 추가로 제공하되, 샘플 내 하나 이상의 아미노산 치환의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 발생될 위험에 있다는 것을 나타낸다.
- [0057] 본 발명은 적어도 하나의 항체 검출 시약을 포함하는, 해당 방법에 의해 수행을 위한 키트를 추가로 제공하되,

항체 검출 시약은 하나 이상의 아미노산 치환에서 적어도 2종의 상이한 아미노산의 각각을 구별한다. 본 발명은 적어도 하나의 웨타이드 검출 시약을 포함하는, 해당 방법에 의해 수행을 위한 키트를 추가로 제공하되, 웨타이드 검출 시약은 하나 이상의 아미노산 치환에서 적어도 2종의 상이한 아미노산의 각각을 구별한다.

[0058] 본 발명은 AD의 치료를 위한 치료적 표적을 추가로 제공하되, 치료적 표적은 IL6R, NTF4 및 UNC5C로부터 선택된 유전자에 의해 암호화된 단백질 중 하나 또는 조합이다.

[0059] 본 발명은 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP, NTF4의 아미노산 서열에서 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP, 및 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP를 포함하는 군으로부터 선택된 적어도 2종의 마커에서 직접적으로 또는 간접적으로 검출할 수 있는 적어도 2개의 프로브를 포함하는 AD의 진단 또는 예후를 위한 분자 프로브의 세트를 추가로 제공하되, 상기 분자 프로브는 1000개 초과의 구성요소의 마이크로어레이와 결합되지 않는다. 실시형태에서, 분자 프로브의 세트는 표 3에 열거된 SNP로부터 선택된 적어도 2종의 마커에서 직접적으로 또는 간접적으로 검출할 수 있는 하나 이상의 프로브를 추가로 포함한다.

### 도면의 간단한 설명

[0060] 도 1은 APOE 변형제 스크린에서 사용되는 전략을 도시하는 도면.

도 2는 상위 대조군에 대한 AD 사례 샘플에서 유전적 변이체 간의 통계적으로 유의한 차이가 있는 경우 인간 염색체 1의 부분을 가로지르는 위치를 나타내는 맨해튼(Manhattan) 플롯을 도시한 도면. p-값이 낮을수록, 관계는 더 강하다.

도 3은 NIA/LOAD 연구로부터의 미선택 알츠하이머병 사례(N = 932 개체) 및 대조군(N = 832 개체)에서 rs4129267의 T 대립유전자, rs2228145의 C 대립유전자의 프록시의 빈도를 도시한 도면. 부수적 대립유전자의 빈도는 AD 사례에서 개시 연령 및 대조군에서의 연령에 의해 계층화된다.

도 4는 TGEN 프로젝트(Webster et al. (2009) Am. J. Hum. Genet. 84: 445-458)로부터의 데이터 분석을 도시한 도면. AD(AD)를 지니는 피험체의 뇌에서 결합된 막과 가용성 IL6R의 발현 수준을 IL6R의 막 결합형태만을 검출하는 프로브(NM\_000565) 또는 막 결합과 sIL6R을 둘 다 포획하는 프로브(NM\_181359) 중 하나를 사용하여, 대조군(CN)과 비교하였다.

도 5는 L01 가계도에서 비모수 결합 분석 결과를 도시한 도면.

도 6은 아미노산 잔기 T853의 보존을 나타내는, UNC5 패밀리 구성원의 아미노산 배열의 제공을 도시한 도면.

도 7은 뇌척수액에서 유전적 변이체와 가용성 IL6R의 수준 사이의 통계적으로 유의한 관계가 있는 경우, 인간 염색체 1의 일부를 가로지르는 위치를 나타내는 맨해튼 플롯을 도시한 도면. p-값이 낮을수록, 관계는 더 강하다.

도 8은 IL6R의 D358 또는 A358 작제물로 형질감염되고, 0, 30, 60 또는 120분 동안 100nM 포볼 미리스테이트 아세테이트(phorbol myristate acetate: PMA)로 처리한 293T 세포에서 IL6R의 상대적 막 결합 백분율을 도시한 도면. 세포를 치료 후 채취하였고, IL6R-PE 항체로 염색하였으며, 막 결합 IL6R을 FACS에 의해 분석하였다.

도 9는 60분 동안 100nM PMA으로 처리 전 및 처리 후 D358 또는 A358 중 하나에 대해 동형접합적인 연령, 성별 및 인종적으로 매칭된 공여체로부터의 CD4<sup>+</sup> T 세포에서 막 결합 IL6R의 백분율을 도시한 도면. 세포를 처리 후 곧 채취하였고, IL6R-PE 항체로 염색하였으며, 막 결합 IL6R을 FACS에 의해 분석하였다.

도 10은 D358 또는 A358 중 하나에 대해 동형접합적인 연령, 성별 및 인종적으로 매칭된 공여체로부터 인간 CD4<sup>+</sup> T 세포에 대한 가용성 IL6R을 도시한 도면. CD4<sup>+</sup> T 세포를 항-CD3/항-CD28 상에 플레이팅하였고, 전체 RNA 추출을 위해 24, 48 및 72시간 후 채취하였으며, 상청액을 수집하여 ELISA에 의한 sIL6R 수준을 결정하였다. 그 래프는 각 시점에 D358에 대해 A358에 대한 가용성 IL6R에서 폴딩 증가를 나타낸다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

#### 정의

[0061] [0062] 본 명세서에서 상호호환적으로 사용되는 용어 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체를 지칭하며, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타

이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기, 및/또는 이들의 유사체 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해 중합체내로 포함될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대 메틸화된 뉴클레오타이드 및 그것의 유사체를 포함할 수 있다. 존재한다면, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 전 또는 후에 부여될 수 있다. 뉴클레오타이드의 서열은 비뉴클레오타이드 성분에 의해 방해된다. 폴리뉴클레오타이드는 중합 후, 예컨대 표지 성분과 컨쥬게이션에 의해 추가로 변형될 수 있다. 다른 유형의 변형은, 예를 들어 "캡", 자연적으로 생기는 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 유사체로 치환, 예를 들어 비하전 결합(예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포트라이에스터, 포스포아미데이트, 카바메이트 등) 및 하전 결합(예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로다이티오에이트 등)을 지니는 것, 예를 들어 단백질(예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 웹타이드, 폴리-L-리신 등)과 같은 현수 모이어티를 함유하는 것, 삽입제(예를 들어, 아크리딘, 프소랄렌 등)를 지니는 것, 키퍼레이터를 함유하는 것(예를 들어, 금속, 방사성 금속, 봉소, 산화적 금속 등), 알킬화제를 함유하는 것, 변형된 결합(예를 들어, 알파 아노머 핵산 등)을 지니는 것과 같은 뉴클레오타이드간 변형뿐만 아니라 미변형된 형태의 폴리뉴클레오타이드(들)를 포함한다. 추가로, 보통 당에 존재하는 하이드록실기 중 어떤 것은, 예를 들어 추가적인 뉴클레오타이드에 추가적인 연결을 제공하도록 표준 보호기에 의해 보호되거나 활성화된 포스포네이트기, 포스페이트기로 대체될 수 있거나, 또는 고체 지지체에 컨쥬게이트될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 아민 또는 1 내지 20개의 탄소 원자로부터의 유기 캡핑 모이어티로 치환되거나 또는 포스포릴화될 수 있다. 다른 하이드록실은 또한 표준 보호기로 유도체화될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한, 예를 들어, 2'-0-메틸-2'-0-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보스, 카보사이클릭 당 유사체, .알파.-아노머당, 에피머 당, 예컨대 아라비노스, 자일로스 또는 릭소스, 피라노스 당, 푸라노스 당, 세도웹톨로스, 아크릴 유사체 및 비염기성 뉴클레오사이드 유사체, 예컨대 메틸 리보사이드를 포함하는 당업계에 일반적으로 공지된 리보스 또는 데옥시리보스 당의 유사한 형태를 함유할 수 있다. 하나 이상의 포스포다이에스터 결합은 대안의 연결기에 의해 대체될 수 있다. 이들 대안의 연결기는 실시형태를 포함하지만, 이들로 제한되지 않으며, 포스페이트는 P(O)S("티오에이트"), P(S)S("다이티오에이트"), "(O)NR2("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH2("포름아세탈")에 의해 대체되며, 이때 각각의 R 또는 R'은 독립적으로 에터(--O--) 결합, 아릴, 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐 또는 아랄딜을 선택적으로 함유하는 치환된 또는 미치환된 알킬(1-20C) 또는 H이다. 필요한 폴리뉴클레오타이드 내 모든 결합이 동일하지는 않다. 앞서 언급한 설명은 RNA 및 DNA를 포함하는 본 명세서에서 지칭되는 모든 폴리뉴클레오타이드에 적용된다.

[0063]

본 명세서에 사용되는 바와 같은 "올리고뉴클레오타이드"는 길이로 적어도 약 7개 뉴클레오타이드 및 길이로 약 250개 미만의 뉴클레오타이드인 짧은, 단일 가닥 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 올리고뉴클레오타이드는 합성일 수 있다. 용어 "올리고뉴클레오타이드" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 상호 간에 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오타이드에 대한 상기 기재는 올리고뉴클레오타이드에 대해 동일하고 완전하다.

[0064]

용어 "프라이머"는 일반적으로 유리 3'--OH를 제공함으로써 핵산에 혼성화될 수 있고, 상보적 핵산을 중합할 수 있게 하는 단일 가닥 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다.

[0065]

본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "유전자"는 특이적 웹타이드, 폴리웹타이드 또는 단백질의 아미노산 특징의 서열을 DNA 주형 또는 메신저 RNA를 통해 암호화하는 DNA 서열을 지칭한다. 용어 "유전자"는 또한 RNA 산물을 암호화하는 DNA 서열을 지칭한다. 개놈 DNA와 관련하여 본 명세서에서 사용되는 용어 유전자는 개체, 비암호 영역뿐만 아니라 조절 영역을 포함하고, 5' 및 3' 말단을 포함할 수 있다.

[0066]

용어 "유전적 변이" 또는 "뉴클레오타이드 변이"는 기준 서열(예를 들어, 보통 발견된/되거나 야생형 서열, 및/또는 주요 대립유전자의 서열)에 대해 뉴클레오타이드 서열에서의 변화(예를 들어, 하나 이상의 뉴클레오타이드의 삽입, 결실, 역위, 또는 치환, 예컨대 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)의 변화를 지칭한다. 용어는 또한 달리 표시되지 않는다면, 뉴클레오타이드 서열의 보체의 대응되는 변화를 포함한다. 일 실시형태에서, 유전적 변이는 체세포 다형성이다. 일 실시형태에서, 유전적 변이는 생식계열 다형성이다.

[0067]

"단일 뉴클레오타이드 다형성" 또는 "SNP"는 상이한 대립유전자 또는 대안의 뉴클레오타이드가 집단 내에 존재하는 DNA에서 단일 염기 위치를 지칭한다. SNP 위치는 보통 앞에 있으며, 뒤에 고도로 보존된 대립유전자의 서열(예를 들어 집단 구성원의 1/100 또는 1/1000 미만으로 다른 서열)이 있다. 개개는 각 SNP 위치에서 대립유전자에 대해 동형접합적 또는 이형접합적일 수 있다.

[0068]

용어 "아미노산 변이"는 기준 서열에 대한 아미노산 서열 내 변화(예를 들어, 하나 이상의 아미노산 삽입, 치환, 또는 결실, 예컨대 내부 결실 또는 N- 또는 C-말단 절단)를 지칭한다.

[0069]

용어 "변이"는 뉴클레오타이드 변이 또는 아미노산 변이를 지칭한다.

- [0070] 용어 "SNP에 대응되는 뉴클레오타이드 위치에서 유전적 변이", "SNP에 대응되는 뉴클레오타이드 위치에서 뉴클레오타이드 변이" 및 이들의 문법적 변형은 계놈 내 상기 SNP에 의해 점유되는 상대적인 대응되는 DNA에서 폴리뉴클레오타이드 서열 내 뉴클레오타이드 변이를 지칭한다. 용어는 또한 달리 표시되지 않는다면, 뉴클레오타이드 서열의 보체에서 대응되는 변이를 포함한다.
- [0071] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "대립유전자"는 염색체 내 주어진 좌위에서 생기는 유전자 또는 비유전자 영역 형태의 쌍 또는 계열 중 하나를 지칭한다. 정상 2배체 세포에서, 상동 염색체 상에서 동일한 상대적 위치(좌위)를 점유하는 어느 하나의 유전자 중 2개의 대립유전자가 있다(각 모체로부터 하나). 집단 내에서, 2개 초과의 대립유전자의 유전자가 있을 수 있다. SNP는 또한 대립유전자, 즉, SNP를 특성규명하는 2(이상의) 뉴클레오타이드를 가진다.
- [0072] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "연관불평형" 또는 "LD"는 2 이상의 좌위에 대한 대립유전자가 그것의 개개 대립유전자 빈도의 산물에 의해 예측된 빈도에서 집단으로부터 샘플링된 개체에서 함께 생기지 않는 상황을 지칭한다. LD에 있는 마커는 독립적 무작위 분리의 멘델의 제2 법칙을 따르지 않는다. LD는 몇몇 인구통계학적 또는 집단적 인공산물 중 어떤 것에 의할 뿐만 아니라 마커 간 유전적 결합의 존재에 의해 야기될 수 있다. 그러나, 이들 인공산물은 LD의 공급원으로서 제어되고, 제거된 다음, 관련된 좌위가 동일 염색체 상에서 서로 가깝게 위치되고, 따라서 상이한 마커(단상형)에 대한 대립 유전자의 특이적 조합이 함께 유전된다는 사실로부터 직접적으로 초래된다. 높은 LD에 있는 마커는 서로 가깝게 위치되는 것으로 추정될 수 있으며, 유전적 특성을 지니는 높은 LD에 있는 마커 또는 단상형은 해당 특성에 영향을 미치는 유전자 근처에 위치되는 것으로 추정될 수 있다.
- [0073] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "좌위"는 염색체 또는 DNA 서열을 따라 특이적 위치를 지칭한다. 내용에 따라서, 좌위는 하나 이상의 뉴클레오타이드의 유전자, 마커, 염색체 밴드 또는 특이적 서열일 수 있었다.
- [0074] 용어 "어레이" 또는 "마이크로어레이"는 기판 상의 혼성가능한 어레이 구성요소, 바람직하게는 폴리뉴클레오타이드 프로브(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)의 정돈된 배열을 지칭한다. 기판은 고체 기판, 예컨대 유리 슬라이드 또는 반고체 기판, 예컨대 나이트로셀룰로스 막일 수 있다.
- [0075] 용어 "증폭"은 기준 핵산 서열 또는 그것의 보체의 하나 이상의 복제물을 생성하는 과정을 지칭한다. 증폭은 선형 또는 기하급수적일 수 있다(예를 들어, 폴리머라제 연쇄 반응(polymerase chain reaction: PCR)). "복제물"은 주형 서열에 대한 완전한 서열 상보성 또는 동일성을 반드시 의미하지는 않는다. 예를 들어, 복제물은 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대 데옥시이노신, 의도적 서열 변경(예컨대 혼성화가능하지만, 주형에 대해 완전히 상보적이지 않은 서열을 포함하는 프라이머를 통해 도입된 서열 변경) 및/또는 증폭 동안 생기는 서열 오류를 포함할 수 있다.
- [0076] 용어 "대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드"는 뉴클레오타이드 변이(종종 치환)를 포함하는 표적 핵산의 영역에 혼성화되는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다. "대립유전자-특이적 혼성화"는 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드가 그것의 표적 핵산에 혼성화될 때, 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드 내 뉴클레오타이드가 뉴클레오타이드 변이를 지니는 염기쌍에 특이적으로 결합되는 것을 의미한다. 특정 뉴클레오타이드 변이에 대해 대립유전자-특이적 혼성화될 수 있는 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드는 해당 변이"에 대해 특이적"인 것으로 언급된다.
- [0077] 용어 "대립유전자-특이적 프라이머"는 프라이머인 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다.
- [0078] 용어 "프라이머 신장 분석"은 뉴클레오타이드가 핵산에 첨가되고, 직접적으로 또는 간접적으로 검출되는 더 긴 핵산 또는 "신장 산물"을 초래하는 분석을 지칭한다. 뉴클레오타이드는 핵산의 5' 또는 3' 말단을 신장시키도록 첨가될 수 있다.
- [0079] 용어 "대립유전자-특이적 뉴클레오타이드 포함 분석"은 프라이머가 (a) 뉴클레오타이드 변이의 3' 또는 5'인 영역에서 표적 핵산에 혼성화되고, (b) 폴리머라제에 의해 신장됨으로써 뉴클레오타이드 변이에 상보적인 뉴클레오타이드인 신장 산물 내로 포함되는 프라이머 신장 분석을 지칭한다.
- [0080] 용어 "대립유전자-특이적 프라이머 신장 분석"은 대립유전자-특이적 프라이머가 표적 핵산에 혼성화되고, 신장되는 프라이머 신장 분석을 지칭한다.
- [0081] 용어 "대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드 혼성화 분석"은 (a) 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드가 표적 핵산에 혼성화되고, (b) 혼성화가 직접적으로 또는 간접적으로 검출되는 분석을 지칭한다.

