



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0092561
(43) 공개일자 2022년07월01일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6886 (2018.01) G01N 33/574 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12Q 1/6886 (2022.01)
G01N 33/57449 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7018116
- (22) 출원일자(국제) 2020년10월30일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년05월27일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/058235
- (87) 국제공개번호 WO 2021/087275
국제공개일자 2021년05월06일
- (30) 우선권주장
62/928,888 2019년10월31일 미국(US)
63/065,081 2020년08월13일 미국(US)

- (71) 출원인
메이오 파운데이션 포 메디칼 에듀케이션 앤드 리
써치
미국 55905 미네소타주 록체스터 퍼스트 스트리트
에스.더블유. 200
이그젝트 사이언시즈 코포레이션
미국 위스콘신 53719 메디슨 인데버 레인 5505
- (72) 발명자
테일러, 윌리엄 알.
미국 55905 미네소타주 록체스터 퍼스트 스트리트
에스.더블유. 200 메이오 파운데이션 포 메디칼
에듀케이션 앤드 리써치 내
키셀, 존 비.
미국 55905 미네소타주 록체스터 퍼스트 스트리트
에스.더블유. 200 메이오 파운데이션 포 메디칼
에듀케이션 앤드 리써치 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 214 항

(54) 발명의 명칭 **난소암 검출**

(57) 요약

본원에서는 난소암 스크리닝을 위한 기술, 특히, 난소암 및 난소암의 하위 유형(예를 들어, 투명 세포 난소암, 자궁내막양 난소암, 점액성 난소암, 장액성 난소암)의 존재를 검출하기 위한 방법, 조성물 및 관련 용도를 제공하지만 이에 국한되지 않는다. 본원에 기술된 바와 같이, 이 기술은 난소암 전체 및 다양한 유형의 난소암(예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)에 대해 높은 식별력을 갖는 다수의 메틸화된 DNA 마커 및 그의 서브셋(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 마커 세트)를 제공한다.

(52) CPC특허분류

C12Q 2521/301 (2013.01)

C12Q 2523/125 (2013.01)

C12Q 2600/154 (2013.01)

(72) 발명자

마호니, 더글라스 더블유.

미국 55905 미네소타주 록체스터 퍼스트 스트리트
에스.더블유. 200 메이오 파운데이션 포 메디칼 에
듀케이션 앤드 리써치 내

알퀴스트, 데이비드 에이.

미국 55905 미네소타주 록체스터 퍼스트 스트리트
에스.더블유. 200 메이오 파운데이션 포 메디칼 에
듀케이션 앤드 리써치 내

알라위, 하킴 티.

미국 위스콘신주 53719 매디슨 인테버 레인 5505
이그젝트 싸이언스 디블롭먼트 컴패니, 엘엘씨 내

카이지, 마이클 더블유.

미국 위스콘신주 53719 매디슨 인테버 레인 5505
이그젝트 싸이언스 디블롭먼트 컴패니, 엘엘씨 내

명세서

청구범위

청구항 1

방법으로서,

a) 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 처리하는 단계;

선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계를 포함하며,

상기 하나 이상의 유전자는 FAIM2, CAPN2 및 SIM2로부터 선택되는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플, 및 난소 조직 샘플 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

FAIM2는 FAIM2_A 및 FAIM2_B로부터 선택되고;

CAPN2는 CAPN2_B이고; 그리고

SIM2는 SIM2_A 및 SIM2_B로부터 선택되는, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 인간 개체의 생물학적 샘플에서 암 항원 125(CA-125)의 수준을 측정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

FAIM2에 대한 CpG 부위에 특이적인 프라이머를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 것은 염색체 12 좌표 50297610-50297988 또는 염색체 12 좌표 50297643-50297814를 포함하는 유전자 영역의 적어도 일부에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트이고;

CAPN2에 대한 CpG 부위에 특이적인 프라이머를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 것은 염색체 1 좌표 223936858-223937009 또는 염색체 1 좌표 223936868-223937004를 포함하는 유전자 영역의 적어도 일부에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트이고;

SIM2에 대한 CpG 부위에 특이적인 프라이머를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 것은 염색체 21 좌표

38076882-38077036 또는 염색체 21 좌표 38076892-38077026를 포함하는 유전자 영역의 적어도 일부에 특이적으로 결합하는 프라이머 세트인, 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트가 표 1C 또는 6B에 열거된 것인, 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자는 FAIM2, CAPN2 및 SIM2인, 방법.

청구항 11

제4항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자는 FAIM2, CAPN2 및 SIM2인, 방법.

청구항 12

제4항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자는 단지 FAIM2인, 방법.

청구항 13

방법으로서,

메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 처리하는 단계;

선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계를 포함하며,

상기 하나 이상의 유전자는

● AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELM01_A, ELM01_B, ELM01_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, STSIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTf, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3; 또는

● MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2; 또는

● GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1;

● ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B,

ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조);

- PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D; 또는
- BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CD01_A, 및 DSCR6로부터 선택되는, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 17

제13항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 18

제13항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 계놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 19

제13항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 20

제13항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 21

제13항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 22

방법으로서,

메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 생물학적 샘플에서 계놈 DNA를 처리하는 단계;

선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 계놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계를 포함하며, 상기 하나 이상의 유전자는

- TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4; 또는
- MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CD01_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D; 또는
- NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D; 또는
- AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CD01_A, 및 DSCR6로부터 선택되는, 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 26

제22항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 27

제22항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계는 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 계놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 28

제22항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 29

제22항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 30

제22항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 투명 세포 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 31

방법으로서,

메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 생물학적 샘플에서 계놈 DNA를 처리하는 단계;

선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 계놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의

해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계를 포함하며, 상기 하나 이상의 유전자는

- PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1; 또는
- NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D; 또는
- NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, 및 C2CD4D; 또는
- BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A로부터 선택되는, 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 35

제31항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 36

제31항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 계층 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 37

제31항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 38

제31항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 39

제31항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 자궁내막양 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 40

방법으로서,

메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 생물학적 샘플에서 계놈 DNA를 처리하는 단계;

선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획
 에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계
 를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계를 포함하며,
 상기 하나 이상의 유전자는

- CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELMO1_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A; 또는
- NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2; 또는
- NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11; 또는
- BCAT1_6015, ELMO1_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDF1_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A로부터 선택되는, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 44

제40항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 45

제40항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계는 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 46

제40항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 47

제40항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 48

제40항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 점액성 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 49

방법으로서,

메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 처리하는 단계;

선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계를 포함하며, 상기 하나 이상의 유전자는

● MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTf, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A; 또는

● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D; 또는

● NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D; 또는

● SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 NR2F6로부터 선택되는, 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 53

제49항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 54

제49항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 55

제49항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 56

제49항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 57

제49항에 있어서, 상기 방법이 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 장액성 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 58

하기를 포함하는, 샘플을 특성화하는 방법:

a) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 적어도 하나의 메

틸화 마커 유전자는 하기로부터 선택된 하나 이상의 유전자인, 단계:

- AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELMO1_A, ELMO1_B, ELMO1_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, ST8SIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTf, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3; 또는
- MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2; 또는
- GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CDO1 (예를 들어, CDO1_A, CDO1_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1;
- ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CDO1 (예를 들어, CDO1_A, CDO1_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조);
- PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D; 또는
- BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 DSCR6;

b) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및

c) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 적어도 하나의 참조 마커는 *B3GALT6* DNA, β -액틴 DNA, 및 비암성 DNA로부터 선택된 하나 이상의 참조 마커를 포함하는, 방법.

