(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2019-513391
(P2019-513391A)
(43)公表日　令和1年5月30日(2019.5.30)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12Q 1/68	***(2018.01)***	C12Q	1/68		2G045
G01N 33/50	***(2006.01)***	G01N	33/50	P	4B063

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 40 頁）

(21)出願番号　特願2018-553926 (P2018-553926)
(86)(22)出願日　平成29年4月17日 (2017.4.17)
(85)翻訳文提出日　平成30年12月11日 (2018.12.11)
(86)国際出願番号　PCT/US2017/027944
(87)国際公開番号　WO2017/181183
(87)国際公開日　平成29年10月19日 (2017.10.19)
(31)優先権主張番号　62/322,982
(32)優先日　平成28年4月15日 (2016.4.15)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　513282272
エクソサム　ダイアグノスティクス，インコーポレイティド
アメリカ合衆国，マサチューセッツ　０２４５１，ウォルサム，セカンド　アベニュ　２６６，スイート　２００
(74)代理人　100099759
弁理士　青木　篤
(74)代理人　100123582
弁理士　三橋　真二
(74)代理人　100117019
弁理士　渡辺　陽一
(74)代理人　100141977
弁理士　中島　勝

最終頁に続く

(54)【発明の名称】未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）核酸およびＡＬＫ融合転写産物の血漿ベースの検出、並びに癌の診断と治療におけるそれらの使用

(57)【要約】
本発明は、概してバイオマーカーの分野に関する。詳細には、血漿サンプルをはじめとする生物学的試料からの遺伝子発現シグネチャーの分野に関する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
それを必要とする対象における疾病または他の病状の診断、予後診断、モニタリングまたは治療法選択のための方法であって、次の工程：
(a) 対象からの生物学的試料を設けること；
(b) 該生物学的試料から微小胞を単離すること；
(c) 該微小胞から１または複数の核酸を抽出すること；そして
(d) 抽出された核酸中のALK融合転写産物の存否を検出すること；を含み
ここで抽出された核酸中のALK融合転写産物の存在が、対象の疾病または他の病状の存在を示すか、あるいは疾病または他の病状を発生する対象の素因が高いことを示す方法。
【請求項２】
前記ALK融合転写産物がEML4-ALK融合転写産物である、請求項１記載の方法。
【請求項３】
前記EML4-ALK融合転写産物が、EML4-ALK v1、EML4-ALK v2、EML4-ALK v3a、EML4-ALK v3b、EML4-ALK v3cおよびそれらの組み合わせから成る群より選択される、請求項２記載の方法。
【請求項４】
前記生物学的試料が体液である、請求項１～３のいずれか一項記載の方法。
【請求項５】
前記生物学的試料が血漿または血清である、請求項１～３のいずれか一項記載の方法。
【請求項６】
前記疾病または他の病状が癌である、請求項１～３のいずれか一項記載の方法。
【請求項７】
前記疾病または他の病状が肺癌である、請求項１～３のいずれか一項記載の方法。
【請求項８】
前記疾病または他の病状が非小細胞肺癌（NSCLC）である、請求項１～３のいずれか一項記載の方法。
【請求項９】
前記工程(c)が、生物学的試料からのエクソソームRNAの単離を含む、請求項１～３のいずれか一項記載の方法。
【請求項１０】
前記工程(c)が、単離されたエクソソームRNAの逆転写を更に含む、請求項９記載の方法。
【請求項１１】
逆転写反応にコントロール核酸もしくはコントロール粒子またはそれの組み合わせがスパイクされる、請求項１０記載の方法。
【請求項１２】
前記工程(c)が、単離されたエクソソームRNAの逆転写後に前増幅工程を更に含む、請求項１０または請求項１１記載の方法。
【請求項１３】
前記前増幅工程が陽性増幅コントロールの使用を含む、請求項１１記載の方法。
【請求項１４】
前記陽性増幅コントロールが、EML4-ALK v1をコードする参照DNA、EML4-ALK v2をコードする参照DNA、EML4-ALK v3をコードする参照DNA、RPL4をコードする参照DNA、Qbetaをコードする参照RNA、またはそれらの組み合わせを含む、請求項１３記載の方法。
【請求項１５】
前記参照核酸または参照核酸の組み合わせが、PCRベースの方法を使って定量される、請求項１４記載の方法。
【請求項１６】
前記参照核酸または参照核酸の組み合わせが、qPCRを使って定量される、請求項１５記

載の方法。
【請求項１７】
前記前増幅工程が、陰性増幅コントロールの使用を含む、請求項１２～１６のいずれか一項記載の方法。
【請求項１８】
前記陰性増幅コントロールが、EML4-ALK v1をコードする参照DNA、EML4-ALK v2をコードする参照DNA、EML4-ALK v3をコードする参照DNA、RPL4をコードする参照DNA、Qbetaをコードする参照RNA、およびそれらの組み合わせを含む、請求項１７記載の方法。
【請求項１９】
参照核酸または参照核酸の組み合わせが、核酸鋳型の代わりに水を用いたPCRベースの方法を使って定量される、請求項１８記載の方法。
【請求項２０】
参照核酸または参照核酸の組み合わせが、核酸鋳型の代わりに水を用いたqPCRを使って定量される、請求項１９記載の方法。
【請求項２１】
前記工程(d)がシーケンシングをベースにした検出技術を含む、請求項１～20のいずれか一項記載の方法。
【請求項２２】
前記シーケンシングをベースにした検出技術がPCR技術または次世代シーケンシング技術を含む、請求項２１記載の方法。
【請求項２３】
前記工程(d)が１または複数のコントロールを検出することを更に含む、請求項１～２２のいずれか一項記載の方法。
【請求項２４】
前記コントロールがハウスキーピング遺伝子である、請求項２３記載の方法。
【請求項２５】
前記ハウスキーピング遺伝子がRPL4である、請求項２４記載の方法。
【請求項２６】
前記コントロールが工程(c)の抽出液中にスパイクされたQbetaの発現レベルである、請求項２３記載の方法。
【請求項２７】
前記方法が、工程(e)：工程(d)からのデータを解析して、サイクル閾値（CT）の検出レベルに従ってサンプルを陽性または陰性として分類することを更に含む、請求項１～２６のいずれか一項記載の方法。
【請求項２８】
工程(d)が、少なくともEML4-ALK変異体１のレベルがサイクル閾値（CT値）31以下である時、EML4-ALK変異体２のレベルが32以下のCT値である時、およびEML4-ALK変異体３のレベルが32以下のCT値である時に、生物学的試料を陽性と同定することを含む、請求項２７記載の方法。
【請求項２９】
前記工程(d)が、生物学的試料中に次のサイクル閾値（CT値）の少なくとも１つが検出されるとき：EML4-ALK変異体１のレベルが少なくとも31以上のCT値である；EML4-ALK変異体２のレベルが少なくとも32以上のCT値である；EML4-ALK変異体３のレベルが少なくとも32以上のCT値である時、該生物学的試料を陰性として同定することを含む、請求項２７または請求項２８記載の方法。
【請求項３０】
前記方法が工程(e)：機械学習ベースのモデリング、データマイニング法および／または統計分析を使って工程(d)からのデータを解析することを更に含む、請求項１～２９のいずれか一項記載の方法。
【請求項３１】

データが患者の疾病の転帰を同定または予測するために解析される、請求項１～２９のいずれか一項記載の方法。
【請求項３２】
データが患者集団内の患者を分類するために解析される、請求項１～２９のいずれか一項記載の方法。
【請求項３３】
データが、患者が抗癌療法での処置に対して抵抗性であるかどうかを同定または予測するために解析される、請求項１～２９のいずれか一項記載の方法。
【請求項３４】
データが、対象の無増悪生存の進行を測定するために解析される、請求項１～２９のいずれか一項記載の方法。
【請求項３５】
データが、EML4-ALK転写産物が検出された時に対象に対して治療オプションを選択するために解析される、請求項１～２９のいずれか一項記載の方法。
【請求項３６】
前記方法が、治療上有効な量の抗癌治療を前記対象に施すことを更に含む、請求項１～２９のいずれか一項記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連する出願
本出願は、2016年4月15日に出願された米国特許仮出願第62/322,982号の利益を主張し、その出願の全内容が参考として本明細書に組み込まれるものとする。
【０００２】
発明の分野
本発明は、一般的に、バイオマーカー分析、特に血漿サンプルを含む生物学的試料から遺伝子発現シグネチャーを測定することに関する。
【背景技術】
【０００３】
癌細胞に生じる遺伝的およびエピジェネティック変化の知識が高まり、腫瘍関連の核酸配列とプロファイルを解析することにより腫瘍を検出し、特徴づけそしてモニタリングする機会を与えている。これらの変化は、様々なバイオマーカーのいずれかを検出することにより観察することができる。それらのバイオマーカーを検出するためのほか、患者、医師、臨床医、研究者にとって有益な情報を提供するために様々な分子診断アッセイが利用されている。今までに、そのようなアッセイは、外科的に切除された腫瘍組織からまたは生検により得られた組織から誘導された癌細胞に対して実施されている。
【０００４】
しかしながら、体液サンプルを使用して上記試験を実施できる方が、患者の組織試料を使用するよりもしばしば望ましい。体液サンプルを使用する低侵襲性アプローチは、患者の幸福の面、縦断的な疾病モニタリングを実施できること、組織細胞が容易に入手できない場合でも発現プロファイルを取得できるという点で、広範な意味合いを有する。
【０００５】
従って、疾病または他の病状についての診断、予後、モニタリングまたは治療法選択を助けるために、バイオマーカー、例えば血漿微小胞中のバイオマーカーを確実に検知する新規の非侵襲性方法に対するニーズがある。
【発明の概要】
【０００６】
本発明は、バイオテクノロジーの技術分野に属する。より詳しくは、本発明は分子生物学の技術分野に属する。
【０００７】

分子生物学では、核酸などの分子はヒトの試料物質、例えば血漿や他の体液から単離することができ、更に広範囲の方法論を使って分析することができる。

【０００８】

ヒト生物流体は細胞の他に体の全細胞により脱落した分子の無細胞源も含む。無細胞源としては、細胞外小胞体（EV）および内部に担持された分子（例えばRNA、DNA、脂質、小分子代謝産物およびタンパク質）、アポトーシス組織と壊死組織から誘導されうる無細胞DNAがある。

【０００９】

無細胞核酸、例えばエクソソームや他のEV中に封入されたRNA（exoRNA）、エクソソームや他のEV中に封入されたDNA（exoDNA）、自由に循環中のまたは無細胞DNA（cfDNA）は、正常体細胞により脱落するだけでなく、異常な癌細胞によっても脱落するので、ヒト血液試料からエクソソーム核酸やDNAを単離することで患者の癌細胞の存在と型を明らかにすることができる。

【００１０】

非小細胞肺癌（NSCLC）は診断された全肺癌症例の～85％を占める。NSCLCから組織生検を得ることは困難を伴うが、30％もの患者が遺伝子の分子分析用の組織を持たないため、液体生検として血液中の突然変異をモニタリングすることが有用であると分かっている。本明細書に提供する組成物と方法は、エクソソームRNA（exoRNA）遊離などの細胞生存過程から得られる情報を利用し、非常に高感度のアッセイをもたらす。本明細書に与える実施例はexoRNAの単離を実証する一方で、本明細書に示す方法とキットは、サンプル中に検出されるエクソソーム核酸の任意組み合わせ、例えばexoRNAおよび／またはexoDNAを同時に単離する（co-isolating）のに有用である。

【００１１】

患者のALK融合転写産物、例えばEML-ALK融合転写産物の存在と量を利用して、治療オプションを提案したり選択したりすることができる。

【００１２】

本発明者らは、ALK融合転写産物、例えばEML-ALK融合転写産物を高感度でかつ高特異性で検出する、ヒト生物流体から単離されたexoRNAへのPCR型分析法の適用を記載する。

【００１３】

本発明は、サンプル抽出からエクソソームRNAを使った核酸分析までの完全ワークフローである。技術の現状の機械学習とデータ処理技術が、リアルタイム装置により作出されたqPCRデータに供され、陽性と陰性サンプルを識別するか、または陽性と陰性サンプルの強度を定量する。

【００１４】

本開示は、例えば癌のような疾病の診断、予後、モニタリングまたは治療法選択に役立つ、生物学的試料中の１または複数のバイオマーカーを検出する方法を提供する。本発明において提供される方法とキットは、血漿試料からの１または複数のバイオマーカーを検出するのに有用である。本発明において提供される方法とキットは、血漿試料の微小胞画分から１または複数のバイオマーカーを検出するのに有用である。

【００１５】

当該方法とキットは、生物学的試料中の未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）融合転写産物を検出するのに有用である。ある態様では、ALK融合転写産物がEML－ALK融合転写産物である。ある態様では、ALK融合転写産物がEML4-ALK融合転写産物である。ある態様では、EML4-ALK融合転写産物がEML4-ALK v1、EML4-ALK v2、EML4-ALK v3およびそれらの任意組み合わせである。

【００１６】

本開示は、生物学的試料中のEML4-ALK融合転写産物を検出するための方法とキットを提供する。ある態様では、生物学的試料が血漿である。

【００１７】

本開示は、EVを捕捉し濃縮し、対応する核酸を単離し、ALK融合転写産物、例えばEML-A

LK融合転写産物の存在を同時に検出するために設計された反応を提供する。

【００１８】

一般に、本開示の方法とキットは、次の工程を含む：

1) 生物流体試料からのexoRNAの単離の工程：

a. 微小胞と他の細胞外小胞（EV）のカラムまたはビーズへの結合工程；

i. ある態様では、結合工程がPCT出願WO 2016/007755とWO 2014/107571に記載の方法を使って実施される。

b. 溶解条件を使ったマトリックスからの遊離工程；

c. シリカカラムまたはビーズを使った溶解物からの全核酸の単離工程；

i. ある態様では、単離工程がPCT出願WO 2016/007755とWO 2014/107571に記載の方法を使って実施される。

2) １または複数のEML-ALK融合転写産物の検出および定量工程；

3) 検出され定量されたEML-ALK融合転写産物を次の手順を使って分析する工程：

a. ステップ１：各サンプルをサンプル完全性コントロール（Sample Integrity Control）およびサンプル阻害コントロール（Sample Inhibition Control）の判定基準に合格するかどうかを検査する。

i. ある態様では、サンプル完全性コントロールが、qPCRによって試験されたハウスキーピング遺伝子RPL4の発現レベルである。

ii. RPL4について、判定基準がサイクル閾値（CT）≦28により定義される。

iii. ある態様では、サンプル阻害コントロールが、各サンプルの逆転写反応にスパイクされそしてqPCR法によって試験されたQbeta RNAの発現レベルである。

iv. Qbeta RNAについては、判定基準が逆転写反応にスパイクされた12,500コピーについてのCT値≦34により定義される。

b. ステップ２：サンプルの各ランを、並列試験される１セットの陽性増幅コントロールについて検査する。

i. ある態様では、陽性増幅コントロールが、EML4-ALK v1, v2, v3をコードする３つの参照DNA、Qbetaをコードする１つの参照DNAにより定義される。それらの参照核酸はqPCRにより定量される。

ii. EML4-ALK DNAについては、判定基準が、逆転写反応にスパイクされた各DNA　50コピーについて22～25のCT範囲により定義される。

iii. RPL4 DNAについては、判定基準が、逆転写反応にスパイクされた各DNA　50コピーについて22～25のCT範囲により定義される。

iv. Qbeta RNAについては、判定基準が逆転写反応にスパイクされたRNA　12,500コピーについて28～31のCT範囲により定義される。

c. ステップ３：サンプルの各ランを、並列試験される１セットの陰性増幅コントロールについて検査する。

i. ある態様では、陰性増幅コントロールが、陽性増幅コントロールと同じqPCRセットにより定義されるが、核酸サンプルの代わりに水が用いられる。

ii. 判定基準として、CT値が全く検出されないこと。

iii. 全サンプルの内部コントロールと外部コントロールが合格した場合、そのサンプルをEML-ALKについて検定する→ステップ４へ。

iv. サンプル内部または外部コントロールが不合格であった場合、そのサンプルは「不確定（Inconclusive）」として報告されなければならない。残りのサンプル物質が利用可能である場合、ステップ１から試験を繰り返す。

d. ステップ４：各サンプルを、EML-ALK融合変異体の発現についての判定基準に合格するかどうかについて検査する。

i. EML4-ALK変異体１のqPCRについては、判定基準はCT≦31である。

ii.EML4-ALK変異体２のqPCRについては、判定基準はCT≦32である。

iii.EML4-ALK変異体３のqPCRについては、判定基準はCT≦32である。

iv. サンプルが判定基準に合格した場合、このEML4-ALK変異体について「陽性」と報告

される。変異体の存在は、相互排他的であると予測される。
v．サンプルがEML4-ALKについての判定基準に不合格である場合、そのサンプルは「陰性」と報告される。
【００１９】
ある態様では、体液サンプルからのexoRNAの単離が、１または複数のオプションステップを含むことがあり、例えば、完全に単離された全exoRNAの逆転写、例えば単独のまたは混合物のRT酵素とオリゴヌクレオチドを使った第一鎖合成；阻害コントロールの使用、異種RNAスパイク；および／または完全に単離され逆転写された物質の事前増幅を含むことができる。
【００２０】
ある態様では、当該方法は、ALK融合転写産物、例えばEML-ALK融合転写産物の検出および定量の更なる操作と解析を使用する。ある態様では、該方法は更に、検出された核酸を更に解析するための機械学習モデルと統計分析の過程を含む。
【００２１】
ある態様では、本明細書に記載の方法とキットは、微小胞を表面に捕捉し、次いで該微小胞を溶解させることにより中に含まれる核酸、特にRNAを遊離させることによる、微小胞画分を単離する。
【００２２】
生物学的試料の微小胞画分から核酸を単離し抽出するのに用いられる従来の手順は、超遠心分離の使用、例えば10,000×ｇ未満での１～３時間の回転、次いで上清の除去、ペレットの洗浄、ペレットの溶解およびカラム上での核酸（例えばRNA）の精製に頼っていた。それらの従来法は、時間を要し、面倒で、バッチ間変動しがちであり、拡張性（スカラービリティ）に適さないといった、幾つかの欠点を示した。本発明で使用する単離および抽出方法はそれらの欠点を克服し、迅速で、頑健でかつ容易に大容量に拡張可能である、単離と精製のためのスピンベースカラムを提供する。
【００２３】
当該方法とキットは、下記に記載するPCT公開第WO 2016/007755とWO 2014/107571号公報（その各々の全内容が本明細書中に組み込まれる）に記載の抽出方法を用いて、核酸、例えばエクソソームRNAを生物学的試料から単離し抽出する。簡単に言えば、微小胞画分をメンブランフィルターに結合させ、該フィルターを洗浄する。次いで、試薬を使って核酸、例えばexoRNAのメンブラン上での（on-membrane）溶解と遊離を行う。次いで抽出を行った後、コンディショニングする。その後、核酸、例えばexoRNAをシリカカラムに結合させ、洗浄し、次いで溶出させる。
【００２４】
ある態様では、生物学的試料が体液である。体液は、対象の体内の任意の場所、例えば末梢の場所から単離された液体、例えば非限定的に、血液、血漿、血清、尿、唾液、髄液、脳脊髄液、胸膜易、乳頭吸引液、リンパ液、呼吸器、腸管および尿生殖路の液体、涙液、唾液、乳、リンパ系の液、精液、脳脊髄液、臓器系内液、腹水、腫瘍嚢胞液、羊膜液およびそれらの組み合わせであることができる。例えば、体液は尿、血液、血清または脳脊髄液である。
【００２５】
本開示の方法とキットは、ヒト対象から得られたサンプルでの使用に適する。本開示の方法とキットは、非ヒト対象、例えばげっ歯類、非ヒト霊長類、コンパニオンアニマル（例えばネコ、イヌ、ウマ）および／または家畜動物（例えばニワトリ）から得られたサンプルでの使用に適する。
【００２６】
ここに記載の方法は、微小胞からの核酸の抽出を可能にする。ある態様では、抽出される核酸がRNAである。抽出されたRNAはメッセンジャーRNA、転移RNA、リボソームRNA、小分子RNA（非タンパク質コードRNA、非メッセンジャーRNA）、ミクロRNA、piRNA、exRNA、snRNAおよびsnoRNA並びにそれらの任意組み合わせを含んでよい。