- [0082] 용어 "5' 뉴클레아제 분석"은 표적 핵산에 대한 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드의 혼성화가 혼성화된 프로브를 핵산분해적으로 절단시키고, 검출가능한 신호를 야기하는 분석을 지칭한다.
- [0083] 용어 "분자 비콘을 사용하는 분석"은 표적 핵산에 대한 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드의 혼성화가 유리 올리고뉴클레오타이드에 의해 방출되는 검출가능한 신호 수준보다 더 높은 검출가능한 신호 수준을 야기하는 분석을 지칭한다.
- [0084] 용어 "올리고뉴클레오타이드 결찰 분석"은 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드 및 제2 올리고뉴클레오타이드가 표적 핵산 상에서 서로 인접하게 혼성화되고 함께 결찰되며(개재 뉴클레오타이드를 통해 직접적으로 또는 간접적으로), 결찰 산물이 직접적으로 또는 간접적으로 검출되는 분석을 지칭한다.
- [0085] 용어 "표적 서열", "표적 핵산" 또는 "표적 핵산 서열"은 일반적으로, 증폭에 의해 만들어진 이러한 표적 핵산의 복제물을 포함하는 뉴클레오타이드 변이가 의심되거나 또는 존재하는 것으로 알려진 관심 대상의 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다.
- [0086] 용어 "검출"은 직접적 및 간접적 검출을 포함하는 어떤 검출 수단을 포함한다.
- [0087] 용어 "IL6R"은 인터류킨-6 수용체를 지칭하기 위해 사용되며, 또한 IL-6R1, IL-6RA, IL-6R 알파, 인터류킨-6 수용체 서브유닛 알파, 및 CD126으로서 알려져 있다. 용어 "전장"은 미처리 IL6R뿐만 아니라 세포 내 처리로부터 초래되는 어떤 IL6R 형태를 포함한다. 용어는 또한 IL6R의 자연적으로 생기는 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다. 예시적인 인간 IL6R의 아미노산 서열은 서열번호 1에 나타낸다:
- ```
MLAVGCALLAALLAAPGAALAPRRCPAQEVARGLTSLPGDSVLTCPGVEPEDNATVHW
VLRKPAAGSHPSRWAGMGRRLLLRSVQLHDSGNYSYRAGRPAVTVHLLVDVPPEPQLS
CFRKSPSLNVVCEWGPRTSPLTTKAVLLVRKFQNSPAEDFQEPQCQYSQESQKFSCQLAV
PEGDSSFYIVSMCVASSVGSKFSKTQTFQGCGIILQPDPPANITVTAVARNPRWLSVTWQD
PHSWNSSFYRLRFELRYRAERSKFTTWMVKDLQHHCVIHDAWSGLRHVVQLRAQEEFGQ
GEWSEWSPEAMGTPTWESRSPPAENEVSTPMQALTTNKDDDNILFRDSANATSLPVQDSS
SVPLPTFLVAGGSLAFGTLLCIAIVLRFKKTWKLRALKEGKTSMHPPYSLGQLVPERPRP
TPVLVPLISPPVSPSSLGSDNTSSHNRPDARDPRSPYDISNTDYFFPR (서열 번호 1)
```
- (젠뱅크 (Genbank) 등록번호 NP\_000566).
- [0088] 용어 "NTF4"는 또한 뉴로트로핀 5, 뉴로트로핀 인자 4, 뉴로트로핀 인자 5, NT4, NT5, NT-4, NT-5, NTF5, GLC10 및 NT-4/5로서 알려진 뉴로트로핀 4를 지칭하기 위해 사용된다. 해당 용어는 "전장", 미처리 NTF4뿐만 아니라 세포 내 처리로부터 초래되는 NTF4의 임의의 형태를 포함한다. 해당 용어는 또한 NTF4의 자연적으로 생기는 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다. 예시적인 인간 NTF4의 아미노산 서열은 서열번호 2에 나타낸다:
- ```
MLPLPSCSLPILLLFLPSVPIESQPPPSTLPPFLAPEWDLLSPRVVLSRGAPAGPPLL
LLEAGAFRESAGAPANRSRRGVSETAPASRRGELAVCDAVSGWVTDRRTAVDLRGREDEV
LGEVPAAGGSPLRQYFFETRCKADNAEEGGPGAGGGGCRGVDRRHVSECKAKQSIVRAL
TADAQGRVGWRWIRIDTACVCTLLSRTGRA (서열 번호 2) (젠뱅크 등록번호 NP_006170).
```
- [0089] 용어 "UNC5C"는 또한 UNC-5 상동체 3, UNC-5 상동체 C, 및 UNC5H3으로서 알려진 네트린 수용체 UNC5C를 지칭하기 위해 사용된다. 해당 용어는 "전장" 미처리 UNC5C뿐만 아니라 세포 내 처리로부터 초래되는 UNC5C의 어떤 형태를 포함한다. 해당 용어는 또한 UNC5C의 자연적으로 생기는 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다. 예시적인 인간 UNC5C의 아미노산 서열은 서열번호 3에 나타낸다:

MRKGLRATAARCGLGLGYLLQMLVLPALALLSASGTGSAAQDDDFHELPETFPSDPPEP  
 LPHFLIEPEEAYIVKNKPVNLYCKASPATQIYFKCNSEWVHQKDHIIVDERVDETSGLIVR  
 EVSIEISRQQVEELFGPEDWCQCVAWSSAGTTSRKAYVRIAYLRKTFEQEPLGKEVSL  
 EQEVLLQCRPPEGIPVAEVEWLKNEDIIDPVEDRNFYITIDHNLIIKQARLSDTANYTCV  
 AKNIVAKRKSTTATVIVYNGGWSTWTEWSVCNSRCGRGYQKRTRCTNPAPLNGGAFCE  
 GQSVQKIACTLCPVDGRTPWSKWSTCGTECTHWRRRECTAPAPKNGGKDCDGLVLQSK  
 NCTDGLCMQTAPDSDDVALYVGIVIAVCLAISVVVALFVYRKNHRDFESDIIDSSALN  
 GGFQPVNIAKARQDLLAVPPDLTSAAMYRGPVYALHDVSDKIPMTNSPILDPLPNLKIK  
 VYNTSGAVTPQDDLSEFTSKLSPQMTQSLLNEALSLKNQSLARQTDPSCTAFGSFNLSG  
 GHLIVPNSGVSLLIPAGAI PQGRVYEMYVTVHRKETMRPPMDDSQTLLTPVSCGPGAL  
 LTRPVVLTMHHCADPNTEDWKILLKNQAAQGQWEDVVVGEENFTT PCYIQLDAEACHIL  
 TENLSTYALVGHSTTKAAKRLKLAIFGPLCCSLEYISRVCYCLDDTQDALKEILHLERQ  
 MGGQLLEEPKALHFKGSTHNLRLSIHDIAHSLWKSLLAKYQEIPFYHVWSGSQRNLHCT  
 FTLERFLSLNTVELVKLCVRQVEGEGQIFQLNCTVSEEPTGIDLPLLDPANTITVTGPS  
 AFSIPLPIRKQLCSSLDAPQTRGHDRMLAHKLNDRYLNYFATKSSPTGVILDWEAQN  
 FPDGNLSMLAAVLEEMGRHETVVSLAAEGQY (서열번호 3) (젠뱅크 등록번호

NP\_003719).

[0092]

[0093] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "알츠하이머병"(AD)은 조발성 AD와 후발성 AD 둘 다뿐만 아니라, 가족성과 산발성 형태의 AD를 지칭한다.

[0094]

본 명세서에 사용되는 바와 같은 알츠하이머병이 발생할 "위험에 있는" 피험체는 검출가능한 질병 또는 질병 증상을 가질 수도 있고, 가지지 않을 수도 있으며, 본 명세서에 기재된 치료 방법 전에 검출가능한 질병 또는 질병의 증상을 나타낼 수도 있거나 또는 나타내지 않을 수도 있다. "위험에 있는"은 본 명세서에 기재되고 당업계에 공지된 바와 같은 알츠하이머병의 진행과 관련된 측정가능한 변수인 피험체가 하나 이상의 위험 인자를 가지는 것을 의미한다. 이들 위험 인자 중 하나 이상을 갖는 피험체는 이들 위험 인자(들) 중 하나 이상이 없는 피험체보다 알츠하이머병이 진행될 더 높은 가능성을 가진다.

[0095]

용어 "진단"은 문자적 또는 병리학적 상태, 질병 또는 질환, 예를 들어 AD의 확인 또는 분류를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. "진단"은 또한, 예를 들어 문자적 특징에 의한 특정 하위유형의 AD의 분류(예를 들어, 특정 유전자 또는 핵산 영역에서 유전적 변이(들)를 특징으로 하는 환자 하위집단)를 지칭한다.

[0096]

용어 "진단을 보조하는"은 특정 유형의 AD의 증상 또는 질환의 존재 또는 특성에 관해 임상적 결정요인을 만드는 것을 보조하는 방법을 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 예를 들어, AD의 진단을 보존하는 방법은 개체로부터의 생물학적 샘플에서 AD를 나타내거나 또는 AD를 갖는 증가된 위험을 나타내는 하나 이상의 유전적 마커의 존재 또는 부재를 측정하는 단계를 포함할 수 있다.

[0097]

용어 "예후"는, 예를 들어 기억 상실 및 치매를 포함하는 AD의 증상이 발생될 가능성의 예측을 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 용어 "예측"은 환자가 약물 또는 약물 세트에 유리하게 또는 불리하게 반응할 가능성을 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 일 실시형태에서, 예측은 해당 반응의 정도에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 예측은 환자가 치료, 예를 들어 특정 치료제에 의한 치료 후 및 질병 재발이 없는 특정 시간 기간 동안 생존하거나 또는 개선되는지 여부 및/또는 가능성에 관한 것이다. 본 발명의 예측적 방법은 임의의 특정 환자에 대해 가장 적절한 치료 양상을 선택함으로써 치료 결정을 만들도록 임상적으로 사용될 수 있다. 본 발명의 예측적 방법은 환자가, 예를 들어 주어진 치료제 또는 조합물의 투여, 수술적 개입, 스테로이드 치료 등을 포함하는 주어진 치료요법과 같은 치료 요법에 대해 유리하게 반응될 가능성이 있는지 여부, 또는 치료요법 후 환자의 장기간 생존이 가능한지 여부를 예측하는데 가치 있는 도구이다.

[0098]

본 명세서에서 사용되는 "치료"는 치료되는 개체 또는 세포의 자연적 과정을 변경시키는 시도에서 임상적 개입을 지칭하며, 임상적 병리 과정 전 또는 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질병 또는 질환 또는 이들의 증상의 발생 또는 재발을 예방하는 것, 질환 또는 질병의 증상을 완화시키는 것, 질병의 어떤 직접적 또는 간접적 병리학적 결과를 감소시키는 것, 질병 진행속도를 감소시키는 것, 질병 상태를 개선하거나 또는 완화시키는 것, 및 관해 또는 개선된 예후를 달성하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 질병 또는 장애의 발생을 지연시키기 위한 시도에서 유용하다.

[0099]

본 명세서에서 사용되는 "AD 치료제", "AD를 치료하는데 효과적인 치료제", 미치 이들의 문법적 변형은 유효량이 제공될 때 AD를 갖는 피험체에서 치료적 이점을 제공하는 것으로 알려지거나, 임상적으로 나타나거나 또는 의사에 의해 예상되는 작용제를 지칭한다. 일 실시형태에서, 어구는 유효량으로 제공될 때 AD를 갖는 피험체에

서 치료적 효과를 제공할 것으로 예상되는 임상적으로 허용가능한 작용제로서 제조업자에 의해 시판되거나 또는 자격 있는 의사에 의해 달리 사용되는 어떤 작용제를 포함한다. 다양한 비제한적 실시형태에서, AD 치료제는 콜린에스터라제 저해제, 메만틴, 항-불안 의약, 항-우울제, 불안제거제, 또는 아밀로이드 전구체 단백질, 아밀로이드 베타, 아밀로이드 플라크를 표적화하는 화합물, 또는 알파-세크레타제, 베타-세크레타제 및 감마-세크레타제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 아밀로이드 전구체 단백질을 절단하는 어떤 효소를 포함한다.

[0100] 용어 "약제학적 제형"은 그것에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성을 허용하고, 제형이 투여되는 피험체에 대해 허용가능하지 않게 독성인 추가적인 성분을 함유하지 않는 그러한 형태의 제제를 지칭한다.

[0101] "약제학적으로 허용가능한 담체"는 피험체에 대해 비독성인 활성 성분 이외에 약제학적 제형 내 성분을 지칭한다. 약제학적으로 허용가능한 담체는 완충제, 부형제, 안정제 또는 보존제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0102] "치료적 효과"는 장애를 겪지 않는 개체에서 평균 또는 정상 상태보다 양호한 상태의 생성(즉, 고통이 없거나 또는 무증상인 피험체에서 정상 또는 평균 상태에 비해 개선된 인지, 기억, 기분 또는 CNS의 기능에 적어도 부분적으로 기인하는 피험체에서의 다른 특징)을 지칭한다.

[0103] "유효량"은 원하는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하기 위해 필요한 투약량 또는 시간 기간을 위해 유효한 양을 지칭한다. 치료제의 "치료적 유효량"은 개체의 질병 상태, 연령, 성별 및 체중 및 개체에서 원하는 반응을 유발하기 위한 항체의 능력과 같은 인자에 따라 다를 수 있다. 치료적 유효량은 또한 치료제의 임의의 독성 또는 해로운 효과가 치료적으로 유리한 효과에 의해 능가되는 치료적 유효량이다. "예방적 유효량"은 원하는 예방적 결과를 달성하는데 필요한 투약량에서 및 시간 기간 동안 유효한 양을 지칭한다. 전형적으로 필요하지는 않지만, 예방적 용량은 피험체에서 질병 전에 또는 질병의 조기 단계에서 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량 미만일 것이다.

[0104] "개체", "피험체" 또는 "환자"는 척추 동물이다. 특정 실시형태에서, 척추 동물은 포유류이다. 포유류는 영장류(인간 및 비인간 영장류를 포함) 및 설치류(예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, 포유류는 인간이다.

[0105] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "인간 하위집단" 및 이의 변형은 그것이 속하는 더 넓은 질병 범주에서 다른 것으로부터 인간 서브세트를 구별하는 하나 이상의 특유의 측정가능하고/하거나 확인가능한 특징을 갖는 것으로 특성규명된 인간 서브세트를 지칭한다. 이러한 특징은 하위범주, 성별, 생활방식, 건강 이력, 관련된 기관/조직, 치료 이력 등을 포함한다. 일 실시형태에서, 환자 하위집단은 특히 뉴클레오타이드 위치 및/또는 영역(예컨대 SNP)을 포함하는 유전적 특징을 특징으로 한다.

[0106] "대조군 피험체"는 AD를 갖는 것으로 진단된 적이 없고, AD와 관련된 어떤 징후 또는 증상으로 고통받지 않는 건강한 피험체를 지칭한다.

[0107] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "샘플"은, 예를 들어 신체적, 생화학적, 화학적 및/또는 생리학적 특징을 기반으로 특성규명되고/거나 확인되는 세포 및/또는 다른 분자 독립체를 함유하는 관심대상의 피험체로부터 얻거나 또는 유래된 조성물을 지칭한다. 예를 들어, 어구 "질병 샘플" 및 이의 변형은 특성규명된 세포 및/또는 분자 독립체를 함유하는 것으로 예상되거나 또는 알려진 관심대상의 피험체로부터 얻은 임의의 샘플을 지칭한다.

[0108] "조직 또는 세포 샘플"은 피험체 또는 환자의 조직으로부터 얻은 유사한 세포의 수집을 의미한다. 조직 또는 세포 샘플의 공급원은 신선, 냉동 및/또는 보존된 기관 또는 조직 샘플 또는 생검 또는 흡입물로부터의 고체 조직; 혈액 또는 임의의 혈액 구성성분; 뇌척수액, 양수, 복막액 또는 세포간질액과 같은 체액; 피험체의 임신 또는 발생에서 임의의 시간으로부터의 세포일 수 있다. 조직 샘플은 1차 또는 배양된 세포 또는 세포주일 수 있다. 선택적으로, 조직 또는 세포 샘플은 질병 조직/기관으로부터 얻어진다. 조직 샘플은 보존제, 항응고제, 완충제, 정착액, 영양소, 항생제 등과 같은 자연에서 조직과 자연적으로 혼합되지 않는 화합물을 함유할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "기준 샘플", "기준 세포", "기준 조직", "대조군 샘플", "대조군 세포" 또는 "대조군 조직"은 본 발명의 방법 또는 조성물이 확인을 위해 사용되는 질병 또는 질환으로 고통받지 않는 것으로 알려지거나 또는 믿어지는 공급원으로부터 얻어진 샘플, 세포 또는 조직을 지칭한다. 일 실시형태에서, 기준 샘플, 기준 세포, 기준 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포 또는 대조군 조직은 질병 또는 질환이 본 발명의 조성물 또는 방법을 사용하여 확인되는 동일한 피험체 또는 환자의 신체의 건강한 부분으로부터 얻어진다. 일 실시형태에서, 기준 샘플, 기준 세포, 기준 조직, 대조군 샘플, 대조군 세포 또는 대조군 조직은 질병 또는 질환이

본 발명의 조성물 또는 방법을 사용하여 확인되는 피험체 또는 환자가 아닌 개체의 신체의 건강한 부분으로부터 얻어진다.

[0109] 본 명세서의 목적을 위해, 조직 샘플의 "절편"은 조직 샘플의 단일 부분 또는 조각, 예를 들어 조직의 얇은 슬라이스 또는 조직 샘플로부터 절단된 세포를 의미한다. 조직 샘플의 다수의 절편은 본 발명의 본 발명에 따른 분석이 취해지고, 실시될 수 있다는 것이 이해되며, 단, 본 발명은 조직 샘플의 동일 부분이 형태학적이며 분자적 수준 둘 다에서 분석되거나 또는 단백질과 핵산 둘 다에 대해 분석되는 방법을 포함하는 것이 이해된다.

[0110] "상호 관련되다" 또는 "상호 관련되는"은 어떤 방법에서 제1 분석 또는 프로토콜의 수행 및/또는 결과를 제2 분석 또는 프로토콜의 수행 및/또는 결과와 비교하는 것을 의미한다. 예를 들어, 제2 프로토콜을 수행하는데 제1 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있으며/있거나 제2 분석 또는 프로토콜이 수행되어야 하는지 여부를 결정하기 위한 제1 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다. 유전자 발현 분석 또는 프로토콜의 실시형태에 대해, 구체적 치료요법이 수행되어야 하는지 여부를 결정하기 위한 유전자 발현 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다.

[0111] 용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 가장 넓은 의미에서 상호 호환적으로 사용되며, 단클론성 항체(예를 들어, 전장 또는 무결합 단클론성 항체), 다클론성 항체, 1가 항체, 다가 항체, 다중 특이적 항체(예를 들어, 그것들이 원하는 생물학적 활성을 나타낸다면 이중특이성 항체)를 포함하고, 또한 특정 항체 단편을 포함할 수 있다(본 명세서에서 추가로 상세하게 설명됨). 항체는 키메라, 인간, 인간화된/되거나 친화도 성숙될 수 있다. "항체 단편"은 무결합 항체의 부분을 포함하며, 바람직하게는 이의 항원 결합 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, 및 Fv 단편; 다이아바디; 선형 항체; 단일쇄 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함한다.

[0112] "소분자" 또는 "소 유기분자"는 본 명세서에서 약 500 달톤 미만의 분자량을 갖는 유기 분자로서 정의된다.

[0113] 본 명세서에서 사용될 때 단어 "표지"는 검출가능한 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 표지는 그것만으로 검출가능할 수 있고(예를 들어, 방사성 동위원소 표지 또는 형광 표지) 또는 효소적 표지의 경우에 검출가능한 산물을 초래하는 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변경을 촉매할 수 있다. 검출가능한 표지로서 작용할 수 있는 방사성핵종은, 예를 들어 I-131, I-123, I-125, Y-90, Re-188, Re-186, At-211, Cu-67, Bi-212 및 Pd-109를 포함한다.

[0114] "약"에 대해서, 본 명세서의 수치 또는 변수는 그 자체의 해당 값 또는 변수와 관련되는 실시형태를 포함한다(기재한다). 예를 들어, "약 X"를 지칭하는 설명은 "X"의 설명을 포함한다.

[0115] 용어 "포장 삽입물"은 이러한 치료적 제품의 사용에 관한 지시사항, 용법, 용량, 투여, 조합치료, 사용금지사유 및/또는 경고에 관한 정보를 함유하는 치료적 제품의 상업적 포장에 관례적으로 포함되는 설명서를 지칭하는데 사용된다.

#### 본 발명의 조성물 및 방법

##### 유전적 변이

[0116] 일 양태에서, 본 발명은 피험체로부터의 샘플에서 알츠하이머병(AD)과 관련된 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출하는 방법뿐만 아니라 피험체로부터의 샘플에서 이를 유전적 변이 중 하나 이상의 존재 또는 부재를 검출함으로써 AD를 진단하고, 예측하는 방법을 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다. AD와 관련된 유전적 변이는 게놈-와이드 관련 연구, 변형제 스크린 및 가족 기반 스크리닝을 포함하는 전략을 사용하여 확인되었다.