청구항 60

제58항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 61

제58항에 있어서, 상기 DNA는 샘플로부터 추출되는, 방법.

청구항 62

제58항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나

이상을 포함하는, 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 65

제63항에 있어서, 상기 변형된 DNA는 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트를 사용하여 증폭되는, 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 67

제58항에 있어서, 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분광분석, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리, 및 표적 포착 중 하나 이상을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 69

제67항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 70

제58항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 71

하기를 포함하는, 샘플을 특성화하는 방법:

a) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자는 하기로부터 선택된 하나 이상의 유전자인, 단계:

- TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4; 또는
- MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CD01_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D; 또는
- NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D; 또는
- AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CD01_A, 및 DSCR6;

b) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및

c) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을

나타내는, 단계.

청구항 72

제71항에 있어서, 상기 적어도 하나의 참조 마커는 *B3GALT6* DNA, β -액틴 DNA, 및 비암성 DNA로부터 선택된 하나 이상의 참조 마커를 포함하는, 방법.

청구항 73

제71항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 74

제71항에 있어서, 상기 DNA는 샘플로부터 추출되는, 방법.

청구항 75

제71항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 76

제75항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 77

제76항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 78

제76항에 있어서, 상기 변형된 DNA는 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트를 사용하여 증폭되는, 방법.

청구항 79

제78항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 80

제71항에 있어서, 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분광분석, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리, 및 표적 포착 중 하나 이상을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 81

제80항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 82

제80항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 83

제71항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 투명 세포 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 84

하기를 포함하는, 샘플을 특성화하는 방법:

a) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자는 하기로부터 선택된 하나 이상의 유전자인, 단계:

● PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1; 또는

● NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D; 또는

● NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CDO1_A, SIM2_A, IFFO1_A, 및 C2CD4D; 또는

● BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A;

b) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및

c) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계.

청구항 85

제84항에 있어서, 상기 적어도 하나의 참조 마커는 *B3GALT6* DNA, β -액틴 DNA, 및 비암성 DNA로부터 선택된 하나 이상의 참조 마커를 포함하는, 방법.

청구항 86

제84항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 87

제84항에 있어서, 상기 DNA는 샘플로부터 추출되는, 방법.

청구항 88

제84항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 89

제88항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 91

제89항에 있어서, 상기 변형된 DNA는 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트를 사용하여 증폭되는, 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 93

제84항에 있어서, 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분광분석,

메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리, 및 표적 포착 중 하나 이상을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 94

제93항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 95

제93항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 96

제84항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 자궁내막양 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 97

하기를 포함하는, 샘플을 특성화하는 방법:

a) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자는 하기로부터 선택된 하나 이상의 유전자인, 단계:

- CMT3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELMO1_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A; 또는
- NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2; 또는
- NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11; 또는
- BCAT1_6015, ELMO1_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMT3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A;

b) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및

c) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계.

청구항 98

제97항에 있어서, 상기 적어도 하나의 참조 마커는 *B3GALT6* DNA, β -액틴 DNA, 및 비암성 DNA로부터 선택된 하나 이상의 참조 마커를 포함하는, 방법.

청구항 99

제97항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 100

제97항에 있어서, 상기 DNA는 샘플로부터 추출되는, 방법.

청구항 101

제97항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 102

제101항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하

나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 103

제102항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 104

제102항에 있어서, 상기 변형된 DNA는 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트를 사용하여 증폭되는, 방법.

청구항 105

제104항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 106

제97항에 있어서, 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분광분석, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리, 및 표적 포착 중 하나 이상을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 107

제106항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 108

제106항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 109

제97항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 점액성 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 110

하기를 포함하는, 샘플을 특성화하는 방법:

a) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자는 하기로부터 선택된 하나 이상의 유전자인, 단계:

- CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELMO1_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A; 또는
- NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2; 또는
- NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11; 또는
- BCAT1_6015, ELMO1_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A;

b) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및

c) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계.

청구항 111

제110항에 있어서, 상기 적어도 하나의 참조 마커는 *B3GALT6* DNA, β -액틴 DNA, 및 비암성 DNA로부터 선택된 하

나 이상의 참조 마커를 포함하는, 방법.

청구항 112

제110항에 있어서, 상기 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 113

제110항에 있어서, 상기 DNA는 샘플로부터 추출되는, 방법.

청구항 114

제110항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 115

제114항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 116

제115항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 117

제115항에 있어서, 상기 변형된 DNA는 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트를 사용하여 증폭되는, 방법.

청구항 118

제141항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 119

제110항에 있어서, 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분광분석, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리, 및 표적 포착 중 하나 이상을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 120

제119항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 121

제119항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 계놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 122

제110항에 있어서, 상기 방법이 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 장액성 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 123

하기를 포함하는, 생물학적 샘플을 특성화하는 방법:

(a) 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 계놈 DNA를 처리하는 단계;

상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 중아황산염 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파이로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서

● AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELMO1_A, ELMO1_B, ELMO1_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRR4, LRR41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, STSIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBT, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3; 또는

● MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2; 또는

● GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1;

● ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조);

● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D; 또는

● BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CD01_A, 및 DSCR6로부터 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;

(b) 난소암이 없는 대조군 샘플에서 메틸화 수준을 상응하는 유전자 세트의 메틸화 수준과 비교하는 단계; 및

(c) 하나 이상의 유전자에서 측정된 메틸화 수준이 각각의 대조군 샘플에서 측정된 메틸화 수준보다 높을 때 개체가 난소암을 갖는 것으로 결정하는 단계.

청구항 124

제123항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 및 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 125

제123항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플 (예를 들어, 난소 조직)인, 방법.

청구항 126

제123항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자는 표 1A 또는 6A에 나타난 게놈 좌표에 의해 기재되는, 방법.

청구항 127

제123항에 있어서, 상기 CpG 부위는 코딩 영역 또는 조절 영역에 존재하는, 방법.

청구항 128

제123항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 것은 상기 CpG 부위의 메틸화 점수를 측정하는 것 및 상기 CpG 부위의 메틸화 빈도를 측정하는 단계로 이루어진 군으로부터 선택되는 결정을 포함하는, 방법.

청구항 129

하기를 포함하는, 생물학적 샘플을 특성화하는 방법:

(a) 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 처리하는 단계;

상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 중아황산염 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파이로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서

- TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4; 또는
- MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CD01_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D; 또는
- NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D; 또는
- AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CD01_A, 및 DSCR6로부터 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;

(b) 투명 세포 난소암이 없는 대조군 샘플에서 메틸화 수준을 상응하는 유전자 세트의 메틸화 수준과 비교하는 단계; 및

(c) 하나 이상의 유전자에서 측정된 메틸화 수준이 각각의 대조군 샘플에서 측정된 메틸화 수준보다 높을 때 개체가 투명 세포 난소암을 갖는 것으로 결정하는 단계.