【００２７】
前記方法のいずれでにおいても、核酸は微小胞画分から単離されるかまたは他の方法で微小胞画分から誘導される。
【００２８】
前記方法のいずれにおいても、核酸は無細胞核酸であり、本明細書中では血中核酸とも呼称される。ある態様では、無細胞核酸はDNAまたはRNAである。
【００２９】
ある態様では、微小胞単離および／または核酸抽出に先立ち、１または複数のコントロール粒子または１もしくは複数の核酸がサンプルに添加され、それは微小胞精製および／または核酸抽出の効率や品質を評価するための内部コントロールとして働く。当該方法は、微小胞画分に関連した効率的単離とコントロール核酸を提供する。それらのコントロール核酸としては、Q-betaバクテリオファージからの１以上の核酸、ウイルス粒子からの１以上の核酸、または他の任意の核酸（例えば少なくとも１つのコントロール標的遺伝子）が挙げられ、それは天然に存在するかまたは組換えDNA技術により操作されたものであることができる。ある態様では、コントロール核酸の量がサンプルへの添加前に既知である。コントロール標的遺伝子は、リアルタイムPCR分析を使って定量することができる。コントロール標的遺伝子の定量は、微小胞の精製または核酸抽出工程の効率または品質を検査するために利用することができる。
【００３０】
ある態様では、コントロール核酸がQ-betaバクテリオファージからの核酸であり、それは本明細書中「Q-betaコントロール核酸」と呼ばれる。本明細書に記載の方法で用いるQ-betaコントロール核酸は、天然のウイルスコントロール核酸であるか、または組換えもしくは操作されたコントロール核酸であってよい。Q-betaはレヴィウイルス科の一員であり、４つのウイルスタンパク質：外被タンパク質、成熟タンパク質、溶菌タンパク質およびRNAレプリカーゼをコードする３遺伝子からなる直鎖状の一本鎖RNAゲノムにより特徴づけられる。平均的な微小胞とサイズが類似しているため、Q-beta粒子それ自体がコントロールとして使用される場合、Q-betaは、微小胞を単離するのに使われるのと同じ精製方法を用いて本明細書に記載されるように生物学的試料から容易に精製することができる。加えて、Q-betaウイルス一本鎖遺伝子構造の低複雑性は、増幅ベースの核酸アッセイにおけるコントロールとしての使用に有利である。Q-beta粒子は、サンプル中のQ-beta粒子の量の定量のために検出または測定しようとするコントロール標的遺伝子またはコントロール標的配列を含む。例えば、コントロール標的遺伝子はQ-beta外被タンパク質遺伝子である。Q-beta粒子それ自体をコントロールとして用いる場合、生物学的試料へのQ-beta粒子の添加後に、Q-beta粒子由来の核酸が、当該抽出方法を使って生物学的試料由来の核酸と一緒に抽出される。Q-beta由来の核酸、例えばQ-beta由来のRNAがコントロールとして用いられる場合、Q-beta核酸が当該抽出方法を使って生物学的試料由来の核酸と一緒に抽出される。Q-betaコントロール標的遺伝子の検出は、RT-PCR分析により、例えば着目の１または複数のバイオマーカー（例えばALK融合転写産物、例えばEML-ALK融合転写産物、それは単独でまたは１もしくは複数の追加のバイオマーカーまたは他のALK融合転写産物、例えば別のEML-ALK融合転写産物と組み合わされる）と同時に測定することができる。コントロール標的遺伝子の10倍希釈での少なくとも２、３または４点の既知濃度で作成した検量線を使用して、コピー数を求めることができる。検出されたコピー数と添加したQ-beta粒子の量、または検出されたコピー数とQ-beta核酸（例えばQ-beta RNA）の量とを比較することにより、単離および／または抽出工程の量を定量することができる。
【００３１】
ある態様では、50、100、150、200、250、300、350、400、450、500、1,000または5,000コピー数のQ-beta粒子またはQ-beta核酸、例えばQ-beta RNAが体液サンプルに添加される。ある態様では、100コピー数のQ-beta粒子またはQ-beta核酸、例えばQ-beta RNAが体液試料に添加される。Q-beta粒子それ自体がコントロールとして用いられる場合、Q-beta粒子のコピー数は、標的細胞へのQ-betaバクテリオファージの感染力に基づいて計算する

ことができる。よって、Q-beta粒子のコピー数は、Q-betaバクテリオファージのコロニー形成単位と相関関係がある。

【００３２】

ある態様では、当該方法とキットは、１または複数のインプロセス（工程内）コントロールを含む。ある態様では、インプロセスコントロールが血漿の質を示す参照遺伝子の検出と分析である（すなわち、血漿サンプルの質の指標）。ある態様では、１または複数の参照遺伝子が血漿固有の転写産物である。ある態様では、参照遺伝子が次のものからなる群より選択される：EML4, RPL4, NDUFA1, β-アクチン, EGFRのエクソン７, ACADVL; PSEN1; ADSL; AGA; AGL; ALAD; ABCD1; ARSB; BCKDHB; BTD; CDK4; ERCC8; CLN3; CPOX; CST3; CSTB; DDB2; DLD; TOR1A; TAZ; EMD; ERCC3; ERCC5; ERCC6; ETFA; F8; FECH; FH; FXN; FUCA1; GAA; GALC; GALT; GBA; GBE1; GCDH; GPI; NR3C1; GSS; MSH6; GUSB; HADHA; HMBS; HMGCL; HPRT1; HPS1; SGSH; INSR; MEN1; MLH1; MSH2; MTM1; MTR; MUT; NAGLU; NF1; NF2; NPC1; OAT; OCRL; PCCA; PDHA1; PEPD; PEX12; PEX6; PEX7; PGK1; PHKA2; PHKB; PKD1; PLOD1; PMM2; CTSA; PPOX; PTEN; PTS; PEX2; PEX5; RB1; RPGR; ATXN1; ATXN7; STS; TCOF1; TPI1; TSC1; UROD; UROS; XPA; ALDH3A2; BLMH; CHM; TPP1; CYB5R3; ERCC2; EXT2; GM2A; HLCS; HSD17B1; HSD17B4; IFNGR1; KRT10; PAFAH1B1; NEU1; PAFAH2; PSEN2; RFX5; SOD1; STK11; SUOX; UBE3A; PEX1; APP; APRT; ARSA; ATRX; GALNS; GNAS; HEXA; HEXB; PCCB; PMS1; SMPD1; TAP2; TSC2; VHL; WRN; GPX1; SLC11A2; IFNAR1; GSR; ADH5; AHCY; ALDH2; ALDH9A1; BCKDHA; BLVRB; COMT; CRAT; CYP51A1; GART; GGCX; GRINA; GSTM4; GUK1; IGF2R; IMPDH2; NR3C2; NQO2; P4HA1; P4HB; PDHB; POLR2A; POLR2B; PRIM2; RPL4; RPL5; RPL6; RPL7A; RPL8; RPL11; RPL23; RPL19; RPL22; RPL23A; RPL17; RPL24; RPL26; RPL27; RPL30; RPL27A; RPL31; RPL32; RPL34; RPL35A; RPL37A; RPL36AL; ITSN1; PRKCSH; REEP3; NKIRAS2; TSR3; ZNF429; SMAD5; STX16; C16orf87; LSS; UBE2W; ATP2C1; HDGFRP2; UGP2; GRB10; GALK2; GGA1; TIMM50; MED8; ALKBH2; LYRM5; ZNF782; MAP3K15; MED11; C4orf3; RFWD2; TOMM5; C8orf82; PIM3; TTC3; PPARA; ATP5A1; ATP5C1; PLEKHA1; ATP5D; ATE1; USP16; EXOSC10; GMPR2; NT5C3; HCFC1R1; PUS1; ATP5G1; ECHDC1; ATP5G2; AFTPH; ANAPC11; ARL6IP4; LCLAT1; ATP5G3; CAPRIN2; ZFYVE27; MARCH8; EXOSC3; GOLGA7; NFU1; DNAJB12; SMC4; ZNF787; ZNF280D; BTBD7; THOC5; CBY1; PTRH1; TWISTNB; SMAD2; C11orf49; HMGXB4; UQCR10; SMAD1; MAD2L1BP; ZMAT5; BRPF1; ATP5J; RREB1; MTFP1; OSBPL8; ATP5J2; RECQL5; GLE1; ATP5H; STRADA; ERLIN2; NHP2L1; BICD2; ATP5S; HNRNPD; MED15; MANBAL; PARP3; OGDH; CAPNS1; NOMO2; ALG11; QSOX1; ZNF740; RNASEK; SREBF1; MAGED1; HNRNPL; DNM2; KDM2B; ZNF32; MTIF2; LRSAM1; YPEL2; NEURL4; SF3A1; MARCH2; PKP4; SF3B1; VPS54; NUMB; SUMO1; RYK; IP6K2; JMJD8; C3orf37; IP6K1; ERBB2IP; LRRC37A2; SIAH1; TSPAN17; MAPKAP1; WDR33; ARHGAP17; GTDC1; SLC25A25; WDR35; RPS6KA4; UHRF1BP1L; RPS4X; GOSR1; ALG8; SDCBP; KLHL5; ZNF182; ZNF37A; SCP2; ZNF484; L3MBTL3; DEPDC5; CACYBP; SPOP; METTL13; IFRD1; GEMIN7; EI24; RWDD1; TULP4; SMARCB1; LMBRD2; CSDE1; SS18; IRGQ; TFG; BUB3; CEPT1; COA5; CNOT4; TTC32; C18orf25; CISD2; CGGBP1; LAMTOR4; BCAP29; SLC41A3; SEPT2; TMEM64; MXI1; USP20; NUPL1; TPST2; PICALM; CCBL2; THAP7; TFIP11; C6orf1; PPP1CA; WDR89; ZNF121; FNIP1; C6orf226; CCT3; NIPA2; CUL4A; TCP1; STK16; RCHY1; CKAP5; RPS5; GEMIN2; CCT6A; PPP2CB; CCT7; VWA8; BRD9; KIAA0930; ZCCHC11; C12orf29; KIAA2018; VPS8; TMEM230; ANKRD16; SSBP3; ZNF655; C20orf194; FAM168B; DALRD3; SSBP4; KDM1A; RPS6; ZNF766; TTC7B; RNF187; IBA57; ERCC6L2; RAP1A; TNK2; RAP1B; GLT8D1; SPRTN; ATP11C; HERPUD1; RPS7; PDLIM5; FYTTD1; SEPT7; CDK5RAP2; TRAPPC2; PCGF6; CHCHD7; OLA1; NAA30; ARHGEF10L; BTBD1; RPS8; MSL1; MCRS1; ZNF302; CTNNBIP1; DNAJC21; AKTIP; FOXP4; SEC61G; U2AF2; CCDC66; GOSR2; CTBP1; MYPOP; SLC3A2; DCTD; ABI1; CTU2; RGMB; COA6; UBE2NL; C16orf88; RPS9; CCNC; KRIT1; SEH1L; FXR1; AGPHD1; ALG10B; C2orf68; GDPGP1; PTRHD1; SRRD; EIF2AK4; MAD1L1; EXOC7; SLTM; CXorf40B; EXOC6; SUPT20H; AKT1; CUTA; DBNL; CARS; USP21; DDX19B; ETFB; EMC6; ILK; FAM96A; TM9SF1; ZNF638; MRPL22; RPS11; FAM13A; MPG; DNAJC25; TAF9; RPS13; RFFL; SP3; TMCC1; ZNF2; MAEA;

GOPC; SIRT3; ERMAP; C14orf28; ZHX1; C2orf76; CCDC58; OS9; RAB28; VMA21; C5orf45
; OPA3; RPS15; SORBS3; TPM1; CMC4; VPS13A; POLR3H; BRCC3; SERBP1; CORO1B; FPGS;
VPS13C; NARG2; GCOM1; POLR2M; FAHD1; SERF2; NME1-NME2; NME2; NAE1; HAX1; RPS16;
PUM1; RPS20; ZSCAN26; ZNF805; IQCB1; RPS21; GPHN; ARF1; TM2D2; CANX; KALRN; LIN5
2; LRRC24; ZNF688; TNRC6B; CD82; ZNF197; CBWD5; EXOC1; MINK1; YIPF5; BRMS1; ARPC
4; RPS23; RPS14; ABCF1; CSNK1A1; ADAR; U2AF1; AP2M1; IRAK1; TAF5L; DUT; RAB12; A
NO6; NDEL1; ARFIP1; CELF1; VRK3; FAM108B1; RPS24; RPS25; CCM2; TCAIM; KCTD21; C6
orf120; PLEKHG1; GLTPD1; WDR45; ZFAT; ZNF16; METTL17; ZNF181; AP2B1; AP1G1; ARHG
AP5; COX19; ZNF451; RAB24; CTNS; SRSF7; TP53BP2; PLAA; PLD3; ELP6; ERGIC1; TRMT1
1; CCDC90A; INF2; CRELD1; DHRS12; ZNF613; DNAJB14; DDX59; C19orf12; MRI1; YTHDC1
; FDX1L; TMEM150A; TIPRL; CSNK1G3; CPT1A; KLF10; TMPO; NR2C1; UBE2V1; SLC35A2; Z
NF174; ZNF207; STK24; MINOS1; ZNF226; PQBP1; LCMT1; HNRNPH2; USP48; RRM1; RPAIN;
FBXO7; TMEM259; CYFIP1; FAIM; GPR155; MTERFD3; AMD1; NGRN; PAIP2; SAR1B; WIPI2;
CSTF1; BABAM1; PPM1B; PHF12; RHOT1; AMZ2; MYO19; ACOT9; BBS9; TRPT1; NOP2; TIAL
1; UBA52; DMAP1; EIF2B4; NHP2; ITPRIPL2; RPL14; C18orf32; SRA1; UFD1L; VPS26A; B
OLA3; SDHC; GTF3C2; HHLA3; EXOC4; AGAP1; FOXK1; ARL5A; GGPS1; EIF3B; THYN1; STAU
1; USP14; RUFY3; GON4L; AGPAT3; SIL1; BTF3; PARL; EEF1B2; GATSL3; ZNF630; NPM1;
NCKAP5L; HSD17B10; REV1; DIXDC1; SLC38A10; NARF; ALG13; ATP6V1E1; NDUFAF5; ATP6V
0B; NPRL3; KIAA0317; ETNK1; DNAJB2; SEC14L1; CCNL2; PICK1; DPH2; USP9X; IAH1; CR
EBZF; PRMT5; ZMYM5; TIRAP; YIF1B; UNC45A; CHTF8; TYW5; SNAPC3; NBPF10; SDCCAG3;
DEDD; C4orf29; CDC42; OXLD1; GPX4; STRN4; FKRP; ZNF808; C19orf55; ZNF674; ZNF384
; INTS6; MLLT4; TCERG1; ARL16; MAPK3; FAM133B; MOSPD3; MLH3; NRF1; PQLC2; CEP44;
H2AFY; C16orf13; FAM63A; PAPD5; DCUN1D4; PRDM15; U2AF1L4; HAGH; COA3; YARS2; PH
F11; ASB1; MTMR12; RUFY1; SIDT2; RHBDD2; ERAP1; EFTUD1; TMEM70; LINS; CRCP; ACP1
; ZXDC; METTL21D; PPAN-P2RY11; INCENP; UEVLD; ABCE1; TROVE2; PGP; CEP63; PPP4R1;
CEP170; ANKZF1; PSPC1; WHSC1; ZNF205; FAM98B; CAST; TRAPPC5; TMEM80; PSAP; SUMF
2; ABHD12; ACBD5; ZNF565; GEMIN8; DLGAP4; SMIM8; ZNF706; COASY; MINA; AGAP3; SLC
9A6; MAZ; NCBP2; ATPAF1; FEZ2; NSL1; SMC2; TATDN3; FRS2; EIF4G2; CHD2; ENGASE; C
RTC3; SNUPN; POT1; TTC14; KDM5A; XRN1; PIGY; PARP2; NGDN; TRAK1; MFSD12; SHPRH;
ZSWIM7; GTPBP10; SEC24B; STAG2; TPM3; MSMP; SMAP1; ZNF557; NET1; DPH3; MUTYH; PH
ACTR4; HIPK3; CLCC1; SCYL1; UBL5; TNFRSF1A; TOP2B; ACSS2; TMUB2; CLTA; UBTF; QSE
R1; CDC14B; ATG9A; SREK1; SENP7; SEC31A; SPPL2B; RNF214; SLC25A45; NCOR2; ZFYVE1
9; RBM23; POMT1; DPH5; IRF2BP2; PNKD; BCLAF1; HNRNPC; PHF16; TSEN34; PPCS; SLC39
A7; MTMR14; UBXN2B; APH1A; WTH3DI; URGCP; AGAP6; ALG9; MIER1; SRSF1; FAM127B; CD
C16; TMEM134; UBN1; TBCE; MED24; FAM177A1; KTN1; PAICS; TRAPPC6B; HNRNPUL2; TMTC
4; FNDC3A; KIAA1191; FKTN; TMEM183B; OCIAD1; CREBBP; TAX1BP1; BCS1L; CUL4B; KIAA
1147; KIAA0146; U2SURP; ZNF629; UNK; FTO; WHAMM; SNED1; BEND3; GPR108; INTS1; ZN
F697; PLEKHM3; USP45; USP6NL; ZNF823; TNRC18; RGP1; TMEM223; METTL23; SETD5; BAH
CC1; UNC119B; MGA; CACTIN; TMEM218; C15orf57; DNLZ; COMMD5; JMJD6; NXF1; THOC2;
CPSF4; PRKDC; ZNF623; ACD; TCTN1; PIH1D2; C11orf57; ZGPAT; CHMP1A; ZNF133; CEP57
L1; RABEP1; TMEM214; NAA60; TMEM219; EARS2; RB1CC1; ZBTB40; ANKRD12; STRN3; DNAA
F2; WBP1L; THADA; PLOD3; DDT; DDTL; MZT2A; C11orf83; NADKD1; CTNND1; FOXN3; MAP1
LC3B2; MYSM1; C17orf89; AAMP; UQCRHL; TRAPPC13; FAM195B; TXNRD1; ACLY; RPP38; AC
O2; HNRNPF; CTNNB1; LIG4; COPA; ZBTB21; ZNF621; DLG1; GRSF1; CRTC1; ZNF419; CHCH
D4; DDX17; SGSM2; HTATIP2; CDK10; BAG6; USP5; TMBIM6; C1orf43; PCBP2; TMEM251; J
KAMP; AKT1S1; C12orf44; RPP14; FAM89B; BET1L; MID1IP1; FAM160A2; FAM210A; INO80C
; ATXN7L3; ZNF862; CCDC43; ZNF506; TINF2; COMMD7; CCNK; KAT6A; POM121C; BCAS3; U
LK3; ZNF30; MTFR1L; ZNF146; FTSJD1; RPL22L1; GXYLT1; PTAR1; HIGD1A; C8orf59; EIF
5AL1; REPIN1; WDR83; C4orf33; SYS1; IKBKG; C7orf25; SBNO2; IMMT; TMEM192; PDS5A;
SENP6; DROSHA; C19orf60; SPATS2L; RAP1GDS1; RC3H2; KIAA0232; KDELR2; PLEKHB2; C

ENPN; ERLIN1; TMEM55B; MED7; PID1; MOB4; SLC9B1; PACS2; COMMD9; CXXC1; NRD1; ACOX3; PHF21A; FOXRED2; SIKE1; HNRNPR; TTI2; PCTP; ALPK1; ZFAND5; TBC1D8; PPAPDC1B; IFT43; SNX18; ZNF160; TUBGCP5; ZNF554; OTUD4; PSMA4; RRAS2; GIGYF2; RPP30; FAM118A; PCMTD2; ACVR1; FBRS; TMEM177; RUSC1; ASH2L; CORO1C; ARMC5; ZFYVE16; FAM135A; ZNF142; MYBBP1A; ZBTB10; UBE4B; KIF13A; NUDT19; FBXO45; NUDT7; HECTD4; ZNF250; C6orf136; ADAM10; TMEM87A; SLC35E2B; MECP2; NAA16; SUPT5H; UBE2K; DDX54; TLK2; ZSCAN30; FAM208A; FPGT-TNNI3K; BRD2; NACA; ECE1; TBC1D14; FANCI; FGGY; C17orf51; SEPT9; ARHGEF7; METTL15; ENTPD6; CDC27; THUMPD3; LSM14A; C17orf85; ELK1; NBEAL1; AEBP2; IRAK4; MTRF1L; CLCN7; PAPD4; DHX36; SZRD1; JMJD7; PLA2G4B; FANCL; LIN54; KANSL3; WDR26; GDI2; ADD1; LAMP2; HCCS; CCBL1; ABCD3; MICAL3; SET; GTF3C5; TTC13; NCOA7; BSCL2; BCKDK; SMEK2; ADK; ARIH2OS; MTO1; ZBTB1; PPP6C; PARK7; BCOR; ADPRH; HDGF; CASK; OSGIN2; POLG; THTPA; AP1B1; PIGG; CFLAR; CNBP; PCID2; HMOX2; SMARCAL1; ACSF3; POLD2; AURKAIP1; AUTS2; GPBP1; LRRC8A; TMEM129; UBAP2L; CBX5; MAD2L2; MED18; ZNF84; C14orf2; TSEN15; METTL21A; ERLEC1; CRY2; CRLS1; PAN2; SPRYD7; ASAH1; ING4; NMRK1; PEX26; MFN2; ATXN3; TMEM14B; STXBP5; SPG21; CEACAM19; AP4S1; RWDD3; TFRC; ORMDL1; VPS53; UBP1; NUDCD1; KCTD6; VGLL4; ZNF717; SLC39A13; DIS3; GNE; TPRN; LYRM1; LACC1; AP1AR; SMARCAD1; PSMG4; MAPKBP1; USP8; NUDT22; REPS1; LUZP6; DCAKD; SMARCA4; SRRT; GTPBP3; TOMM40; MARK3; INPP1; ENTPD4; NSDHL; TEX264; DNAJC2; KRBOX4; SYCE1L; KIAA1841; AES; GSPT1; ATP6V0A1; ZNF680; CLK3; ZNF562; SHC1; TBCEL; ATF7; MYO9B; EPN1; KARS; COL4A3BP; HSPBP1; FAM108A1; RFC5; SMARCC2; SPTAN1; SRP9; HRAS; SSFA2; HAUS2; THAP5; VRK2; ZNF195; AP1M1; SPAG9; CALU; EIF4E; STYX; C14orf93; LSM5; PSMB5; CCDC149; DNMT1; RTCA; AIFM1; CAB39; PPIP5K1; PWWP2A; SUGT1; ZNF720; TGFBR1; MEF2A; C7orf73; PLCD1; SUN1; HYOU1; FAM58A; PTPN12; SATB1; CIZ1; ATG10; ZCCHC9; SAP30L; ACP2; TMEM106B; EIF2AK1; PSMG3; MAP4; LRRFIP2; NT5C2; CCNJ; TBC1D5; IQSEC1; ZDHHC4; C7orf50; TBCCD1; CDV3; AZI2; C3orf58; GSE1; PARN; HS2ST1; TOMM6; TRMT10A; DERL1; FAM204A; DEK; ARFRP1; IPO11; CCDC152; FIP1L1; ELMOD3; PDHX; MFAP3; DCTN1; MAPK9; FAM160B1; FNDC3B; CRELD2; DNAJA3; NEDD1; ZNF397; ZDHHC3; AGFG1; FKBP2; GIT2; TAF12; LDHA; RBBP4; MKNK1; HDHD1; C12orf73; SMIM13; C5orf24; GDAP2; RPS27A; PPP1R21; PIP5K1A; INPP5K; DCTN4; FAM53C; PTPRK; EEF1E1; EIF2AK2; XPR1; MSRA; ATL2; C8orf40; VDAC3; YWHAZ; HMBOX1; NEIL2; ECD; RPN2; SPATA2; FDPS; RNF185; PHPT1; METTL20; SLC46A3; KIAA1432; MADD; URM1; UCK
1; NDUFB11; RUSC2; ABL2; ATG7; PUF60; TRMT1; NIF3L1; CPSF7; PTGES3L-AARSD1; TMUB1; TPRA1; R3HCC1; FBXO28; FAM178A; RPL28; RPS6KC1; CMPK1; ATF6B; ZNF507; OTUD5; FASTKD2; TNPO2; FZR1; ISOC2; CCDC124; RCOR3; SEC13; SGMS2; ATXN7L3B; AKIRIN1; ANP32E; CISD3; ACAD10; APOL1; LYSMD1; TLK1; GPR107; LANCL1; LRRFIP1; MCTS1; ANAPC5; MEMO1; POLR1B; ANAPC7; ILF3; ATXN1L; BCAP31; TTLL11; CNST; TBL1X; TRAF3IP1; PRKRA; DAXX; ATP13A2; TP53BP1; RAB11FIP3; CLASP1; APLP2; RNASEH2B; ARCN1; SMC6; EMC8; MGRN1; LMAN2L; ARFGAP3; SQSTM1; GTF2H1; TXNL4B; DMTF1; THOC6; PPP3CB; ALG5; PNPLA4; CTIF; CD164; AIMP1; MORF4L2; MGEA5; EDC3; SPNS1; DKC1; ECSIT; C6orf203; INTS12; FLYWCH2; MON1A; SLC35B3; ADCK1; RPUSD3; ADCK4; RRNAD1; RAD51D; ZNF669; NFYC; ITPK1; CLP1; KIAA0141; EFTUD2; ULK2; EHBP1; TGFBRAP1; GHDC; TNRC6C; FBRSL1; SAR1A; HNRPLL; ATG13; CHID1; ERI2; C1orf122; IL11RA; C17orf49; EYS; API5; DAGLB; MPC2; GSTK1; DIS3L; EIF5A; ZNF438; CTDNEP1; SLC25A39; PPHLN1; TPCN1; ZBTB14; MAPRE2; NFRKB; TMEM106C; TCHP; WIBG; COPS2; BSDC1; C12orf65; TRAFD1; LOC729020; C15orf61; PSMA1; LEMD2; TMEM30A; C2orf74; TBC1D7; CDYL; TCTN3; PTPMT1; BANF1; WRAP53; AMFR; AGAP5; CTPS2; TMX2; NAT10; COPB1; UBAC2; DET1; DNAJC7; CD58; DENND4A; PHB2; IMPA1; SMCR7; C11orf95; MYL12B; DTWD1; NFKBIL1; MTHFD2L; ZNF814; CCDC85C; ITGAV; COG2; GPN1; SLC44A2; USP27X; COG6; ZNF619; SKIL; RRP12; MKRN1; AKD1; RELA; VPS37A; HBS1L; INTS9; DOHH; PRMT3; KIAA1671; LAMTOR2; SLC35C1; FAM185A; NGLY1