[0117] 본 발명의 방법에서 사용을 위한 유전적 변이는 인터류킨-6 수용체(IL6R) 내 유전적 변이, 뉴로트로핀 인자 4(NTF4) 및 UNC5C, 또는 이를 단백질을 암호화하는 유전자뿐만 아니라 표 3에 열거된 유전자 중 어떤 것 또는 그것들이 암호화하는 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 유전자(또는 그것의 조절 영역)를 암호화하는 게놈 DNA에 있되, 유전자는 인터류킨-6 수용체(IL6R)에 대해 암호화하는 유전자, 뉴로트로핀 인자 4(NTF4) 및 UNC5C, 및 표 3에 열거된 유전자 중 어떤 것으로부터 선택된다. 다양한 실시형태에서, 유전적 변이는 SNP, 대립유전자, 단상형, IL6R, NTF4 및 UNC5C에 대해 암호화하는 유전자로부터 선택된 하나 이상의 유전자 내 삽입 또는 결실, 및 표 3에 열거된 유전자 중 어떤 것이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W

을 초래하는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 rs121918427에서 'T' 대립유전자이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 표 3에 열거된 것으로부터 선택된 유전자 내 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 rs12733578, rs4658945, rs1478161, rs1024591, rs7799010, rs10969475 및 rs12961250로부터 선택된 SNP이다. 다양한 실시형태에서, 적어도 하나의 유전적 변이는 IL6R, NTF4 또는 UNC5C 내 아미노산 치환, 삽입 또는 결실이다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 아미노산 치환이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2) 내 아미노산 치환 R206W이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3) 내 아미노산 치환 T835M이다.

#### [0120] 유전적 변이의 검출

[0121] 본 명세서에 기재된 어떤 검출 방법에서 사용되는 바와 같은 핵산은 게놈 DNA; 게놈 DNA로부터 전사된 RNA; 또는 RNA로부터 만들어진 cDNA일 수 있다. 핵산은 척추 동물, 예를 들어, 포유류로부터 유래될 수 있다. 핵산은 그것이 해당 공급원으로부터 직접 얻어지거나 또는 그것이 해당 공급원에서 발견되는 핵산의 복제물이라면, 특정 공급원"으로부터 유래되는" 것으로 언급된다.

[0122] 핵산은 핵산의 복제물, 예를 들어 증폭으로부터 초래되는 복제물을 포함한다. 증폭은, 예를 들어 검출가능한 변형을 위한 물질의 원하는 양을 얻기 위해 특정 예에서 바람직할 수 있다. 그 다음에 변형이 앰플리콘 내에 존재하는지 여부를 결정하기 위해 앰플리콘에 이하에 기재된 것과 같은 변형 검출 방법이 실시될 수 있다.

[0123] 유전적 변이는 당업자에게 알려진 특정 방법에 의해 검출될 수 있다. 이러한 방법은 DNA 시퀀싱; 대립유전자-특이적 뉴클레오타이드 포함 분석 및 대립유전자-특이적 프라이머 신장 분석(예를 들어, 대립유전자-특이적 PCR, 대립유전자-특이적 결찰 연쇄반응(ligation chain reaction: LCR), 및 캡-LCR)을 포함하는 프라이머 신장 분석; 대립유전자-특이적 올리고뉴클레오타이드 혼성화 분석(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드 결찰 분석); 절단 보호 분석(절단 작용제로부터의 보호는 핵산 듀플렉스 내 미스매칭된 염기를 검출하기 위해 사용됨); MutS 단백질 결합의 분석; 변이체 및 야생형 핵산 분자의 이동성을 비교하는 전기영동 분석; 변성 구배 겔 전기영동(예를 들어, 문헌[Myers et al. (1985) Nature 313:495]에서와 같은 Denaturing Gradient Gel Electrophoresis: DGGE); 미스매칭된 염기쌍에서 RNAase 절단의 분석; 이형이중가닥 DNA의 화학적 또는 효소적 절단의 분석; 질량 분석법(예를 들어, MALDI-TOF); 유전자 비트 분석(genetic bit analysis: GBA); 5' 뉴클레아제 분석(예를 들어, TaqMan(상표명)); 및 분자 비콘을 사용하는 분석을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이들 방법 중 어떤 것은 이하에서 추가로 상세하게 논의된다.

[0124] 표적 핵산에서 변이의 검출은 당업계에 잘 공지된 기법을 사용하여 표적 핵산의 분자 클로닝 및 시퀀싱에 의해 수행될 수 있다. 대안적으로, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)과 같은 증폭 기법은 종양 조직으로부터의 게놈 DNA 제조로부터 직접적으로 표적 핵산 서열을 증폭하는데 사용될 수 있다. 그 다음에 증폭된 서열의 핵산 서열은 결정될 수 있고, 그것으로부터 변이가 확인된다. 증폭 기법은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 예를 들어, 폴리머라제 연쇄 반응은 문헌[Saiki et al., Science 239:487, 1988]; 미국특허 제 4,683,203호 및 제4,683,195호에 기재되어 있다.

[0125] 당업계에 공지된 리가제 연쇄반응은 또한 표적 핵산 서열을 증폭하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Wu et al., Genomics 4:560-569 (1989)] 참조. 추가로, 대립유전자-특이적 PCR로서 공지된 기법은 또한 변이를 검출하는데 사용될 수 있다(예를 들어, 치환). 예를 들어, 문헌[Ruano and Kidd (1989) Nucleic Acids Research 17:8392; McClay et al. (2002) Analytical Biochem. 301:200-206] 참조. 이 기법의 특정 실시형태에서, 대립유전자-특이적 프라이머가 사용되어, 프라이머의 3' 말단 뉴클레오타이드는 표적 핵산에서 특정 변이에 상보적이다(즉, 특이적으로 염기쌍형성을 할 수 있음). 특정 변이가 존재하지 않는다면, 증폭 산물은 관찰되지 않는다. 증폭 불응 돌연변이계(Amplification Refractory Mutation System: ARMS)가 또한 변이(예를 들어, 치환)를 검출하는데 사용될 수 있다. ARMS는, 예를 들어 유럽 특허 출원 공개 제0332435호 및 문헌[Newton et al., Nucleic Acids Research, 17:7, 1989]에 기재되어 있다.

[0126] 변이(예를 들어, 치환)를 검출하는데 유용한 다른 방법은 (1) 대립유전자-특이적 뉴클레오타이드 포함 분석, 예컨대 단일 염기 신장 분석(예를 들어, 문헌[Chen et al. (2000) Genome Res. 10:549-557; Fan et al. (2000) Genome Res. 10:853-860; Pastinen et al. (1997) Genome Res. 7:606-614; 및 Ye et al. (2001) Hum. Mut. 17:305-316] 참조); (2) 대립유전자-특이적 PCR을 포함하는, 대립유전자-특이적 프라이머 신장 분석(예를 들어, 문헌[Ye et al. (2001) Hum. Mut. 17:305-316; 및 Shen et al. Genetic Engineering News, vol. 23, Mar. 15,

2003] 참조); (3) 5' 뉴클레아제 분석(예를 들어, 문헌[De La Vega et al. (2002) BioTechniques 32:S48-S54 (TaqMan.RTM. 분석을 기재함); Ranade et al. (2001) Genome Res. 11:1262-1268; 및 Shi (2001) Clin. Chem. 47:164-172]); (4) 분자 비콘을 사용하는 분석(예를 들어, 문헌[Tyagi et al. (1998) Nature Biotech. 16:49-53; 및 Mhlanga et al. (2001) Methods 25:463-71] 참조); 및 (5) 올리고뉴클레오타이드 결찰 분석(예를 들어, 문헌[Grossman et al. (1994) Nuc. Acids Res. 22:4527-4534]; 특히 출원 공개 번호 제US 2003/0119004 A1호; PCT 국제특허 공개 제WO 01/92579 A2호; 및 미국특허 제6,027,889호 참조)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0127] 변이는 또한 미스매치 검출 방법에 의해 검출될 수 있다. 미스매치는 100% 상보성이 아닌 혼성화된 핵산 듀플렉스이다. 전체 상보성의 결여는 결실, 삽입, 역위 또는 치환에 기인할 수 있다. 미스매치 검출 방법의 일 예는, 예를 들어 문헌[Faham et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:14717-14722 (2005) 및 Faham et al., Hum. Mol. Genet. 10:1657-1664 (2001)]에 기재된 미스매치 수선 검출(Mismatch Repair Detection: MRD)이다. 미스매치 절단 기법의 다른 예는 문헌[Winter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:7575, 1985, 및 Myers et al., Science 230:1242, 1985]에서 상세하게 설명되는 RNase 보호 방법이다. 예를 들어, 본 발명의 방법은 인간 야생형 표적 핵산에 상보적인 표지된 리보프로브의 사용과 관련될 수 있다. 표적 샘플로부터 유래된 리보프로브 및 표적 핵산은 함께 어닐링(혼성화)되며, 후속적으로 듀플렉스 RNA 구조에서 일부 미스매치를 검출할 수 있는 효소 RNase A에 의해 분해된다. 미스매치가 RNase A에 의해 검출된다면, 이는 미스매치 부위에서 절단된다. 따라서, 어닐링된 RNA 체체가 전기영동 겔 매트릭스 상에서 분리될 때, 미스매치가 검출되고 RNase A에 의해 절단된다면, 리보프로브 및 mRNA 또는 DNA에 대한 전장 듀플렉스 RNA보다 더 작은 RNA 산물이 보일 것이다. 리보프로브가 표적 핵산의 전장일 필요는 없지만, 표적 핵산의 일부일 수 있고, 단, 이는 변이를 갖는 것으로 의심되는 위치를 포함한다.

[0128] 유사한 방식에서, DNA 프로브는, 예를 들어 효소적 또는 화학적 절단을 통해 미스매치를 검출하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Cotton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:4397, 1988; 및 Shenk et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72:989, 1975] 참조. 대안적으로, 미스매치는 매치된 듀플렉스에 대해 미스매칭된 듀플렉스의 전기영동적 이동성에서의 이동에 의해 검출될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Cariello, Human Genetics, 42:726, 1988] 참조. 리보프로브 또는 DNA 프로브에 의해, 변이를 포함하는 것으로 의심되는 표적 핵산은 혼성화전 증폭될 수 있다. 표적 핵산에서의 변화는 또한, 특히 변화가 전체 재배열, 예컨대 결실 및 삽입이라면, 사우던 혼성화를 사용하여 검출될 수 있다.

[0129] 표적 핵산 또는 주변의 마커 유전자에 대한 제한효소 단편길이 다형성(Restriction fragment length polymorphism: RFLP) 프로브가 변이, 예를 들어 삽입 또는 결실을 검출하는데 사용될 수 있다. 삽입 및 결실은 또한 표적 핵산의 클로닝, 시퀀싱 및 증폭에 의해 검출될 수 있다. 단일 가닥 구조 다형성(Single stranded conformation polymorphism: SSCP) 분석은 대립유전자의 염기 변화 변이체를 검출하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Orita et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2766-2770, 1989, 및 Genomics, 5:874-879, 1989] 참조. SSCP은 단일 가닥 PCR 산물의 전기영동적 이동에서의 변경에 의해 염기 차이를 확인한다. 단일 가닥 PCR 산물은 이중 가닥 PCR 산물을 가열하거나 또는 다르게 변성시킴으로써 만들어질 수 있다. 단일 가닥 핵산은 재풀딩되거나 또는 염기 서열에 부분적으로 의존하는 2차 구조를 형성할 수 있다. 단일 가닥 증폭 산물의 상이한 전기영동적 이동성은 SNP 위치에서 염기서열 차이와 관련된다. 변성 구배 겔 전기영동(DGGE)은 다형성 DNA에 고유한 상이한 서열 의존적 안정성 및 용융 특성 및 변성 구배 겔 내 전기영동적 이동 패턴에서의 대응되는 차이를 기반으로 SNP 대립유전자를 구별한다.

[0130] 유전적 변이는 또한 마이크로어레이의 사용에 의해 검출될 수 있다. 마이크로어레이에는, 예를 들어 고도 염격 조건 하에 cDNA 또는 cRNA 샘플과 혼성화되는 배열된 일련의 수천 개의 핵산 프로브를 전형적으로 사용하는 다중 기법이다. 프로브 표적 혼성화는 표적에서 핵산 서열의 상대적 존재도를 결정하기 위해 형광단-, 은- 또는 화학발광-표지된 표적의 검출에 의해 전형적으로 검출되고 정량화된다. 전형적인 마이크로어레이에서, 프로브는 화학적 매트릭스에 대한 공유 결합에 의해 고체 표면에 부착된다(에폭시 실란, 아미노-실란, 리신, 폴리아크릴아마이드 또는 기타를 통해). 고체 표면은, 예를 들어 유리, 실리콘 칩 또는 미시적 비드이다. 예를 들어, 애피메트릭스 인코포레이티드(Affymetrix, Inc) 및 일루미나 인코포레이티드(Illumina, Inc)에 의해 제조되는 것을 포함하는 다양한 마이크로어레이가 상업적으로 입수 가능하다.

[0131] SNP 게노타이핑(genotyping)을 위한 다른 방법은 질량 분석법에 기반한다. 질량 분석법은 DNA의 4개의 뉴클레오타이드의 각각의 독특한 질량의 이점을 취한다. SNP는 대안의 SNP 대립유전자를 갖는 핵산의 질량에서 차이를 측정함으로써 질량 분석법에 의해 분명하게 유전자형으로 될 수 있다. MALDI-TOF(매트릭스 보조 레이저 탈착 이

온화-비행시간(Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight)) 질량 분석 기법은 SNP와 같은 분자 질량의 극도로 정확한 결정을 위해 유용하다. SNP 분석에 대한 수많은 접근은 질량 분석법을 기반으로 개발되었다. SNP 게노타이핑의 예시적인 질량 분석법-기반 방법은 프라이머 신장 분석을 포함하는데, 이는 전통적인 겔기반 형식 및 마이크로어레이와 같은 다른 접근과 조합되어 이용될 수 있다.

[0132] 서열-특이적 리보자임(미국특허 제5,498,531호)은 리보자임 절단 부위의 발생 또는 순서에 기반하여 SNP를 스코어링하는데 사용될 수 있다. 완벽하게 매칭된 서열은 뉴클레아제 절단 분해 분석에 의해 또는 용융 온도에서의 차이에 의해 미스매칭된 서열로부터 구별될 수 있다. SNP가 제한 효소 절단 부위에 영향을 미친다면, SNP는 제한 효소 분해 패턴에서 변경 및 겔 전기영동에 의해 결정된 핵산 단편 길이에서 대응되는 변화에 의해 확인될 수 있다.

[0133] 본 발명의 다른 실시형태에서, 단백질 기반 검출 기법은 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전적 변이를 갖는 유전자에 의해 암호화된 변이체 단백질을 검출하는데 사용된다. 단백질의 변이체 형태의 존재 결정은 당업계에 공지된 어떤 적합한 기법, 예를 들어, 전기영동(예를 들어, 변성 또는 비변성 폴리아크릴아마이드 겔 전기영동, 2-이차원 겔 전기영동, 모세관 전기영동, 및 등전기초점화), 크로마토그래피(예를 들어, 크기 크로마토그래피, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 및 양이온 교환 HPLC), 및 질량 분석법(예를 들어, MALDI-TOF 질량 분석법, 전기분무 이온화(ESI) 질량 분석법, 및 텐덤 질량 분석법)을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Ahrer and Jungabauer (2006) J. Chromatog. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 841: 110-122; 및 Wada (2002) J. Chromatog. B. 781: 291-301] 참조. 적합한 기법은 검출되는 변이의 특성에 부분적으로 기반하여 선택될 수 있다. 예를 들어, 치환된 아미노산이 본래 아미노산과 상이한 전하를 가지는 경우 아미노산 치환을 초래하는 변이는 등전점 전기영동에 의해 검출될 수 있다. 고전압에서 pH 구배를 갖는 겔을 통한 폴리펩타이드의 등전점 전기영동은 그것의 pI에 의해 단백질을 분리시킨다. pH 구배 겔은 야생형 단백질을 함유하는 동시 실행 겔과 비교될 수 있다. 변이가 새로운 단백질 분해 절단 부위의 생성 또는 기존 것의 폐지를 초래하는 경우, 샘플은 단백질 분해 다음에 적절한 전기영동, 크로마토그래피 또는 질량분석 기법을 사용하는 웨브타이드 맵핑이 실시될 수 있다. 변이의 존재는 또한 에드먼(Edman) 분해 또는 특정 형태의 질량 분석법과 같은 단백질 시퀀싱 기법을 사용하여 검출될 수 있다.

[0134] 이들 기법의 조합을 사용하는 당업계에 공지된 방법이 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, HPLC-현미경 텐덤 질량 분석 기법에서, 단백질 분해는 단백질 상에서 수행되고, 얻어진 웨브타이드 혼합물을 역상 크로마토그래피 분리에 의해 분리된다. 그 다음에 텐덤 질량 분석법이 수행되고, 그것으로부터 수집된 데이터는 분석된다.(Gatlin et al. (2000) Anal. Chem., 72:757-763). 다른 예에서, 비변성 겔 전기영동은 MALDI 질량 분석법과 조합된다(Mathew et al. (2011) Anal. Biochem. 416: 135-137).

[0135] 일부 실시형태에서, 단백질은 단백질에 특이적으로 결합되는 항체 또는 웨브타이드와 같은 시약을 사용하여 샘플로부터 단리될 수 있고, 그 다음에 상기 개시된 기법 중 어떤 것을 사용하여 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하도록 추가로 분석될 수 있다.

[0136] 대안적으로, 샘플 내 변이체 단백질의 존재는 본 발명에 따른 유전적 변이를 갖는 단백질에 특이적인 항체, 즉, 변이를 갖는 단백질에 특이적으로 결합되지만, 변이가 없는 단백질 형태에는 결합되지 않는 항체에 기반한 면역 친화도 분석에 의해 검출될 수 있다. 이러한 항체는 당업계에 공지된 임의의 적합한 기법에 의해 생성될 수 있다. 용액 샘플로부터 특이적 단백질을 면역침전시키기 위해 또는, 예를 들어 폴리아크릴아마이드 겔에 의해 분리되는 단백질을 면역블로팅하기 위해 항체가 사용될 수 있다. 조직 또는 세포에서 특이적 단백질 변이체를 검출하는데 면역 세포 화학적 방법이 또한 사용될 수 있다. 다른 잘 공지된 항체 기반 기법이 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 효소결합 면역흡착 분석(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), 방사 면역 분석(radioimmuno-assay: RIA), 면역방사능 분석(immunoradiometric assay: IRMA) 및 단클론성 또는 다클론성 항체를 사용하는 샌드위치 분석을 포함하는 면역효소 분석(imunoenzymatic assay: IEMA)을 포함하는, 다수의 잘 공지된 항체 기반 기법이 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국특허 제4,376,110호 및 제4,486,530호 참조.

#### 추가적인 유전적 마커의 확인

[0137] 개시된 유전적 마커는 AD의 발생과 관련된 추가적인 유전적 마커를 확인하는데 유용하다. 예를 들어, 본 명세서에 개시된 SNP는 연관불평형인 추가적인 SNP를 확인하는데 사용될 수 있다. 사실, AD와 관련된 제1 SNP를 지니는 연관불평형인 어떤 SNP는 AD와 관련될 것이다. 일단 주어진 SNP와 AD 사이에 관련이 증명된다면, AD와 관련된 추가적인 SNP의 발견은 이 특정 영역에서 SNP의 밀도를 증가시키기 위한 큰 관심 대상을 가질 수 있다.