청구항 130

제129항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 및 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 131

제129항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플 (예를 들어, 난소 조직)인, 방법.

청구항 132

제129항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자는 표 1A 또는 6A에 나타난 게놈 좌표에 의해 기재되는, 방법.

청구항 133

제129항에 있어서, 상기 CpG 부위는 코딩 영역 또는 조절 영역에 존재하는, 방법.

청구항 134

제129항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 것은 상기 CpG 부위의 메틸화 점수를 측정하는 단계 및 상기 CpG 부위의 메틸화 빈도를 측정하는 것으로 이루어진 군으로부터 선택되는 결정을 포함하는, 방법.

청구항 135

하기를 포함하는, 생물학적 샘플을 특성화하는 방법:

(a) 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 처리하는 단계;

상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 중아황산염 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성 DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파이로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서

● PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1; 또는

● NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D; 또는

● NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, 및 C2CD4D; 또는

● BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A로부터 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;

(b) 자궁내막양 난소암이 없는 대조군 샘플에서 메틸화 수준을 상응하는 유전자 세트의 메틸화 수준과 비교하는 단계; 및

(c) 하나 이상의 유전자에서 측정된 메틸화 수준이 각각의 대조군 샘플에서 측정된 메틸화 수준보다 높을 때 개체가 자궁내막양 난소암을 갖는 것으로 결정하는 단계.

청구항 136

제135항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 및 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 137

제135항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플 (예를 들어, 난소 조직)인, 방법.

청구항 138

제135항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자는 표 1A 또는 6A에 나타난 게놈 좌표에 의해 기재되는, 방법.

청구항 139

제135항에 있어서, 상기 CpG 부위는 코딩 영역 또는 조절 영역에 존재하는, 방법.

청구항 140

제135항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 것은 상기 CpG 부위의 메틸화 점수를 측정하는 단계 및 상기 CpG 부위의 메틸화 빈도를 측정하는 단계로 이루어진 군으로부터 선택되는 결정을 포함하는, 방법.

청구항 141

하기를 포함하는, 생물학적 샘플을 특성화하는 방법:

(a) 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 처리하는 단계;

상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 중아황산염 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파이로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서

- CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELMO1_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A; 또는
- NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2; 또는
- NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11; 또는
- BCAT1_6015, ELMO1_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A로부터 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;

(b) 점액성 난소암이 없는 대조군 샘플에서 메틸화 수준을 상응하는 유전자 세트의 메틸화 수준과 비교하는 단계; 및

(c) 하나 이상의 유전자에서 측정된 메틸화 수준이 각각의 대조군 샘플에서 측정된 메틸화 수준보다 높을 때 개체가 점액성 난소암을 갖는 것으로 결정하는 단계.

청구항 142

제141항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 및 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 143

제141항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플 (예를 들어, 난소 조직)인, 방법.

청구항 144

제141항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자는 표 1A 또는 6A에 나타난 게놈 좌표에 의해 기재되는, 방법.

청구항 145

제141항에 있어서, 상기 CpG 부위는 코딩 영역 또는 조절 영역에 존재하는, 방법.

청구항 146

제141항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 것은 상기 CpG 부위의 메틸화 점수를 측정하는 단계 및 상기 CpG 부위의 메틸화 빈도를 측정하는 단계로 이루어진 군으로부터 선택되는 결정을 포함하는, 방법.

청구항 147

하기를 포함하는, 생물학적 샘플을 특성화하는 방법:

(a) 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 처리하는 단계;

상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 중아황산염 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파이로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 생물학적 샘플에서

● MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTf, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A; 또는

● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D; 또는

● NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D; 또는

● SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 NR2F6로부터 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;

(b) 장액성 난소암이 없는 대조군 샘플에서 메틸화 수준을 상응하는 유전자 세트의 메틸화 수준과 비교하는 단계; 및

(c) 하나 이상의 유전자에서 측정된 메틸화 수준이 각각의 대조군 샘플에서 측정된 메틸화 수준보다 높을 때 개체가 장액성 난소암을 갖는 것으로 결정하는 단계.

청구항 148

제147항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 및 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 149

제147항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 혈장 샘플, 혈액 샘플, 또는 조직 샘플 (예를 들어, 난소 조직)인, 방법.

청구항 150

제147항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자는 표 1A 또는 6A에 나타난 게놈 좌표에 의해 기재되는, 방법.

청구항 151

제147항에 있어서, 상기 CpG 부위는 코딩 영역 또는 조절 영역에 존재하는, 방법.

청구항 152

제147항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 것은 상기 CpG 부위의 메틸화 점수를 측정하는 단계 및 상기 CpG 부위의 메틸화 빈도를 측정하는 단계로 이루어진 군으로부터 선택되는 결정을 포함하는, 방법.

청구항 153

인간 대상체로부터 얻은 샘플을 특성화하기 위한 시스템으로서, 샘플의 메틸화 상태를 결정하도록 구성된 분석 구성요소, 샘플의 메틸화 상태를 데이터베이스에 기록된 대조군 샘플 또는 참조 샘플 메틸화 상태와 비교하도록 구성된 소프트웨어 구성요소, 및 메틸화 상태의 조합에 기초하여 단일 값을 결정하고 난소암 연관 메틸화 상태를 사용자에게 경고하도록 구성된 경고 구성요소를 포함하는, 시스템.

청구항 154

제153항에 있어서, 상기 샘플은 DMR을 포함하는 핵산을 포함하는, 시스템.

청구항 155

제153항에 있어서, 핵산을 단리하기 위한 구성요소를 추가로 포함하는, 시스템.

청구항 156

제153항에 있어서, 샘플을 수집하기 위한 구성요소를 추가로 포함하는, 시스템.

청구항 157

제153항에 있어서, 상기 샘플은 대변 샘플, 조직 샘플, 체장 조직 샘플, 혈장 샘플, 또는 소변 샘플인, 시스템.

청구항 158

제153항에 있어서, 상기 데이터베이스는 DMR을 포함하는 핵산 서열을 포함하는, 시스템.

청구항 159

제153항에 있어서, 상기 데이터베이스는 난소암이 없는 대상체로부터의 핵산 서열을 포함하는, 시스템.

청구항 160

하기를 포함하는 키트:

1) 중아황산염 시약; 및

2) 표 1A 및 6A로부터의 DMR 1-560으로 구성된 그룹로부터 선택된 DMR로부터의 서열을 포함하고 난소암, 투명 세포 난소 세포, 자궁내막양 난소암, 점액성 난소암, 및/또는 장액성 난소암이 없는 대상체와 연관된 메틸화 상태를 갖는 대조군 핵산.

청구항 161

중아황산염 시약 및 서열 번호 1-283에 따른 올리고뉴클레오티드를 포함하는 키트.

청구항 162

대상체로부터 샘플을 얻기 위한 샘플 수집기; 샘플로부터 핵산을 분리하기 위한 시약; 중아황산염 시약; 및 서열 번호 1-283에 따른 올리고뉴클레오티드를 포함하는 키트.

청구항 163

제162항에 있어서, 상기 샘플은 대변 샘플, 조직 샘플, 난소 조직 샘플, 혈장 샘플, 또는 소변 샘플인, 키트.