; ETV3; DSN1; ZNF566; ZNF576; KDM8; IPP; MKLN1; CBWD1; SIN3A; ABHD11; ZNF652; OX
SM; TSEN2; TEF; NONO; NFE2L2; SETDB1; TMEM205; C4orf52; PGAP2; SCAF4; SPECC1L; E
HMT1; TCP11L1; RBM17; ZDHHC7; KIAA0226; GLG1; SAE1; HOMER3; XPC; MEF2BNB; SH2B1;
MTFR1; SARS2; SCAPER; SLC12A4; RDH13; TJAP1; FCHO2; HSDL1; TDRD3; RPAP3; FAN1;
PARP9; DIP2A; GSK3B; MOGS; TATDN1; ZNF414; ZNF407; TBC1D15; WRB; PIP4K2C; TCF7L2
; SRP54; LEPRE1; C1orf86; PQLC1; KDM3A; KDM4C; RBM19; KDM5C; SLC25A5; ANXA4; SCO
C; ANXA6; ANXA7; ANXA11; MTHFSD; BIVM; BOD1; SYNCRIP; PLBD2; BUD13; RIOK2; CANT1
; MPND; EBNA1BP2; EVI5L; EPS15; TXNDC16; ACOT13; C15orf40; RNF170; SPG11; SETD6;
SETDB2; TRAPPC9; POLR3B; NUDT2; ARMC10; CHFR; NPTN; NDFIP2; JMJD4; WDR25; COG5;
TNIP2; RBM34; TEX10; DUS3L; PPP2R5C; CLK1; PDCD6IP; TMEM189; RBMXL1; COX11; TYW
3; RPTOR; HTATSF1; EWSR1; FBXL17; RAB2B; ZSCAN12; ZNF580; MYEOV2; TBCK; ZNF746;
DCAF11; DCAF4; GTF2I; WDR81; KCNMB3; C10orf2; COPS7A; CHAMP1; PPP6R3; GPR75-ASB3
; PLIN3; DHX16; C1orf27; WDR46; TRAF3IP2; FLNB; BRD8; THAP4; GPN3; STAU2; MTF2;
TMED7-TICAM2; EIF4ENIF1; C16orf52; ASXL1; ENDOV; ZFHX3; BCAT2; SLC25A26; RBMX; P
ET117; ACIN1; DCAF17; SMIM12; LYRM4; TMEM41B; DTYMK; TMEM14C; NFKB1; SLC25A11; C
D320; MKS1; DAG1; STARD3; IDE; ELAC2; BIRC2; ECI2; ERCC1; NDUFV1; TADA2A; PNPLA6
; RBM28; LCORL; NDUFS2; UTP14A; CEP120; C22orf39; FHIT; MTIF3; HAUS4; DHX40; PIG
X; SHMT2; HDAC8; WDR13; MPP1; SLC16A1; EIF2B3; FAM122B; TRAPPC1; AFF1; FAM104B;
XIAP; RBM6; XPNPEP1; RAB35; RHBDD1; LEMD3; ATXN10; LPP; VARS2; SMYD3; TMED5; NSM
CE4A; ATP5SL; LHPP; ANKRD50; TIMM17B; TRMT2B; TBC1D17; NDUFB4; ME2; NSUN5; CUL7;
SLC35A1; TSPAN3; ARMCX5; CNDP2; TMEM48; IFT46; TXLNG; TMEM135; FAM21C; SCO2; ST
IM2; TJP2; CDK16; CDK17; ATAD3A; PGAM5; CXorf56; CHD8; FUS; LPPR2; SRGAP2; LAS1L
; ZNHIT6; MIB2; GPR137; PIN4; LCOR; MFSD5; ATRAID; ZFAND1; LARP4; RBM41; SMPD4;
UBXN6; FAM3A; STRBP; PET100; CAMTA2; UBAP1; MCFD2; TRIQK; PAPD7; PPARD; FGFR1OP2
; VPRBP; NUDT16; CXorf40A; KXD1; RBFA; SETD9; MASTL; VANGL1; BAG1; RAB3GAP1; RRM
2B; GOLGA3; MCPH1; NEO1; TECPR2; TK2; RAB40C; ZNF668; ZNF347; ZNF764; ZNF641; TS
FM; PPARGC1B; SLC38A6; GGA3; GOLGA4; SEC23B; DPY19L3; ZNF555; YTHDF2; TFCP2; AAA
S; CRBN; NKRF; MRRF; DGCR2; BANP; BRD7; SMG7; POLL; NCOA3; PCBP4; ZBED6; ARL13B;
RABEPK; SAMD8; ARL1; ABHD16A; PPP2R2A; SUCLG2; CINP; RIF1; IFT27; KLF11; RANGRF
; SRPR; SYCP3; MNAT1; ECI1; SF1; ZC4H2; ZFX; SYNJ2; MINPP1; SUFU; ATP6AP1; ATR;
HADH; TIPARP; PIGT; CTTN; ZBTB33; PAFAH1B2; ZNF408; UHMK1; VDAC2; PEX11B; ESYT1;
TMLHE; UBR2; CD99L2; GNL3L; PRMT7; KLHDC4; FLAD1; FBXL20; WDR44; PACSIN2; UQCC;
NDUFS5; WNK1; NDUFC1; KIAA0430; RNF4; NCAPH2; NDUFA2; ZDHHC8; ACOX1; ZCCHC6; ZN
F75D; FMR1; ARHGDIA; NIT1; MYNN; PFDN6; BAK1; DNAJC19; C1D; ATG16L1; FBXO11; DGC
R8; TAF6; NCOR1; IKBKB; ZNF317; NCK1; DHX35; SMAD7; MRPS35; ORC4; HYI; FAM193B;
ZMYM2; YAF2; IL6ST; SRSF11; SLC33A1; IPO8; ARPC1A; BCL2L1; GSTO1; SRSF10; CTCF;
TNPO3; PSMD1; SIRT5; EML2; MSL3; RBBP5; SIRT6; SIRT2; TMEM127; VIPAS39; C9orf3;
MRPS18A; NUP62; EXD2; DIDO1; NDUFA11; UCKL1; PPP2R4; DDX3X; NSUN2; KANSL1; LIMS1
; SLC1A4; REST; TTC27; SLC30A6; CHMP3; FAM65A; SCRN3; NEK4; FBXL5; ENY2; TUBD1;
DHRS4L2; PEX19; POGZ; EIF4G1; MATR3; MEPCE; MR1; PPIE; TMEM184B; ANKRD28; PTP4A2
; COG4; NASP; CCDC107; YIPF6; DENND1B; APTX; SERPINB6; USB1; RAB9A; SRSF2; MICU1
; CHMP5; CLINT1; CAMTA1; DICER1; SEPHS1; ZNF865; TOPORS; MLLT10; VAPB; THAP3; HS
DL2; ANKHD1; ZFP91; MLL; GCLC; IRF3; BCL7B; ORC3; GABPA; MCL1; HIRIP3; ARNT; OXR
1; ATP6V0C; JMJD7-PLA2G4B; ARHGEF12; LEPROT; RBBP7; PI4KB; CUL2; POU2F1; ARPC4-T
TLL3; ASCC1; EIF4G3; MSANTD3; MSANTD3-TMEFF1; RBM14; RBM12; CCT2; RBM4; RBM14-RB
M4; CPNE1; CAPN1; ATP5J2-PTCD1; YY1AP1; ATP6V1F; ABCC10; RNF103; RNF103-CHMP3; T
MEM110-MUSTN1; NFS1; DCTN5; CDIP1; C15orf38-AP3S2; NT5C1B-RDH14; TBC1D24; TRIM39
-RPP21; RPP21; COPS3; TANK; AMMECR1L; KAT7; USP19; PSMC5; MLST8; CCNH; ARMC6; TB
C1D23; AK2; GPANK1; TOR1AIP2; UCHL5; CABIN1; LRBA; UIMC1; CNOT2; BLOC1S5; FPGT;
RPL17-C18orf32; GBF1; RNF145; NEK1; TRAF3; NIP7; PDCD2; ISY1; ZSCAN9; C20orf24;

TGIF2-C20orf24; SUN2; PTK2; PMF1; PMF1-BGLAP; SLC4A2; DHX33; PPP2R5A; PSMA5; CPD
; POC1B; PSMB2; INTS7; GGCT; MDP1; NEDD8-MDP1; SMURF1; DAP3; AK3; BCL2L2-PABPN1;
KIF16B; MARK4; GLRX3; B4GALT3; HYPK; PDK2; PGM3; SIAE; SESN1; DOPEY1; SH3GL1; N
DUFB5; UQCRB; NDUFB6; GCFC2; SAFB; HMGN3; RNF14; RNF7; ZNF778; GORASP2; ZNF513;
C18orf21; EIF2D; CORO7-PAM16; PIGO; RBM15; PLRG1; SEC22C; ASB3; ASB6; AKR1A1; TR
MT1L; PRDX1; C10orf137; ZMYND11; RPS10-NUDT3; UBE2E1; HSPE1-MOB4; UBE2G2; UBE2H;
CTDP1; CUX1; SYNJ2BP-COX16; PIGV; CHURC1-FNTB; WBSCR22; MTA1; NDUFC2-KCTD14; IL
17RC; NDUFC2; COMMD3-BMI1; CHURC1; UBE4A; COX16; PPT2; MBD1; SPHK2; MDM4; ZHX1-C
8ORF76; SRP19; ZNF670; SCARB2; PPP5C; ZNF664; PRPS1; BIVM-ERCC5; CCPG1; PSMC2; R
BAK; RBM10; EIF4A1; RBAK-LOC389458; KIFAP3; RFC1; ZNF587; LIPT1; ANO10; TNFAIP8L
2-SCNM1; SCNM1; TCEB1; URGCP-MRPS24; NPEPL1; BAG4; ISY1-RAB43; BNIP1; TTF1; KLF9
; USMG5; MAVS; CAPZB; POLR1D; CHTOP; AKIP1; SH3GLB1; IGSF8; PRKAG1; NSFL1C; GTF3
C3; ARID4B; MAP2K5; KAT5; RAB11A; TGOLN2; STRADB; FAM115A; DHPS; HNRPDL; PTPN2;
M6PR; RNF40; PRMT1; ATRN; BACE1; VWA9; BZW1; C1QBP; ZNF48; CAMK2D; CASP6; CASP7;
CASP9; CCNT1; CCNT2; PITRM1; ATAD2B; ODF2; ANAPC13; TWF1; WDR20; PIK3R1; EIF1AD
; ZSWIM8; MIF4GD; MFSD11; NCOA6; ANAPC16; MAP4K4; RIN2; TMEM147; RBM39; RAB2A; A
HCYL1; LOC100289561; ZNF691; TRIM26; BRF1; NUP93; ZNF322; ZNF790; DEF8; RNF41; A
RFGAP2; AP2A2; RNF146; ARFIP2; ELP2; CARKD; ZBTB17; ZKSCAN3; PPP6R2; AKAP1; MPPE
1; ASCC2; ZFAND6; EIF3L; ZNF410; SNX1; AKT2; PLD2; NFKBIB; PDE8A; TAF1C; PIM1; I
NPP5F; HIP1; RANBP6; PES1; NARS2; TIGD6; HINFP; NUB1; CLCN3; GLRX2; CLEC16A; PDI
K1L; MTMR2; CD2BP2; GFOD2; LETMD1; RAB6A; SETMAR; LAMTOR3; RGL2; C7orf49; POMGNT
1; BTF3L4; CEP57; SMUG1; CHST12; TOB1; TRA2B; TPD52L2; HDLBP; PRPSAP2; PPP3CC; K
IAA0586; APEX1; HBP1; TRRAP; C7orf55-LUC7L2; LUC7L2; IMMP2L; CHMP2B; STX5; GFPT1
; RAD23B; TMEM126A; FOXP1; DLST; PRPF4; TXN; PPP1CC; SEL1L; CTAGE5; ASAP1; TRIM3
; NUDT9; SP1; USP4; ASPSCR1; APPL2; SLC30A5; PAPOLA; RAB5B; RAB5C; TAOK2; PCMT1;
USP15; AP4E1; LSM4; GEMIN5; SEC24A; CEBPG; NT5C; TNIP1; URI1; ACSS1; BBS4; CDC5
L; RPL15; ZNF444; SLC52A2; GMDS; AP4B1; YME1L1; UXS1; MED27; TBC1D1; CYB5D2; CRE
B3L4; PNPLA8; PSMC3IP; PIK3CB; ANKRD26; C9orf72; ATF2; NAA10; TRIM65; CERS6; ARL
8A; CSE1L; TMCO1; ZNF620; ANKRD11; SNX12; ARAF; ETS2; STK3; PTGES2; CHD1L; UBE2L
3; MCMBP; LRRC39; NOL8; ELOVL1; SLMO2; KDM2A; LRRC42; RAB18; CPSF3L; KAT6B; WDR9
2; GOLGB1; MAN2C1; SSBP1; C9orf69; SLC25A1; NOP16; PCGF5; MPP5; PPFIBP2; RPL10;
C1orf85; TUBGCP2; R3HCC1L; NR1H2; FAM193A; DPP3; STOML1; KIAA0391; CSNK2A3; PRDM
11; ANAPC10; CCT4; USP39; CNOT10; TMEM161A; GAPDH; RIT1; PAF1; SMG6; LOC10086267
1; POLD1; BTRC; RNF34; SRI; DDX21; CLCN6; CCDC51; FBXW7; NDUFB3; COX14; ITCH; DD
X56; POM121; DDX6; CUL3; DIS3L2; HNRNPH1; SCFD1; ABCG2; CD63; TRMT2A; CCDC132; A
NKFY1; COPS4; SERINC4; POLR3E; HARS; MIS12; NDUFA12; SPATA20; IDH3B; FAM173B; SM
S; TARS; FBXO18; FASTK; CDK8; WDR4; ZNF155; SLC9A8; RDX; SRP68; CDK9; CALCOCO2;
NOL10; PSMD9; TSN; SFSWAP; DCTN2; LPIN1; AARSD1; ADAM15; NSRP1; PDPK1; AP3D1; TB
RG4; BRE; MORF4L1; CNOT1; MZF1; LARP7; ARMC8; PSME3; SNX17; PEMT; PDCD6; EIF3C;
TOR1AIP1; UBOX5; FAM189B; ITPA; SRP72; CCDC61; ARSG; ING1; IFT20; AMBRA1; PAAF1;
ILF2; EIF6; SLC12A9; ZNF839; CLOCK; SLIRP; HSD11B1L; SHOC2; CHD1; TMEM254; ANKR
D46; FAM73A; RXRB; MAP4K3; PSMD5; CDK2AP1; UBE3B; WWP2; MCM3; PPP2R5D; PSMB6; PS
MD11; CAMKK2; TAF11; RPL13A; LATS1; DAAM1; MED23; STOM; RNF111; WTAP; MED4; JOSD
2; MARCH6; MCU; ARHGAP12; BCL2L13; NTAN1; STRIP1; TFAM; MEAF6; HAUS6; TRAPPC6A;
TRAPPC3; UCHL3; NOSIP; IST1; ZFAND2B; MAX; VPS72; PCED1A; RAP2C; FAM173A; TTC19;
EMC1; C21orf2; PEX11A; DNAJC10; LOC100129361; PPME1; HERC3; STX10; PPP1R12C; RQ
CD1; ZNF138; MTCH1; NSA2; LOC441155; PYCR2; SLC35A3; ABCB7; MKRN2; FBXO38; COPZ1
; APEX2; AP3B1; PSMD6; DYNC1I2; MED21; DCLRE1A; PRELID1; RSRC1; RCN2; IKZF5; ZNF
700; CDK2AP2; RRAGC; GTF2H3; AAR2; CUEDC1; KHDRBS1; AAGAB; TARS2; SEC11A; CEP164
; RMND1; MEGF8; SLC39A1; HSP90AB1; STK25; PUS3; RAB4A; DOCK7; EPC1; LRRC14; RPS6

KB1; TRAP1; C16orf91; MRFAP1; SHISA5; ABHD10; QARS; USP10; STX4; CHD4; WDTC1; RG
S3; MBD4; PPIP5K2; PRKAR1A; NISCH; PPP1R3E; YOD1; C18orf8; USF1; ESF1; UNKL; SEC
16A; KPNB1; ELF2; LONP1; CHUK; CIRBP; TBCB; AP1S1; AP3S1; CLNS1A; CLPTM1; CREBL2
; MAPK14; CSNK1G2; CSNK2B; CSTF3; CTSO; CTSZ; DAD1; DGKQ; DARS; DHX9; DHX15; DEC
R1; DNASE2; DYNC1H1; DPAGT1; DPH1; DRG2; DYRK1A; ECH1; EEF1G; EIF2B1; EIF2S3; EI
F4B; ELAVL1; ENO1; EP300; FBL; EXTL3; XRCC6; BLOC1S1; GDI1; GTF2B; GTF2H4; GTF3C
1; HDAC2; HSBP1; DNAJA1; NDST1; ICT1; IL13RA1; ING2; INPPL1; EIF3E; AARS; ACVR2A
; PARP1; AKR1B1; APEH; TRIM23; ARF4; ARF5; ARF6; RHOA; ARVCF; ATF4; ATP5B; ATP5F
1; ATP6V1C1; ATP5O; AUH; POLR3D; BPGM; BSG; CAT; CBFB; CDK7; CENPB; CENPC1; CLTB
; SLC31A1; COX4I1; COX5B; COX6B1; COX7A2; COX7C; CSNK1D; CSNK2A1; CTNNA1; CTPS1;