- [0139] 추가적인 SNP를 확인하고, 연관불평형 분석을 수행하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 본 명세서에 개시된 SNP를 지니는 연관불평형에서 추가적인 SNP의 식별은 (a) 다수의 개체로부터 제1 SNP를 포함하거나 또는 둘러싸는 게놈 영역으로부터 단편을 증폭시키는 단계; (b) 상기 제1 SNP를 은닉하거나 또는 둘러싸는 게놈 영역에서 제2 SNP를 확인하는 단계; (c) 상기 제1 SNP와 제2 SNP 간의 연관불평형 분석을 수행하는 단계; 및 (d) 상기 제1 마커를 지니는 연관불평형에서와 같이 상기 제2 SNP를 선택하는 단계를 수반할 수 있다.
- [0140] 조합에서 사용을 위한 추가적인 진단 방법
- [0141] 개시된 유전적 마커의 검출은 AD를 가지거나 또는 AD가 발생될 증가된 위험을 가지는 피험체를 확인하기 위한 하나 이상의 추가적인 진단적 접근과 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 피험체는 본 명세서에 개시된 유전적 마커에 더하여 추가적인 유전적 마커에 대해 스크리닝 될 수 있다. 피험체로부터의 뇌척수액은 AD의 특징인 아밀로이드 베타 또는 타우 단백질의 증가된 수준에 대해 분석될 수 있다. 피험체는 또한 간이 정신상태 검사 (Mini Mental State Exam: MMSE) 와 같은 정신상태 검사가 실시되어, 기억, 집중 및 다른 인지 기능이 평가될 수 있다. 피험체에 또한 CT 스캔, MRI, SPECT 스캔 또는 PET 스캔과 같은 영상화 절차가 실시되어 알츠하이머병을 나타내는 뇌 구조 또는 크기의 변화를 확인할 수 있다.
- [0142] 알츠하이머병의 진단, 예후 및 치료
- [0143] 본 발명은 본 명세서에 개시된 바와 같은 AD와 관련된 하나 이상의 유전적 변이의 피험체로부터의 샘플에서 존재를 검출함으로써 피험체에서 AD의 진단 또는 예후를 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 하나 이상의 유전적 변이는 인터류킨-6 수용체(IL6R)에 대해 암호화하는 유전자, 뉴로트로핀 인자 4(NTF4) 및 UNC5C, 및 표 3에 열거된 어떤 유전자로부터 선택된 유전자에 있다. 일부 실시형태에서, 유전적 변이는 유전자를 암호화하는 게놈 DNA(또는 그것의 조절 역)에 되어, 유전자는 인터류킨-6 수용체(IL6R)에 대해 암호화하는 유전자, 뉴로트로핀 인자 4(NTF4) 및 UNC5C, 및 표 3에 열거된 어떤 유전자로부터 선택된다. 다양한 실시형태에서, 유전적 변이는 인터류킨-6 수용체(IL6R)에 대해 암호화하는 유전자, 뉴로트로핀 인자 4(NTF4) 및 UNC5C, 및 표 3에 열거된 어떤 유전자로부터 선택된 하나 이상의 유전자에서 SNP, 대립유전자, 단상형, 삽입 또는 결실로부터 선택된 하나 이상의 유전자에 있다. 실시형태에서, 유전적 변이는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1)에서 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 rs2228145에서 'C' 대립유전자가이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2)에서 아미노산 치환 R206W이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 rs121918427에서 'T' 대립유전자가이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이 표 3에 열거된 것으로부터 선택된 유전자 내 SNP이다. 실시형태에서, 유전적 변이는 rs12733578, rs4658945, rs1478161, rs1024591, rs7799010, rs10969475 및 rs12961250으로부터 선택된 SNP이다. 이들 유전적 변이 중 어느 하나 이상은 이하에 기재된 검출, 진단 및 예후 방법 중 어떤 것에서 사용될 수 있다.
- [0144] 실시형태에서, 본 발명은 (a) IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계; 및 (b) 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는, 피험체에서 알츠하이머병(AD)을 나타내는 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 방법을 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다.
- [0145] 해당 방법에서 사용을 위한 시약은 올리고뉴클레오타이드, DNA 프로브, RNA 프로브 및 리보자임일 수 있다. 일부 실시형태에서, 시약은 표지된다. 표지는, 예를 들어 방사성동위원소 표지, 형광 표지, 생물발광 표지 또는 효소적 표지를 포함할 수 있다. 검출할 수 있는 표지로서 작용할 수 있는 방사성핵종은, 예를 들어, I-131, I-123, I-125, Y-90, Re-188, Re-186, At-211, Cu-67, Bi-212 및 Pd-109를 포함한다.
- [0146] 또한 피험체로부터의 생물학적 샘플 내 IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는, 피험체에서 알츠하이머병(AD)을 나타내는 유전적 변이를 검출하기 위한 방법이 제공되며, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다. 해당 방법의 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 유전적 변이의 존재의 검출은 직접 시퀀싱, 대립유전자-특이적 프로브 혼성화, 대립유전자-특이적 프라이머 신장, 대립유전자-특이적 증폭, 대립유전자-특이적 뉴클레오타이드 포함, 5' 뉴클레아제 분해, 분자 비콘 분석, 올리고뉴클레오타이드 결찰 분석, 크기 분석 및 단일 가닥 구조 다형성으로 이루어진 군으로부터 선택된 과정에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, 샘플로부터의 핵산은 하나 이상의 유전적 변이의 존재를 결정하기 전에 증폭된다.

- [0147] 본 발명은 (a) IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 존재 또는 부재를 검출할 수 있는 시약과 피험체로부터의 샘플을 접촉시키는 단계; 및 (b) 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는 피험체에서 AD를 진단하거나 또는 예후하기 위한 방법을 추가로 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다.
- [0148] 본 발명은 피험체로부터의 생물학적 샘플 내 IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하는, 피험체에서 AD를 진단하거나 또는 예후하기 위한 방법을 추가로 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다.
- [0149] 본 발명은 또한 (a) 피험체로부터 핵산 함유 샘플을 얻는 단계, 및 (b) IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자로부터 선택된 유전자 내 적어도 하나의 유전적 변이의 존재를 검출하기 위한 샘플을 분석하는 단계를 포함하는 피험체에서 AD를 진단하거나 또는 예후하기 위한 방법을 제공하되, 유전적 변이의 존재는 피험체가 AD로 고통받거나 또는 AD가 진행될 위험에 있다는 것을 나타낸다.
- [0150] 일부 실시형태에서, 해당 방법은 피험체에 AD에 대한 하나 이상의 추가적인 진단적 시험을 실시하는 단계, 예를 들어 하나 이상의 추가적인 유전적 마커에 대한 스크리닝 단계, 정신상태 검사를 실시하는 단계 또는 피험체에 영상화 절차를 실시하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 해당 방법은 APOE 변형제인 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커의 존재를 검출하기 위한 샘플을 분석하는 단계를 추가로 포함하되, 적어도 하나의 추가적인 유전적 마커는 IL6R을 암호화하는 유전자, NTF4를 암호화하는 유전자, UNC5C를 암호화하는 유전자, 및 표 3에 열거된 유전자로부터 선택된 유전자 내에 있다.
- [0151] 상기 방법 중 어떤 것이 해당 방법의 결과를 기반으로 AD에 대해 피험체를 치료하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 샘플에서 적어도 하나의 APOE- $\varepsilon$  4 대립유전자의 존재를 검출하는 단계를 추가로 포함한다. 실시형태에서, 적어도 하나의 APOE- $\varepsilon$  4 대립유전자의 존재와 함께 적어도 하나의 유전적 변이의 존재는, 적어도 하나의 APOE- $\varepsilon$  4 대립유전자를 가지면서 적어도 하나의 유전적 마커의 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 나타낸다.
- [0152] 또한 AD의 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 갖는 피험체를 확인하는 방법이 제공되되, (a) 피험체로부터의 생물학적 샘플 내 IL6R, NTF4 및 UNC5C를 암호화하는 유전자로부터 선택된 유전자 내 유전적 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및 (b) 적어도 하나의 APOE- $\varepsilon$  4 대립유전자의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함하되, 유전적 변이 및 적어도 하나의 APOE- $\varepsilon$  4 대립유전자의 존재는 유전적 변이 및 적어도 하나의 APOE- $\varepsilon$  4 대립유전자의 존재가 없는 피험체에 비해 더 조기 연령의 AD 진단의 증가된 위험을 가진다는 것을 나타낸다.
- [0153] 또한 피험체에서 AD의 하위표현형의 진단을 보조하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자에서 유전적 변이체의 존재를 검출하는 단계를 포함한다. 실시형태에서, 유전적 변이체는 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP이며, AD의 하위표현형은 하나 이상의 대조군 피험체에 비해 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 적어도 부분적으로 가용성 IL6R의 증가된 수준을 특징으로 한다. 다른 실시형태에서, 유전적 변이는 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2) 내 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP이며, AD의 하위표현형은 하나 이상의 대조군 피험체에 비해 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 적어도 부분적으로 TrkB의 감소된 활성화를 특징으로 한다. 다른 실시형태에서, 유전적 변이는 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3) 내 아미노산 치환 T835M을 초래하는 SNP이며, AD의 하위표현형은 하나 이상의 대조군 피험체에 비해 피험체로부터 유래된 생물학적 샘플에서 적어도 부분적으로 UNC5C의 증가된 아포토시스 활성을 특징으로 한다.
- [0154] 본 발명은 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 IL6R의 아미노산 서열(서열번호 1) 내 아미노산 치환 D358A를 초래하는 SNP를 검출하는 단계를 포함하는, IL6R을 표적화하는 AD 치료제에 대한 피험체의 반응을 예측하는 방법을 추가로 제공하되, SNP의 존재는 IL6R을 표적화하는 치료제에 대한 반응을 나타낸다. 실시형태에서, 치료제는 IL6R 길항물질 또는 결합체, 예를 들어, 항-IL6R 항체이다.
- [0155] 본 발명은 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 NTF4의 아미노산 서열(서열번호 2) 내 아미노산 치환 R206W를 초래하는 SNP를 검출하는 단계를 포함하는 TrkB를 표적화하는 AD 치료제에 대한 피험체의 반응을 예측하는 방법을 추가로 제공하되, SNP의 존재는 TrkB를 표적화하는 치료제에 대한 반응을 나타낸다. 실시형태에서, 치료제는 TrkB 작용물질, 예를 들어 TrkB 작용물질 항체이다.
- [0156] 본 발명은 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플에서 UNC5C의 아미노산 서열(서열번호 3)에서 아미노산 치환 T835M

을 초래하는 SNP를 검출하는 단계를 포함하는, UNC5C를 표적화하는 AD 치료제에 대한 피험체의 반응을 예측하는 방법을 추가로 제공하되, SNP의 존재는 UNC5C를 표적화하는 치료제에 대한 반응을 나타낸다. 실시형태에서, 치료제는 UNC5C 죽음 도메인을 표적화한다.

- [0157] 상기 기재된 방법 중 어떤 것에서 사용을 위한 생물학적 샘플은 당업자에게 공지된 특정 방법을 사용하여 얻어질 수 있다. 생물학적 샘플은 척추 동물, 특히 포유류에서 얻어질 수 있다. 특정 실시형태에서, 생물학적 샘플은 세포 또는 조직, 예컨대 뇌척수액, 신경 세포, 또는 뇌 조직을 포함한다. 표적 핵산(또는 암호화된 폴리펩타이드) 내 변이는 조직 샘플로부터 또는 다른 신체 샘플, 예컨대 뇌척수액, 혈액, 혈청, 소변, 가래, 타액, 점막의 칼과표본, 눈물 분비물, 또는 땀으로부터 검출될 수 있다. 이러한 신체 샘플을 스크리닝함으로써, AD와 같은 질병에 대해 단순한 조기 진단이 달성될 수 있다. 추가로, 치료 과정은 표적 핵산(또는 암호화된 폴리펩타이드) 내 변이에 대해 이러한 신체 샘플을 시험함으로써 더 용이하게 모니터링될 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 AD를 가질 것으로 의심되는 개체로부터 얻어진다.
- [0158] 피험체 또는 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플이 본 명세서에 개시된 유전적 변이를 포함한다는 결정에 후속하여, 적절한 AD 치료제의 유효량이 피험체에서 AD를 치료하기 위해 피험체에 투여될 수 있는 것으로 생각된다.
- [0159] 상기 기재된 방법에 따라 또한 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 표 3에 열거된 유전자 중 어느 하나 이상에서 유전적 변이를 포함하는 핵산 내 하나 이상의 변이의 존재를 검출함으로써 포유류에서 AD 진단을 보조하기 위한 방법이 제공된다.
- [0160] 다른 실시형태에서, 방법은 AD를 지니는 피험체가 상기 기재된 방법에 따라 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4, 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 표 3에 열거된 유전자 중 하나 이상에서 변이를 포함하는지 여부를 결정함으로써 치료제에 반응하는지 여부를 예측하는 방법이 제공된다.
- [0161] 또한 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자 또는 표 3에 열거된 유전자 중 하나 이상에서 변이의 피험체 내 존재 또는 부재를 검출함으로써 AD가 발생한 피험체의 소인을 평가하기 위한 방법이 제공된다.
- [0162] 또한 포유류에서 AD를 하위 분류하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자 또는 표 3에 열거된 유전자 중 어느 하나 이상에서 유전적 변이의 존재를 검출하는 단계를 포함한다.
- [0163] 또한 환자 하위집단에서 AD를 치료하는데 효과적인 치료제를 확인하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자 또는 표 3에 열거된 유전자 중 어느 하나 이상에서의 SNP에 대응되는 뉴클레오타이드 위치에서 유전적 변이의 존재와 작용제의 효능을 상호 관련짓는 단계를 포함한다.
- [0164] 추가적인 방법은 적절하다면, 적절한 임상적 개입 단계를 결정하는데 유용한 정보를 제공한다. 따라서, 본 발명의 방법의 일 실시형태에서, 해당 방법은 본 명세서에 개시된 바와 같은 AD와 관련된 유전자에서 변이의 존재 또는 부재의 평가 결과를 기반으로 임상적 개입 단계를 추가로 포함한다. 예를 들어, 적절한 개입은 본 발명의 방법에 의해 얻어지는 유전적 정보를 기반으로 예방적 및 치료 단계 또는 어떤 그 다음의 기존의 예방적 또는 치료 단계의 조절(들)을 수반할 수 있다.
- [0165] 당업자에게 명백할 바와 같이, 본 명세서에 기재된 어떤 방법에서, 변이 존재의 검출은 질병의 특징(예를 들어, 질병의 존재 또는 하위유형)을 양성으로 나타내지만, 변이의 미검출은 또한 질병의 상호간 특징을 제공함으로써 유용하게 된다.
- [0166] 또한 추가적인 방법은 포유류로부터 생물학적 샘플을 얻는 단계, 본 명세서에 개시된 바와 같은 변이의 존재 또는 부재에 대해 생물학적 샘플을 시험하는 단계, 상기 조직 또는 세포 샘플에서 변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계, 상기 포유류에 적절한 치료제의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 포유류에서 AD를 치료하는 방법을 포함한다. 선택적으로, 해당 방법은 상기 포유류에 표적화된 AD 치료제의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0167] 또한 유전적 변이가 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 표 3에 열거된 유전자 중 어느 하나 이상에서의 SNP에 대응되는 뉴클레오타이드 위치에서 존재하는 것으로 알려진 피험체에서 AD를 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 질환을 치료하는데 효과적인 치료제를 피험체에 투여하는 단계를 포함한다.

- [0168] 또한 AD를 갖는 피험체를 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자, 또는 표 3에 열거된 유전자 중 어느 하나 이상에서의 SNP에 대응되는 뉴클레오타이드 위치에서 유전적 변이를 갖는 피험체에서 질환을 치료하는데 효과적인 것으로 알려진 피험체에 투여하는 단계를 포함한다.
- [0169] 또한 AD를 갖는 피험체를 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 적어도 하나의 임상 연구에서 상기 질환을 치료하는데 효과적인 것으로 이전에 나타난 치료제를 피험체에 투여하는 단계를 포함하되, 작용제는 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자 또는 표 3에 열거된 유전자 중 어느 하나 이상에서의 SNP에 대응되는 뉴클레오타이드 위치에서 각각 유전적 변이를 갖는 적어도 5명의 인간 피험체에 투여된다. 일 실시형태에서, 적어도 5명의 피험체는 적어도 5명의 피험체의 그룹에 대해 전체적으로 2이상의 상이한 SNP를 가진다. 일 실시형태에서, 적어도 5명의 피험체는 적어도 5명의 피험체의 전체 그룹에 대해 동일한 SNP를 가진다.
- [0170] 또한 하위집단에 대해 치료제로서 승인된 치료제의 유효량을 피험체에 투여하는 단계를 포함하는, 특이적 AD 환자 하위집단을 가지는 AD 피험체를 치료하는 방법이 제공되되, 하위집단은 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자 또는 표 3에 열거된 유전자 중 어느 하나 이상에서의 SNP에 대응되는 뉴클레오타이드 위치에서 적어도 부분적으로 유전적 변이와 관련을 특징으로 한다.
- [0171] 일 실시형태에서, 하위집단은 유럽인 혈통이다. 일 실시형태에서, 본 발명은 AD 치료제를 제조하는 단계 및 AD를 가지거나 또는 갖는 것으로 믿어지는 피험체 또는 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자 또는 표 3에 열거된 유전자 중 어느 하나 이상에서의 SNP에 대응되는 위치에서 유전적 변이를 갖는 피험체에 작용제를 투여하기 위한 설명서와 함께 작용제를 포장하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0172] 또한 본 명세서에 개시된 바와 같은 IL6R, NTF4 또는 UNC5C를 암호화하는 유전자 또는 표 3에 열거된 유전자 중 어느 하나에서의 SNP에 대응되는 뉴클레오타이드 위치에서 유전적 변이의 존재를 검출하는 단계를 포함하는, AD 치료제에 의한 치료를 위해 AD로 고통받는 환자를 선택하기 위한 방법이 제공된다.
- [0173] AD의 치료를 위한 치료제는 일부 실시형태에서 약제학적 사용에 적합한 조성물에 포함될 수 있다. 이러한 조성물은 전형적으로 펩타이드 또는 폴리펩타이드, 및 허용가능한 담체, 예를 들어 약제학적으로 허용가능한 것을 포함한다. "약제학적으로 허용가능한 담체"는 약제학적 투여와 양립가능한 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 등장 및 흡수 지연제 등을 포함한다(Gennaro, Remington: The science and practice of pharmacy. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa. (2000)). 이러한 담체 또는 희석제의 예는 물, 식염수, 링거액, 텍스트로스 용액 및 5% 인간 혈청 알부민을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 리포좀 및 비수성 비히클, 예컨대 고정유가 또한 사용될 수 있다. 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 양립불가능할 때를 제외하고, 이를 조성물의 사용이 고려된다. 보충 활성 화합물은 또한 조성물 내로 포함될 수 있다.
- [0174] 본 발명의 치료제(및 AD의 치료를 위한 임의의 추가적인 치료제)는 비경구, 폐내, 척추강내 및 비강내 및 원한다면 국소 치료를 위해 장애내 투여를 포함하는 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있다. 비경구 주입은, 예를 들어 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 또는 피하 투여를 포함한다. 투약은 부분적으로 투여가 간단한지 또는 만성인지 여부에 따라서 임의의 적합한 경로, 예를 들어 주사에 의할 수 있다. 1회 또는 다양한 시점에 걸친 다회 투여, 볼루스 투여 및 펠스 주입을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다양한 투약 스케줄이 본 명세서에서 생각된다.
- [0175] 본 발명의 특정 실시형태는 혈액뇌 장벽을 횡단하는 AD 치료제를 제공한다. 몇몇 당업계에 공지된 접근은 생리적 방법, 지질기반 방법 및 수용체 및 채널기반 방법을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 혈액뇌 장벽을 횡단하는 문자를 수송하기 위해 존재한다.
- [0176] 혈액뇌 장벽을 횡단하는 AD 치료제를 수송하기 위한 생리적 방법은, 혈액뇌 장벽을 완전히 우회하거나 또는 혈액뇌장벽의 개방을 만드는 것을 포함한다. 우회 방법은 뇌 내로 직접 주사(예를 들어, 문헌[Papanastassiou et al., Gene Therapy 9: 398-406 (2002)] 참조) 및 뇌에 전달 장치의 이식(예를 들어, 문헌[Giil et al., Nature Med. 9: 589-595 (2003); 및 Gliadel Wafers™, Guildford Pharmaceutical] 참조)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 장벽 내 개방을 만드는 방법은 초음파(예를 들어, 미국특허 공개 제2002/0038086호 참조), 삼투압(예를 들어, 고장성 만니톨의 투여에 의해(Neuwelt, E. A., Implication of the Blood-Brain Barrier and its Manipulation, Vols 1 & 2, Plenum Press, N.Y. (1989))), 예를 들어, 브래디키닌 또는 투과기 A-7에 의한 투