청구항 164

DMR 및 중아황산염 시약을 포함하는 핵산을 포함하는 조성물.

청구항 165

DMR 및 서열 번호 1-283에 따른 올리고뉴클레오티드를 포함하는 핵산을 포함하는 조성물.

청구항 166

DMR 및 메틸화 민감성 제한 효소를 포함하는 핵산을 포함하는 조성물.

청구항 167

DMR 및 중합효소를 포함하는 핵산을 포함하는 조성물.

청구항 168

대상체로부터 얻은 샘플에서 난소암을 스크리닝하는 방법으로서,

1) 대상체로부터 얻은 샘플에서 마커의 메틸화 상태를 검정하는 단계; 및

2) 마커의 메틸화 상태가 신생물이 없는 대상체에서 검정된 마커의 메틸화 상태와 다른 경우 대상체를 신생물이 있는 것으로 식별하는 단계를 포함하고,

상기 마커는 표 1A 및 6A에 제공된 차등적 메틸화 영역(DMR)에 염기를 포함하는, 방법.

청구항 169

제168항에 있어서, 상기 난소암은 투명 세포 난소암, 자궁내막양 난소암, 점액성 난소암 및 장액성 난소암으로부터 선택되는, 방법.

청구항 170

제168항에 있어서, 복수의 마커를 검정하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 171

제168항에 있어서, 2 내지 11개의 마커를 검정하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 172

제168항에 있어서, 12 내지 560개의 마커를 검정하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 173

제168항에 있어서, 상기 샘플에서 마커의 메틸화 상태를 검정하는 것은 하나의 염기의 메틸화 상태를 결정하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 174

제168항에 있어서, 상기 샘플에서 마커의 메틸화 상태를 검정하는 것은 복수의 염기에서 메틸화 정도를 결정하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 175

제168항에 있어서, 상기 마커의 메틸화 상태는 마커의 정상 메틸화 상태에 대한 마커의 증가 또는 감소된 메틸화를 포함하는, 방법.

청구항 176

제168항에 있어서, 상기 마커의 메틸화 상태가 마커의 정상 메틸화 상태에 대한 마커의 상이한 메틸화 패턴을 포함하는, 방법.

청구항 177

제168항에 있어서, 정방향 가닥의 메틸화 상태를 검정하거나 역방향 가닥의 메틸화 상태를 검정하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 178

제168항에 있어서, 상기 마커는 100개 이하의 염기의 영역인, 방법.

청구항 179

제168항에 있어서, 상기 마커는 500개 이하의 염기의 영역인, 방법.

청구항 180

제168항에 있어서, 상기 마커는 1000개 이하의 염기의 영역인, 방법.

청구항 181

제168항에 있어서, 상기 마커는 5000개 이하의 염기의 영역인, 방법.

청구항 182

제168항에 있어서, 상기 마커는 하나의 염기인, 방법.

청구항 183

제168항에 있어서, 상기 마커는 높은 CpG 밀도 프로모터에 있는, 방법.

청구항 184

제168항에 있어서, 상기 샘플은 대변 샘플, 난소 조직 샘플, 혈액 샘플, 또는 소변 샘플인, 방법.

청구항 185

제168항에 있어서, 상기 검정은 메틸화 특이적 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분광분석, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리, 또는 표적 포착을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 186

제168항에 있어서, 상기 검정은 메틸화 특이적 올리고뉴클레오타이드의 사용을 포함하는, 방법.

청구항 187

방법으로서,

a) 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 처리하는 단계;

선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계

를 통해 인간 개체의 혈액 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계로서,

상기 하나 이상의 유전자는 ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, 및 SIM2_A로부터 선택되는, 단계; 및

b) 인간 개체의 혈액 샘플에서 암 항원 125(CA-125)의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 188

제187항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 189

제188항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 190

제189항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 191

제187항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 192

제187항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 193

제187항에 있어서, 상기 혈액 샘플은 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 및/또는 혈청 샘플인, 방법.

청구항 194

제187항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 195

제187항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 196

하기를 포함하는, 혈액 샘플을 특성화하는 방법:

- 인간 개체로부터 얻은 혈액 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자는 ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CDO1 (예를 들어, CDO1_A, CDO1_B), GP5, DSCR6, SKI, 및 SIM2_A로부터 선택된 하나 이상의 유전자인, 단계;
- DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계;
- DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계; 및
- 인간 개체로부터 얻은 혈액 샘플(예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플) 내의 CA-125의 수준을 측정하는 단계.

청구항 197

제196항에 있어서, 상기 적어도 하나의 참조 마커는 *B3GALT6* DNA, β -액틴 DNA, 및 비암성 DNA로부터 선택된 하나 이상의 참조 마커를 포함하는, 방법.

청구항 198

제196항에 있어서, 상기 혈액 샘플은 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 및/또는 혈청 샘플인, 방법.

청구항 199

제196항에 있어서, 상기 DNA는 샘플로부터 추출되는, 방법.

청구항 200

제196항에 있어서, 상기 DNA는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 201

제200항에 있어서, 상기 시약은 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 202

제201항에 있어서, 상기 DNA는 중아황산염 시약으로 처리되어 중아황산염 처리된 DNA를 생성하는, 방법.

청구항 203

제201항에 있어서, 상기 변형된 DNA는 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트를 사용하여 증폭되는, 방법.

청구항 204

제203항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 또는 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 205

제196항에 있어서, 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분광분석, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리, 및 표적 포착 중 하나 이상을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 206

제205항에 있어서, 상기 측정은 다중 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 207

제206항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 것은 메틸화 특이적 PCR, 정량 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량 중아황산염 파이로시퀀싱(quantitative bisulfite pyrosequencing), 플랩 엔도뉴클레아제 검정(flap endonuclease assay), PCR-플랩 검정 및 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 사용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 208

제196항에 있어서, 상기 방법은 인간으로부터의 생물학적 샘플에서 난소암의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 사용되는, 방법.

청구항 209

하기를 포함하는, 혈액 샘플을 특성화하는 방법:

(a) 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 처리하는 단계;

상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 중아황산염 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성 DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파이로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 결정하는 단계;

난소암이 없는 대조군 샘플에서 메틸화 수준을 상응하는 유전자 세트의 메틸화 수준과 비교하는 단계

를 통해 인간 개체의 혈액 샘플에서 ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, 및 SIM2_A로부터 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계; 및

(b) 대상체로부터 얻은 혈액 샘플(예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플) 내 CA-125의 수준을 측정하고 측정된 수준을 난소암이 없는 대조군 샘플과 비교하는 단계; 및

(c) 하나 이상의 유전자에서 측정된 메틸화 수준이 각각의 대조군 샘플에서 측정된 메틸화 수준보다 높고 측정된 CA-125 수준이 대조군 샘플보다 높은 경우 개체가 난소암을 갖는 것으로 결정하는 단계.

청구항 210

제209항에 있어서, 상기 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머의 세트는 표 1C 및 6B에 인용된 것인, 방법.

청구항 211

제209항에 있어서, 상기 혈액 샘플은 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 및/또는 혈청 샘플인, 방법.

청구항 212

제209항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자는 표 1A 또는 6A에 나타난 게놈 좌표에 의해 기재되는, 방법.