CTSB; CTSD; CYC1; DBT; DDB1; DLAT; DR1; DUSP7; E2F4; EEF2; EIF5; ELK4; STX2; ESD
; ETV6; EYA3; FAU; FKBP3; FKBP4; FNTA; FNTB; FTH1; KDSR; GAB1; GABPB1; GARS; GCL
M; GNAQ; GNB1; GNS; GOLGA1; GOT2; GTF2E2; GTF2F1; GTF3A; H2AFX; H2AFZ; HTT; HIVE
P1; HMGB1; HNRNPA1; HNRNPA2B1; HNRNPK; HSPA4; HSPD1; HSPE1; IARS; ID2; ID3; ACO1
; IRF2; ITGAE; ITGB1; ITPR2; JAK1; KPNA1; KPNA3; KPNA4; TNPO1; IPO5; LIG3; LRP1;
LRP3; LRP6; LRPAP1; MAGOH; MAN2A1; CD46; MDM2; MAP3K3; MGAT2; MGMT; MIF; MAP3K1
1; MPI; MPV17; MSH3; MAP3K10; MTAP; MTRR; MTX1; MVD; NUBP1; NBN; NCBP1; NDUFA4;
NDUFA6; NDUFS4; NDUFS8; NFX1; NFYA; NME3; NRAS; NTHL1; NUP88; NVL; TBC1D25; OAZ2
; ODC1; OGG1; ORC5; OSBP; PEBP1; FURIN; PAK2; PBX2; PCNA; PDE6D; PER1; PEX10; PE
X13; PFDN1; PFDN4; PFDN5; PFKL; PHB; SLC25A3; PHF1; PIGA; PIGC; PIGF; PIK3C2A; P
IK3C3; PI4KA; PMM1; PNN; POLA2; POLR2E; POLR2G; PPAT; PPP1R7; PPP1R8; PPP1R10; P
PP2CA; PPP4C; PREP; PRKACA; PRKCI; MAPK1; MAPK6; MAPK7; MAPK8; MAP2K1; MAP2K3; P
RPSAP1; PSMA2; PSMA3; PSMA6; PSMA7; PSMB1; PSMB3; PSMB4; PSMB7; PSMC1; PSMC3; PS
MC6; PSMD2; PSMD3; PSMD4; PSMD7; PSMD8; PSMD10; PSMD12; PSMD13; PSME2; PTBP1; PT
PN1; PTPN11; PTPRA; RAD1; RAD17; RAD51C; RAF1; RALB; RANBP1; RANGAP1; RARS; RASA
1; ARID4A; RCN1; NELFE; RECQL; UPF1; REV3L; RFC2; RFC4; RFNG; RFX1; RGS12; RING1
; RNASEH1; RNH1; RORA; RPA1; RPA2; RPA3; MRPL12; RPN1; RXRA; SBF1; ATXN2; SDHB;
SDHD; MAP2K4; SRSF3; SGTA; SKI; SMARCA2; SMARCC1; SMARCD1; SMARCE1; SNAPC1; SNAP
C4; SNRNP70; SNRPB; SNRPB2; SNRPC; SNRPE; SNRPF; SNRPG; SNX2; SP2; UAP1; SPG7; S
PTBN1; SRM; SRP14; SRPK1; SSB; SSR1; SSR2; SSRP1; STAT3; STIM1; STRN; SUPT4H1; S
UPT6H; SUPV3L1; SURF1; SUV39H1; ADAM17; TAF2; TAF4; MAP3K7; TAPBP; TBCC; TCEB3;
TCF12; TDG; TERF1; THOP1; SEC62; TRAPPC10; TOP1; TPP2; TPR; TPT1; NR2C2; TSPYL1;
TSSC1; TSTA3; TTC1; TUFM; HIRA; TYK2; UBA1; UBE2A; UBE2B; UBE2D2; UBE2D3; UBE2G
1; UBE2I; UBE2N; UBE2V2; UNG; UQCRC1; UQCRC2; USF2; UVRAG; VBP1; VDAC1; XPO1; XR
CC4; YY1; YWHAB; ZNF7; ZNF35; ZNF45; ZNF76; ZNF91; ZNF131; ZNF134; ZKSCAN1; ZNF1
40; ZNF143; ZNF189; ZNF202; USP7; STAM; CUL5; MLL2; TAF15; NRIP1; TMEM187; AXIN1
; HIST1H2BC; PIP4K2B; ULK1; EEA1; ANXA9; STX7; VAPA; ZNF282; DUSP11; CUL1; TTF2;
SMARCA5; OFD1; PPM1D; RANBP3; PPFIA1; PARG; NDST2; IKBKAP; HAT1; DGKE; CAMK1; A
GPS; BLZF1; MAPKAPK5; PRPF18; DEGS1; DENR; YARS; RRP1; KHSRP; AKR7A2; NOP14; RUV
BL1; USO1; CDK13; RFXANK; SSNA1; NCOA1; TNKS; EIF3A; EIF3D; EIF3F; EIF3G; EIF3H;
EIF3I; EIF3J; BECN1; MRPL40; B4GALT4; MBTPS1; EDF1; CTSF; SNX4; SNX3; EED; RNMT
; RNGTT; GPAA1; RIPK1; CRADD; TNFSF12; ADAM9; CDS2; RIPK2; FADD; SNAP23; NAPG; N
APA; MTMR1; RIOK3; TNFRSF10B; DYRK4; SUCLG1; SUCLA2; CREG1; TRIM24; DPM1; DCAF5;
DPM2; SAP30; CES2; TMEM11; HDAC3; KAT2B; SGPL1; FUBP1; ZNF259; MCM3AP; EIF2B5;
EIF2S2; CPNE3; BUD31; PRPF4B; TIMELESS; HERC1; MBD3; MBD2; ST13; FUBP3; TOP3B; W
ASL; ATP6V0E1; SLC25A14; RPS6KB2; RNF8; UBA3; UBE2M; BTAF1; AIP; CLK2; RHOB; ATI
C; ATOX1; BYSL; CCNG1; CDKN1B; AP2S1; COX8A; CRY1; CS; TIMM8A; DUSP3; ECHS1; EIF
2S1; EIF4EBP2; FDX1; FEN1; GMFB; GPS1; GTF2F2; HSPA9; IDH3G; IREB2; NDUFB7; NINJ
1; OAZ1; PRKAR2A; RAB1A; RAB5A; SDHA; SNRPD3; TARBP2; UXT; PIGQ; FIBP; EBAG9; RA

B11B; UBE2L6; MFHAS1; CYTH2; MED14; SOCS6; ZNF235; TRIP12; TRIP11; JMJD1C; MED17; MED20; PIGL; PMPCB; GTPBP1; NFE2L3; MTRF1; ACTL6A; ACVR1B; ARHGAP1; ARL3; ASNA1; BAD; BCL9; BNIP2; BPHL; BRAF; PTTG1IP; CAD; CALR; CASP3; CD81; CDC34; COX6C; COX15; CREB1; CTBS; DDX5; DDX10; DFFA; RCAN1; DVL2; DVL3; E4F1; PHC2; ENDOG; ENSA; EPRS; ERH; ESRRA; ACSL3; ACSL4; BPTF; FARSA; FDFT1; FLOT2; FRG1; GALNT2; GOLGA2; GPS2; ARHGAP35; GTF2A2; HNRNPAB; HNRNPU; HUS1; IDI1; FOXK2; MGST3; MOCS2; NARS; NDUFA1; NDUFA3; NDUFA10; NDUFB1; NDUFB2; NDUFB10; NDUFS3; NDUFS6; NFATC3; YBX1; PARK2; PET112; PEX14; PIGH; PSPH; RABGGTA; RABGGTB; RPS6KA3; SCO1; SNRPA; SNRPD2; SREBF2; TAF1; TBCA; TOP3A; TRAF6; TTC4; RAB7A; PRRC2A; DDX39B; PABPN1; C21orf33; BAP1; CDC23; HERC2; PIAS2; MTMR6; MTMR4; ATP6V0D1; PRPF3; FAM50A; RRP9; PRKRIR; ATG12; PDCD5; HGS; NEMF; PCSK7; COX7A2L; SCAF11; AP4M1; ZW10; ETF1; MTA2; NOLC1; MAPKAPK2; ITGB1BP1; COPB2; ZNHIT3; MED1; B4GALT5; CNOT8; VAMP3; SNAP29; TXNL1; PPIG; KIF3B; TM9SF2; CIAO1; POLR2D; HS6ST1; NMT2; PEX16; SNRNP40; DDX23; SYMPK; EIF2AK3; SH3BP5; EIF4E2; ATG5; ROCK2; STX8; PIGB; CLTC; FXR2; MPDU1; TMEM59; CIR1; APBA3; ATP6V1G1; SPAG7; MRPL33; SEC22B; PRDX6; VPS9D1; SEC24C; ACTN4; MRPL49; DDX1; DHX8; MTOR; KRAS; MARS; MYO1E; NDUFA5; NDUFA7; NDUFA9; NDUFAB1; NDUFB8; NDUFB9; NUCB2; OXA1L; PCYT1A; PFN1; PGGT1B; PIK3R2; POLR2K; POLRMT; PPID; PRCP; PWP2; ABCD4; SFPQ; SIAH2; TLE1; TRIM25; NUP214; ZRSR2; SLC27A4; ZMYM4; RBM8A; OXSR1; WDR1; GOLGA5; MVP; THRAP3; MED12; MED13; NUP153; CCS; DOPEY2; THOC1; SART1; ABL1; ATF1; BMI1; CHKB; CRK; CRKL; DDOST; ERCC4; GAK; GFER; GLUD1; GNB2; RAPGEF1; PDIA3; HCFC1; HINT1; ZBTB48; HSPA5; JUND; SMAD4; NCL; NFIL3; NKTR; NUP98; PDCL; PHF2; RALA; ROCK1; SLC20A1; STAT2; YES1; CCDC6; MLF2; SMC3; ZRANB2; MED6; ACOT8; GNPDA1; MED16; PIGK; RANBP9; UBA2; CFL1; DMXL1; DOM3Z; GTF2E1; HSF1; DNAJC4; IDH3A; IFI35; IFNGR2; INPP5A; INPP5B; LAMP1; LMAN1; ALDH6A1; MRE11A; RBL2; RHEB; SRSF4; SOLH; SOS1; TAF13; TARBP1; ZNF354A; TCF20; TERF2; NELFA; EVI5; REEP5; TAF1B; SOX13; FARSB; ABCC5; DNM1L; ABCF2; COX17; SCAMP2; SCAMP3; ERAL1; TSSC4; PDCD7; GIPC1; ARPC3; ACTR3; PPIF; CTDSP2; ARPC2; RAD50; ACTR1B; ACTR1A; ZNF263; PDIA6; ARIH1; NAMPT; AKAP9; G3BP1; CEBPZ; TRIM28; ATP6AP2; LPCAT3; RCL1; CNIH; RBM5; LHFPL2; ALYREF; TXNDC9; MPHOSPH10; NME6; NUTF2; USPL1; EIF1; FLOT1; PSMD14; PRDX2; PRKD3; SLC35B1; DCAF7; AP3S2; MRPS31; POP7; SRRM1; STAM2; SF3B4; ZMPSTE24; AKAP8; PURA; STUB1; STAG1; SIGMAR1; CWC27; SAP18; SMNDC1; BCAS2; EIF1B; DNAJA2; APC2; KATNB1; ACAT2; CAPRIN1; NBR1; MCM7; MDH2; MAP3K4; MFAP1; MIPEP; MLLT1; MTHFD1; NAB1; HNRNPM; NAP1L4; PRCC; RNF6; TSPAN31; TBCD; TSNAX; UQCRFS1; UQCRH; CLPP; LAGE3; ARID1A; ALKBH1; CDC123; H1FX; PCNT; CDC42BPB; HDAC6; SNAPC5; DSCR3; SMYD5; RRAGB; AGFG2; TUBA1B; IK; IRF9; BPNT1; PIAS3; LUC7L3; TAB1; MAN2A2; TMEM50B; CAPZA2; DYNC1LI2; NEDD8; NFYB; NUCB1; NUMA1; ORC2; PA2G4; PCBP1; PCM1; PIK3CA; PIN1; PITPNA; POLE; POLR2H; POLR2I; POLR2J; PPP2R5B; PPP2R5E; PRKAA1; PRKAB1; PKN2; DNAJC3; PSME1; RAD21; RANBP2; DPF2; SRSF6; ITSN2; TAF10; TESK1; TSG101; VARS; XRCC1; ZKSCAN8; SHFM1; ANP32A; SMC1A; NPEPPS; PCGF3; CDIPT; PGRMC2; ARIH2; TUBGCP3; CFDP1; RAN; TIMM23; LYPLA1; EMG1; TIMM17A; ZER1; HMG20B; MERTK; SLC30A9; PIBF1; PPIH; ZNHIT1; TIMM44; ZBTB18; TADA3; UBE2E3; EIF3M; SEC23A; CREB3; LRRC41; VTI1B; ENOX2; APPBP2; CIB1; CHERP; IPO7; NOP56; SSSCA1; RNASEH2A; ANP32B; LAMTOR5; AGPAT1; SPTLC1; ARFGEF2; ARFGEF1; RABAC1; SLU7; SIVA1; MRPL28; NPC2; TXNRD2; DRAP1; DNPH1; PRPF8; PAIP1; TBL3; MXD4; HEXIM1; RBCK1; STAMBP; POLR3F; POLR3C; IVNS1ABP; TAF6L; ATP5L; GNAI3; LGALS8; POLH; PSMC4; TRIM27; RSC1A1; SARS; DYNLT1; DYNLT3; TFE3; SLBP; YEATS4; ELL; NCOA2; SPHAR; EXOC5; NPRL2; MTX2; YKT6; PMVK; FARS2; CGRRF1; RRAGA; DCTN6; GNA13; MAP4K5; GMEB1; CCT8; POLD3; HSPA8; SLC12A7; NUDC; PTGES3; MAP3K2; ZBTB6; POP4; VAMP5; ZNF460; RPP40; SDCCAG8; CLPX; SRCAP; JTB; MAN1A2; TXNL4A; NUDT3; GLO1; EHMT2; COPS8; RNPS1; SUB1; SMPDL3A; DIAPH2; PSKH1; SURF6; SYPL1; TALDO1; TCEA1; YWHAE; IFRD2; LZTR1; LMO4; DDX18; QKI;

ZFPL1; WDR3; MALT1; RALBP1; PRDX3; AFG3L2; KDELR1; SF3A3; HNRNPA0; SEC61B; SERINC3; PNRC1; PSMF1; TMED2; STIP1; CKAP4; YWHAQ; TMED10; ASCC3; UQCR11; COPS6; GCN1L1; COPS5; METAP2; SF3B2; ILVBL; SNRNP27; TMED1; LIAS; CALM1; MYO9A; PPA2; RAC1; RBBP6; RNF5; RPE; SDF2; ST3GAL2; SKIV2L; SKP1; SUMO3; SNRPD1; SOS2; ZNF33A; ZNF33B; ZNF12; ZNF17; ZNF22; ZNF24; ZNF28; ZBTB25; RNF113A; NPM3; SLC35D2; ADRM1; NUDT21; CPSF6; RTN4; DDX52; WWP1; CYB561D2; TMEM115; DUSP14; TOPBP1; RER1; HNRNPUL1; KRR1; FAF1; POLR3A; CLASRP; KPTN; PWP1; CDC37; FICD; LSM6; ATP5I; RPL10A; UBL3; SSR3; TCEB2; TEP1; TFDP1; TMF1; TRIO; UTRN; VCP; ZNF41; VEZF1; ZNF175; ZXDA; ZXDB; SLMAP; ZMYM6; TESK2; NUP50; C14orf1; STRAP; CEP250; WBP4; ABCB8; SEC23IP; SUPT16H; POLI; PROSC; AKAP10; MRPL3; RPL35; PRAF2; SEC63; HPS5; RNF139; DCTN3; XPOT; CHP1; PXMP4; DUSP12; SNF8; ATXN2L; SYNRG; PNKP; B4GALT7; VPS45; LYPLA2; COPE; STXBP3; TUSC2; CBX3; EXOC3; GABARAP; RNF13; TWF2; GABARAPL2; STAT1; NUPL2; ZNF236; OGFR; ATF6; PAXIP1; CASC3; RALY; BRD3; DDX42; TARDBP; COMMD3; CCT5; DGAT1; ELL2; PGLS; ABCB10; MACF1; ADAT1; PRDX5; AP3M1; APPL1; CD3EAP; DNPEP; ARL2BP; AHSA1; CCRN4L; CD2AP; COPG2; FAM50B; AATF; SERGEF; CCNDBP1; FBXL3; FBXL4; FBXL6; FBXW2; FBXO22; FBXW8; FBXO3; FBXO8; FKBP8; TIMM10B; EIF2C1; GRHPR; GTF3C4; HNRNPH3; HARS2; MID2; NUBP2; MSRB2; POMZP3; PRDM2; RYBP; SCAP; SNW1; XRN2; ZNF212; HACL1; RHBDD3; ZNF346; FTSJ1; KEAP1; G3BP2; FBXW11; KIN; KPNA6; LETM1; PLA2G15; PIGN; DNAJB9; GTPBP4; NUFIP1; FBXO9; TTC33; BLOC1S6; PEF1; PFAS; PFDN2; CDK14; PITPNB; ANP32C; ICMT; PRDM4; ZMYND8; H2AFV; RAB3GAP2; RLF; RSU1; SF3B3; SEC22A; SNAPIN; STAT5B; TIMM10; TIMM13; TIMM8B; TIMM9; ATP6V0A2; PRPF6; TXN2; UCK2; WBP1; WBP2; YWHAG; ZNF281; EIF3K; DNAJC15; N6AMT1; C16orf80; VPS4A; HTRA2; NXT1; TBK1; SAP30BP; VPS51; MAT2B; POLM; GNL2; RBM15B; CPSF1; TRA2A; SAC3D1; CCDC106; EEF2K; SNX15; PRRC2B; UBIAD1; SNX8; SNX11; ATG4B; PAXBP1; NME7; GMPPB; GMPPA; SEC61A1; TIMM22; ALG6; TFPT; KCNJ14; NENF; CNOT7; ZNF225; ANAPC2; ANAPC4; ABT1; DPP7; PREB; NRBP1; FTSJ2; USP25; UBQLN1; STOML2; ST6GALNAC6; UBQLN2; BAZ1A; BAZ2A; BAZ2B; DHX38; CCDC22; SNRNP200; DEXI; SACM1L; MRPS28; WDR37; DCPS; OSTM1; ASF1A; SNX24; SPCS1; ANAPC15; UNC50; MRPS18B; C19orf53; MKL2; ACAD9; MRPL42; NOB1; NTMT1; ASTE1; FAM32A; MRPL13; ZNF770; C16orf72; ZC3H7A; ZBTB44; SETD2; MRPL18; NDUFAF4; CCDC59; METTL5; CHMP4A; GTPBP8; CRIPT; MRPL15; TIMM21; LGALSL; ORMDL2; DYNLRB1; CNIH4; TMEM208; SSU72; AP2A1; TMEM258; NDUFA8; PPP2R1A; VAMP2; HSD17B8; UBL4A; GNPAT; EIF2B2; RAPGEF2; RBX1; TMEM5; CNPY2; C11orf58; MGAT4B; DNAJC8; SUCO; EXOSC2; NOMO1; TRAM1; CAPN7; ETHE1; BRD4; ISCU; TGDS; C22orf28; TMEM50A; KLHDC2; PDSS1; PATZ1; EDC4; PPIL2; PISD; MTCH2; ZNF318; TBC1D22A; ZNF324; HIBCH; GNL3; FAM162A; AKAP8L; RNF11; ACAD8; DIEXF; PELP1; SND1; GHITM; VPS41; UQCRQ; ZBTB11; AFF4; INVS; SNX5; TUBGCP4; CHMP2A; RNF115; KLHL20; LSM1; LSM3; DIMT1; ZNF330; TNRC6A; GOLIM4; PRPF19; UTP20; RABGEF1; TOR1B; MCAT; CNOT3; ZNF232; TMOD3; ZKSCAN5; LATS2; BRD1; ERO1L; ZNRD1; DNTTIP2; MAGED2; PIK3R4; UBXN4; MDN1; FAM120A; FAF2; PSME4; ATP11B; ZNF592; SH3PXD2A; CTR9; TTC37; MDC1; SAFB2; SLC25A44; TTI1; PHF14;

KDM4A; UBE3C; EMC2; KIAA0100; KIAA0355; AQR; TMEM63A; CEP104; SART3; USP34; SETD1A; LAPTM4A; SLK; MLL4; MLEC; KIAA0195; EIF4A3; TM9SF4; MTSS1; SPCS2; BMS1; PTDSS1; SERTAD2; MAML1; SNX19; TATDN2; MRPL19; TOMM20; EFCAB14; URB2; TSC22D2; ARHGEF11; ZBTB24; PLEKHM1; C2CD5; ZNF518A; EPM2AIP1; C2CD2L; FARP2; CEP350; LRIG2; PJA2; TOMM70A; SEC24D; FCHSD2; URB1; ZC3H11A; TOX4; DDX46; ZBTB39; OSBPL2; ZBED4; FIG4; KIAA0196; AP5Z1; DENND4B; SUPT7L; FAM20B; RNF10; ZBTB5; JOSD1; HELZ; KIAA0020; N4BP2L2; PDAP1; SCAF8; ZFP30; DOLK; AAK1; LMTK2; ICK; R3HDM2; ZNF510; PPP6R1; MLXIP; TRAPPC8; MON1B; MORC2; ZHX2; KIAA0907; BAHD1; DHX30; TCF25; PDCD11; PCNX; HMGXB3; RALGAPA1; WDFY3; RAB21; SPEN; FBXO21; EXOSC7; KDM4B; USP33; PHLPP2; ZNF292; XPO7; MON2; PDXDC1; FRYL; PDS5B; ZHX3; KIAA0754; PIKFYVE; ZNF609; TBC1D9