과(예를 들어, 미국특허 제5,112,596호, 제5,268,164호, 제5,506,206호 및 제5,686,416호 참조), 및 혈액뇌 장벽을 가로지르는 뉴런의 항체를 암호화하는 유전자 또는 이의 단편을 함유하는 백터에 의한 형질감염(예를 들어, 미국특허 공개 제2003/0083299호 참조)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0177] 혈액뇌 장벽을 가로지르는 AD 치료제를 수송하는 지질기반 방법은 혈액뇌 장벽의 혈관 내피 상의 수용체에 결합되는 항체 결합 단편에 결합되는 리포좀에서 AD 치료제를 캡슐화하는 단계(예를 들어, 미국특허 출원 공개 제20020025313호 참조), 및 저밀도 리포단백질 입자(예를 들어, 미국특허 출원 공개 제20040204354호 참조) 또는 아폴리포단백질 E(예를 들어, 미국특허 출원 공개 제20040131692호 참조)에서 AD 치료제를 코팅하는 단계를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0178] 혈액-뇌 장벽을 가로지르는 AD 치료제를 운송하는 수용체 기반 방법은 그것이 수용체 매개 트랜스사이토시스 후 혈액-뇌 장벽을 가로질러 운반되도록 야기하는 혈액-뇌 장벽에서 발현되는 수용체를 인식하는 리간드에 AD 치료제의 컨쥬게이션을 포함하지만, 이것으로 제한되지 않는다(Gabathuler (2010) Neurobiology of Disease 37; 48-57). 이들 리간드는 트랜스페린 수용체에 또는 인슐린 수용체, 히스톤, 바이오틴, 폴레이트, 나이아신, 판토텐산 또는 글라이코펩타이드에 단클론성 항체와 같은 뇌 모세관 내피 수용체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 리간드를 포함한다.

[0179] AD 치료제를 투여하기 위한 효과적인 투약량 및 스케줄은 경험적으로 결정될 수 있으며, 이러한 결정을 하는 것은 당업자의 능력 내에 있다. 1회 또는 다회 투약량이 사용될 수 있다. AD 치료제의 생체내 투여가 사용될 때, 정상 투약량은 투여 경로에 따라서 1일 당 약 10ng/kg 내지 100mg/kg까지의 포유류 체중 이상, 바람직하게는 약 1 μg/kg/일 내지 10mg/kg/일로 다를 수 있다. 특정 투약량 및 전달 방법에 대한 지침은 문헌에서 제공된다; 예를 들어, 미국특허 제4,657,760호; 제 5,206,344호; 또는 제5,225,212호 참조.

[0180] 또한 추가적인 치료가 해당 방법에서 사용될 수 있는 것으로 생각된다. 하나 이상의 다른 치료는 추가적인 AD 치료제, 예컨대 콜린에스터라제 저해제, 메만틴, 항-불안 의약, 항-우울제, 불안제거제, 또는 아밀로이드 전구체 단백질, 아밀로이드 베타, 아밀로이드 플라크를 표적화하는 화합물, 또는 알파-세크레타제, 베타-세크레타제 및 감마-세크레타제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 아밀로이드 전구체 단백질을 절단하는 어떤 효소의 투여를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

#### 키트

[0182] 본 명세서에 기재되거나 또는 제시된 적용에서 사용을 위해, 키트 또는 제조물품이 또한 제공된다. 이러한 키트는 밀폐에서 바이알, 관 등과 같은 하나 이상의 용기 수단을 수용하도록 구획화된 운반체 수단을 포함할 수 있으며, 각각의 용기 수단은 해당 방법에서 사용되는 별개의 용기 중 하나를 포함한다. 예를 들어, 용기 수단 중 하나는 검출가능하게 표지되거나 또는 표지될 수 있는 프로브를 포함할 수 있다. 이러한 프로브는 본 명세서에 개시된 바와 같이 AD와 관련된 유전적 변이체를 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 특이적인 폴리뉴클레오타이드일 수 있다. 키트가 표적 핵산을 검출하도록 핵산 혼성화를 이용하는 경우, 키트는 표적 핵산 서열의 중복을 위한 뉴클레오타이드(들)를 함유하는 용기 및/또는 수용체 수단, 예컨대 효소적, 형광 또는 방사성동위원소 표지와 같은 수용체 분자에 결합된 바이오틴-결합 단백질, 예컨대 아비딘 또는 스트렙타비딘을 포함하는 용기를 가질 수 있다.

[0183] 다른 실시형태에서, 키트는 본 명세서에 개시된 바와 같은 AD와 관련된 유전적 변이체를 포함하는 폴리펩타이드를 검출할 수 있는 표지 작용제를 포함할 수 있다. 이러한 작용제는 폴리펩타이드에 결합되는 항체일 수 있다. 이러한 작용제는 폴리펩타이드에 결합되는 웨بت이드일 수 있다. 키트는, 예를 들어 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전적 변이체를 포함하는 폴리펩타이드에 결합되는 제1 항체(예를 들어, 고체 지지체에 부착됨); 및 선택적으로 폴리펩타이드 또는 제1 항체에 결합되고, 검출가능한 표지에 컨쥬게이트되는 제2의 상이한 항체를 포함할 수 있다.

[0184] 키트는 전형적으로 완충제, 희석제, 충전제, 바늘, 주사기 및 포장 삽입물을 포함하는 상업적 및 사용자 견지로부터 바람직한 재료를 사용을 위한 설명서와 함께 포함하는 상기 기재한 용기 및 하나 이상의 다른 용기를 포함할 것이다. 표지는 조성물이 특이적 치료 또는 비치료 적용을 위해 사용된다는 것을 나타내도록 용기 상에 제공될 수 있고, 또한 상기 기재한 것과 같은 생체내 또는 시험관내 사용을 위한 방향을 나타낼 수 있다. 키트 내 다른 선택적 성분은 하나 이상의 완충제(예를 들어, 차단 완충제, 세척 완충제, 기질 완충제 등), 효소적 표지, 에피토프 회복 용액, 대조군 샘플(양성 및/또는 음성 대조군), 대조군 슬라이드(들) 등에 의해 화학적으로 변경되는 다른 시약을 포함한다.

**[0185] 판매방법**

본 명세서의 발명은 또한 표적 집단에 대한 광고, 지시 및/또는 명시를 포함하는 AD의 진단 또는 예후의 개시된 방법을 판매하기 위한 방법, 개시된 방법의 사용을 포함한다.

판매는 일반적으로 스폰서가 확인되고, 메시지가 통제되는 비인간 매체를 통해 유료 커뮤니케이션이다. 본 명세서의 목적을 위한 판매는 대중성, 공공관계, 간접광고, 후원, 인수 등을 포함한다. 이 용어는 또한 인쇄 전달 매체 중 어떤 것에서 나타나는 후원된 정보의 공고를 포함한다.

본 명세서의 진단 방법의 판매는 어떤 수단에 의해 달성될 수 있다. 이를 메시지를 전달하기 위해 사용되는 판매 매체의 예는 방송 매체에서 나타나는 메시지인 광고를 포함하여 텔레비전, 라디오, 영화, 잡지, 신문, 인터넷 및 옥외 광고판을 포함한다.

사용되는 판매 유형은 다수의 인자, 예를 들어 도달되는 표적 집단의 특성, 예를 들어 병원, 보험회사, 의원, 의사, 간호사 및 환자뿐만 아니라 비용의 고려 및 관계 사법당국의 법 및 의약 판매의 규제기관 및 진단에 의존 할 것이다. 판매는 서비스 상호작용 및/또는 사용자 인구통계 및 지리적 위치와 같은 다른 데이터에 의해 정해지는 사용자의 특징을 기반으로 개별화되거나 또는 주문제작될 수 있다.

다음은 본 발명의 방법 및 조성물의 예이다. 상기 제공된 일반적 설명이 주어지는 다양한 다른 실시형태가 실행 될 수 있는 것으로 이해된다.

**[0191] 실시예****[0192] 실시예 1: APOE 변형제 스크리닝**

알츠하이머병(AD)의 개발에 대해 APOE 효과를 변형시키는 변이체를 확인하는 연구를 설계하였다. 연구 설계를 도 1에 도시한다. 65세 미만이며 AD를 갖는 피험체로부터 단리하고, 따라서 위험 대립유전자에 대해 추정적으로 풍부한 DNA("사례")를 AD가 없고 신경학적 시험에 의해 정상 인식을 지니는 75세 또는 80세 초과의 피험체로부터 단리하며, 따라서 보호적 대립유전자가 추정적으로 풍부한 DNA("상위 대조군")와 비교하였다. 유럽 혈통의 미국 거주인 후손인 모든 피험체는 APOE E4 대립유전자에 대해 동형접합적(E4/E4) 또는 이형접합적(E3/E4)이었고, 알츠하이머병의 국립 세포 저장소(National Cell Repository of Alzheimer's Disease: NCRAD)로부터 얻었다. 표 1에 나타내는 바와 같이, 코호트 1에 대한 사례는 < 65세 및 >55세 연령의 치매 개시 연령에 의해 전체 31명의 미관련 E4/E4 동형접합체 및 50명 E3/E4 알츠하이머 사례를 포함하였다. 사례의 대략 1/3에 대해 AD 진단을 검시에 의해 확인하였다. 코호트 1에 대한 상위 대조군은 80세 초과에서 19명의 E3/E4 이형접합체 및 75세 초과에서 50명의 E4/E4 동형접합체를 포함하였다. 대조군은 모두 0과 동일한 임상치매척도(Clinical Dementia Rating: CDR)를 가지는데, 이는 최종 방문에서 인지 손상의 증거를 나타내지 않았다. 샘플의 APOE 대립유전자를 전체 게놈 시퀀싱에 의해(이형접합체에 대해) 또는 엑솜 시퀀싱에 의해(동형접합체에 대해) 확인하였다.

**표 1**

코호트 1*		
APOE 대립유전자	사례(N)	상위 대조군(N)
APOE-ε 4 / APOE-ε 4	31	19
APOE-ε 4 / APOE-ε 3	50	50

\* 미국 국립 노화 연구소(National Institute on Aging: NIA)에 의해 수여된 협동 협약서승인(U24 AG21886) 하에 정부 지원을 받은 알츠하이머병에 대한 국립 세포 저장소(NCRAD)로부터의 샘플을 이 연구에서 사용하였다. 본 발명자들은 이 연구에서 사용한 샘플을 수집한 알츠하이머병 센터를 포함하는 기부자뿐만 아니라 이 작업이 가능하도록 도와주고 참여한 환자 및 그들의 가족에게 감사를 표한다.

**[0195] APOE 위험의 흔한 변형제**

APOE를 변형시키는 흔한 변이체를 확인하기 위해 코호트 1에서 게놈 와이드 관련 스캔을 수행하였다. 일루미나(Illumina) 1M SNP 어레이를 사용하여 코호트 1의 피험체를 게노타이핑하였다. 게노타이핑 데이터에 대한 품질 대조군을 문헌[Gateva et al. (2009) Nat. Genet. 2009 Nov;41(11):1228-1233]에 기재된 바와 같이 수행하였다. 발견 단계에 대해 코호트 1(표 1)을 사용하였다. 인간 염색체 1 상의 IL6R/SHE/TDR10에서 흔한 변이체는 81 E4+ 사례 대 코호트 1의 68 E4+ 대조군에서 유의한 관련을 나타내었다(도 2).

미국 국립 노화 연구소에 대한 미국 국가생물공학센터(National Center for Biotechnology Information: NCB

I)의 웹사이트에서 입수가능한 유전자형 및 표현형(dbGAP)의 데이터베이스로부터 복제 데이터 설정을 얻었다 - 후발성 알츠하이머병 패밀리 연구: 감수성 유전자좌위에 대한 게놈-와이드 관련 연구(dbGAP 연구 ID: phs000168.v1.p1). NIA/LOAD 연구는 일루미나 610K SNP 어레이에 대해 유전자형화된 932명의 AD 사례 및 836명의 유럽-미국 혈통 대조군으로 이루어졌다. <65세의 진단 연령을 지니는 200명의 E4 이형접합체 및 동형접합체 사례 및 최종 방문시 >=75세의 연령을 지니는 144명의 E4 이형접합체 및 동형접합체 대조군을 선택하였다.

[0198] 표 2에서 나타내는 바와 같이, IL6R을 암호화하는 유전자 내 SNP(rs2228154)는 발견과 복제 코호트 둘 다에서 AD와 유의하게 관련되는 것을 확인하였다. 다형성 부위에서 C를 갖는 SNP rs2228145의 변이체("C 대립유전자")는 대조군에 비해 AD 사례에서 우선적으로 발견되었다. 이 대립유전자는 IL6R에서 아미노산 치환 D358A를 포함한다.

표 2

발견: 81명 < 65세 피험체 ALZ E4+ 사례 대 68명 > 80세 피험체 E4+ 대조군				
염색체	SNP	대립유전자	오즈비	P
1	rs2228154	C	1.738	0.0087
C 대립유전자: 사례에서 47%, 대조군에서 31%				
복제: 200명 < 65세 피험체 ALZ E4+ 사례 대 144명 > 75세 피험체 E4+ 대조군				
염색체	SNP	대립유전자	오즈비	P
1	rs2228154	C	1.642	0.0017
C 대립유전자: 사례에서 46%, 대조군에서 33%				
메타 P 값은 $4.7 \times 10^{-5}$ 이었다.				

[0200] IL6R의 A358 변이체 대립유전자의 분포를 NIA/LOAD 연구로부터 932명의 미선택 AD 사례 및 836명의 대조군에서 시험하였다. NIA/LOAD 피험체에서 APOE 다형체의 임상적 평가 및 게노타이핑은 문헌[Lee et al., (2008) Arch Neurol. 65: 1518–1526]에 기재되어 있다. 도 3은 AD 사례에서 개시 연령 및 대조군에서 연령에 의해 계층화되는 바와 같이 NIA/LOAD 연구로부터 미선택 AD 사례 및 대조군에서 rs4129267의 T 대립유전자, rs2228145의 C 대립유전자의 프록시의 빈도를 나타낸다. A358 변이체 대립유전자는 대조군에 비해 조발성 사례에서 더 빈번하게 존재하였지만, 대조군에 비해 후발성에서 덜 빈번하게 존재하였고, 이는 질량 변화 변이체와 일치된다.

[0201] 인터류킨-6 수용체(IL6R)는 세포 성장 및 분화를 조절하고, 면역 반응에서 중요한 역할을 하는 강력한 다면발현 사이토카인인 사이토카인 인터류킨 6(IL-6)에 대한 수용체이다. IL6R A358은 증가된 혈청 IL6R 수준과 관련된 흔한 변이체 대립유전자이다(Galicia et al. (2004) Genes & Immunity 5:513; Marinou et al. (2010) Ann. Rheum. Dis. 69: 1191). A358 변이체 대립유전자는 감소된 CRP 순환 수준 및 관상심장병의 감소된 위험(Elliott et al. (2009) JAMA 302: 37–48)뿐만 아니라 증가된 천식 위험(Ferreira et al. (2011) Lancet 378: 1006–1014)과 관련되었다.

[0202] IL6R mRNA 발현이 AD에서 상승되고/되거나 위치 358에서 유전자형에 의해 영향받는지 여부를 시험하기 위해, TGEN 프로젝트로부터의 데이터(Webster et al. (2009) Am. J. Hum. Genet. 84: 445–458)를 대조군에 비해 AD를 지니는 피험체의 뇌에서 막결합과 가용성 IL6R의 발현 수준을 비교하도록 분석하였다. IL6R(NM\_000565)의 막 결합 형태만을 검출한 프로브를 사용하여, AD에서 또는 위치 358에서 유전자형에 의한 풍부를 관찰하지 못하였다. 그러나, 막결합과 sIL6R(NM\_181359) mRNA를 둘 다 포획하는 프로브를 사용할 때, 뇌의 측두부에서 및 위치 358에서 유전자형에 의해, 대조군에 비해 AD 사례에서 유의한 풍부함을 관찰하였다(도 4).

[0203] IL6R 영역에 추가적으로, 표 3에 열거한 영역은 코호트 1 및 NIA/LOAD 데이터베이스에서 유의한 관계를 나타내었는데, 이는 이들 좌위가 APOE 위험의 추가적인 흔한 변형체일 수 있다는 것을 시사한다.

표 3

코호트 1 및 NIA/LOAD 연구에서 APOE 위험과 관련된 영역									
SNP	유전자	코호트 1(81명 사례 대 68명 대조군)				NIA/LOAD(200명 사례 대 144명 대조군)			
		빈도_A	빈도_U	OR	P	빈도_A	빈도_U	OR	P
rs12733578	INPP5B	0.19	0.36	0.45	0.00044	0.28	0.38	0.66	0.013
rs4658945	DISC1	0.37	0.24	1.83	0.0058	0.30	0.22	1.46	0.037
rs1478161	OTOLIN1	0.21	0.34	0.48	0.0023	0.26	0.34	0.70	0.035
rs1024591	STAG3L4	0.48	0.34	1.82	0.0032	0.49	0.39	1.53	0.0093

rs7799010	UBE3C/ MINX1	0.50	0.37	1.78	0.0074		0.48	0.40	1.40	0.035
rs10969475	LINGO2/ ACO1	0.52	0.37	1.87	0.0024		0.50	0.41	1.44	0.026
rs12961250	MRLC2	0.40	0.27	1.99	0.0023		0.41	0.33	1.38	0.050
rs225359	TFF1	0.25	0.43	0.44	0.00022		0.30	0.41	0.64	0.0054

[0205] **APOE 변형제 스크린에서 희귀 변이체**

[0206] 뉴로트로핀 4(NTF4)

[0207] 상기 개시한 흔한 변이체에 추가로, APOE 변형제 스크린은 또한 AD와 관련된 희귀 변이체의 확인을 초래하였다. 전체 집단에서 2% 미만의 대립유전자 빈도를 갖는 이들 희귀 변이체는 NTF4의 R206W 변이체를 포함하였다. NTF4의 R206W 변이체는 AD 사례의 78명 중 2명(2.6%) 및 상위대조군의 67명 중 0명(0.0%)에서 발견되었다. 추가로, NHLBI 엑솜 시퀀싱 프로젝트(Exome Sequencing Project: ESP) 엑솜 변이체 공급자로부터 얻은 데이터를 사용하는 샘플 수집 시간에 AD를 갖지 않는 1300명 엑솜-시퀀싱 유럽-미국인( $P = 1.87 \times 10^{-9}$ )에서 R206W 변이체는 관찰되지 않았다.