청구항 213

제209항에 있어서, 상기 CpG 부위는 코딩 영역 또는 조절 영역에 존재하는, 방법.

청구항 214

제209항에 있어서, 상기 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 것은 상기 CpG 부위의 메틸화 점수를 측정하는 단계 및 상기 CpG 부위의 메틸화 빈도를 측정하는 단계로 이루어진 군으로부터 선택되는 결정을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2019년 10월 31일에 출원된 미국 가출원 번호 62/928,888 및 2020년 8월 13일에 출원된 미국 가출원 번호 63/065,081의 우선권 이점을 주장하며, 이들 출원은 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 명세서에서는 난소암 스크리닝을 위한 기술, 특히, 비제한적으로, 난소암 및 난소암의 하위 유형(예를 들어, 투명 세포 난소암, 자궁내막양 난소암, 점액성 난소암, 장액성 난소암)의 존재를 검출하기 위한 방법, 조성물 및 관련 용도에 대한 기술이 제공된다.

배경 기술

[0005] 난소암은 선진국에서 가장 치명적인 부인과 악성 종양 중 하나이다. 미국에서는 매년 약 23,000명의 여성이 이 질환으로 진단되고 거의 14,000명의 여성이 이 질환으로 사망한다. 난소암에는 세 가지 주요 유형이 있다: 상피, 생식 세포 및 성기삭 기질. 난소암의 약 90%는 난소 외부의 라이닝(lining)인 상피 조직에서 시작된다. 이 유형의 난소암은 장액성, 점액성, 자궁내막양, 투명 세포, 이행성 및 미분화형으로 나누어진다. 상피성 난소암의 위험은 나이가 들면서, 특히 50세 이후에 증가한다. 생식 세포 종양은 난소암의 약 5%를 차지한다. 그들은 난(egg)을 생산하는 세포에서 시작한다. 이러한 유형의 난소암은 모든 연령의 여성에게 발생할 수 있지만 약 80%는 30세 미만의 여성에서 발견된다. 주요 하위유형은 기형종, 미분화세포종, 내배엽종 종양 및 융모막암종이다. 난소암의 약 5%인 성기삭 간질성 종양은 난소를 함께 유지하고 에스트로겐과 프로게스테론을 만드는 결합 조직에서 성장한다. 대부분은 나이트 여성에게서 발견된다.

[0006] 암 요법의 발전에도 불구하고 난소암 사망률은 지난 20년 동안 사실상 거의 변하지 않았다. 질환이 진단된 단계에 비해 급격한 생존 구배를 감안할 때, 조기 검출은 난소암 환자의 장기 생존을 향상시키는 데 가장 중요한 인자로 남아 있다.

[0007] 난소암 및 다양한 하위유형의 난소암 (예를 들어, 투명 세포 난소암, 자궁내막양 난소암, 점액성 난소암, 및 장액성 난소암)을 검출하기 위한 개선된 방법이 필요하다.

[0008] 본 발명은 이러한 필요성을 다룬다.

발명의 내용

[0009] 언급된 바와 같이, 난소암(OC)은 부인과 암 사망의 가장 중요한 원인이며 전반적으로 여성의 치명적 악성 종양

의 가장 빈번한 원인 중 하나이다(문헌[Ozor R.F., 등, Epithelial ovarian cancer. In: Hoskin W.J., Perez C.A., Young R.C., editors. Principles and Practice of Gynecologic Oncology. Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia, PA, USA: 2000. pp. 981-1057] 참조). 증상은 종종 비특이적이어서 조기 검출을 방해하므로 대다수의 환자는 진행 단계 질환을 나타낸다.

- [0010] 최근, 조직병리학적, 분자적, 유전적 연구를 통해 몇 개의 하위유형의 OC의 특성이 설명되었다. 주요 조직형은 기원 상피이며 장액성 난소암(장액성 OC), 투명 세포 암종(투명 세포 OC), 자궁내막양 암종(자궁내막양 OC) 및 점액성 암종(점액성 OC)을 포함한다. 장액성 OC는 난소암의 가장 악성 형태이며 모든 난소암 사례의 최대 70%를 차지한다. 투명 세포 OC는 난소암 진단을 받은 여성의 약 10-13%를 차지하는 두 번째로 흔한 조직형이다. 자궁내막양 OC는 난소암의 세 번째로 흔한 조직형이며 투명 세포 암종과 마찬가지로 자궁내막중에서 발생하는 것으로 여겨진다. 점액성 OC는 난소암의 4%를 차지하며 일반적으로 낮은 단계에서 진단된다.
- [0011] OC 및 그의 다양한 하위유형 (예를 들어, 투명 세포 OC, 장액성 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC)의 막대한 피해를 줄이기 위해, 효과적인 스크리닝 접근 방식이 시급히 필요하다. 초기 단계의 암 및 진행성 전암의 증상 전 검출을 위해 정확하고 저렴하며 안전한 스크리닝 도구를 제공할 혁신이 필수적이다.
- [0012] 본 발명은 이러한 요구를 다룬다. 실제로, 본 발명은 OC 및 그의 다양한 하위유형 (예를 들어, 투명 세포 OC, 장액성 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC)의 사례를 구별하는 신규한 메틸화 DNA 마커를 제공한다.
- [0013] 메틸화 DNA는 대부분의 종양 유형 조직에서 잠재적인 바이오마커 부류로 연구되었다. 많은 경우, DNA 메틸트랜스퍼라제는 유전자 발현의 후성 제어로서 사이토신-포스페이트-구아닌(CpG) 섬 부위의 DNA에 메틸 그룹을 부가한다. 생물학적으로 매력적인 메커니즘에서, 종양 억제 유전자의 프로모터 영역에서 획득된 메틸화 이벤트는 발현을 침묵시키는 것으로 생각되며, 따라서 종양 발생에 기여한다. DNA 메틸화는 RNA 또는 단백질 발현보다 화학적 및 생물학적으로 더 안정적인 진단 도구일 수 있다(Laird (2010) Nat Rev Genet 11: 191-203). 또한 산발성 결장암과 같은 다른 암에서 메틸화 마커는 탁월한 특이성을 제공하며 개별 DNA 돌연변이보다 더 광범위하게 정보를 제공하고 민감하다(Zou 등 (2007) Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16: 2686-96).
- [0014] CpG 섬의 분석은 동물 모델과 인간 세포주에 적용될 때 중요한 발견을 가져 왔다. 예를 들어, Zhang과 동료들은 동일한 CpG 섬의 다른 부분으로부터의 앰플리콘(amplicon)이 다른 수준의 메틸화를 가질 수 있음을 발견하였다(Zhang 등 (2009) PLoS Genet 5: e1000438). 또한, 메틸화 수준은 고도로 메틸화된 서열과 메틸화되지 않은 서열 사이에 이중 모드로 분포되어 DNA 메틸트랜스퍼라제 활성의 바이너리(binary) 스위치 유사 패턴을 추가로 지원한다(Zhang 등 (2009) PLoS Genet 5: e1000438). 생체 내 무린 조직 및 시험관 내 세포주의 분석은 고 CpG 밀도 프로모터(HCP, 300 염기쌍 영역 내에서 >7% CpG 서열을 갖는 것으로 정의됨)의 약 0.3%만이 메틸화된 반면 저 CpG 밀도 영역(LCP, 300 염기쌍 영역 내에서 <5% CpG 서열을 갖는 것으로 정의됨)은 동적 조직 특이적 패턴으로 자주 메틸화되는 경향이 있다는 것을 입증하였다(Meissner 등 (2008) Nature 454: 766-70). HCP에는 유비쿼터스 하우스키핑 유전자와 고도로 조절된 발달 유전자에 대한 프로모터가 포함된다. >50%로 메틸화된 HCP 부위 중에는 Wnt 2, NDRG2, SFRP2 및 BMP3와 같은 여러 확립된 마커가 있다(Meissner 등 (2008) Nature 454: 766-70).
- [0015] DNA 메틸트랜스퍼라제에 의한 사이토신-포스페이트-구아닌(CpG) 섬 부위에서 DNA의 후성 메틸화는 대부분의 종양 유형의 조직에서 잠재적인 바이오마커 부류로 연구되었다. 생물학적으로 매력적인 메커니즘에서, 종양 억제 유전자의 프로모터 영역에서 획득된 메틸화 이벤트는 발현을 침묵시키는 것으로 생각되며, 이는 종양 발생에 기여한다. DNA 메틸화는 RNA 또는 단백질 발현보다 화학적 및 생물학적으로 더 안정적인 진단 도구일 수 있다. 또한 산발성 결장암과 같은 다른 암에서 비정상적인 메틸화 마커는 개별 DNA 돌연변이보다 더 광범위하게 정보를 제공하고 민감하며 탁월한 특이성을 제공한다.
- [0016] 새로운 메틸화 마커를 검색하기 위해 여러 가지 방법을 사용할 수 있다. CpG 메틸화의 마이크로어레이 기반 실험은 합리적이고 높은 처리량 접근 방식이지만, 이 전략은 알려진 관심 영역, 주로 확립된 종양 억제 프로모터 쪽으로 편향된다. 게놈 차원의 DNA 메틸화 분석을 위한 대체 방법이 지난 10년 동안 개발되었다. 세 가지 기본 접근 방식이 있다. 첫 번째 방법은 특정 메틸화 부위를 인식하는 제한 효소에 의한 DNA 분해를 사용한 다음, 정량화 단계에서 DNA를 증폭하는 데 사용되는 프라이머(primer) 또는 효소 인식 부위로 제한된 메틸화 데이터를 제공하는 몇 가지 가능한 분석 기술(예컨대 메틸화 특이적 PCR; MSP)이다. 두 번째 접근법은 메틸-사이토신 또는 기타 메틸화 특이적 결합 도메인에 대한 항체를 사용하여 게놈 DNA의 메틸화 분획을 강화한 다음 마이크로어레이 분석 또는 시퀀싱을 통해 단편을 기준 게놈에 매핑한다. 이 접근법은 단편 내 모든 메틸화 부위의 단일 뉴클레오타이드 분해능을 제공하지 않는다. 세 번째 접근법은 DNA의 중아황산염 처리로 시작하여 모든 메틸화되지