B; GGA2; WAPAL; SETX; SETD1B; FTSJD2; ERP44; RRP1B; MYCBP2; AVL9; PPRC1; ZC3H13; SARM1; CDK12; MRPS27; CUL9; FAM179B; SMG1; TAB2; PLXND1; ATG2A; RAD54L2; SMC5; MAST2; ZZEF1; ANKLE2; ZC3H3; GRAMD4; CIC; TBC1D9; WDR43; SNX13; MPRIP; NUP205; EFR3A; RTF1; TTLL12; METAP1; ZCCHC14; CEP68; PHF3; LARP4B; RCOR1; FAM168A; PMPCA; PLEKHM2; ZC3H4; RRS1; PRRC2C; TBC1D12; DNAJC9; KIAA0556; RPRD2; ATP11A; DNMBP; POFUT2; CLUH; NUP160; CSTF2T; ATMIN; KIF13B; FKBP15; SIN3B; NCAPD3; DNAJC13; MAN2B2; KIAA1033; USP22; DPY19L1; SZT2; WDR7; VPS39; DNAJC16; KHNYN; ANGEL1; USP24; FNBP4; KIAA1109; LARP1; PPP1R13B; PUM2; UFL1; RRP8; KIAA0947; SMG5; MAU2; NCSTN; NUDCD3; MED13L; ZDHHC17; ADNP; LARS2; PPWD1; ZFYVE26; TMEM131; GLTSCR1L; POFUT1; SUZ12; SCRIB; MORC3; SKIV2L2; R3HDM1; ELP5; PANX1; VPS13D; SAMM50; HECTD1; NIPBL; YIPF3; TECPR1; DCAF12; ABHD14A; EP400; C3orf17; DCAF13; TMEM186; AASDHPPT; POLR1A; CCDC28A; AHCTF1; CAMSAP1; CNOT6; NELFB; ZDHHC5; MTMR9; ATL3; NOL11; PTPN23; NIPSNAP3A; HEATR5A; FAM98A; SLC22A23; KBTBD2; SYF2; PNISR; KIAA1429; NECAP1; DHRS7B; IBTK; TBC1D10B; RNF167; C2CD3; DAK; ZZZ3; RPAP1; LRIG1; UPF2; PTCD1; GLCE; OPA1; UBXN7; LTN1; POLDIP2; GPATCH4; HERC4; CCDC9; CCZ1; LDLRAP1; PRPF31; EPC2; GAPVD1; TRPC4AP; IRF2BP1; C10orf12; NAT9; ZNF337; NOC2L; RSL1D1; GTPBP5; SENP3; TRUB2; WWC3; ZNF777; BRPF3; COQ2; GPKOW; MMADHC; RRP7A; DESI1; SGSM3; GLTSCR1; DCAF8; WARS2; UBXN1; GTF2A1; ZNF593; AZIN1; MBTPS2; PCF11; CDC40; ZBTB7A; UBR5; EIF5B; TRIM33; LAP3; NBAS; WDPCP; TXNDC12; TXNDC11; POP5; RPS27L; POMP; TMA7; NOP58; NMD3; TRMT6; ATP6V1H; MTERFD1; SLC35C2; PELO; GET4; MRPL2; DERA; MRPL4; APIP; CUTC; FCF1; NDUFA13; ERGIC3; MRPS17; MRPS7; TAF9B; UBE2D4; HEBP1; ATP6V1D; ADIPOR1; UTP18; ABHD5; NDUFAF1; PHF20L1; TFB1M; UBE2J1; RBMX2; LACTB2; SUV420H1; TRAPPC12; RMDN1; MRPS2; COQ4; UTP11L; SBDS; C14orf166; DERL2; FAHD2A; EXOSC1; SF3B14; ISOC1; EMC9; MRPL11; MRPL48; TMBIM4; TPRKB; PPIL1; MED31; FAM96B; MRPS16; MRPS18C; FIS1; PAM16; MRPS23; MRPS33; GOLT1B; BOLA1; VPS36; PTRH2; TVP23B; GLOD4; CDK5RAP1; STYXL1; RBM7; RPL26L1; COMMD2; IER3IP1; NAA20; ZFR; TELO2; RLIM; TMEM66; COPG1; RAB10; INSIG2; CHCHD2; DYNC1LI1; HSD17B12; COMMD10; WDR83OS; TRAPPC4; RAB4B; PIAS1; NOL7; HEMK1; SDF4; MRTO4; LSM7; NAA38; PDGFC; CPSF3; VPS28; TRAPPC2L; TRIP4; DBR1; POLK; MAN1B1; DDX41; SNX9; VPS29; NLK; BIRC6; FAM8A1; NAGPA; TUBE1; SELT; TAOK3; HP1BP3; PCYOX1; HSPA14; RSL24D1; SS18L2; DNAJB11; POLR3K; ATPIF1; WBP11; RAB14; ZNF274; ZNF639; SRRM2; ZDHHC2; DDX47; TACO1; ACP6; WWOX; AKAP7; C9orf114; CTDSPL2; TRIAP1; C11orf73; CWC15; TRMT112; UFC1; RTFDC1; GLRX5; RNF141; GLTP; RTEL1; NCKIPSD; EMC4; TMEM9; CXXC5; ANKRD39; C20orf111; CCDC174; ZC3HC1; C9orf156; PDZD11; VTA1; TMEM69; MRPL37; RNF181; MRPL51; PBDC1; MRPL27; ZCCHC17; KBTBD4; SCLY; C9orf78; KLF3; TM7SF3; SCAND1; BFAR; COA4; BCCIP; ERGIC2; RSF1; TIMMDC1; KDM3B; ARMCX3; TDP2; KRCC1; ZNF644; MRPL35; WAC; MRPS30; GDE1; CRNKL1; STX18; POLA1; RWDD2B; SEPSECS; USP18; NUP54; PTOV1; CPSF2; POLE3; CHRAC1; MRPL39; TMED9; HAUS7; ARID1B; MPHOSPH8; POGK; CNOT11; FOXRED1; MIER2; INO80; ZRANB1; UBE2Q1; TRIM44; WDR5; ZC3H7B; MED29; BMP2K; VEZT; ZCCHC8; RNPC3; ALKBH4; C17orf59; CNNM3; CDKN2AIP; KCTD9; KLHL24; TRIT1; FTSJ3; CNNM2; DYM; KLHL28; GATAD2A; ANKRD10; ZCCHC10; OTUB1; TRPM7; GIN1; MCM9; FBXL12; ANKRD49; WDR55; PGPEP1; TASP1; ZNF3; CC2D1A; TMEM104; QRICH1; THUMPD1; ZCCHC2; DPP8; ST7L; CWC25; UHRF1BP1; ALKBH5; PNRC2; MTMR10; SLC39A4; LRRC40; PXK; TBC1D22B; CDKAL1; CHD7; FAM208B; FOCAD; BTBD2; YTHDF1; HEATR2; OSGEP; ZSCAN32; UBE2R2; CHCHD3; IMPAD1; RAB20; WRAP73; TRMT10C; EXD3; KANSL2; MARCH5; ADPRHL2; COMMD4; CECR5; FAM206A; MRPL16; SDHAF2; SLC48A1; TRNAU1AP; FAM120C; C1orf109; PARP16; SSH3; INTS8; C4orf27; THG1L; SLC25A38; SLC35F6; ZNF416; CLN6; PINX1; C1orf123; VPS13B; PRPF40A; DDX27; GID8; HIF1AN; TMCO3; PAK1IP1; LAMTOR1; ZNF446; TRMT61B; CDC37L1; C19orf24; PIH1D1; PPP2R3C; STX17; NPLOC4; PRPF39; C14orf119; DENND4C; GPATCH2L; PHIP; USP47; PTCD3; TRMT12; VPS37C; IWS1; NRDE2; MRPL20; RUFY2; SCYL2; TMEM248; RNF31; TRMU; ARGLU1;

C10orf118; MED9; YEATS2; WDYHV1; GPATCH1; SAMD4B; WDR6; LUC7L; WDR70; ATG2B; GPA
TCH2; SLFN12; AGGF1; RBM22; MAGOHB; PLEKHJ1; MANSC1; WDR60; VAC14; TMEM39B; IARS
2; PRPF38B; AKIRIN2; GPN2; ARHGEF40; HEATR1; TRIM68; CCDC94; LARP1B; SRBD1; IPO9
; ELP3; WDR74; GSPT2; NLE1; THAP1; MTPAP; LMBR1L; SDAD1; WDR11; ARMC1; DARS2; TM
EM33; TSR1; PNPO; SHQ1; MRPS10; INTS10; RMDN3; RNMTL1; SMG8; RNF220; RIC8B; SLC4
A1AP; NADSYN1; DNAJC17; ASUN; RPRD1A; MAP1S; N4BP2; GOLPH3L; ATF7IP; DHX32; ARL8
B; ZFP64; DNAJC11; HMG20A; TBC1D13; TMEM57; VPS35; ARFGAP1; PANK4; USP40; COA1;
SMU1; UBA6; AP5M1; NUP133; SLC38A7; OGFOD1; CCAR1; AGK; TMEM184C; CCDC25; WDR12;
TTC17; TYW1; TMEM39A; WDR41; ADI1; THNSL2; TMEM19; NUDT15; IMP3; PHF10; QRSL1;
ZNF654; CWF19L1; EXOC2; BRF2; PBRM1; CCDC91; RNF121; BRIX1; DDX19A; RFK; C6orf70
; RSAD1; FGD6; TMA16; C5orf22; ABCF3; UFSP2; LIN7C; RSBN1; BLOC1S4; LMBRD1; SYNJ
2BP; LSG1; METTL2B; DCP1A; COPRS; ST7; PI4K2A; TMEM63B; RRN3; UTP6; BDP1; RNF130
; FBXO6; IMPACT; VIMP; EMC3; CAND1; UBAP2; TMEM242; EAPP; PPP2R2D; BRK1; ITFG2;
CISD1; PLGRKT; USE1; TEX2; ZC3H15; TMEM165; ACTR10; ASH1L; TMCO6; LRRC59; KIAA17
04; CSGALNACT2; WSB2; NOP10; SLC35E3; ZNF395; VPS33B; RNF114; CMAS; BIN3; FAM114
A2; DHTKD1; COG1; MAML3; TRPV1; SLC25A40; MKKS; PCDHGB5; CLN8; NANS; UBB; DAZAP1
; BRWD1; TERF2IP; SLC38A2; YIPF1; GAR1; SSH1; RBM27; KCTD5; FBXO42; MRPS21; FBXW
5; ETAA1; ANKIB1; MIOS; SMCR7L; TOLLIP; TMX3; HEATR5B; DHX29; EXOSC4; ELP4; PUS7
; CCDC93; ASNSD1; MRPL50; FAM35A; TOMM7; WDR5B; DDX49; ING3; TRMT13; VSIG10; GTP
BP2; LIN37; C19orf10; SMG9; ALG1; UBFD1; TMEM234; PPP1R37; MOSPD1; YLPM1; RNF20;
GPCPD1; FAM214A; WDR45B; METTL3; GSK3A; CHST7; DIABLO; INPP5E; POLE4; LARS; UGG
T1; UGGT2; KCMF1; TM9SF3; UBQLN4; WRNIP1; GRIPAP1; BDH2; TMEM167B; PNO1; SH3GLB2
; STARD7; EMC7; C1GALT1; EXOSC5; MCCC1; NCLN; FEM1C; DUSP22; CMC2; MRPS22; YAE1D
1; C11orf30; MFF; SDR39U1; XAB2; CCDC47; C5orf15; NIT2; OTUD7B; PARP6; RNPEP; FA
M20C; PRDM10; PPAN; PSMG2; ADPRM; MRPL1; TOMM22; CHPT1; CCNL1; MNT; CIAPIN1; C16
orf62; ANKMY2; RARS2; RALGAPB; ZMIZ1; RALGAPA2; NKIRAS1; ENTPD7; PCNP; PITHD1; P
ARP11; UTP3; AVEN; C12orf4; C12orf5; MAN1C1; PDSS2; SETD8; REXO4; NUP107; MRPL47
; ATP13A1; DDX24; SCYL3; SEPN1; ATP10D; TUBGCP6; LYRM2; SNX14; YIF1A; GALNT1; MC
OLN1; CSRP2BP; TMEM9B; MRS2; CLK4; RAB22A; ANKHD1-EIF4EBP3; REXO1; KIAA1143; GAT
AD2B; LRRC47; ZNF512B; ZNF490; USP31; PRR12; ATXN7L1; NLN; ESYT2; KIDINS220; MTA
3; AARS2; INTS2; XPO5; ARHGAP31; SERINC1; UBR4; NUFIP2; MIB1; ZNF398; KLHL42; PD
P2; USP35; KLHL8; TMEM181; ARHGAP21; CRAMP1L; KIAA1430; WDFY1; ZNF687; WDR48; FN
IP2; PITPNM2; SLAIN2; RANBP10; KIAA1468; VPS18; ZBTB2; SH3RF1; PHRF1; RDH14; FLY
WCH1; ALS2; ZSWIM6; KIAA1586; DDX55; CWC22; GBA2; DENND1A; KIAA1609; ANO8; METTL
14; EPG5; NCOA5; PPM1A; DHRS4; DEAF1; UBC; RAP2A; ZNFX1; MBNL1; ZNF253; NDUFV2;
KAT2A; NMT1; ZNF8; MTMR3; MRPS12; POLR2L; PPA1; PPIA; MRPL23; TNFAIP1; TRAF2; KD
M6A; XRCC5; ZNF273; TMX4; GATAD1; KIAA1967; LSM2; CCNB1IP1; C6orf47; SLC30A1; SR
PRB; ENOPH1; RPRD1B; ZNF77; PRUNE; SCAF1; SELK; RBM25; WIZ; RRAGD; SNX6; TRIM39;
C21orf59; ZFYVE1; SENP2; PDLIM2; KLHL12; GPBP1L1; C12orf10; UTP14C; ZNF500; VPS
11; SAV1; CCDC90B; FASTKD5; GUF1; SPCS3; RINT1; RIC8A; MIIP; EEFSEC; TRAPPC11; Z
FAND3; SRR; PPP1R11; ZNF148; POLR2F; ZNF277; ITM2B; TIA1; FBXW4; ABHD4; MRPL17;
UBE2O; HEATR6; NSUN3; CERS2; GPATCH3; HPS4; GALNT11; ZNF335; MRPS14; PCIF1; FKBP
L; RBM26; GOLPH3; MCCC2; SNX16; MAGEF1; TMBIM1; DUS1L; MRPL46; XYLT2; EIF4H; C11
orf24; ZFYVE20; PDF; C17orf75; OSGEPL1; MMS19; DNAJC1; TFB2M; TOR3A; HERPUD2; NO
C3L; RNF25; NSD1; LMBR1; XPO4; HS1BP3; IKZF4; ZMAT3; KLHL25; GZF1; C5orf28; TMEM
168; ATG3; POLR1E; SUDS3; TTC31; NARFL; ZDHHC6; PCNXL4; ACTR6; MRPS25; DNMT3A; V
PS52; GIGYF1; VPS16; ANAPC1; SNRNP35; DGCR14; COPS7B; NUCKS1; ACBD3; TNS3; FAM16
0B2; PARP12; ZNF574; SFXN1; IPPK; CCDC14; C6orf106; C11orf1; RMND5B; CERK; LMF1;
OSBPL11; RMND5A; MPHOSPH9; ARV1; NMNAT1; MAP1LC3B; PORCN; MARCH7; YTHDC2; TUT1;
MRPS11; RFX7; PAPOLG; C12orf43; ACTR8; CASD1; CCDC71; MRPL44; VPS33A; NOL6; KRI

1; UPF3B; UPF3A; RSRC2; INTS3; FRY; ANKRA2; SPATS2; ZNF649; SELRC1; UBE2Z; C8orf 33; CAPN10; ZNF747; FUNDC2; DDRGK1; MRPS34; MRPL34; CDK11A; MRP63; YIPF2; PRR14; C19orf43; CUEDC2; METRN; DDX50; DDA1; NUP37; SPATA5L1; PDCL3; ERI3; C7orf26; NA BP2; SECISBP2; NOC4L; METTL16; FASTKD3; TMEM109; C2orf49; ASB8; DCTPP1; C1orf50; CCDC86; C11orf48; WDR18; WDR77; SLC25A23; SMIM7; ALG12; C9orf16; TAF1D; DHX58; TMEM185B; FAM134A; PHF23; PPDPF; DHRS11; GNPTAB; NOL12; LENG1; C1orf35; RBM42; Z NF343; FBXL15; DCAF10; NDUFS7; PGS1; IRF2BPL; LRFN3; HAUS3; CYP2R1; PAGR1; C2orf 47; GCC1; ATP13A3; ABHD8; NKAP; CDC73; CARS2; MRPL24; C10orf76; MUL1; RNF219; AD IPOR2; FAM118B; TANGO6; SNRNP25; C6orf211; OCEL1; ARMC7; OSBPL9; ROGDI; CHMP6; S RD5A3; PANK3; HECTD3; NLRX1; FN3KRP; C22orf29; ZDHHC14; MSANTD2; NAA35; YRDC; MA NEA; OGFOD3; BBS1; PRKRIP1; NOL9; TBL1XR1; ZNF768; THAP9; PALB2; TEFM; AAMDC; BB S10; SNIP1; ASB13; ASB7; KATNBL1; TXNDC15; CCDC82; KLHL36; FBXO31; HPS6; TTC21B; PTCD2; CAMKMT; METTL8; ZMYM1; GEMIN6; NHEJ1; ZBTB3; TMEM180; CSPP1; RPAP2; CBLL 1; RABEP2; UBA5; TGS1; GGNBP2; ZNF672; NUP85; EIF2C3; PYROXD1; ACTR5; MRM1; KIAA 0319L; SLC35E1; OBFC1; ZCCHC4; C10orf88; RMI1; FAM192A; PHC3; WWC2; NAA25; UBTD1 ; TMEM62; PANK2; FBXL18; GFM1; KLHL18; ZNF606; MZT2B; VCPIP1; RPF1; THOC7; CENPT ; USP36; CTC1; MUS81; WDR19; CHD9; PROSER1; CCDC92; TM2D3; NAA50; COQ10B; ACSF2; C17orf70; SIK3; SLC35F5; FAM214B; C16orf70; EDEM3; ITPKC; GRPEL1; MED28; DNAJC5 ;

WDR82; WDR61; TNKS2; THUMPD2; NDFIP1; CYB5B; ZNF34; WDR59; KLHL15; INTS5; EEPD1 ; DUSP16; SH3BP5L; SETD7; ACAP3; KIAA1715; MAP2K2; RAI1; TMX1; ILKAP; SLC25A32; CLPTM1L; PTDSS2; HM13; ITFG1; SGPP1; WBSCR16; C1orf21; CSRNP2; MRPS26; ANKRD13C; CCDC130; PLA2G12A; CTNNBL1; APOL2; TRIM8; SNX27; C6orf62; ISCA1; TRIM56; SBF2; MED25; SHARPIN; ARPC5L; RAB1B; QTRT1; SLC25A28; HDHD3; NECAB3; MRPS15; SF3B5; IN O80B; RAB33B; HUWE1; MRPL9; RILP; COG3; GUCD1; ZMIZ2; FAM103A1; SELO; RIOK1; GRW D1; L3MBTL2; LONP2; RBM4B; BBS2; GORASP1; MRPS5; MRPL32; FRMD8; ATAD3B; TAF3; RS PH3; TMEM120A; SNX25; MRPS24; RNF26; STK40; C10orf11; EIF2A; TM2D1; ITFG3; SRSF8 ; MRPL14; MRPL43; RBM48; MAGT1; HDHD2; TMEM222; SLC10A7; KBTBD7; ANKRD27; ENKD1; CEP192; PCBD2; ZNF394; ATRIP; WDR75; USP42; TOMM40L; UTP15; PHAX; SLC7A6OS; FAM 175B; KAT8; RNASEH2C; RPF2; SON; ANKRD17; CHD6; PCNXL3; ZCCHC7; SETD3; SGK196; T MEM117; WDR24; ZNRF1; TRAF7; MAF1; MED10; SLC37A3; DCUN1D5; POLR3GL; C9orf64; CH CHD5; C9orf89; POLDIP3; YIPF4; NOA1; COQ5; NICN1; PRADC1; BTBD10; TMEM79; NTPCR; TMEM175; ZDHHC16; ING5; UTP23; LLPH; MIEN1; MNF1; PDCD2L; MRPL45; BRMS1L; VPS25 ; LSMD1; ACBD6; DNAJC14; LZIC; APOPT1; TMEM101; ELOF1; GFM2; COG8; HPS3; C5orf4; MKI67IP; BAZ1B; PINK1; HOOK3; MSANTD4; SYVN1; ZNF333; FAM120B; CC2D1B; ZNF527; PPIL3; MRPS6; MRPL41; MRPL38; MRPL36; C14orf142; JAGN1; ZC3H8; MAK16; GNPTG; USP 38; HIATL1; SMEK1; GLYR1; DPY30; FAM126A; USP32; HINT2; MCEE; LOXL3; USP30; FUT1 0; PCGF1; MPV17L2; TUBA1C; MFSD9; TXNDC17; LMNB2; PHF5A; LRCH3; KLHL22; CCDC142; CBR4; ZC3H10; PARP10; ZBTB45; SYAP1; SPPL2A; ADO; GTDC2; FAM73B; ATAD1; TBRG1; NFATC2IP; CEP89; ZNF341; FAM136A; TMEM87B; CIRH1A; PPP1R15B; FIZ1; DIRC2; SPRYD3 ; TMEM209; C8orf76; C12orf52; ATG4C; MUM1; WDR73; LACTB; ABHD13; LTV1; SERAC1; T IGD5; PRPF38A; ALKBH6; LSM10; ATG4D; PPP1R16A; PYURF; UBL7; TMEM128; TMEM141; TM EM60; C9orf37; POLR2C; CSRNP1; HIAT1; SYNE1; SARNP; EAF1; ALG2; ZCCHC3; PNPT1; R RP36; ZCRB1; NEK9; RBM18; SURF4; PIGS; LMF2; PPP1R3F; PURB; DGCR6L; BTBD6; MRPS3 6; C22orf32; MICALL1; KIAA1731; ZNF622; IMP4; METTL18; PGAP3; C9orf123; CDK11B; TPGS1; MFN1; INTS4; TRIM41; TP53RK; N4BP2L1; MMAB; CCDC97; GADD45GIP1; ADCK2; ZN F830; RFT1; MGME1; VPS26B; NACC1; MBD6; ESCO1; SMYD4; ATG4A; WDFY2; DNTTIP1; RBM 33; TMEM203; EGLN2; MRPL53; SNAP47; TADA1; THEM4; GLMN; ANKH; KLHDC3; NAA15; TSR 2; UBE2J2; LOH12CR1; SMIM11; FAM207A; RPUSD1; ZNF354B; MYO18A; SLC36A1; SCAMP4; PIGU; SLC44A1; ZSWIM1; B3GALT6; MED30; TMEM41A; CDKN2AIPNL; SLC35A4; DYNLL2; UBE