[0208] NTF4의 R206W 변이체는 염색체 19 상의 SNP rs121918427 부위에서 C에서 T로 치환을 초래한다. 뉴로트로핀 4는 포유류 뉴런의 생존 및 분화를 제어하는 뉴로트로핀 인자 패밀리의 구성원인 뉴로트로핀(NT)이다. 뉴로트로핀은 특이적 티로신 키나제 수용체인 Trk를 함유하는 뉴런의 서브세트의 유지, 증식 및 분화를 초래한다. NT에 의한 Trk 활성화는 프로그래밍된 세포사의 부정을 통해 생존 뉴런을 촉진한다(Robinson et al. (1999) Protein Sci. 8: 2589-2597). NTF4는 말초 및 주변 뉴런의 생존을 촉진하며, TrkB를 둘 다 활성화시킨다(Berkemeier et al. (1991) Neuron 7: 857-866).

[0209] NTF4 R206W 변이체는 대조군에 비해 녹내장을 지니는 피험체에서 과제공되는 것으로 이전에 보고되었다 ((Passuto et al. (2009) Am. J. Hum. Genet. 85: 447-456); Liu et al. (2010) Am. J. Hum. Genet. 86: 498-499). 변성된 잔기는 침팬지, 개, 마우스 및 래트에서 오솔로그(ortholog) 중에서 고도로 보존되며, TrkB 결합 부위에 위치된다. 변이체 단백질은 TrkB를 활성화하는 능력이 감소되었고, 신경돌기 겉가지에서 약화된 기능을 보여준다. 따라서 변이체 단백질은 뉴런 생존에 대한 효과를 가지는 것으로 예측된다(Passuto et al., supra).

[0210] NTF4의 이런 약화된 기능의 R206W 변이체와 APOE4 보유자에서 조발성 AD의 이런 새로 확인된 관련은 NTF4 경로의 활성화가 AD의 발생에 대해 보호적일 수 있으며, TrkB 수용체의 작용물질이 AD의 치료를 위한 잠재적 치료제일 수 있다는 것을 시사한다.

[0211] 실시예 2: 가족 기반 스크리닝

[0212] 앤리슨 고트(Alison Goate)(워싱턴 유니버시티)와 협력을 통해 L01 가계도를 얻었다. L01 가계도는 AD의 우성 유전을 시사하는 형태를 나타내었다. 발단자는 5명의 형제자매 중 한명이었는데 이들 중 2명은 또한 AD를 가지는 한편, 다른 형제자매의 AD 상태는 결정되지 않았다. 발단자의 어머니는 AD를 가졌고, 아버지는 그렇지 않았다. 발단자의 절반의 형제자매인 다른 배우자에 의한 발단자 아버지의 자녀는 AD를 가지지 않았다. 발단자 및 형제자매의 자녀 중에서, 4명이 AD를 가졌다. 가족 구성원에서 AD 개시 연령은 58세 내지 87세의 범위에 있었다. L01 가계도의 16명 구성원으로부터 얻은 일루미나 결합 어레이를 사용하여 수집한 유전자형 데이터를 사용하여 비모수 결합 분석을 수행하였다. QCed 데이터세트를 사용하는 MERLIN 소프트웨어를 사용하여 NPL 결합을 실행하였다. L01 계통도에서 비모수 결합 분석의 결과는 도 5에 나타내며, >1.5의 NPL 로드 스코어를 지니는 3개 영역을 관찰하였다. 3개 결합 간격 내에서 잠재적인 인파관계 대립유전자를 확인하기 위해, 발단자에 대해 엑솜 시퀀싱을 수행하였고(일루미나 샷 판독 기법), 1.5 초과의 LOD 스코어를 갖는 NPL 결합 피크에 대해 분석을 제한하였다. 얻어진 4,153 변이체를 새로움(dbSNP 또는 1000 게놈 프로젝트 데이터 내 존재로서 정함), 이형 접합성 및 추정 기능을 기준으로 랭킹하였다. 다른 AD 사례의 유전자형인 발단자의 조카딸을 완전 게놈 시퀀싱(complete genome sequencing: CGI)을 사용하여 결정하였고, 상위 5위에 랭크된 변이체의 존재 또는 부재를 결정하였다. 이 과정에 의해 단일 변이체를 확인하였고, 염색체 4에 위치된다. 이 변이체의 존재 또는 부재를 발단자, 발단자의 어머니, 3명의 형제자매 및 발단자 및 모든 형제자매의 자녀를 포함하는 L01 계통도의 19명 구성원에 대해 결정하였다. 11명의 보유자 중에서 8명이 AD를 가지는 한편, 나머지의 질병 상태는 알려지지 않았다. 2명의 남은 보유자는 AD를 가지지 않았지만, 75세 미만이었다. 변이체가 없는 8명의 가족 구성원은 AD를 가

졌다.

[0213] 변이체는 염색체 4에서 G에서 A로 치환되는 것으로 발견되었는데, 이는 UNC5C를 암호화하는 유전자에서 아미노산 치환 T835M을 초래한다. UNC5C는 네트린 수용체의 UNC5 패밀리의 구성원이며, 네트린 1에 대한 수용체이다. UNC5C는 해마 뉴런에서 고도로 발현된다. UNC5A, B 및 C는 특이적 축삭 상에서 네트린 1의 화학반발적 효과를 매개한다. 이를 수용체는 또한 그것의 네트린 1 리간드에 미결합일 때 아포토시스를 유발하는 의존 수용체이다. 이를 수용체의 아포토시스전 활성은 카스파제에 의한 수용체의 절단 및 세포내 도메인의 C-말단에서 보존된 죽음 도메인의 존재에 의존한다.

[0214] SIFT 프로그램(Ng and Henikoff (2003) Nucleic Acids Res. 31: 3812-3814)을 사용하여 이 아미노산 치환이 단백질 기능에 영향을 미치는 것으로 예상되는지 여부를 예측하였다. 0.05 미만의 SIFT 스코어는 해로운 치환을 나타낸다. T835M 변이체의 SIFT 스코어는 0.01이었고, 이는 이 변이체가 해롭게 되는 높은 가능성을 가진다는 것을 나타낸다. 다른 UNC5 패밀리 구성원에 대한 정렬(도 6)은 이 변이체가 보존된 모티프에 존재한다는 것을 나타낸다. UNC5 단백질의 구조에 기반하여, 이 변이체는 죽음 도메인과 ZU5 도메인 사이의 헌지 영역, 아포토시스의 하류 조절자와 상호작용하는 영역에 있다(Williams et al. (2003) J. Biol. Chem. 278: 17483-17490). 네트린 수용체로서 UNC5C의 기능 및 해마 뉴런에서 그것의 높은 발현이 주어지면, T835M 변이체는 UNC5C 신호처리에 영향을 미칠 수 있으므로, UNC5C의 죽음 도메인은 개방, 활성화된 상태에서 우선적으로 발견되고, 이는 증가된 아포토시스 전 신호처리 및 뉴런 세포사를 초래한다. UNC5C의 T835M 변이체와 AD의 이런 새로 확인된 관계는 이 UNC5C 변이체의 비정상적 아포토시스 신호처리를 차단하는 것이 AD 치료를 위한 잠재적 치료적 접근일 수 있다는 것을 시사한다.

[0215] 실시예 1에 기재한 APOE 변형체 스크린으로부터의 데이터를 UNC5C의 T385M 변이체의 존재에 대해 평가하였다. UNC5C의 T835M 변이체를 2/78 AD 사례 및 1/67 대조군에서 관찰하였다. >6,000 추가적인 대조군의 게노타이핑으로 유럽-미국인 집단에서 T825M의 집단 대립 유전자 빈도가 0.00071(T835M에 대해 이형접합적인 9/6315 개체)(표 4)이 되는 것 및 AD 사례 빈도가 0.013( $P=1.5 \times 10^{-7}$ )인 것을 확고히 하였다. 이 데이터는 T835M이 AD 위험이 증가된 희귀 변이체라는 것을 시사한다.

표 4

연구	AD 사례	대립유전자 빈도	대조군	대립유전자 빈도
APOE 변형체 스크리닝	2/78	0.013	1/67	0.0074
NF1, MADGC			0/200	0.0
AREDS			6/2763	0.00011
결장직장암			0/235	0.0
EVS(WashU)			1/1350	0.00037
NYCP			1/1700	
합계	2/78	0.013	9/6315	0.000712

#### 실시예 3: A358와 증가된 가용성 IL6R 수준의 관계

[0217] 알츠하이머 신경촬영법 계획(Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: ADNI; Weiner, M.W. et al. (2010) Alzheimer's & Dementia 6: 202-211)으로부터의 291개 샘플에 대한 데이터에서 뇌척수액(CSF) 내 가용성 IL6R(sIL6R) 수준과 IL6R 유전자 영역 내 SNP에서 유전자형 사이의 관계에 대해 시험을 수행하였다. 일루미나의 Human610Quad 게놈-와이드 SNP 분석을 사용하여 피험체를 게노타이핑하였고, 규칙 기반 의학(Rules Based Medicine: MyriadRBM)에 의해 개발한 루미넥스(Luminex) 면역분석 기법에 기반한 면역분석 패널을 사용하여 sIL6R을 측정하였다. 각각의 SNP에서, 추가 방식에서 SNP 유전자형(0, 1 또는 2개의 돌연변이체 대립유전자)에 대해  $\log(sIL6R)$ 의 선형 회귀를 수행하였고, 유전자형의 효과 크기가 0이 된다는 귀무가설을 시험하였다. IL6R 유전자 내 변이체는 CSF에서 증가된 sIL6R 수준(도 7), SNP rs4129267과 유의한 관계를 나타내었고, rs2228145의 프록시와 가장 강한 관계를 나타내었다.

[0218] 상기 논의한 바와 같이, SNP rs2228145의 변이체는 IL6R에서 아미노산 치환 D358A를 초래하였다. 표 5에 나타낸 바와 같이, 위치 358에서 IL6R 유전자형은 CSF에서 가용성 IL6R 수준과 상호 관련되었고, A358 변이체 대립유전자의 존재는 더 높은 수준의 CSF sIL6R과 관련되었다.

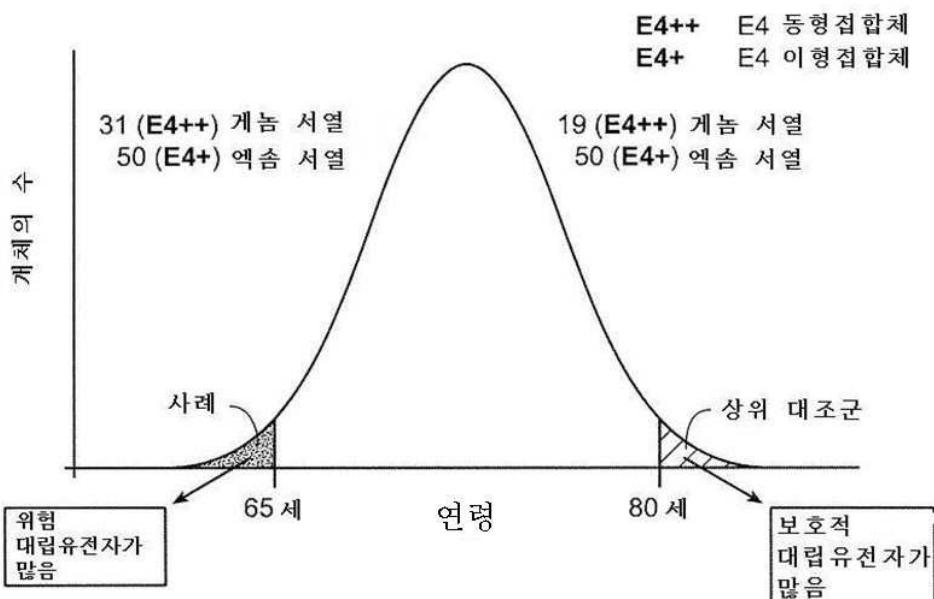
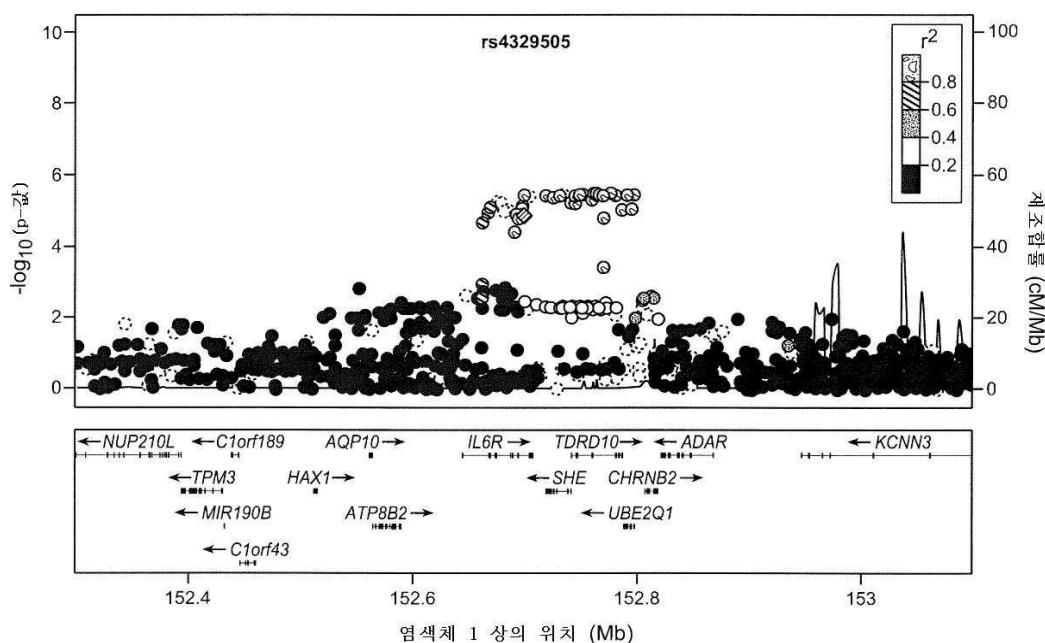
표 5

[0220] IL6R 유전자형	CSF sIL6R (평균)	N
D/D 358	0.85ng/ml	99
D/A 358	1.19ng/ml	138
A/A 358	1.43ng/ml	38

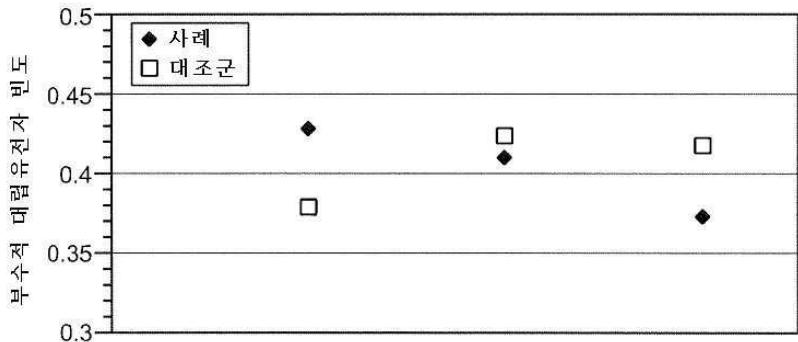
[0221] IL6R 쇼딩(shedding)에 대한 IL6R에서 A358의 존재 효과를 시험관내와 생체내 둘 다에서 시험하였다. 시험관내 실험을 위해, 293T 세포를 IL6R의 D358 또는 A358 작제물로 형질감염시켰다. 형질감염의 48시간 후, 배지를 변화시켰고, 세포를 100nM 포볼 미리스테이트 아세테이트(PMA)로 0, 30, 60 및 120분 동안 처리하였다. 처리 후 세포를 채취하였고, IL6R-PE 항체(BD 파밍겐(BD Pharmingen), 카탈로그 번호 No-551850)로 염색하였다. 막 결합 IL6R을 FACS에 의해 분석하였다. 도 8은 PMA로 처리 후 연속 시점에서 0분 시점에 대한 평균 형광 강도(mean fluorescence intensity: MFI) 백분율을 나타낸다. 이 데이터는 세포 결합 IL6R의 양이 야생형 D358-함유 샘플에서 검출된 것과 대조적으로 변이체 A358-함유 샘플에서 현저하게 감소되었기 때문에, A358 변이체가 293T 세포에서 IL6R의 증가된 쇼딩을 야기한다는 것을 보여준다.

[0222] 또한 IL6R 내 A358 변이체 대립유전자의 존재가 1차 T 세포에서 IL6R의 증가된 쇼딩을 야기하는지 여부를 결정하기 위한 실험을 수행하였다. 어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems)로부터의 분석 ID C\_16170664\_10 인 TaqMan SNP 게노타이핑 분석을 사용하여 실시간 정량적 PCR에 의해 IL6R SNP rs2228145에 대해 강한 인간 자원자를 게노타이핑하였다. 연령, 성별 및 인종적으로 매칭한 동형접합적 공여체의 쌍(각각 유전자형 AA 및 CC를 지니는 것)으로부터의 피콜(Ficol) 구배에 의해 말초 혈액 단핵세포(Peripheral blood mononuclear cell: PBMC)를 얻었다. 제조업자에 의해 추천되는 바와 같은 스템셀 테크놀로지즈(STEMCELL Technologies)제의 EasySep CD4<sup>+</sup>T 세포 풍부 키트(카탈로그 번호 19052)를 사용하는 음성 선택에 의해 PBMC로부터 CD4<sup>+</sup>T 세포를 정제하였다. 그 다음에 CD4<sup>+</sup> T 세포를 RPMI 1640+10% FBS + 2-미캡토에탄올 중에서 72시간 동안 배양시켰고, 100nM PMA로 60분 동안 처리하였다. 처리 바로 후 세포를 채취하였고, IL6R-PE 항체(BD 파밍겐, 카탈로그 번호-551850)로 염색하였다. 막 결합 IL6R을 FACS에 의해 분석하였다. 도 9는 IL6R의 막 결합 분획이 PMA에 의한 활성화 후 야생형 D358 IL6R과 대조적으로 A358 돌연변이를 지니는 IL6R을 운반하는 CD4<sup>+</sup> T 세포에서 더 낮다는 것을 나타내는데, 이는 A358 세포에서 증가된 쇼딩을 나타낸다.