많은 사이토신을 우라실로 전환한 다음 제한 효소 분해 및 어댑터 리간드에 결합한 후 모든 단편의 완전한 시퀀싱을 수행한다. 제한 효소의 선택은 CpG 밀집 영역에 대한 단편을 풍부하게 하여 분석 중에 여러 유전자 위치에 매핑될 수 있는 중복 서열의 수를 줄일 수 있다.

- [0017] RRBS는 모든 CpG 섬의 80-90%의 단일 뉴클레오타이드 분해능에서 CpG 메틸화 상태 데이터를 생성하고 중간 내지 높은 관독 범위에서 중앙 억제 프로모터의 대부분을 생성한다. 암 사례-대조군 연구에서 이러한 관독 값을 분석하면 메틸화 가변 영역(DMR)이 식별된다. 췌장암 표본에 대한 이전의 RRBS 분석에서 수백 개의 DMR이 발견되었는데, 그 중 다수는 발암과 관련이 없었으며 그 중 다수는 애너테이션(annotation)이 없었다. 독립 조직 샘플 세트에 대한 추가 검증 연구는 성능면에서 100% 민감하고 특이적인 마커 CpG를 확인하였다.
- [0018] 본원은 OC 및 다양한 OC 하위유형 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC) 스크리닝을 위한 기술, 특히 OC 및 다양한 OC 하위유형 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)의 존재를 검출하기 위한 방법, 조성물 및 관련 용도에 대해 제공된다.
- [0019] 실제로, 실시예 I 및 II에 기재된 바와 같이, 본 발명에 대한 구현예를 확인하기 위한 과정 동안 수행된 실험은 1) 비-신생물성 대조군 DNA로부터의 난소 유래 DNA의 암, 2) 비-신생물성 대조군 DNA로부터의 투명 세포 OC 조직 유래 DNA, 3) 비-신생물성 대조군 DNA로부터의 자궁내막양 OC 조직 유래 DNA, 4) 비-신생물성 대조군 DNA로부터의 점액성 OC 조직 유래 DNA, 5) DNA 비-신생물성 대조군 DNA로부터의 장액성 OC 조직 유래 DNA를 식별하기 위한 차등적 메틸화 영역 (DMR)의 신규 세트를 확인하였다.
- [0020] 이러한 실험은 양성 조직으로부터 OC 조직을 구별하고 (표 1A, 1B, 3, 4A, 6A, 및 8A; 실시예 I 및 II 참조), 양성 조직으로부터 투명 세포 OC 조직을 구별하고 (참고, 표 1A, 1B, 2A, 4B, 5B, 6A, 8B; 실시예 I 및 II), 양성 조직로부터 자궁내막양 OC 조직을 구별하고 (표 1A, 1B, 2B, 4C, 5C, 6A, 및 8C; 실시예 I 및 II 참조), 양성 조직으로부터 점액성 OC 조직을 구별하고 (표 1A, 1B, 2C, 4D, 5D, 6A, 및 8D; 실시예 I 및 II 참조), 양성 조직으로부터 장액성 OC 조직을 구별하는 (표 1A, 1B, 2D, 4E, 5A, 6A, 및 8E; 실시예 I 및 II 참조), 및 혈액 샘플 내에서 OC (예를 들어, OC, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)를 검출하는 (표 9; 실시예 III 참조) 560개의 신규 DNA 메틸화 마커를 나열하고 기재한다.
- [0021] 이 560개의 신규 DNA 메틸화 마커에서, 추가 실험을 통해 양성 조직으로부터 난소암 조직을 구별할 수 있는 다 음 마커 및/또는 마커 패널이 확인되었다:
- [0022] ● AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELMO1_A, ELMO1_B, ELMO1_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, STSIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTf, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3 (표 1A, 1B, 6A; 실시예 I 참조);
- [0023] ● MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2 (표 3; 실시예 I 참조);
- [0024] ● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D (표 4A; 실시예 I 참조); 및
- [0025] ● BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CD01_A, 및 DSCR6 (표 8A; 실시예 II 참조).
- [0026] 이러한 560개의 신규 DNA 메틸화 마커에서, 추가 실험을 통해 혈액 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플)에서 난소암(예를 들어, OC, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)을 검출하기 위한 다음 마커 및/또는 마커 패널이 확인되었다:
- [0027] ● GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A,

GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1 (표 9; 실시예 III 참조); 및

- [0028] ● ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조);
- [0029] 이러한 560개의 신규 DNA 메틸화 마커에서, 혈액 샘플에서 증가된 수준의 암 항원 125 (CA-125)과 조합하여 추가 실험을 통해 혈액 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플)에서 난소암(예를 들어, OC, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)을 검출하기 위한 다음 마커 및/또는 마커 패널이 확인되었다:
- [0030] ● CA-125 및 ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, 및 SIM2_A (표 11, 12 및 13, 실시예 III 참조).
- [0031] 이 560개의 신규 DNA 메틸화 마커에서, 추가 실험을 통해 난소 조직으로부터 투명 세포 OC 조직을 구별할 수 있는 다음 마커 및/또는 마커 패널이 확인되었다:
- [0032] ● TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4 (표 2A; 실시예 I 참조);
- [0033] ● MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CD01_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D (표 4B; 실시예 I 참조);
- [0034] ● NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D (표 5B; 실시예 I 참조); 및
- [0035] ● AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CD01_A, 및 DSCR6 (표 8B; 실시예 II 참조).
- [0036] 이 560개의 신규 DNA 메틸화 마커에서, 추가 실험을 통해 양성 조직으로부터 자궁내막양 OC 조직을 구별할 수 있는 다음 마커 및/또는 마커 패널이 확인되었다:
- [0037] ● PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1 (표 2B; 실시예 I 참조);
- [0038] ● NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D (표 4C; 실시예 I 참조);
- [0039] ● NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, 및 C2CD4D (표 5C; 실시예 I 참조); 및
- [0040] ● BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A (표 8C; 실시예 II 참조).
- [0041] 이 560개의 신규 DNA 메틸화 마커에서, 추가 실험을 통해 양성 조직으로부터 점액성 OC 조직을 구별할 수 있는 다음 마커 및/또는 마커 패널이 확인되었다:
- [0042] ● CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELM01_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A (표 2C; 실시예 I 참조);

- [0043] ● NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2 (표 4D; 실시예 I 참조);
- [0044] ● NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11 (표 5D; 실시예 I 참조); 및
- [0045] ● BCAT1_6015, ELM01_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A (표 8D; 실시예 II 참조).
- [0046] 이 560개의 신규 DNA 메틸화 마커에서, 추가 실험을 통해 양성 조직으로부터 장액성 OC 조직을 구별할 수 있는 다음 마커 및/또는 마커 패널이 확인되었다:
- [0047] ● MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTf, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A (표 2D; 실시예 I 참조);
- [0048] ● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D (표 4E; 실시예 I 참조);
- [0049] ● NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D (참고, 표 5A; 실시예 I); 및
- [0050] ● SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 NR2F6 (표 8E; 실시예 II 참조).
- [0051] 본원에 기재된 바와 같이, 이 기술은 난소암 전체 및 다양한 유형의 난소암 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)에 대해 높은 식별력을 갖는 다수의 메틸화 DNA 마커 및 그의 하위세트(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 마커의 세트)를 제공한다. 실험은 난소암 스크리닝 또는 진단을 위해 높은 특이성을 제공하기 위해 높은 신호 대 잡음 비율 및 낮은 배경 수준을 제공하는 마커를 식별하기 위해 후보 마커에 선택 필터를 적용하였다.
- [0052] 일부 구현예에서, 이 기술은 생물학적 샘플(예를 들어, 난소 조직, 혈장 샘플)에서 본원에서 확인된 하나 이상의 마커의 존재 및 메틸화 상태를 평가하는 것과 관련된다. 이들 마커는, 예를 들어, 표 1A 및 6A에 제공된 바와 같이 본원에서 논의된 바와 같은 하나 이상의 메틸화 가변 영역(DMR)을 포함한다. 메틸화 상태는 이 기술의 구현예에서 평가된다. 따라서 본원에서 제공하는 기술은 유전자의 메틸화 상태를 측정하는 방법에 제한이 없다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 메틸화 상태는 게놈 스캐닝 방법에 의해 측정된다. 예를 들어, 한 가지 방법은 제한 랜드마크 게놈 스캔(Kawai 등 (1994) *Mol. Cell. Biol.* 14: 7421-7427)을 포함하고, 다른 예는 메틸화 민감성 임의의 프라이밍 PCR(Gonzalzo 등 (1997) *Cancer Res.* 57: 594-599)을 포함한다. 일부 구현예에서, 특정 CpG 부위에서 메틸화 패턴의 변화는 메틸화 민감성 제한 효소로 게놈 DNA를 분해한 후 관심 영역의 서던 분석(Southern analysis)(분해-서던 방법(digestion-Southern method))에 의해 모니터링된다. 일부 구현예에서, 메틸화 패턴의 변화를 분석하는 것은 PCR 증폭 전에 메틸화 민감성 제한 효소 또는 메틸화 의존성 제한 효소로 게놈 DNA를 분해하는 것을 포함하는 PCR 기반 프로세스를 포함한다(Singer-Sam 등 (1990) *Nucl. Acids Res.* 18: 687). 또한 메틸화 분석의 시작점으로 DNA의 중아황산염 처리를 활용하는 다른 기술이 보고되었다. 여기에는 메틸화 특이적 PCR(MSP)(Herman 등 (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 9821-9826) 및 중아황산염 변환 DNA로부터 증폭된 PCR 산물의 제한 효소 분해(Sadri and Hornsby (1996) *Nucl. Acids Res.* 24: 5058-5059; 및 Xiong and Laird (1997) *Nucl. Acids Res.* 25: 2532-2534)가 포함된다. PCR 기술이 유전자 돌연변이의 검출(Kuppuswamy 등 (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 1143-1147) 및 대립 유전자 특이 발현의 정량화(Szabo and Mann (1995) *Genes Dev.* 9: 3097-3108; and Singer-Sam 등 (1992) *PCR Methods Appl.* 1: 160-163)를 위해 개발되었다. 이러한 기술은 PCR 생성된 템플릿(template)에 어닐링하고 검정할 단일 뉴클레오타이드의 5'를 즉시 종료하는 내부 프라이머를 사용한다. 미국 특허 제7,037,650호에 설명된 바와 같은 "정량 Ms-SNuPE 검정"을 사용하는 방법이 일부 구현예에서 사용된다.
- [0053] 메틸화 상태를 평가할 때, 메틸화 상태는 종종 해당 특정 부위를 포함하는 샘플의 총 DNA 집단에 관한 특정 부위에서(예를 들어, 단일 뉴클레오타이드, 특정 영역 또는 유전자좌(locus)에서, 더 긴 관심 서열, 예를 들어, DNA의 최대 ~ 100-bp, 200-bp, 500-bp, 1000-bp 서브서열 또는 그 이상에서) 메틸화되는 DNA의 개별 가닥의 비율 또는 백분율로 표현된다. 전통적으로, 메틸화되지 않은 핵산의 양은 교정기(calibrator)를 사용하는 PCR에 의해 결정된다. 그런 다음 알려진 양의 DNA를 중아황산염 처리하고 생성된 메틸화 특이적 서열을 실시간 PCR 또는 기타 지수 증폭, 예를 들어, QuARTS 검정을 사용하여 결정한다(예를 들어, 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 제8,361,720호; 및 미국 특허출원공보 제2012/0122088호 및 제2012/0122106호에 의해 제공되는 바와 같음).