2F; SRXN1; B3GAT2; ROMO1; DTD1; FAM210B; OVCA2; SPSB3; SOCS4; PRRC1; ELMO2; LRPPRC; WIPF2; RSPRY1; ZNF526; ZNF721; SAT2; HELQ; MED22; RAD52; NUP35; SPTSSA; PYGO2; FAM122A; KLC4; KIAA2013; FAM105B; SAMD1; C19orf52; CEP95; PRMT10; TTC5; OXNAD1; MTG1; G6PC3; TMEM183A; MARS2; NOM1; MVB12A; GTF3C6; KTI12; FAM195A; SAAL1; CASC4; C12orf57; MFSD3; MALSU1; ACYP2; BATF2; NUS1; GLI4; CDAN1; CYHR1; TECR; HINT3; TAF8; HAS3; PPP1R14B; MPLKIP; NDNL2; RHOT2; SLC25A46; ALKBH8; WDR85; ZNF653; GINM1; LEO1; ANKRD54; MITD1; TAMM41; HIGD2A; MSI2; SPPL3; PPIL4; ALKBH3; FGD4; MTFMT; PPM1L; TSTD2; EHD4; ORMDL3; WDR36; PPTC7; RPIA; SLC39A3; ANGEL2; HN1L; MAPK1IP1L; L3HYPDH; TEX261; LRRC28; FOPNL; ZC3H18; FLCN; CYB5D1; TBC1D20; TMEM42; NACC2; FAM76B; ZNF18; ZNF480; ZNF420; ZNF558; ZNF570; BROX; LSM14B; PUS10; SEPT10; CCDC12; SPICE1; THAP6; ZMAT2; APOA1BP; MBNL2; FAM91A1; DENND5B; ZNF564; IMMP1L; ZFC3H1; LRRC45; TSNARE1; CCNY; UBLCP1; UPRT; FUK; ZUFSP; OARD1; NSMCE1; FAM200A; ZSCAN25; SFT2D1; MAP2K7; NAPRT1; CSNK1A1L; VTI1A; MRPL30; OMA1; FRA10AC1; UBALD1; MRPL10; CCDC127; NUDCD2; C6orf57; ZBTB49; SLC15A4; ATPAF2; KIFC2; ABTB2; ZNF511; MTPN; CRYZL1; ZNF23; ZSCAN21; ZNRF2; SGMS1; RPP25L; SVIP; RPUSD2; C12orf23; CHMP7; ZNF585B; ARRDC1; ORAI3; ZNF561; TADA2B; TRMT61A; SLC36A4; ARL14EP; C12orf45; TARSL2; SPATA2L; LSM12; ZNF491; ZNF440; C1orf131; KCTD18; METTL6; GRPEL2; ZNF786; NDUFAF6; TMEM68; HGSNAT; ARHGAP42; KBTBD3; CWF19L2; C12orf66; LYSMD4; ZSCAN29; ZNF785; TMEM199; ZNF417; C19orf25; B3GALNT2; ZNF362; MROH8; COMMD1; KANSL1L; XXYLT1; SCFD2; TRMT44; SRFBP1; SNRNP48; ZNF579; ZNF383; SDE2; RNF168; MIER3; TCEANC; ARID2; UBE2E2; NANP; DENND6A; RWDD4; CCDC111; HIPK1; SENP5; STT3A; PATL1; EFHA1; CPNE2; NT5DC1; C6orf89; HIBADH; BRAT1; RICTOR; YTHDF3; TMEM256; MFSD8; D2HGDH; TAB3; TMEM18; UHRF2; TANGO2; N4BP1; TCEANC2; EID2; NPHP3; ZNF461; LRRC57; CNEP1R1; PUSL1; TMEM161B; ZNF791; TAPT1; KIAA1919; LNX2; AGXT2L2; MED19; COG7; CRYBG3; CPNE8; PIGP; ZFP1; C2orf69; ZNF367; AAED1; KDELC2; TTL; CACUL1; ZFPM1; MLL3; MLX; C11orf31; PGBD3; TRIM35; HSCB; CBWD2; RC3H1; TNFSF12-TNFSF13; SUGP1; MMAA; MRPL54; PSENEN; RUNDC1; FAM149B1; MMGT1; DCUN1D3; CCDC117; ZNF584; KCTD20; PRR14L; ANKRD52; DIP2B; INO80E; HEXDC; RTTN; ZNF776; SLC9A9; C3orf33; DCBLD1; NSMCE2; PDZD8; BLOC1S2; TTC9C; FAM126B; C3orf38; RABL3; COX18; SREK1IP1; KRTCAP2; NDUFAF2; PPP4R2; CCDC50; TMEM167A; NOP9; UBR1; ADCK5; N6AMT2; GPATCH11; ZNF575; EMC10; DDX51; UBR7; TXLNA; EXOC8; ZADH2; CRIPAK; C5orf51; CDK5RAP3; CHMP4B; ZNF800; GATC; INADL; NR2C2AP; MIDN; NUDT14; CYP20A1; P4HTM; PDE12; PPM1G; TUBB; GGT7; ERC1; FAM134C; SLC35B2; ZNF598; MRPL52; GMCL1; DRAM2; PIGW; ZNF616; ZBTB8OS; ZNF678; ZDHHC21; MTDH; ARL5B; AGPAT6; STT3B; GPR180; ZACN; MRPL55; GCC2; ZNF445; EXOSC8; MRPL21; AUP1; C17orf58; OGT; QSOX2; LYRM7; DNAJC24; BCDIN3D; GRASP; UBXN2A; CRTC2; METTL2A; TMTC3; DPY19L4; AASDH; TMED7; ZSCAN22; ZSCAN2; COQ6; USP12; ZNF227; ZNF428; MTERFD2; C9orf85; CMC1; ZNF595; NSUN6; TMED4; BRICD5; PDDC1; C15orf38; MRPS9; TPRG1L; TRNT1; TICAM1; HEATR3; ZNF326; CYP2U1; C9orf142; ARRDC4; HNRNPA3; DND1; ISCA2; SPTY2D1; RPS19BP1; PHLPP1; RNF126; C7orf55; TSC22D3; GNPNAT1; COX20; C1orf52; CCZ1B; GANC; ARSK; E2F6; LYSMD3; GANAB; APOOL; RSBN1L; C19orf54; RPL7L1; CCDC84; FAM174A; NHLRC2; ZNF710; HDDC3; ATP9B; ZNF773; MIA3; TMEM110; ACACA; FAM120AOS; NUP43; SS18L1; DHX57; NELFCD; NSUN4; NDUFAF3; CARM1; TMEM189-UBE2V1; CCDC137; NACA2; PHF17; FAHD2B; TMEM179B; CCDC23; FAM86A; SLC25A35; RP9; POLR1C; CHCHD1; RAPH1; TMEM81; RBM12B; MBLAC1; MRFAP1L1; COMMD6; C19orf70; CLYBL; MRAP; RNF216; GTF2H5; FAM199X; ERICH1; ZDHHC24; TSEN54; CYP4V2; C1orf174; BLOC1S3; METTL10; ZNF543; ZNF789; ZNF517; SFXN4;およびそれらの任意組み合わせ。ある態様では、参照遺伝子が付加的qPCRにより分析される。

【００３３】

ある態様では、インプロセスコントロールが、逆転写酵素および／またはPCR性能のインプロセスコントロールである。これらのインプロセスコントロールは、非限定的例とし

て、RNA単離後にかつ逆転写の前に、スパイク（添加）される参照RNA（ref.RNAとも呼ばれる）を含む。ある態様では、ref.RNAがQbetaのようなコントロールRNAである。ある態様では、ref.RNAが付加的PCRにより分析される。

【００３４】

ある態様では、抽出された核酸、例えばexoRNAは、ALK融合転写産物、例えばEML-ALK融合転写産物の検出に基づいてさらに分析される。

【００３５】

ある態様では、前記さらなる分析が、機械学習ベースのモデリング、データマイニングおよび／または統計分析を使って実施される。ある態様では、患者の疾病の転帰（outcome）を同定または予測するためにデータが解析される。ある態様では、患者を患者集団内に階層化するために解析される。ある態様では、患者が治療抵抗性であるかどうかを同定または予測するためにデータが解析される。ある態様では、対象の無増悪生存の進行（progression-free survival progress）を測定するためにデータが用いられる。

【００３６】

ある態様では、ALK融合転写産物、例えばEML-ALK融合転写産物が検出される場合、対象の治療オプションを選択するためにデータが解析される。ある態様では、治療オプションがクリゾチニブ（ザーコリXalkori）での処置である。ある態様では、クリゾチニブが奏効を停止するかまたは十分に忍容されない場合、治療オプションがセリチニブ（ザイカディアZykadia）またはアレクチニブ（アレセンサAlecensa）での処置である。

【００３７】

本発明の種々の観点と実施態様を以下に詳細に説明する。本発明の範囲から逸脱せずに下記詳細の変更を行い得ることは理解されよう。更に、文脈により特に断らない限り、単数形の用語は複数形を含み、複数形の用語は単数形を含むものとする。

【００３８】

指摘された全ての特許、特許出願および刊行物は、例えば本発明に関連して利用可能であるような刊行物中に記載された方法論を説明し開示する目的で、参考として本明細書に明確に組み込まれる。これらの刊行物は本出願の出願日より以前にそれらの開示が提供されている。この点に関して、本発明者らが先行発明によってまたは他の何らかの理由でそのような開示に先行する権利を与えられないことの承認として解釈すべきではない。これらの文書の日付または内容に関する表明に関する全ての言及は、出願人に入手可能な情報に基づいており、それらの文書の日付または内容の正当性に関する承認を構成するものではない。

【図面の簡単な説明】

【００３９】

【図１】図１は、非小細胞肺癌（NSCLC）におけるEML4-ALK変異体の分布を描写したグラフである。この図はQu他、“Crizotinib for the treatment of ALK-rearranged non-small cell lung cancer: a success story to usher in the second decade of molecular targeted therapy in oncology”, The Oncologist, 第17(1)巻：1351-75頁（2012）から改作したものである。

【００４０】

【図２】図２は、血漿からのEML4-ALK融合転写産物の検出のためのEXO501ワークフローの概略図である。

【００４１】

【図３】図３は、組織相関NSCLC血漿サンプルのEXO501a分析を描写するグラフである。

【００４２】

【図４Ａ】図４Ａは、EML4-ALK v1変異体の検出のためのEXO501a検量線を描写するグラフである。

【図４Ｂ】図４Ｂは、EML4-ALK v2変異体の検出のためのEXO501a検量線を描写するグラフである。

【図４Ｃ】図４Ｃは、EML4-ALK変異体v3a,b,cの検出のためのEXO501a検量線を描写するグ

ラフである。
【００４３】
【図５】図５は、細胞系由来のEML4-ALK v1融合転写産物の検出のためのEXO501aアッセイと２つの代替的試験との比較を描写するグラフである。
【発明を実施するための形態】
【００４４】
本発明は、例えば癌のような疾病の診断、予後、モニタリングまたは療法選択に役立つ、生物学的試料中の１または複数のバイオマーカー、例えばALK融合転写産物の検出方法を提供する。ある態様では、癌が肺癌である。ある態様では、癌が非小細胞肺癌（NSCLC）である。
【００４５】
ここに提供する方法とキットは、血漿サンプル中のEML-ALK融合転写産物の検出に有用である。ある態様では、ALK融合転写産物がEML4-ALK v1、EML4-ALK v2、EML4-ALK v3およびそれらの任意組み合わせである。
【００４６】
EML4-ALK転座は、非小細胞肺癌（NSCLC）における予測を推進するDriver変異である。EML4-ALK転座はいくつかの変異体を含み、その中で臨床的に重要であるのはv1、v2およびv3である（図１）。それらの転座の存在は、EGFR阻害剤に対する耐性とFDA承認ALKキナーゼ阻害剤とのdruggability（薬物との親和性の高さ）の両方の決定因子であるので、それらの各融合転写産物の分子プロファイリングが療法にとって重大な必須条件である。個別治療のための現在進行中の新規ALK阻害剤の臨床試験と開発は、ロバスト診断の開発を必要とする。
【００４７】
EML4-ALK融合体の現在の測定法は組織生検と微細針吸引生検、すなわち外科合併症、組織の入手可能性およびサンプルの不均一性に縛られる技術に頼っている。現行の組織ベースの分子プロファイリングの欠点に対処するため、およびNSCLC患者の診断手順を効率化するために、本発明の方法とキットは、１回の採血によって融合転写産物を迅速に検出する、「EXO501a」と称する血漿ベースのアッセイを提供する。この液体生検診断法は、EML4-ALK陽性患者の非外科的な治療指導と縦断的モニタリングという有益な利点を提供する。
【００４８】
現行の肺癌診断法は病理学者により行われており、腫瘍組織のサンプリングは有意な固有の制限があり、例えば腫瘍組織は時間的に１つの瞬間のスナップショットであり、腫瘍の不均一性を引き起こす選択バイアスを受けやすく、入手が困難である。場合によっては、腫瘍組織の十分なサンプルが入手できない患者もおり、そして／または腫瘍サンプルを得ることによって気胸のような合併症を引き起こしうる。しかしながら、今までのところ、患者の層別化のための参照非標準法はずっと組織生検である。
【００４９】
血流中への核酸（細胞外RNAとDNA）の遊離を引き起こしている複数の過程があるため、当該キットと方法は全体的な疾病過程と腫瘍環境を観察できることを活用する。それらの過程の中には、例えばアポトーシスと壊死がある。アポトーシスを起こした細胞または壊死細胞はアポトーシス小胞中にまたは循環ネクロソームとして無細胞DNA（cfDNA）を遊離する。その上、原形質膜から直接にまたはRNAを循環系中に運ぶ多小胞体経路を介して、生存細胞によりエクソソームが活発に放出される。患者サンプル中のALK融合転写産物、例えばEML4-ALK融合転写産物を検出する現行法に比較して、本発明の方法とキットは、組織の内側で同時に発生している過程の全てを分析することができる。
【００５０】
本発明の方法とキットは新規である：エクソソームRNA画分においてALK融合転写産物、例えばEML4-ALK融合転写産物を検出することは新規である。血液が診断アッセイに利用できる腫瘍由来RNAを含有するということがごく最近分かったために、本発明の方法とキッ

トは従来法から自明でもない。

【００５１】

よって、本発明の方法とキットは、現在利用可能な検出法とキットを上回る多数の利点を提供する。組織とは異なり、液体生検（リキッドバイオプシー）は、NSCLC患者の血漿中の予測バイオマーカーEML4-ALKをベースラインで検出し、そして治療の間中縦断的にモニタリングするための非侵襲性でかつ低リスクの方法を提案する。更に、EXO501aアッセイは、エクソソームRNA上のNSCLC患者の血漿からの個別の融合変異体に対して高特異性でEML4-ALKを検出する。更に、細胞性RNAについてのqPCRベースの液体生検アッセイの性能は、別の試験キットのものより優れている。本明細書に提供する実施例に示されるように、EXO501aアッセイは、それぞれEML4-ALK v1/v2/v3変異体の個別測定を可能にする。しかしながら、市場に出ている従来のキットはこれらの変異体の個別測定を考慮していない。

【００５２】

ある態様では、本発明の方法とキットは、血漿からエクソソームRNA（exoRNA）を単離し解析するqPCRベースのEML4-ALK液体生検アッセイであり、v1，v2，v3a，b，cと称する５種の異なるEML4-ALK融合転写産物について高特異性で該変異の検出を提供する。これらの５つの融合転写産物は既知のEML4-ALK融合体の85％までを占める。融合転写産物の同定は、標的とする治療法選択に関する情報を提供するのにますます重要になってきている。

【００５３】

EML4-ALKは、NSCLCを有する全患者の約３～５％に見られる遺伝子融合体である。EML4-ALKに対する現在の試験標準は、組織生検からのFISHまたはIHCである。よって、本発明の方法とキットは、他の方法では試験することができなかったこの患者集団を取り扱うのに役立つ。

【００５４】

当該方法とキットは多数の重要な利点を提供し、例えば、安定した高品質のexoRNAを分析し、治療法選択のためにますます重要になってきているEML4-ALK変異を検出できること；高特異性で異なる融合転写産物（v1，v2，v3a,b,c）を検出できること；縦断的な試験を実施できること；組織サンプルの必要なしに分子分析を可能にし、かつ組織不足および／または均一性の欠如といった問題点を回避すること；および対象からの新鮮なまたは凍結／保管した血漿サンプルを使用できる柔軟性といった利点を提供する。

【００５５】

ある態様では、本開示は、それを必要とする対象における疾病または他の病状についての診断、予後または治療法選択の方法であって、(a) 対象からの生物学的試料を設けること；(b) 該生物学的試料から微小胞を単離すること；(c) 該微小胞から１または複数の核酸を抽出すること；そして(d) 抽出された核酸中のALK融合転写産物の存否を検出することを含み、、ここで前記抽出された核酸中のALK融合転写産物の存在が、対象における疾病もしくは他の病状の存在、または疾病もしくは他の病状を発生する対象の素因（predisposition）が高いことを示す方法を提供する。

【００５６】

ある態様では、ALK融合転写産物がEML4-ALK融合転写産物である。ある態様では、EML4-ALK融合転写産物がEML4-ALK v1、EML4-ALK v2、EML4-ALK v3a、EML4-ALK v3b、EML4-ALK v3cおよびそれらの組み合わせから選択される。ある態様では、EML4-ALK融合転写産物が次のEML4-ALK融合転写産物の組み合わせである：EML4-ALK v1、EML4-ALK v2、EML4-ALK v3aおよびEML4-ALK v3c。

【００５７】

ある態様では、生物学的試料が体液である。ある態様では、生物学的試料が血漿または血清である。

【００５８】

ある態様では、疾病または他の病状が癌である。ある態様では、疾病または他の病状が肺癌である。ある態様では、疾病または他の病状が非小細胞肺癌（NSCLC）である。

【００５９】

ある態様では、工程(c)が生物学的試料からのエクソソームRNAの単離を含む。ある態様では、工程(c)が単離されたエクソソームRNAの逆転写を含む。

【００６０】

ある態様では、コントロール核酸もしくはコントロール粒子またはそれらの組み合わせが、逆転写反応中にスパイク（添加）される。

【００６１】

ある態様では、工程(c)が、単離されたエクソソームRNAの逆転写後に事前増幅工程を更に含む。ある態様では、該事前増幅工程が、陽性増幅コントロールの使用を含む。ある態様では、陽性増幅コントロールがEML4-ALK v1をコードする参照DNA、EML4-ALK v2をコードする参照DNA、EML4-ALK v3をコードする参照DNA、EML4-ALK v4をコードする参照DNA、Qbetaをコードする参照RNAおよびそれらの組み合わせを含む。ある態様では、参照核酸または参照核酸の組み合わせがqPCRを使って定量される。

【００６２】

ある態様では、事前増幅工程が陰性増幅コントロールの使用を含む。ある態様では、陰性増幅コントロールが、EML4-ALK v1をコードする参照DNA、EML4-ALK v2をコードする参照DNA、EML4-ALK v3をコードする参照DNA、RPL4をコードする参照DNA、Qbetaをコードする参照RNAおよびそれらの組み合わせを含む。ある態様では、参照核酸または参照核酸の組み合わせが、核酸鋳型の代わりに水を用いるPCRベースの方法を用いて定量される。ある態様では、参照核酸または参照核酸の組み合わせが、核酸鋳型の代わりに水を用いるqPCRを使って定量される。

【００６３】

ある態様では、工程(d)がシーケンシングベースの検出技術を含む。ある態様では、シーケンシングベースの検出技術がPCR技術または次世代シーケンシング技術を含む。

【００６４】

ある態様では、工程(d)が１または複数のコントロールを含む。ある態様では、該コントロールがハウスキーピング遺伝子である。ある態様では、ハウスキーピング遺伝子がRPL4である。ある態様では、該コントロールが工程(c)の抽出物中にスパイクされたQbetaの発現レベルである。

【００６５】

ある態様では、当該方法が工程(e)：工程(d)からのデータを解析して、サイクル閾値（CT値）の検出レベルに従って、サンプルを陽性または陰性として層別化することを含む。

【００６６】

ある態様では、工程(d)が、生物学的試料において次のサイクル閾値（CT値）が検出されるときに、該生物学的試料を陽性と同定することを含む：EML4-ALK変異体１のレベルが少なくとも31以下のCT値である、EML4-ALK変異体２のレベルが少なくとも32以下のCT値である、およびEML4-ALK変異体３のレベルが少なくとも32以下のCT値である。

【００６７】

ある態様では、工程(d)が、生物学的試料において次のサイクル閾値（CT値）の少なくとも１つが検出されるときに、該生物学的試料を陰性と同定することを含む：EML4-ALK変異体１のレベルが少なくとも31以上のCT値である、EML4-ALK変異体２のレベルが少なくとも32以上のCT値である、EML4-ALK変異体３のレベルが少なくとも32以上のCT値である。

【００６８】

ある態様では、当該方法が工程(e)：工程(d)からのデータを機械学習ベースのモデリング、データマイニング、および／または統計分析を使って解析することを含む。ある態様では、該データが患者の疾病の転帰を同定または予測するために解析される。ある態様では、該データが患者集団の中に患者を層別化するためにデータが解析される。ある態様では、患者が抗癌療法に対して抵抗性であるかどうかを同定または推測するためにデータが解析される。ある態様では、EGFR療法での処置、例えば非限定的例として、EGFR阻害剤での処置、に対して抵抗性であるかどうかを同定または予測するためにデータが解析される。ある態様では、対象の無増悪生存の進行を測定するためにデータが解析される。ある態

様では、EML4-ALK転写産物が検出された場合に対象の治療オプションを選択するためにデータが解析される。

【００６９】

ある態様では、該方法が治療上有効量の抗癌療法を対象に施すことを更に含む。ある態様では、治療オプションが併用療法である。

【００７０】

ある態様では、治療オプションがクリゾチニブ（ザーコリXalkori）での処置である。ある態様では、治療オプションが、クリゾチニブが奏効をやめたかまたは十分に忍容されない場合のセリチニブ（ジカディアZykadia）またはアレクチニブ（アレセンサAlecensa）での処置である。

【００７１】

ある態様では、治療オプションがEGFR阻害剤での処置である。ある態様では、EGFR阻害剤がチロシンキナーゼ阻害剤またはチロシンキナーゼ阻害剤の組み合わせである。ある態様では、EGFR阻害剤が第一世代のチロシンキナーゼ阻害剤または第一世代のチロシンキナーゼ阻害剤の組み合わせである。ある態様では、EGFR阻害剤が第二世代のチロシンキナーゼ阻害剤または第二世代のチロシンキナーゼ阻害剤の組み合わせである。ある態様では、EGFR阻害剤が第三世代のチロシンキナーゼ阻害剤または第三世代のチロシンキナーゼ阻害剤の組み合わせである。ある態様では、EGFR阻害剤が、第一世代のチロシンキナーゼ阻害剤、第二世代のチロシンキナーゼ阻害剤および／または第三世代のチロシンキナーゼ阻害剤の組み合わせである。ある態様では、EGFR阻害剤がエルロチニブ、ゲフィニチニブ、別のチロシンキナーゼ阻害剤またはそれらの組み合わせである。