[0223] 다른 실험에서, CD4<sup>+</sup>T 세포를 플레이트 결합 항 hCD3(BD 파밍겐, 카탈로그 번호-555329, 10mg/ml) 및 항 hCD28(BD-카탈로그 번호-555725, 5mg/ml) 또는 동위원소 대조군(BD Pharmingen, 카탈로그 번호 554721-15mg/ml)에 의해 활성화시켰다. 그 다음에 전체 RNA 추출 후 24, 48 및 72시간 후 세포를 채취하였고, 상청액을 수집하여 IL-6R 알파 퀸티카인(Quantikine) ELISA 키트(알엔디 시스템즈(R&D Systems), 카탈로그 번호 DR600)를 사용하는 ELISA에 의한 sIL6R 수준을 결정하였다. 도 10은 각 시점에 D358에 비해 A358에 대해 가용성 IL6R에서 풀딩 증가를 나타낸다. 가용성 IL6R의 양은 D358에 대한 시간을 거쳐서 거의 일정하게 남아있었지만, 실험 과정을 거쳐서 A358에 대해 4배 증가되었다.

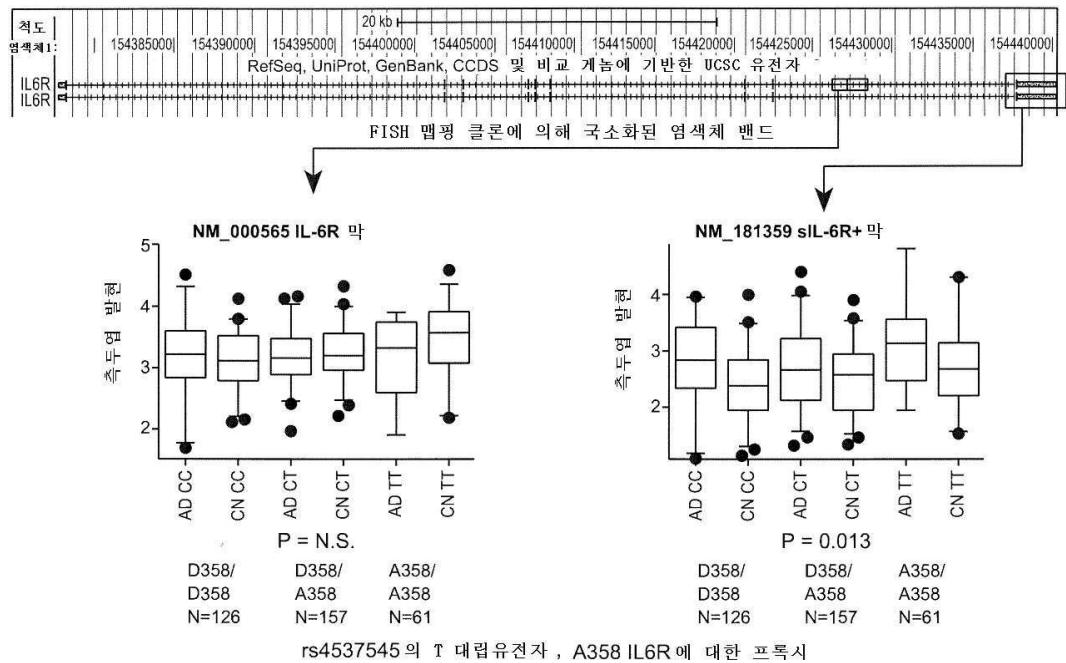
**도면****도면1****도면2**

## 도면3

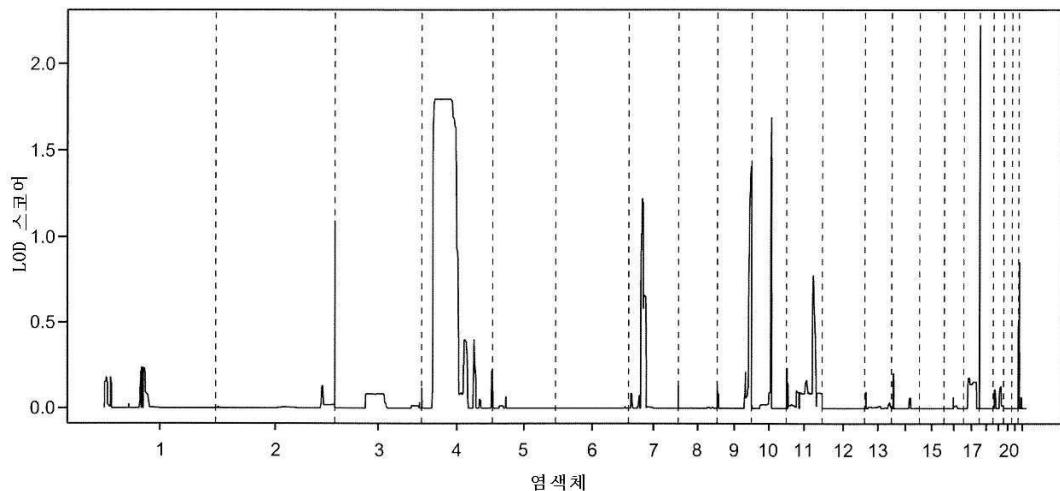


개시 연령	60-65	65-75	>75
사례 염색체 (N)	292	944	506
대조군 염색체 (N)	190	674	646

## 도면4

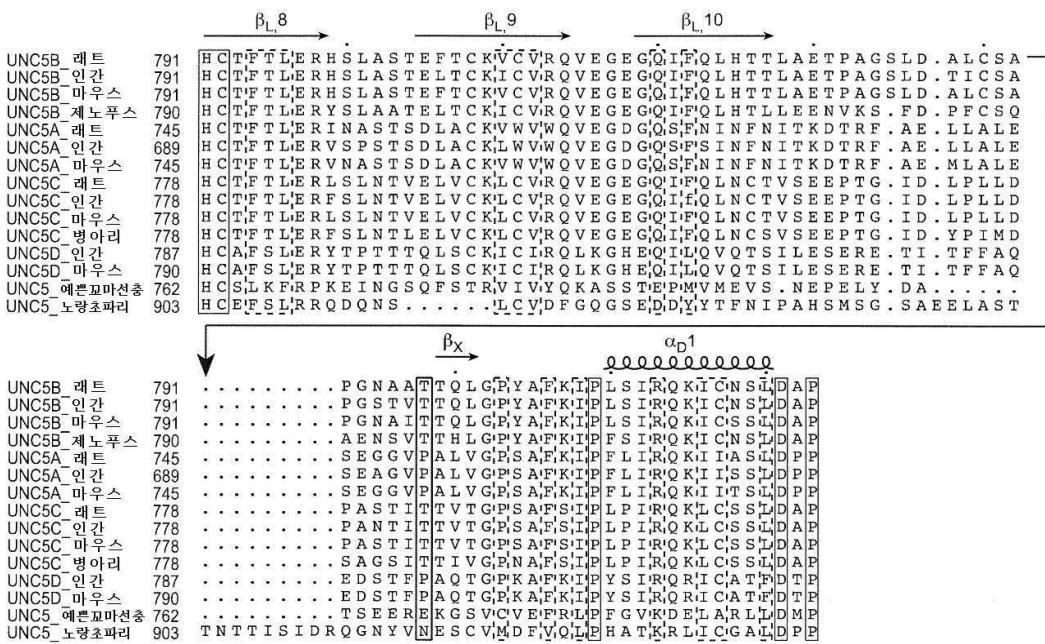


## 도면5

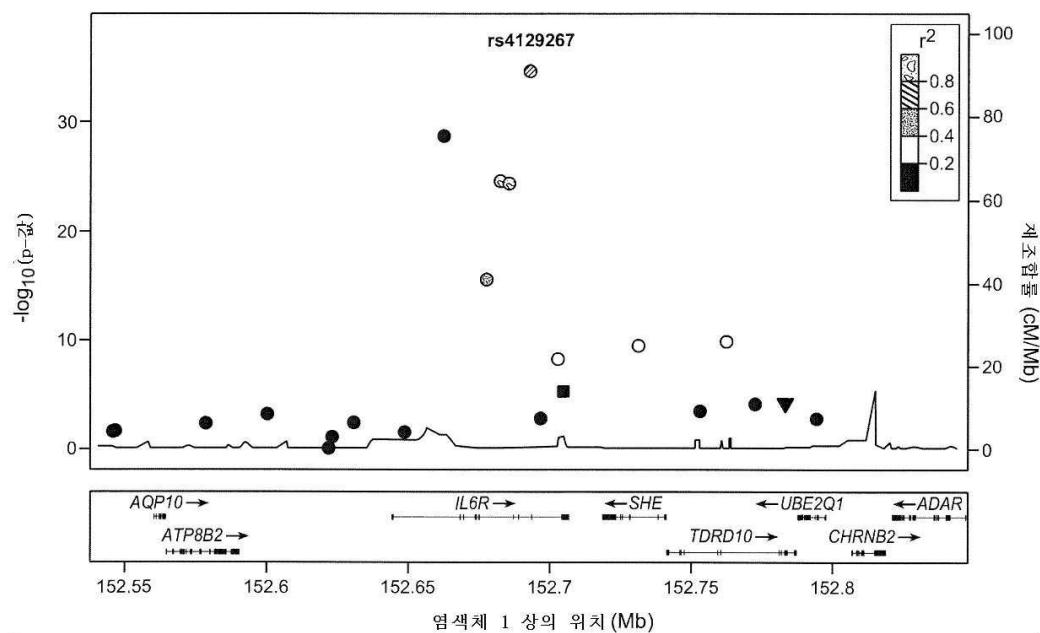


CHR	시작	끝
chr4	83,282,266	131,952,853
chr10	107,222,150	112,364,292
chr18	149,382	9,529,802

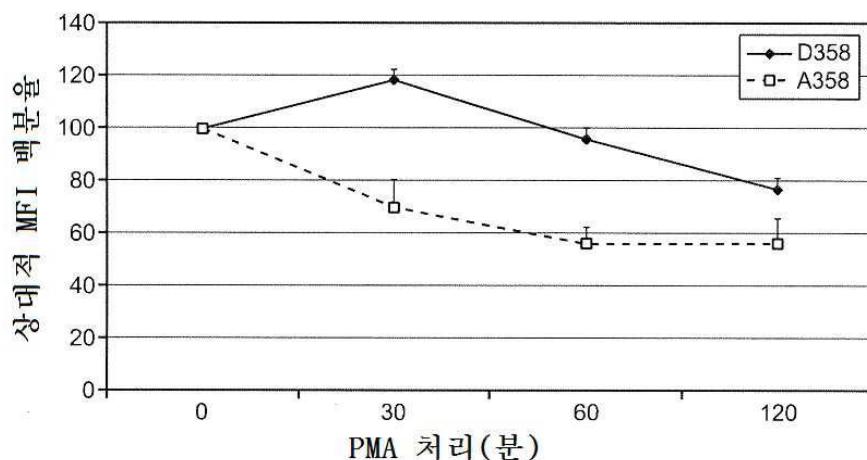
## 도면6



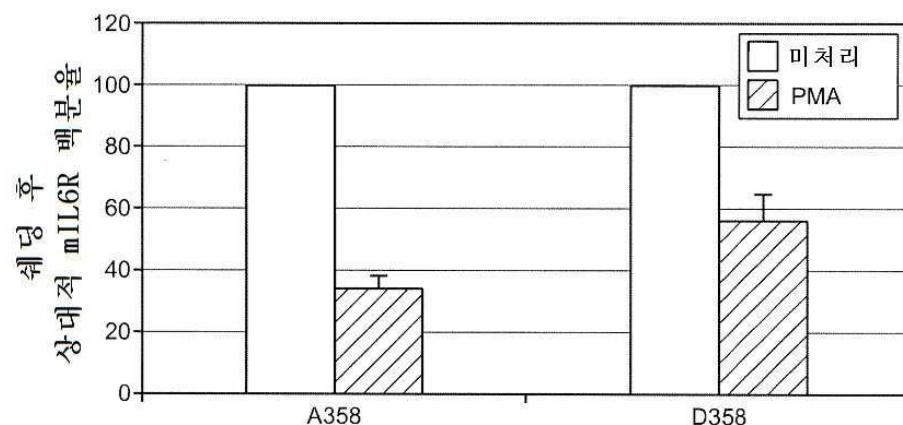
## 도면7



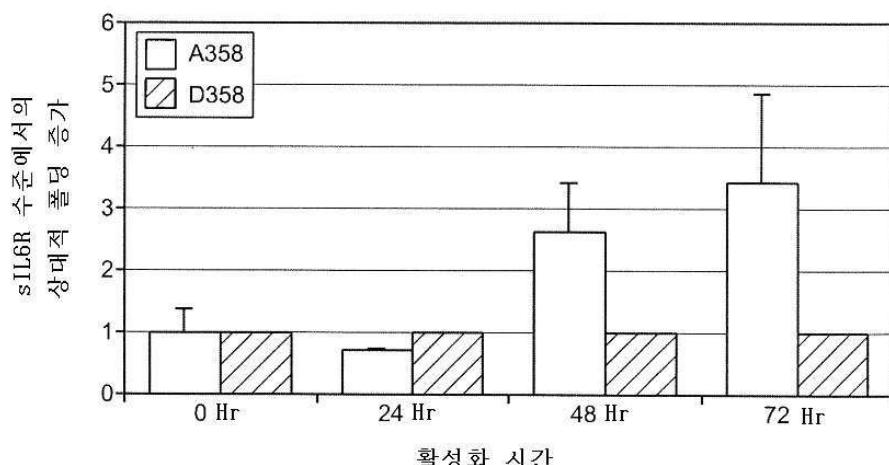
## 도면8



## 도면9



## 도면10



## 서열 목록

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; Behrens, Timothy W.

Graham, Robert R.

and Bhangale, Tushar

&lt;120&gt; METHODS FOR TREATING, DIAGNOSING AND MONITORING

ALZHEIMER'S DISEASE

&lt;130&gt; P4780R1 WO

&lt;150&gt; US 61/671,531

&lt;151&gt; 2012-07-13

&lt;150&gt; US 61/558,197

&lt;151&gt; 2011-11-10

&lt;160&gt; 18

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 468

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 1

Met Leu Ala Val Gly Cys Ala Leu Leu Ala Ala Leu Ala Ala

1

5

10

15

Pro Gly Ala Ala Leu Ala Pro Arg Arg Cys Pro Ala Gln Glu Val

20

25

30

Ala Arg Gly Val Leu Thr Ser Leu Pro Gly Asp Ser Val Thr Leu

35	40	45
Thr Cys Pro Gly Val Glu Pro Glu Asp Asn Ala Thr Val His Trp		
50	55	60
Val Leu Arg Lys Pro Ala Ala Gly Ser His Pro Ser Arg Trp Ala		
65	70	75
Gly Met Gly Arg Arg Leu Leu Leu Arg Ser Val Gln Leu His Asp		
80	85	90
Ser Gly Asn Tyr Ser Cys Tyr Arg Ala Gly Arg Pro Ala Gly Thr		
95	100	105
Val His Leu Leu Val Asp Val Pro Pro Glu Glu Pro Gln Leu Ser		
110	115	120
Cys Phe Arg Lys Ser Pro Leu Ser Asn Val Val Cys Glu Trp Gly		
125	130	135
Pro Arg Ser Thr Pro Ser Leu Thr Thr Lys Ala Val Leu Leu Val		
140	145	150
Arg Lys Phe Gln Asn Ser Pro Ala Glu Asp Phe Gln Glu Pro Cys		
155	160	165
Gln Tyr Ser Gln Glu Ser Gln Lys Phe Ser Cys Gln Leu Ala Val		
170	175	180
Pro Glu Gly Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Val Ser Met Cys Val Ala		
185	190	195
Ser Ser Val Gly Ser Lys Phe Ser Lys Thr Gln Thr Phe Gln Gly		
200	205	210
Cys Gly Ile Leu Gln Pro Asp Pro Pro Ala Asn Ile Thr Val Thr		
215	220	225
Ala Val Ala Arg Asn Pro Arg Trp Leu Ser Val Thr Trp Gln Asp		
230	235	240
Pro His Ser Trp Asn Ser Ser Phe Tyr Arg Leu Arg Phe Glu Leu		
245	250	255
Arg Tyr Arg Ala Glu Arg Ser Lys Thr Phe Thr Thr Trp Met Val		
260	265	270
Lys Asp Leu Gln His His Cys Val Ile His Asp Ala Trp Ser Gly		

275	280	285
-----	-----	-----

Leu Arg His Val Val Gln Leu Arg Ala Gln Glu Glu Phe Gly Gln  
 290                    295                    300  
 Gly Glu Trp Ser Glu Trp Ser Pro Glu Ala Met Gly Thr Pro Trp  
 305                    310                    315  
 Thr Glu Ser Arg Ser Pro Pro Ala Glu Asn Glu Val Ser Thr Pro  
 320                    325                    330  
 Met Gln Ala Leu Thr Thr Asn Lys Asp Asp Asp Asn Ile Leu Phe  
 335                    340                    345  
 Arg Asp Ser Ala Asn Ala Thr Ser Leu Pro Val Gln Asp Ser Ser  
  
 350                    355                    360  
 Ser Val Pro Leu Pro Thr Phe Leu Val Ala Gly Gly Ser Leu Ala  
 365                    370                    375  
 Phe Gly Thr Leu Leu Cys Ile Ala Ile Val Leu Arg Phe Lys Lys  
 380                    385                    390  
 Thr Trp Lys Leu Arg Ala Leu Lys Glu Gly Lys Thr Ser Met His  
 395                    400                    405  
 Pro Pro Tyr Ser Leu Gly Gln Leu Val Pro Glu Arg Pro Arg Pro  
 410                    415                    420  
  
 Thr Pro Val Leu Val Pro Leu Ile Ser Pro Pro Val Ser Pro Ser  
 425                    430                    435  
 Ser Leu Gly Ser Asp Asn Thr Ser Ser His Asn Arg Pro Asp Ala  
 440                    445                    450  
 Arg Asp Pro Arg Ser Pro Tyr Asp Ile Ser Asn Thr Asp Tyr Phe  
 455                    460                    465  
 Phe Pro Arg

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 210

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 2

Met Leu Pro Leu Pro Ser Cys Ser Leu Pro Ile Leu Leu Leu Phe

1	5	10	15
Leu Leu Pro Ser Val Pro Ile Glu Ser Gln Pro Pro Pro Ser Thr			
20	25	30	
Leu Pro Pro Phe Leu Ala Pro Glu Trp Asp Leu Leu Ser Pro Arg			
35	40	45	
Val Val Leu Ser Arg Gly Ala Pro Ala Gly Pro Pro Leu Leu Phe			
50	55	60	
Leu Leu Glu Ala Gly Ala Phe Arg Glu Ser Ala Gly Ala Pro Ala			
65	70	75	
Asn Arg Ser Arg Arg Gly Val Ser Glu Thr Ala Pro Ala Ser Arg			
80	85	90	
Arg Gly Glu Leu Ala Val Cys Asp Ala Val Ser Gly Trp Val Thr			
95	100	105	
Asp Arg Arg Thr Ala Val Asp Leu Arg Gly Arg Glu Val Glu Val			
110	115	120	
Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Gly Gly Ser Pro Leu Arg Gln Tyr			
125	130	135	
Phe Phe Glu Thr Arg Cys Lys Ala Asp Asn Ala Glu Glu Gly Gly			
140	145	150	
Pro Gly Ala Gly Gly Gly Cys Arg Gly Val Asp Arg Arg His			
155	160	165	
Trp Val Ser Glu Cys Lys Ala Lys Gln Ser Tyr Val Arg Ala Leu			
170	175	180	
Thr Ala Asp Ala Gln Gly Arg Val Gly Trp Arg Trp Ile Arg Ile			
185	190	195	
Asp Thr Ala Cys Val Cys Thr Leu Leu Ser Arg Thr Gly Arg Ala			
200	205	210	