【００７２】

当該方法とキットは、微小胞を表面に捕捉させることにより微小胞を単離し、続いて微小胞を溶解させて中に含まれている核酸、特にRNAを遊離させる。微小胞は、真核細胞により細胞の外部に脱落されるか、または細胞膜から出芽される。それらの膜小胞はサイズが不均一であり、約10 nm～約5000 nmの範囲の直径を有する。それらの微小胞としては、微小胞、微小胞様粒子、プロスタソーム（prostasomes）、デキソソーム（dexosomes）、テキソソーム(texosomes)、エクトソーム、オンコソーム、アポトーシス小体、レトロウイルス様粒子、ヒト内在性レトロウイルス（HERV）粒子が挙げられる。小胞体のエクソサイトーシス（開口分泌）により遊離される小さな微小胞（直径約10～5000 nm、より頻繁には30～200 nm）を、当業界では「微小胞」と称する。

【００７３】

微小胞は、全ての細胞により分泌され、全てのヒト生物流体中に存在する、高品質核酸の豊富な源である。微小胞中のRNAは、原発性腫瘍のトランスクリプトーム、転移、およびリアルタイムでの周囲環境のスナップショットを提供する。よって、アッセイによる微小胞のRNAプロファイルの正確な評価が、疾病の手引き診断とリアルタイムモニタリングを提供する。この開発は、時間がかかり、面倒で、変動的で、診断環境に適さない、従来の標準エクソソーム単離法により行き詰っている。

【００７４】

本発明の単離および抽出法は、微小胞を結合するアフィニティー膜を使ったスピンカラムベースの精製工程を利用する。当該単離および抽出方法は、PCT公開WO 2016/007755とWO 2014/107571公報中にさらに記載されており、その各々の全内容が本明細書に記載される。本開示の方法とキットは、１カラムについて0.2から4 mLまでの容量を使って、多数の臨床サンプルを並列して実施できる能力を提供する。単離されたRNAは高純度で、溶解まで小胞体膜により保護されるので、完全な状態の小胞体を膜から溶出させることができる。単離と抽出操作は、血漿インプットから全mRNAを枯渇させることができ、超遠心分離や直接溶解法に比べた時にmRNA/miRNA収率に関して同等もしくはより優良である。対比して、本発明の方法および／またはキットは、miRNAの微小胞結合画分を濃縮し、それらは多量の投入材料へと容易に拡張可能である。このようにスケールアップできることは、関心のある少量の転写産物に関する研究を可能にする。市場にある他の市販の製品に比較し

て、本開示の方法とキットは、本明細書に記載の実施例により証明されるようなユニークな性能を提供する。

【００７５】

核酸の抽出前の生物学的試料からの微小胞の単離は、次の理由で有利である：1) 微小胞からの核酸の抽出は、疾病または腫瘍特異的な微小胞を液体サンプル中の他の微小胞から分離して単離することにより得られる、疾病または腫瘍特異的核酸を選択的に分析する機会を提供する；2) 核酸含有微小胞は、最初に微小胞を単離することなく液体サンプルから核酸を直接抽出することにより得られる収率／完全性に比較して、高い完全性で有意に高い収率の核酸種を生成する；3) 拡張性、例えば低レベルで発現される核酸を検出するために、本明細書に記載の方法を使ってより大容量のサンプルから微小胞を濃縮することにより、感度を増加させることができる；4)タンパク質、細胞破片、細胞および他の潜在的な汚染物並びに生物学的試料中に天然に見つかるPCR阻害剤が、核酸抽出工程の前に排除されるという点で、より純粋なまたは高純度／完全性の抽出核酸をもたらす；および5) 単離される微小胞画分が出発サンプル容量のものより小容量であり、小さい容積のカラムフィルターを使ってそれらの画分またはペレットから核酸を抽出できるようになるため、核酸抽出法においてより多くの選択肢を利用できる。

【００７６】

生物学的試料から微小胞を単離する数種類の方法が技術の現状において記載されている。例えば、分別遠心分離法がRaposo他による論文（Raposo他、1996）、Skog他による論文（Skog他、2008）、Nilsson他による論文（Nilsson他、2009）に記載されている。イオン交換および／またはゲル浸透クロマトグラフィー方法が米国特許第6,899,863号および同第6,812,023号明細書に記載されている。ショ糖密度勾配またはオルガネラ電気泳動法が米国特許第7,198,923号明細書に記載されている。磁気活性化細胞選別（MACS）法がTaylor & Gercel Taylorによる論文 (Taylor & Gercel-Taylor, 2008)中に記載されている。ナノメンブラン限外ろ過法がCheruvanky他による論文（Cheruvanky他、2007）中に記載されている。Percoll勾配単離法がMiranda他による刊行物（Miranda他、2010）中に記載されている。更に、微小流体素子装置により患者の体液から微小胞を同定・単離することができる（Chen他、2010）。研究開発において、並びに核酸バイオマーカーの商業的用途では、一貫性があり、信頼できかつ実用的な方法で、生物学的試料から高品質の核酸を抽出することが望ましい。

【００７７】

核酸抽出

本明細書に開示する方法は、前記微小胞から高品質の核酸の抽出のために高度に濃縮された微小胞画分を使用する。当該方法により得られる核酸抽出物は、高品質の核酸抽出が必要であるかまたは好ましい様々な用途に、例えば疾病もしくは病状、例えば癌の診断、予後またはモニタリングに有用である。ここに提供される方法とキットは、非小細胞肺癌（NSCLC）の診断のためにEML4-ALK融合転写産物を検出するのに有用である。

【００７８】

単離された微小胞の品質または純度は、抽出された微小胞核酸の品質に直接影響を及ぼし、ひいては疾病の診断、予後および／またはモニタリングのためのバイオマーカーアッセイの効率と感度に直接影響を及ぼす。臨床分野での正確でかつ高感度の診断試験の重要性を考えると、生物学的試料からの高度に濃縮された微小胞画分を単離する方法が求められる。このニーズに対処するために、本発明は、生物学的試料から微小胞を単離する方法であって、本明細書に記載の方法により生物学的試料から高度に濃縮された微小胞画分を単離する方法を提供する。ここに示す通り、高度に濃縮された微小胞は当該方法により生物学的試料から単離され、次いで前記高度に濃縮された微小胞画分から高品質の核酸が抽出される。それらの高品質の抽出核酸は、疾病または他の病状の診断、予後および／またはモニタリングのためにバイオマーカーの存否を測定または評価するのに有用である。

【００７９】

本明細書で用いる用語「生物学的試料」とは、DNA、RNAおよびタンパク質のような生物

学的物質を含むサンプルを言う。ある態様では、生物学的試料は、適切には対象からの体液を含む。体液は対象の体内の任意場所、例えば末梢位置から単離された液体であることができ、例えば非限定的に、血液、血漿、血清、尿、痰、髄液、脳脊髄液、胸膜液、乳頭吸引液、リンパ液、呼吸器、腸管および尿生殖器の液、涙液、唾液、乳、リンパ系からの液体、精液、臓器内系液、腹水、腫瘍嚢胞液、羊水および細胞培養上清、並びにそれらの組み合わせであることができる。ある態様では、体液は血漿である。適当には、約0.1 mL～約30 mLのサンプル量の液体が用いられる。液体の容量はいくつかの因子、例えば使用する液体の種類に依存しうる。例えば、血清サンプルの容量は約0.1 mL～約4 mL、例えば約0.2 mL～4 mLであることができる。血漿サンプルの容量は約0.1 mL～約4 mL、例えば0.5 mL～4 mLであることができる。尿サンプルの容量は約10 mL～約30 mL、例えば約20 mLであることができる。生物学的試料には糞もしくは盲腸サンプル、またはそれから分離された上清も含まれる。

【００８０】

用語「対象」は、核酸含有粒子を有することが分かっているかまたは予想される全ての動物を含むものとする。特定の態様では、対象は哺乳類、ヒトまたは非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、他の家禽動物またはげっ歯類（例えばマウス、ラット、モルモット等）である。ヒト対象は、観察できる異常、例えば疾病を持たない正常なヒトであることもできる。観察できる異常は、ヒトが自身で観察されるもの、または医療専門家により観察されるものである。用語「対象」、「患者」および「個体」は本明細書では相互交換可能に用いられる。

【００８１】

本明細書で用いられる用語「核酸」とは、DNAとRNAを言う。核酸は一本鎖でもよく二本鎖でもよい。ある場合には、核酸がDNAである。ある場合には、核酸がRNAである。RNAとしては、非限定的に、メッセンジャーRNA、転移RNA、リボソームRNA、非コードRNA、ミクロRNA、HERV要素が挙げられる。

【００８２】

ある態様では、高品質の核酸抽出は、ヒトが18Sと28S rRNAを検出することができる抽出である。ある態様では、抽出された18Sと28S rRNAを定量することで核酸の品質を測定できる。ある態様では、18Sおよび28S rRNAの量が、約1:1から約1:2、例えば約1:2の比率である。理論上は、本明細書に記載の方法により得られる高品質の核酸抽出が、低タンパク生物学的試料（例えば尿）の場合、５以上のRNA完全性数を有し、高タンパク生物学的試料（例えば血清）の場合、３以上のRNA完全性数を有し、そして20 mLの低タンパク生物学的試料または1 mLの高タンパク生物学的試料から50 pg/mL以上の核酸収率を有するだろう。

【００８３】

抽出されたRNAの下流評価、例えば遺伝子発現分析とmRNA分析において、並びに低分子RNAやミクロRNAのような非コードRNAの分析において、RNA分解が悪影響を及ぼしうるので、高品質RNA抽出が望ましい。本発明の新規方法は、微小胞内の核酸の正確な分析が実施できるように、生物学的試料より単離された微小胞から高品質の核酸を抽出可能にする。

【００８４】

生物学的試料からの微小胞の単離後、単離されたまたは濃縮された微小胞画分から、核酸を抽出することができる。これを行うには、ある態様では、まず微小胞を溶解させる。微小胞の溶解と核酸の抽出は当業界で既知の様々な方法で行うことができ、その例としてはPCT公開第WO 2016/007755とWO 2014/107571公報に記載のものが挙げられ、その全内容が参考として本明細書中に組み込まれる。そのような方法は、微小胞内に含まれる核酸を捕捉するために核酸結合カラムを使用する場合がある。カラムに結合されたら、次いで該核酸と結合性カラムとの間の相互作用を破壊し、それによって核酸をうまく溶出させるのに適当であるバッファーまたは溶液を使って、核酸を溶出させることができる。

【００８５】

ある態様では、核酸抽出法は、生物学的試料からの高品質核酸抽出を妨害する有害因子

を取り除くかまたは軽減する工程も含む。そのような有害因子は、生物学的試料が異なると多様な種類の有害因子を含むという点で不均一である。ある生物学的試料では、過剰なDNAのような因子が該試料からの核酸抽出の質に影響を及ぼすことがある。別の試料では、過剰な内因性RNアーゼが該試料からの核酸抽出の質に影響を及ぼしうる。それらの有害因子を取り除くために様々な剤と方法が使用できる。それらの方法および剤は、本明細書では総称して「抽出増進操作」と呼ばれる。ある場合には、抽出増進操作は、生物学的試料への核酸抽出増進剤の添加を含んでもよい。内因性RNアーゼのような有害因子を除去するために、本明細書に定義されるような抽出増進剤としては、非限定的に、RNアーゼ阻害剤、例えばSUPERase-In（Ambion Inc.より市販されている）もしくはRNasinNplus（Promega Corp.より市販されている）または同様な様式で機能する別の剤；プロテアーゼ（RNアーゼ阻害剤として機能することができる）；DNアーゼ；還元剤；デコイ基質、例えば合成RNAおよび／またはキャリヤーRNA；RNアーゼと結合することができる可溶性受容体；低分子干渉RNA（siRNA）；RNA結合性分子、例えば抗RNA抗体、塩基性タンパク質またはシャペロンタンパク質；RNアーゼ変性物質、例えば高浸透圧溶液、洗浄剤またはそれらの組み合わせが挙げられる。

【００８６】

例えば、抽出増進操作は、核酸を抽出する前に、生物学的試料へのおよび／または単離された微小胞画分へのRNアーゼ阻害剤の添加を含むことができる；例えばある態様では、RNアーゼ阻害剤は、容量で１μL以上のサンプルにつき0.027 AU（１×）より高い濃度を有し；あるいは、１μL以上のサンプルにつき0.135 AU（５×）以上；あるいは１μL以上のサンプルにつき0.27 AU（10×）以上；あるいは１μL以上のサンプルにつき0.675 AU（25×）以上；あるいは１μL以上のサンプルにつき1.35 AU（50×）以上の濃度を有し；ここで１×濃度とは１μL以上の体液から単離された微小胞を処理するのに0.027 AU以上のRNアーゼ阻害剤を使用することを指し、５×濃度とは１μL以上の体液から単離された微小胞を処理するのに0.135 AU以上のRNアーゼ阻害剤を使用することを指し、10×プロテアーゼ濃度とは１μL以上の体液から単離された粒子を処理するのに0.27 AU以上の酵素濃度を指し、25×濃度とは１μL以上の体液から単離された粒子を処理するのに0.675 AU以上のRNアーゼ阻害剤を使用することを指し；そして50×プロテアーゼ濃度とは１μL以上の体液から単離された粒子を処理するのに1.35 AU以上のRNアーゼ阻害剤を使用することを指す。ある態様では、RNアーゼ阻害剤がプロテアーゼであり、その場合、1 AUは、１μモルチロシン／分に相当するフォリン陽性アミノ酸とペプチドを遊離させるプロテアーゼ活性である。

【００８７】

増進剤は、様々な方法で、例えばRNアーゼ活性を阻害することを通して（例えばRNアーゼ阻害剤）、タンパク質のユビキタス分解を通して（例えばプロテアーゼ）、またはRNAに結合してそれを保護するシャペロンタンパク質を通して（例えばRNA結合性タンパク質）、それらの機能を発揮してよい。どの場合も、そのような抽出増進剤は、そうでなければ核酸の高品質抽出を妨害または干渉しうる生物学的試料中の有害因子または単離された粒子と会合した有害因子、の一部もしくは全部を除去するかまたは少なくとも緩和する。

【００８８】

核酸バイオマーカーの検出

単離された粒子中に存在する核酸の分析は定量的および／または定性的である。定量分析の場合、単離された粒子中の特定の着目の核酸の相対量か絶対量のいずれかが、当業界で既知の方法（後述）を使って測定される。定性分析の場合、単離された微小胞中の特定の着目の核酸の野生型か変異型かの種類が、当業界で既知の方法を使って同定される。

【００８９】

本発明は、一個体からの高品質の核酸抽出のために生物学的試料から微小胞を単離する新規方法を利用する発明であって、(i) 対象の診断を助けるため、(ii) 対象の疾病または症状の進行または再発をモニタリングするため、または(iii) 対象の疾病または他の症状の治療を受けているまたは検討中である対象についての治療効果の評価を助けるための

利用を含む。ここで、当該方法から得られた核酸抽出液中の１または複数のバイオマーカーの存否が判定され、そしてその１または複数のバイオマーカーが疾病または他の症状の診断、予後もしくは再発、または治療効果のそれぞれと関連づけられる。

【００９０】

ある態様では、微小胞の核酸を分析前に増幅させることが有益であるかまたは他の形で望ましいかもしれない。核酸の増幅方法は汎用されており、当業界で一般に公知であり、その様々な例が本明細書に記載される。所望であれば、定量的となるように増幅を実施することができる。定量的増幅は、種々の核酸の相対量の定量を可能にし、遺伝子プロファイルまたは発現プロファイルを作成可能にする。

【００９１】

ある態様では、抽出された核酸がRNAを含む。この場合、RNAは増幅に先立って相補的DNA（cDNA）に逆転写される。そのような逆転写は単独でまたは増幅工程と組み合わせて実施することができる。逆転写工程と増幅工程を組み合わせる方法（それは定量的になるように更に改変することができる）の一例は、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）であり、例えば米国特許第5,639,606号明細書に記載された定量的RT-PCRであり、この教示は参考として本明細書に組み込まれる。該方法の別の例は、２つの別個の工程を含む：すなわち、RNAをcDNAに変換する逆転写の第一工程と、定量的PCRを使ったcDNAの量を定量する第二工程。後述する実施例において証明される通り、本明細書に開示される方法を使って核酸含有粒子から抽出されるRNAの例としては、限定されないが、リボソーム18Sおよび28S rRNA、ミクロRNA、転移RNA、疾病または他の症状と関連がある転写産物、および症状の診断、予後およびモニタリングに重要であるバイオマーカーをはじめとする多種類の転写産物が挙げられる。

【００９２】

例えば、RT-PCR分析は、反応ごとのCT値（サイクル閾値）を決定する。RT－PCRでは、蛍光シグナルの蓄積により陽性反応が検出される。CT値は、蛍光シグナルがその閾値と交差する（すなわち、バックグラウンドレベルを上回る）のに必要であるサイクルの数として定義される。CTレベルは、試料中の標的核酸またはコントロール核酸の量に反比例する（すなわち、CTレベルが低いほど試料中のコントロール核酸の量が多くなる）。

【００９３】

別の態様では、コントロール核酸のコピー数は、当業界で認識されている多様な技術を使って測定することができ、その例としては、非限定的に、RT-PCRが挙げられる。コントロール核酸のコピー数は、当業界で既知の方法、例えば較正（キャリブレーション）曲線または検量線を作成し利用することによって、測定することができる。

【００９４】

ある態様では、１または複数のバイオマーカーが１個のまたは１群の遺伝子異常であることができ、遺伝子異常は、本明細書中では核酸含有粒子中の核酸量に加えて核酸変異体を称するためにも用いられる。具体的には、遺伝子異常としては、限定的でなく、ある遺伝子（例えば腫瘍遺伝子）の過剰発現、またはある遺伝子（例えばp53やRBのような腫瘍サプレッサー遺伝子）の過少発現、遺伝子パネルの過少発現、遺伝子または遺伝子パネルの切除変異体の代替生産、遺伝子コピー数変異体（CNV）（例えばDNA二重欠失体）（Hahn, 1993）、核酸修飾（例えばメチル化、アセチル化およびリン酸化）、単一ヌクレオチド多型（SNP）、染色体再配置（例えば逆位、欠失および重複）並びに一遺伝子または遺伝子パネルの突然変異（挿入、欠失、重複、ミスセンス変異、ナンセンス変異、シノニム変異、または他の任意のヌクレオチド変化）、および前記のものの任意組み合わせが挙げられ、多くの場合、突然変異は遺伝子産物の活性と機能に最終的に影響を及ぼし、選択的転写スプライス変異体および／または遺伝子発現レベルの変化を引き起こす。

【００９５】

核酸増幅方法としては、非限定的に、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）（米国特許第5,219,727号）およびその変形、例えばin situポリメラーゼ連鎖反応（米国特許第5,538,871号）、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（米国特許第5,219,727号）、ネステッドポリメラーゼ

連鎖反応（米国特許第5,556,773号）、自己保持配列複製およびその変形（Guatelli他、1990）、転写増幅系およびその変形（Kwoh他、1989）、Qbレプリカーゼおよびその変形（Miele他、1983）、コールドPCR（Li他、2008）、BEAMing（Li他、2006）または他の任意の核酸増幅法が挙げられ、それに続いて当業者に周知である技術を使った増幅分子の検出が行われる。特に有用であるのは、核酸分子が非常に少数で存在する場合に、そのような核酸分子の検出のために設計された検出スキームである。上記の参考文献はそれらの方法の教示のために本明細書に組み込まれる。他の態様では、核酸増幅の工程は実施されない。その代わりに、抽出された核酸が直接分析される（例えば次世代シーケンシング法により）。

【００９６】

そのような遺伝子異常の定量は、熟練者に既知である様々な技術により実施できる。例えば、核酸の発現レベル、代替スプライシング変異体、染色体再配置および遺伝子コピー数を、マイクロアレイ分析（例えば米国特許第6,913,879号、同第7,364,848号、同第7,378,245号、同第6,893,837号および同第6,004,755号明細書を参照のこと）および定量的PCRにより測定することができる。特に、Illumina Infiniumu II 完全ゲノム遺伝子型決定アッセイまたはAgilent Human Genome CGH Microarray (Steemers他、2006)を用いて、コピー数の変化を検出することができる。核酸修飾は例えば米国特許第7,186,512号および国際特許公開WO 2003/023065号公報に記載された方法によりアッセイすることができる。特に、メチル化プロファイルは、Illumina DNA Methylation OMA003 Cancer Panelにより決定できる。SNPsと突然変異は、対立遺伝子特異的プローブとのハイブリダイゼーション、酵素的変異検出、ミスマッチヘテロ二本鎖の化学的開裂（Cotton他、1988）、ミスマッチ塩基のリボヌクレアーゼ開裂（Myers他、1985）、質量分析（米国特許第6,994,960号、同第7,074,563号および同第7,198,893号明細書）、核酸配列決定、一本鎖コンホメーション多型（SSCP）（Orita他、1989）、変性勾配ゲル電気泳動（DGGE）（Fischer & Lerman、1979a; Fischer & Lerman, 1979b）、濃度勾配ゲル電気泳動（TGGE）（Fischer & Lerman、1979a; Fischer & Lerman, 1979b）、制限断片長多型（RFLP）（Kan & Dozy, 1978a; Kan & Dozy, 1978b）、オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ（OLA）、対立遺伝子特異的PCR（ASPCR）（米国特許第5,639,611号明細書）、ライゲーション連鎖反応（LCR）およびそれの変形（Abravaya他、1995；Landegren他、1988；Nakazawa他、1994）、フローサイトメトリーによるヘテロ二本鎖分析（WO/2006/113590）およびそれらの組み合わせ／改良法により検出することができる。遺伝子発現レベルは、遺伝子発現の連続分析（SAGE）技術（Velculescu他、1995）により測定することができる。一般に、遺伝子異常を分析する方法は多数の刊行物中に報告されており、それは本明細書に引用するものに限られず、熟練者に利用可能である。適当な分析方法は、分析の特定の最終目標；患者の調子／経歴；検査、モニタリングまたは治療する予定の特定の癌、疾病または他の症状に依存するだろう。上記の参考文献はそれらの方法の教示のために本明細書中に組み込まれる。

【００９７】

多くのバイオマーカーが対象の疾病または他の症状の存否に関連付けられる。従って、本開示の方法に従って、単離粒子からの核酸抽出物中のELK4-ALK融合転写産物の存在または非存在を検出することは、対象におけるNSCLCのような疾病または他の症状の診断を助ける。