<210> 3

<211> 931

<212> PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 3

Met Arg Lys Gly Leu Arg Ala Thr Ala Ala Arg Cys Gly Leu Gly  
 1 5 10 15

Leu Gly Tyr Leu Leu Gln Met Leu Val Leu Pro Ala Leu Ala Leu  
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Gly Thr Gly Ser Ala Ala Gln Asp Asp Asp Phe  
 35 40 45

Phe His Glu Leu Pro Glu Thr Phe Pro Ser Asp Pro Pro Glu Pro  
 50 55 60

Leu Pro His Phe Leu Ile Glu Pro Glu Glu Ala Tyr Ile Val Lys  
 65 70 75

Asn Lys Pro Val Asn Leu Tyr Cys Lys Ala Ser Pro Ala Thr Gln  
 80 85 90

Ile Tyr Phe Lys Cys Asn Ser Glu Trp Val His Gln Lys Asp His  
 95 100 105

Ile Val Asp Glu Arg Val Asp Glu Thr Ser Gly Leu Ile Val Arg  
 110 115 120

Glu Val Ser Ile Glu Ile Ser Arg Gln Gln Val Glu Glu Leu Phe  
 125 130 135

Gly Pro Glu Asp Tyr Trp Cys Gln Cys Val Ala Trp Ser Ser Ala  
 140 145 150

Gly Thr Thr Lys Ser Arg Lys Ala Tyr Val Arg Ile Ala Tyr Leu  
 155 160 165

Arg Lys Thr Phe Glu Gln Glu Pro Leu Gly Lys Glu Val Ser Leu  
 170 175 180

Glu Gln Glu Val Leu Leu Gln Cys Arg Pro Pro Glu Gly Ile Pro  
 185 190 195

Val Ala Glu Val Glu Trp Leu Lys Asn Glu Asp Ile Ile Asp Pro  
 200 205 210

Val Glu Asp Arg Asn Phe Tyr Ile Thr Ile Asp His Asn Leu Ile  
 215 220 225

Ile Lys Gln Ala Arg Leu Ser Asp Thr Ala Asn Tyr Thr Cys Val  
 230 235 240  
 Ala Lys Asn Ile Val Ala Lys Arg Lys Ser Thr Thr Ala Thr Val  
 245 250 255  
 Ile Val Tyr Val Asn Gly Gly Trp Ser Thr Trp Thr Glu Trp Ser  
 260 265 270  
 Val Cys Asn Ser Arg Cys Gly Arg Gly Tyr Gln Lys Arg Thr Arg  
 275 280 285  
 Thr Cys Thr Asn Pro Ala Pro Leu Asn Gly Gly Ala Phe Cys Glu  
 290 295 300  
 Gly Gln Ser Val Gln Lys Ile Ala Cys Thr Thr Leu Cys Pro Val  
 305 310 315  
 Asp Gly Arg Trp Thr Pro Trp Ser Lys Trp Ser Thr Cys Gly Thr  
 320 325 330  
 Glu Cys Thr His Trp Arg Arg Glu Cys Thr Ala Pro Ala Pro  
 335 340 345  
 Lys Asn Gly Lys Asp Cys Asp Gly Leu Val Leu Gln Ser Lys  
 350 355 360  
 Asn Cys Thr Asp Gly Leu Cys Met Gln Thr Ala Pro Asp Ser Asp  
 365 370 375  
 Asp Val Ala Leu Tyr Val Gly Ile Val Ile Ala Val Ile Val Cys  
 380 385 390  
 Leu Ala Ile Ser Val Val Ala Leu Phe Val Tyr Arg Lys Asn  
 395 400 405  
 His Arg Asp Phe Glu Ser Asp Ile Ile Asp Ser Ser Ala Leu Asn  
 410 415 420  
 Gly Gly Phe Gln Pro Val Asn Ile Lys Ala Ala Arg Gln Asp Leu  
 425 430 435  
 Leu Ala Val Pro Pro Asp Leu Thr Ser Ala Ala Ala Met Tyr Arg  
 440 445 450  
 Gly Pro Val Tyr Ala Leu His Asp Val Ser Asp Lys Ile Pro Met

455	460	465
-----	-----	-----

Thr Asn Ser Pro Ile Leu Asp Pro Leu Pro Asn Leu Lys Ile Lys  
 470                          475                          480  
 Val Tyr Asn Thr Ser Gly Ala Val Thr Pro Gln Asp Asp Leu Ser  
 485                          490                          495  
 Glu Phe Thr Ser Lys Leu Ser Pro Gln Met Thr Gln Ser Leu Leu  
 500                          505                          510  
 Glu Asn Glu Ala Leu Ser Leu Lys Asn Gln Ser Leu Ala Arg Gln  
 515                          520                          525  
 Thr Asp Pro Ser Cys Thr Ala Phe Gly Ser Phe Asn Ser Leu Gly

530	535	540
-----	-----	-----

Gly His Leu Ile Val Pro Asn Ser Gly Val Ser Leu Leu Ile Pro  
 545                          550                          555  
 Ala Gly Ala Ile Pro Gln Gly Arg Val Tyr Glu Met Tyr Val Thr  
 560                          565                          570  
 Val His Arg Lys Glu Thr Met Arg Pro Pro Met Asp Asp Ser Gln  
 575                          580                          585  
 Thr Leu Leu Thr Pro Val Val Ser Cys Gly Pro Pro Gly Ala Leu  
 590                          595                          600

Leu Thr Arg Pro Val Val Leu Thr Met His His Cys Ala Asp Pro  
 605                          610                          615  
 Asn Thr Glu Asp Trp Lys Ile Leu Leu Lys Asn Gln Ala Ala Gln  
 620                          625                          630  
 Gly Gln Trp Glu Asp Val Val Val Gly Glu Glu Asn Phe Thr  
 635                          640                          645  
 Thr Pro Cys Tyr Ile Gln Leu Asp Ala Glu Ala Cys His Ile Leu  
 650                          655                          660  
 Thr Glu Asn Leu Ser Thr Tyr Ala Leu Val Gly His Ser Thr Thr

665	670	675
-----	-----	-----

Lys Ala Ala Ala Lys Arg Leu Lys Leu Ala Ile Phe Gly Pro Leu  
 680                          685                          690

Cys Cys Ser Ser Leu Glu Tyr Ser Ile Arg Val Tyr Cys Leu Asp  
 695 700 705  
 Asp Thr Gln Asp Ala Leu Lys Glu Ile Leu His Leu Glu Arg Gln  
 710 715 720  
 Met Gly Gly Gln Leu Leu Glu Glu Pro Lys Ala Leu His Phe Lys  
 725 730 735  
  
 Gly Ser Thr His Asn Leu Arg Leu Ser Ile His Asp Ile Ala His  
 740 745 750  
 Ser Leu Trp Lys Ser Lys Leu Leu Ala Lys Tyr Gln Glu Ile Pro  
 755 760 765  
 Phe Tyr His Val Trp Ser Gly Ser Gln Arg Asn Leu His Cys Thr  
 770 775 780  
 Phe Thr Leu Glu Arg Phe Ser Leu Asn Thr Val Glu Leu Val Cys  
 785 790 795  
 Lys Leu Cys Val Arg Gln Val Glu Gly Glu Gly Gln Ile Phe Gln  
  
 800 805 810  
 Leu Asn Cys Thr Val Ser Glu Glu Pro Thr Gly Ile Asp Leu Pro  
 815 820 825  
 Leu Leu Asp Pro Ala Asn Thr Ile Thr Thr Val Thr Gly Pro Ser  
 830 835 840  
 Ala Phe Ser Ile Pro Leu Pro Ile Arg Gln Lys Leu Cys Ser Ser  
 845 850 855  
 Leu Asp Ala Pro Gln Thr Arg Gly His Asp Trp Arg Met Leu Ala  
 860 865 870  
  
 His Lys Leu Asn Leu Asp Arg Tyr Leu Asn Tyr Phe Ala Thr Lys  
 875 880 885  
 Ser Ser Pro Thr Gly Val Ile Leu Asp Leu Trp Glu Ala Gln Asn  
 890 895 900  
 Phe Pro Asp Gly Asn Leu Ser Met Leu Ala Ala Val Leu Glu Glu  
 905 910 915  
 Met Gly Arg His Glu Thr Val Val Ser Leu Ala Ala Glu Gly Gln  
 920 925 930

Tyr

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 83

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Rattus norvegicus

&lt;400&gt; 4

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg His Ser Leu Ala Ser Thr Glu

1 5 10 15

Phe Thr Cys Lys Val Cys Val Arg Gln Val Glu Gly Glu Gln

20 25 30

Ile Phe Gln Leu His Thr Thr Leu Ala Glu Thr Pro Ala Gly Ser

35 40 45

Leu Asp Ala Leu Cys Ser Ala Pro Gly Asn Ala Ala Thr Thr Gln

50 55 60

Leu Gly Pro Tyr Ala Phe Lys Ile Pro Leu Ser Ile Arg Gln Lys

65 70 75

Ile Cys Asn Ser Leu Asp Ala Pro

80

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 83

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 5

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg His Ser Leu Ala Ser Thr Glu

1 5 10 15

Leu Thr Cys Lys Ile Cys Val Arg Gln Val Glu Gly Glu Gln

20 25 30

Ile Phe Gln Leu His Thr Thr Leu Ala Glu Thr Pro Ala Gly Ser

35 40 45

Leu Asp Thr Ile Cys Ser Ala Pro Gly Ser Thr Val Thr Thr Gln

50 55 60

Leu Gly Pro Tyr Ala Phe Lys Ile Pro Leu Ser Ile Arg Gln Lys

65	70	75
----	----	----

Ile Cys Asn Ser Leu Asp Ala Pro

80
----

<210> 6

<211> 83

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg His Ser Leu Ala Ser Thr Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Phe Thr Cys Lys Val Cys Val Arg Gln Val Glu Gly Glu Gln

20	25	30
----	----	----

Ile Phe Gln Leu His Thr Thr Leu Ala Glu Thr Pro Ala Gly Ser

35	40	45
----	----	----

Leu Asp Ala Leu Cys Ser Ala Pro Gly Asn Ala Ile Thr Thr Gln

50	55	60
----	----	----

Leu Gly Pro Tyr Ala Phe Lys Ile Pro Leu Ser Ile Arg Gln Lys

65	70	75
----	----	----

Ile Cys Ser Ser Leu Asp Ala Pro

80
----

<210> 7

<211> 82

<212> PRT

<213> Xenopus Laevis

<400> 7

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg Tyr Ser Leu Ala Ala Thr Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Leu Thr Cys Lys Ile Cys Val Arg Gln Val Glu Gly Glu Gln

20	25	30
----	----	----

Ile Phe Gln Leu His Thr Leu Leu Glu Glu Asn Val Lys Ser Phe

35	40	45
----	----	----

Asp Pro Phe Cys Ser Gln Ala Glu Asn Ser Val Thr Thr His Leu

50 55 60

Gly Pro Tyr Ala Phe Lys Ile Pro Phe Ser Ile Arg Gln Lys Ile

65 70 75

Cys Asn Ser Leu Asp Ala Pro

80

<210> 8

<211> 82

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg Ile Asn Ala Ser Thr Ser Asp

1 5 10 15

Leu Ala Cys Lys Val Trp Val Trp Gln Val Glu Gly Asp Gly Gln

20 25 30

Ser Phe Asn Ile Asn Phe Asn Ile Thr Lys Asp Thr Arg Phe Ala

35 40 45

Glu Leu Leu Ala Leu Glu Ser Glu Gly Gly Val Pro Ala Leu Val

50 55 60

Gly Pro Ser Ala Phe Lys Ile Pro Phe Leu Ile Arg Gln Lys Ile

65 70 75

Ile Ala Ser Leu Asp Pro Pro

80

<210> 9

<211> 82

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg Val Ser Pro Ser Thr Ser Asp

1 5 10 15

Leu Ala Cys Lys Leu Trp Val Trp Gln Val Glu Gly Asp Gly Gln

20 25 30

Ser Phe Ser Ile Asn Phe Asn Ile Thr Lys Asp Thr Arg Phe Ala  
                  35                        40                        45  
 Glu Leu Leu Ala Leu Glu Ser Glu Ala Gly Val Pro Ala Leu Val  
                  50                        55                        60  
 Gly Pro Ser Ala Phe Lys Ile Pro Phe Leu Ile Arg Gln Lys Ile  
                  65                        70                        75

Ile Ser Ser Leu Asp Pro Pro

80

<210> 10

<211> 82

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg Val Asn Ala Ser Thr Ser Asp  
       1                  5                        10                        15

Leu Ala Cys Lys Val Trp Val Trp Gln Val Glu Gly Asp Gly Gln  
       20                        25                        30

Ser Phe Asn Ile Asn Phe Asn Ile Thr Lys Asp Thr Arg Phe Ala  
       35                        40                        45

Glu Met Leu Ala Leu Glu Ser Glu Gly Gly Val Pro Ala Leu Val

50                        55                        60

Gly Pro Ser Ala Phe Lys Ile Pro Phe Leu Ile Arg Gln Lys Ile  
       65                        70                        75

Ile Thr Ser Leu Asp Pro Pro

80

<210> 11

<211> 82

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 11

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg Leu Ser Leu Asn Thr Val Glu  
       1                  5                        10                        15

Leu Val Cys Lys Leu Cys Val Arg Gln Val Glu Gly Glu Gly Gln

20	25	30
----	----	----

Ile Phe Gln Leu Asn Cys Thr Val Ser Glu Glu Pro Thr Gly Ile  
 35                          40                          45  
 Asp Leu Pro Leu Leu Asp Pro Ala Ser Thr Ile Thr Thr Val Thr  
 50                          55                          60  
 Gly Pro Ser Ala Phe Ser Ile Pro Leu Pro Ile Arg Gln Lys Leu  
 65                          70                          75  
 Cys Ser Ser Leu Asp Ala Pro  
 80

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 82

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 12

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg Phe Ser Leu Asn Thr Val Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Leu Val Cys Lys Leu Cys Val Arg Gln Val Glu Gly Glu Gln  
 20                          25                          30  
 Ile Phe Gln Leu Asn Cys Thr Val Ser Glu Glu Pro Thr Gly Ile  
 35                          40                          45  
 Phe Leu Pro Leu Leu Asp Pro Ala Asn Thr Ile Thr Thr Val Thr  
 50                          55                          60  
 Gly Pro Ser Ala Phe Ser Ile Pro Leu Pro Ile Arg Gln Lys Leu  
 65                          70                          75

Cys Ser Ser Leu Asp Ala Pro

80

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 82

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 13

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg Leu Ser Leu Asn Thr Val Glu

1	5	10	15
Leu Val Cys Lys Leu Cys Val Arg Gln Val Glu Gly Glu Gly Gln			
20	25	30	
Ile Phe Gln Leu Asn Cys Thr Val Ser Glu Glu Pro Thr Gly Ile			
35	40	45	
Asp Leu Pro Leu Leu Asp Pro Ala Ser Thr Ile Thr Thr Val Thr			
50	55	60	
Gly Pro Ser Ala Phe Ser Ile Pro Leu Pro Ile Arg Gln Lys Leu			
65	70	75	
Cys Ser Ser Leu Asp Ala Pro			
80			

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 82

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Gallus gallus

&lt;400&gt; 14

His Cys Thr Phe Thr Leu Glu Arg Phe Ser Leu Asn Thr Leu Glu			
1	5	10	15
Leu Val Cys Lys Leu Cys Val Arg Gln Val Glu Gly Glu Gly Gln			
20	25	30	

Ile Phe Gln Leu Asn Cys Ser Val Ser Glu Glu Pro Thr Gly Ile			
35	40	45	
Asp Tyr Pro Ile Met Asp Ser Ala Gly Ser Ile Thr Thr Ile Val			
50	55	60	
Gly Pro Asn Ala Phe Ser Ile Pro Leu Pro Ile Arg Gln Lys Leu			
65	70	75	
Cys Ser Ser Leu Asp Ala Pro			
80			

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 82

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 15

His Cys Ala Phe Ser Leu Glu Arg Tyr Thr Pro Thr Thr Gln

1	5	10	15
Leu Ser Cys Lys Ile Cys Ile Arg Gln Leu Lys Gly His Glu Gln			
20	25	30	
Ile Leu Gln Val Gln Thr Ser Ile Leu Glu Ser Glu Arg Glu Thr			
35	40	45	
Ile Thr Phe Phe Ala Gln Glu Asp Ser Thr Phe Pro Ala Gln Thr			
50	55	60	
Gly Pro Lys Ala Phe Lys Ile Pro Tyr Ser Ile Arg Gln Arg Ile			
65	70	75	

Cys Ala Thr Phe Asp Thr Pro

80

<210> 16

<211> 82

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 16

His Cys Ala Phe Ser Leu Glu Arg Tyr Thr Pro Thr Thr Gln

1	5	10	15
Leu Ser Cys Lys Ile Cys Ile Arg Gln Leu Lys Gly His Glu Gln			
20	25	30	
Ile Leu Gln Val Gln Thr Ser Ile Leu Glu Ser Glu Arg Glu Thr			
35	40	45	
Ile Thr Phe Phe Ala Gln Glu Asp Ser Thr Phe Pro Ala Gln Thr			
50	55	60	
Gly Pro Lys Ala Phe Lys Ile Pro Tyr Ser Ile Arg Gln Arg Ile			
65	70	75	
Cys Ala Thr Phe Asp Thr Pro			
80			

<210> 17

<211> 76

<212> PRT

&lt;213&gt; Caenorhabditis elegans

&lt;400&gt; 17

His Cys Ser Leu Lys Phe Arg Pro Lys Glu Ile Asn Gly Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Phe Ser Thr Arg Val Ile Val Tyr Gln Lys Ala Ser Ser Thr Glu  
 20 25 30  
 Pro Met Val Met Glu Val Ser Asn Glu Pro Glu Leu Tyr Asp Ala  
 35 40 45  
 Thr Ser Glu Glu Arg Glu Lys Gly Ser Val Cys Val Glu Phe Arg  
 50 55 60  
 Leu Pro Phe Gly Val Lys Asp Glu Leu Ala Arg Leu Leu Asp Met  
 65 70 75  
 Pro

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 86

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Camelus dromedarius

&lt;400&gt; 18

His Cys Glu Phe Ser Leu Arg Arg Gln Asp Gln Asn Ser Leu Cys  
 1 5 10 15  
 Val Asp Phe Gly Gln Gly Ser Glu Asp Asp Tyr Tyr Thr Phe Asn  
 20 25 30  
 Ile Pro Ala His Ser Met Ser Gly Ser Ala Glu Glu Leu Ala Ser  
 35 40 45  
 Thr Thr Asn Thr Thr Ile Ser Ile Asp Arg Gln Gly Asn Tyr Val  
 50 55 60  
 Asn Glu Ser Cys Val Met Asp Phe Val Gln Leu Pro His Ala Thr  
 65 70 75  
 Lys Arg Leu Ile Cys Gly Ala Leu Asp Pro Pro  
 80 85