【００９８】

さらに、多くのバイオマーカーが対象の疾病または病状をモニタリングするのを助けることができる。従って、本開示の方法に従って、単離粒子からの核酸抽出物中のそのようなバイオマーカーの存在または非存在を検出することは、対象における疾病または他の病状の進行または再発をモニタリングするのを助けることができる。

【００９９】

多くのバイオマーカーは、特定の患者の治療有効性に影響を及ぼすことも知られている。従って、本発明の方法に従って、単離粒子からの核酸抽出物中のそのようなバイオマーカーの存在または非存在を検出することが、所定の患者における所定の治療の効能を評価

するのを助けることができる。患者の生物学的試料から単離された粒子より抽出された核酸中のそれらのバイオマーカーを同定することは、患者の治療法の選択の指針となることができる。

【０１００】

本発明の上述の観点のもとでの幾つかの態様では、疾病または他の症状が腫瘍性疾患または症状（例えば癌または細胞増殖性障害）である。ある態様では、疾病または他の症状が肺癌である。ある態様では、疾病または他の症状が非小細胞肺癌（NSCLC）である。

【０１０１】

生物学的試料から微小胞を単離するためのキット

本発明の一観点は更に、本開示の方法において使用するためのキットに向けられる。該キットは、生物学的試料中に同じく存在する望ましくない粒子、デブリ、小分子から、生物学的試料中の微粒子を分離するのに十分な捕捉表面装置と、ELK4-ALK融合転写産物を検出するための手段とを含んでなる。本発明はまた、場合により、単離工程およびその後の随意の核酸抽出工程において前記試薬を使用するための使用説明書も含む。

【実施例】

【０１０２】

実施例１：EXO501aアッセイワークフロー

図２は、肺癌患者（NSCLC）の血漿からのEML4-ALK融合転写産物の検出のためのEXO501aアッセイのワークフローを描写するフローチャートである。EXO501aアッセイは、v1／v2／v3 a,b,cのような様々なEML4-ALK融合転写産物の変異体特異的検出を可能にするため、有利である。更に、該アッセイは、ALK wt（野生型）または融合体の偽陽性検出（ref.RNAに基づく）が該アッセイを使って全く検出されなかったので特異的であり、かつ、2 mLの血漿サンプルでref.RNAの５コピー数が検出されたので感受性である。

【０１０３】

EXO501aを使って、数mLのNSCLC患者血漿から、EML4-ALK融合体の分析と定量に十分な量の、高品質な微小胞RNA（すなわち血漿サンプルの微小胞画分から抽出されたRNA）が一貫してかつ再現可能に単離された。

【０１０４】

その上、ある態様では、コントロールを使ってEXO501aを実行することができる。例えば、ある態様では、血漿の品質の指示物質として用いられる参照遺伝子について血漿サンプルが分析される。ある態様では、参照遺伝子が血漿固有の転写産物である。ある態様では、参照遺伝子がEML4、RPL4、NDUFA1およびそれらの任意組み合わせから成る群より選択される。ある態様では、参照遺伝子が付加的qPCRにより分析される。

【０１０５】

EXO501aアッセイに用いることができる追加のコントロールには、逆転写酵素および／またはPCR性能のためのインプロセスコントロールが含まれる。それらのインプロセスコントロールとしては、非限定例として、RNA単離後で逆転写より前にスパイクされる参照RNA（本明細書中ref.RNAとも呼ばれる）が挙げられる。ある態様では、ref.RNAがQbetaのようなコントロールである。ある態様では、ref.RNAが付加的PCRにより分析される。

【０１０６】

実施例２：患者試料のEXO501a分析

EXO501aアッセイは、非小細胞肺癌（NSCLC）患者に関してバリデートされる。例示的な結果を図３に示す。概念の検証として、組織相関性の血漿サンプルをEML4-ALK v1/v2/v3変異体のそれぞれの存在について分析した。

【０１０７】

更に、陽性の血漿サンプルを、ALK発現の増加についてqPCRにより確かめた。29名の患者のコホートにおいて、偽陽性サンプルが全く検出されなかった；増加した数の限定患者サンプルに関して真陽性一致率が測定されるだろう。

【０１０８】

実施例３：EXO501aアッセイ性能の評価

図２に示されるワークフローのRT工程において、合成参照RNAを健常患者血漿にスパイクすることにより、EXO501aアッセイの再現性と感度をEML4-ALK融合転写産物の各変異体について評価した。この分析結果を図４に示す。

【０１０９】

検出限界（LOD）は反応あたり2.5コピーとして決定された。qPCR効率が92～100％の範囲内であるならEML4-ALKの変異体特異的検出についてのアッセイの特異性が100％であると同定した。

【０１１０】

その上、下流分析プラットフォームとしてのEXO501aアッセイの性能を評価し、２つの市販の試験と比較した。EML4-ALK v1発現細胞系の全RNAを使って、EXO501aをEML4/ALK検出について２つの市販の試験法（Amoy DiagnosticsおよびQuiagen）と比較した（図５）。検出限界をモニタリングした結果、EML4-ALK v1特異的分析についてそれらの競合法を上回る優れたEXO501a性能が観察された。

【０１１１】

EXO501aアッセイの性能は多数の別の方法で評価することができ、例えばEXO501aアッセイをFISH（蛍光in situハイブリダイゼーション）のような技術と比較することなどで評価できる。

【０１１２】

実施例４：EML4-ALK融合変異体の検出のためのEXO501a qPCR

EXO501aアッセイは、EML4-ALK融合体v1, v2, v3(a,b,c)の各々の変異体特異的検出のために開発された。

【０１１３】

EML4-ALK融合体は、EML4の変異体決定配列に結合する第一のオリゴヌクレオチドと、ALKエキソン21－エキソン29の配列に特異的に結合する第二のオリゴヌクレオチドとからなる任意のオリゴヌクレオチドプライマー対を使ったqPCR法により検出することができる。EML4-ALK融合変異体についての標的領域は下表１に示される。

【表１】

表１：プライマー設計用標的領域

融合変異体	融合切断点をカバーするエキソン
EML4-ALK v1	*EML4* エキソン13 / ALK エキソン20
EML4-ALK v2	*EML4* エキソン20 / ALK エキソン20
EML4-ALK v3a	*EML4* エキソン5-エキソン6 / ALK エキソン20
EML4-ALK v3b	*EML4* エキソン5-エキソン6-イントロン6(33nt インサート) / ALK エキソン20
EML4-ALK v3c	*EML4* エキソン5-エキソン6 / ALK イントロン19(18nt インサート)-エキソン20

【０１１４】
選択された標的および設計オリゴヌクレオチドプライマー並びに各変異体のqPCR検出用のプローブを表２に示す。
【０１１５】
ある態様では、表２に定義されるようなプライマー#1、#8およびプローブ#24の組み合わせを使ってEML4-ALK v1のpPCR検出を実施した。
【０１１６】
ある態様では、表２に定義されるようなプライマー#1、#9およびプローブ#24の組み合わせを使ってEML4-ALK v2のpPCR検出を実施した。
【０１１７】
ある態様では、表２に定義されるようなプライマー#1、#10およびプローブ#24の組み合わせを使ってEML4-ALK v3のpPCR検出を実施した。
【表２】
表2：プライマーの標的領域

オリゴヌクレオチド番号#	ヌクレオチドの特徴	EML4-ALK上の結合部位	特異的EML4-ALK融合変異体の検出
1	逆プライマー	ALK　エキソン20	正プライマーにより限定
2	逆プライマー	ALK　エキソン20	正プライマーにより限定
3	逆プライマー	ALK　エキソン20	正プライマーにより限定
4	逆プライマー	ALK　エキソン20	正プライマーにより限定
5	逆プライマー	ALK　エキソン20	正プライマーにより限定
8	正プライマー	EML4 エキソン13	EML4-ALK v1
9	正プライマー	EML4 エキソン20	EML4-ALK v2
10	正プライマー	EML4 エキソン6	EML4-ALK v3
11	正プライマー	EML4 エキソン13	EML4-ALK v1
12	正プライマー	EML4 エキソン5/6	EML4-ALK v3
13	正プライマー	EML4 エキソン6 ALK エキソン20	EML4-ALK v2
14	正プライマー	EML4 エキソン13 ALK エキソン20	EML4-ALK v2
15	正プライマー	EML4 エキソン6 ALK エキソン20	EML4-ALK v2
16	正プライマー	EML4 エキソン13 ALK エキソン20	EML4-ALK v2
17	正プライマー	EML4 エキソン13	EML4-ALK v1
18	正プライマー	EML4 エキソン20 ALK エキソン20	EML4-ALK v2
19	正プライマー	EML4 エキソン20	EML4-ALK v2
20	正プライマー	EML4 エキソン5/6	EML4-ALK v3
21	正プライマー	EML4 エキソン5/6	EML4-ALK v3
22	正プライマー	EML4 エキソン6	EML4-ALK v3
23	プローブ	ALK エキソン20	プライマーにより限定
24	プローブ	ALK エキソン20	プライマーにより限定
25	プローブ	ALK エキソン20	プライマーにより限定
26	プローブ	ALK エキソン20	プライマーにより限定

【０１１８】
実施例５：試験結果の定義のためのEXO501aアルゴリズム
EXO501aアッセイは、EML4-ALK融合変異体１，２，３（a,b,c）のそれぞれの存在／非存在の結果を決定づけるために定義されたアルゴリズムを用いる。
【０１１９】
ステップ１：各試料をサンプル完全性コントロール（Sample Integrity Control）とサンプル阻害コントロール（Sample Inhibition Control）についての判定基準に合格するかどうかを確認する。
【０１２０】
サンプル完全性コントロールは、qPCRにより試験したハウスキーピング遺伝子RPL4の発

現レベルである。
【０１２１】
RPL4については、判定基準はCT値≦28により定義される。
【０１２２】
ある態様では、サンプル阻害コントロールが、各試料の逆転写反応にスパイクされそしてqPCRにより試験されたQbeta RNAの発現レベルである。
【０１２３】
Qbeta RNAについては、判定基準は、逆転写反応にスパイクされた12,500コピー数についてCT値≦34により定義される。
【０１２４】
ステップ２：サンプルの各ランを、並列試験される１組の陽性増幅コントロールについて試験する。
【０１２５】
ある態様では、陽性増幅コントロールがEML4-ALK v1, v2, v3をコードする３つの参照DNA、RPL4をコードする１つの参照DNA、Qbetaをコードする１つの参照RNAにより定義される。それらの参照核酸はqPCR法により定量される。
【０１２６】
EML4-ALK DNAについては、逆転写反応にスパイクされた各DNAの50コピー数あたりの22～25のCT範囲により定義される。
【０１２７】
RPL4 DNAについては、逆転写反応にスパイクされた各DNAの125,000コピー数あたりの26～28のCT範囲により定義される。
【０１２８】
Qbeta RNAについては、逆転写反応にスパイクされた各RNAの12,500コピー数あたりの28～31のCT範囲により定義される。
【０１２９】
ステップ３：サンプルの各ランを、並列試験される１組の陰性増幅コントロールについて試験する。
【０１３０】
ある態様では、陰性増幅コントロールが、陽性増幅コントロールの場合と同じqPCRセットにより定義されるが、核酸鋳型の代わりに水が用いられる。
【０１３１】
判定基準として、CT値は未検出でなくてはならない。
【０１３２】
全てのサンプル内部および外部コントロールが合格したら、EML4-ALK融合変異体の発現についてサンプルを確認し、ステップ４へ。
【０１３３】
サンプル内部または外部コントロールが不合格であったら、サンプルを「不確定(inconclusive)」と報告しなければならない。残余のサンプル物質が利用可能ならば、試験をステップ１から繰り返す。
【０１３４】
ステップ４：各サンプルをEML4-ALK融合変異体の発現についての判定基準に合格するかどうかを確認する。
【０１３５】
EML4-ALK変異体１のqPCRの場合、判定基準はCT≦31である。
【０１３６】
EML4-ALK変異体２のqPCRの場合、判定基準はCT≦32である。
【０１３７】
EML4-ALK変異体３のqPCRの場合、判定基準はCT≦32である。
【０１３８】

サンプルが合否判定基準に合格した場合、該サンプルはこのEML4-ALK変異体について「陽性（ポジティブ）」と報告される。変異体の存在が相互排他的であると予想される。

【０１３９】

サンプルがEML4-ALKについての判定基準に不合格であったら、それは「陰性（ネガティブ）」と報告される。

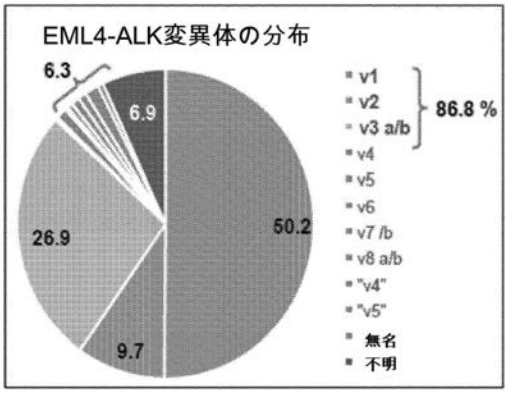
他の態様

【０１４０】

本発明をそれの詳細な説明と併せて記載してきたが、上記記載は本発明の例示であって本発明の範囲を限定するものではなく、本発明は添付の特許請求の範囲により限定される。他の観点、利点および改変は以下の特許請求の範囲内である。

【図１】

図1



【図２】

図2

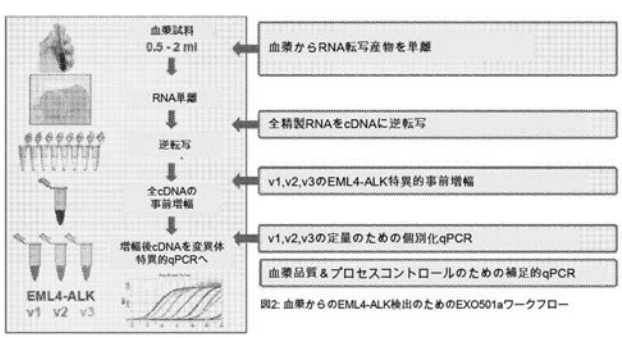
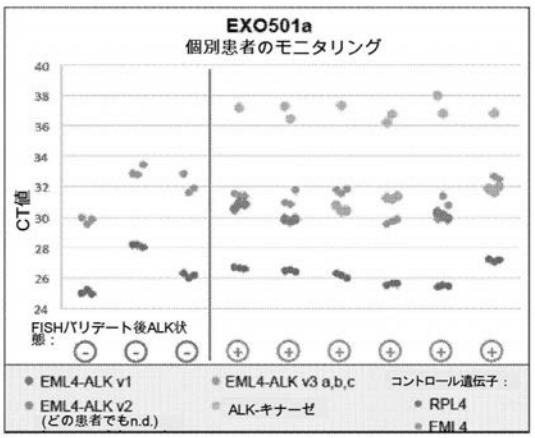


図2: 血漿からのEML4-ALK検出のためのEXO501aワークフロー

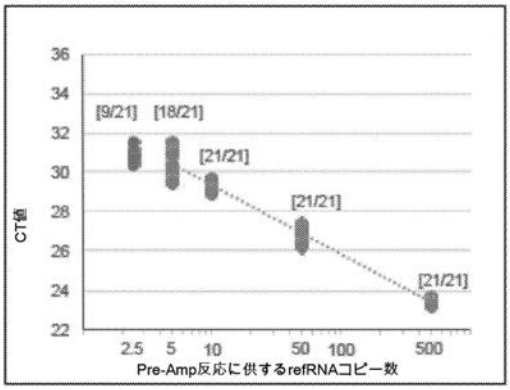
【図３】

図3



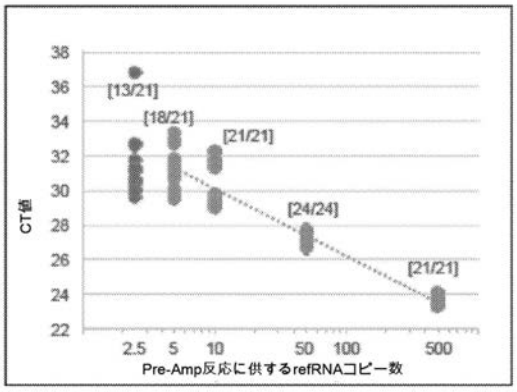
【図４Ａ】

図4A



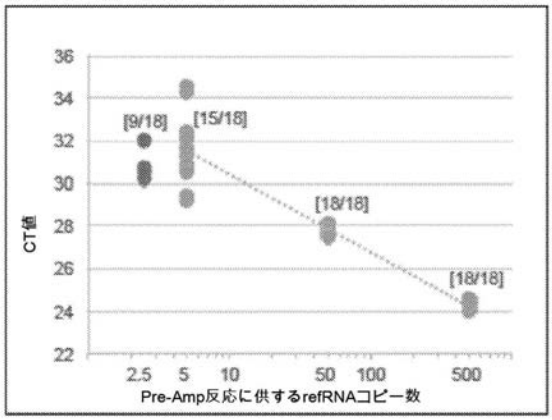
【図４Ｂ】

図4B



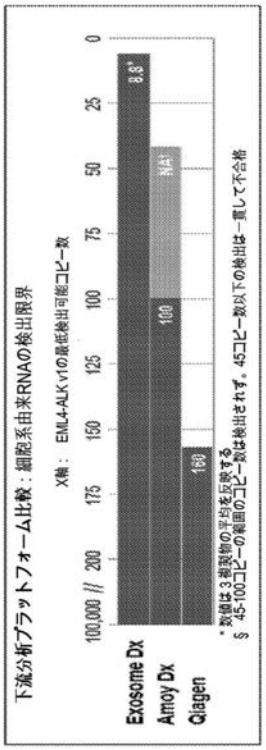
【図４Ｃ】

図4C



【図５】

図5



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/027944

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/68
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, FSTA, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Kay Brinkmann: "Plasma-based diagnostics for detection of EML4-ALK fusion transcripts in NSCLC patients", Cancer Research, 1 August 2015 (2015-08-01), XP055388043, Retrieved from the Internet: URL:http://cancerres.aacrjournals.org/content/75/15_Supplement/545 [retrieved on 2017-07-05] abstract ----- -/--	1-36

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 July 2017	14/07/2017

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Dolce, Luca

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/027944

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SIMONA TAVERNA ET AL: "Exosomes isolation and characterization in serum is feasible in non-small cell lung cancer patients: critical analysis of evidence and potential role in clinical practice", ONCOTARGET, vol. 7, 23 February 2016 (2016-02-23), XP055388074, DOI: 10.18632/oncotarget.7638 page 28649 - page 28650	1-36
X	RAFAEL ROSELL ET AL: "Circulating MicroRNA Signatures of Tumor-Derived Exosomes for Early Diagnosis of Non-Small-Cell Lung Cancer", CLINICAL LUNG CANCER, vol. 10, no. 1, 1 January 2009 (2009-01-01), pages 8-9, XP055103148, ISSN: 1525-7304, DOI: 10.3816/CLC.2009.n.001 the whole document	1-36
X	WO 2009/100029 A1 (GEN HOSPITAL CORP [US]; SKOG JOHAN [US]; BREAKEFIELD XANDRA O [US]; BR) 13 August 2009 (2009-08-13) paragraph [0009] - paragraph [0022]	1-36
A	ZHANG XUCHAO ET AL: "Fusion of EML4 and ALK is associated with development of lung adenocarcinomas lacking EGFR and KRAS mutations and is correlated with ALK expression", MOLECULAR CANCER, BIOMED CENTRAL, LONDON, GB, vol. 9, no. 1, 13 July 2010 (2010-07-13), page 188, XP021077926, ISSN: 1476-4598, DOI: 10.1186/1476-4598-9-188 the whole document	1-36

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2017/027944

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009100029 A1	13-08-2009	AU 2009212543 A1	13-08-2009
		CA 2713909 A1	13-08-2009
		CN 102084000 A	01-06-2011
		CN 105734128 A	06-07-2016
		DK 2245199 T3	03-02-2014
		EP 2245199 A1	03-11-2010
		EP 2604704 A1	19-06-2013
		EP 3190192 A1	12-07-2017
		ES 2446301 T3	07-03-2014
		HK 1158705 A1	05-05-2017
		JP 5676277 B2	25-02-2015
		JP 2011510663 A	07-04-2011
		JP 2015091251 A	14-05-2015
		KR 20100127768 A	06-12-2010
		KR 20160032727 A	24-03-2016
		SG 190670 A1	28-06-2013
		SG 10201609507T A	27-01-2017
		US 2010196426 A1	05-08-2010
		US 2011003704 A1	06-01-2011
		US 2011053157 A1	03-03-2011
		US 2013131194 A1	23-05-2013
		US 2014194319 A1	10-07-2014
		US 2014194613 A1	10-07-2014
		US 2016362678 A1	15-12-2016
		US 2017088898 A1	30-03-2017
		WO 2009100029 A1	13-08-2009

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ

(74)代理人 100150810
弁理士 武居 良太郎
(74)代理人 100196977
弁理士 上原 路子
(72)発明者 ジョアン カール オラブ スコグ
アメリカ合衆国, マサチューセッツ ０２１３９, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ ８４０, スイート ３, シー／オー エクソサム ダイアグノスティクス, インコーポレイティド
(72)発明者 ミッケル ノアーホルム
ドイツ連邦共和国, ８２１５２ マルティンスリート, アム クロップファーシュピッツ １９アー, ツェー／オー エクソサム ダイアグノスティクス ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング
(72)発明者 ケイ ブリンクマン
アメリカ合衆国, マサチューセッツ ０２１３９, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ ８４０, スイート ３, シー／オー エクソサム ダイアグノスティクス, インコーポレイティド
(72)発明者 エレナ カステラノス－リザルドス
アメリカ合衆国, マサチューセッツ ０２１３９, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ ８４０, スイート ３, シー／オー エクソサム ダイアグノスティクス, インコーポレイティド
(72)発明者 ジェームズ ハーリー
アメリカ合衆国, マサチューセッツ ０２１３９, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ ８４０, スイート ３, シー／オー エクソサム ダイアグノスティクス, インコーポレイティド

Ｆターム(参考) 2G045 AA26 CA26 DA14
4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ52 QR32 QR35 QR62 QS25 QS36 QX02