- [0054] 예를 들어, 일부 구현예에서, 방법은 외부 표준을 사용하여 메틸화되지 않은 표적에 대한 표준 곡선을 생성하는 것을 포함한다. 표준 곡선은 적어도 두 지점에서 구성되며 메틸화되지 않은 DNA에 대한 실시간 Ct 값을 알려진 정량 표준과 관련시킨다. 그런 다음, 메틸화 표적에 대한 두 번째 표준 곡선이 최소 두 지점과 외부 표준으로 구성된다. 이 두 번째 표준 곡선은 메틸화 DNA에 대한 Ct를 알려진 정량 표준과 관련시킨다. 다음으로, 메틸화 집단 및 메틸화되지 않은 집단에 대해 테스트 샘플 Ct 값이 결정되고 DNA의 계층 증가물은 처음 두 단계에서 생성된 표준 곡선에서 계산된다. 관심 부위의 메틸화 백분율은 집단의 총 DNA 양에 대한 메틸화 DNA의 양으로부터, 예를 들어, $(\text{메틸화 DNA 수})/(\text{메틸화 DNA 수} + \text{메틸화되지 않은 DNA 수}) \times 100$ 으로부터 계산된다.
- [0055] 또한 본원에는 상기 방법을 실행하기 위한 조성물 및 키트가 제공된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 하나 이상의 마커에 특이적인 시약(예를 들어, 프라이머, 프로브(probe))은 단독으로 또는 세트(예를 들어, 복수의 마커를 증폭하기 위한 프라이머 쌍 세트)로 제공된다. 검출 검정을 수행하기 위한 추가 시약도 제공될 수 있다(예를 들어, QuARTS, PCR, 시퀀싱, 중아황산염 또는 기타 검정을 수행하기 위한 효소, 완충액, 양성 및 음성 대조군). 일부 구현예에서, 키트는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약)을 함유한다. 일부 구현예에서, 방법 수행에 필요하거나, 충분하거나, 유용한 하나 이상의 시약을 함유하는 키트가 제공된다. 시약을 함유하는 반응 혼합물도 제공된다. 추가로 반응 혼합물을 완성하기 위해 서로 및/또는 테스트 샘플에 첨가될 수 있는 복수의 시약을 함유하는 마스터 믹스 시약 세트가 제공된다.
- [0056] 일부 구현예에서, 본원에 설명된 기술은 본원에 설명된 방법에 의해 제공되는 바와 같은 일련의 산술 또는 논리 연산을 수행하도록 설계된 프로그램 가능한 기계와 관련된다. 예를 들어, 상기 기술의 일부 구현예는 컴퓨터 소프트웨어 및/또는 컴퓨터 하드웨어와 관련된다(예를 들어, 구현됨). 일 측면에서, 상기 기술은 메모리 형태, 산술 및 논리 연산을 수행하기 위한 부재, 및 데이터를 판독하고 조작하고 저장하기 위한 일련의 명령어(예를 들어, 본원에 제공된 바와 같은 방법)를 실행하기 위한 처리 부재(예를 들어, 마이크로프로세서)를 포함하는 컴퓨터에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 마이크로프로세서는, 모두 본원에 기술되거나 당 업계에 공지된,(예를 들어, 하나 이상의 DMR, 예를 들어, 표 1A 및 6A에 제공된 바와 같은 DMR 1-560의) 메틸화 상태의 결정;(예를 들어, 하나 이상의 DMR, 예를 들어, 표 1A 및 6A에 제공된 바와 같은 DMR 1-560의) 메틸화 상태의 비교; 표준 곡선의 생성; Ct 값의 결정;(예를 들어, 하나 이상의 DMR, 예를 들어, 표 1A 및 6A에 제공된 바와 같은 DMR 1-560의) 메틸화 비율, 빈도 또는 백분율의 계산; CpG 섬의 식별; 검정 또는 마커의 특이성 및/또는 민감도의 결정; ROC 곡선 및 관련 AUC의 계산고; 서열 분석을 위한 시스템의 일부이다.
- [0057] 일부 구현예에서, 마이크로프로세서 또는 컴퓨터는 암 부위를 예측하기 위해 알고리즘에서 메틸화 상태 데이터를 사용한다.
- [0058] 일부 구현예에서, 소프트웨어 또는 하드웨어 구성요소는 다중 검정 결과를 수신하고 다중 검정(예를 들어, 다중 DMR, 예를 들어, 표 1A 및 6A에 제공된 바와 같은 다중 DMR의 메틸화 상태 결정) 결과를 기반으로 암 위험을 나타내는 사용자에게 보고할 단일 값 결과를 결정한다. 관련 구현예는 다중 검정 결과, 예를 들어, 다중 마커(예를 들어, 다중 DMR, 예를 들어, 표 1A 및 6A에 제공된 바와 같은 다중 DMR)의 메틸화 상태 결정 결과의 수학적 조합(예를 들어, 가중 조합, 선형 조합)을 기반으로 위험 인자를 계산한다. 일부 구현예에서, DMR의 메틸화 상태는 차원을 정의하고 다차원 공간에서 값을 가질 수 있으며 다중 DMR의 메틸화 상태에 의해 정의된 좌표는, 예를 들어, 암 위험과 관련된 사용자에게 보고할 결과이다.
- [0059] 일부 구현예는 저장 매체 및 메모리 구성요소를 포함한다. 메모리 구성요소(예를 들어, 휘발성 및/또는 비휘발성 메모리)는 명령어(예를 들어, 본원에 제공된 바와 같은 프로세스의 구현예) 및/또는 데이터(예를 들어, 메틸화 측정, 시퀀스 및 이와 관련된 통계적 설명과 같은 작업물)를 저장하는 데 사용된다. 일부 구현예는 또한 CPU, 그래픽 카드 및 사용자 인터페이스 중 하나 이상을 포함하는(예를 들어, 디스플레이와 같은 출력 장치 및 키보드와 같은 입력 장치를 포함하는) 시스템에 관한 것이다.
- [0060] 이 기술과 관련된 프로그래밍 가능한 기계는 현존하는 종래 기술 및 개발 중이거나 아직 개발되지 않은 기술로 구성된다(예를 들어, 양자 컴퓨터, 화학 컴퓨터, DNA 컴퓨터, 광학 컴퓨터, 스핀트로닉스(spintronic) 기반 컴퓨터 등).
- [0061] 일부 구현예에서, 상기 기술은 데이터를 전송하기 위한 유선(예를 들어, 금속 케이블, 광섬유) 또는 무선 전송 매체를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예는 네트워크(예를 들어, 근거리 통신망(LAN), 광역 통신망(WAN), 애드혹 네트워크(ad-hoc network), 인터넷 등)를 통한 데이터 전송에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 프로그램 가능한 기계는 피어(peer)와 같은 네트워크 상에 존재하고, 일부 구현예에서 프로그램 가능한 기계는 클라이언트/서

버 관계를 갖는다.

- [0062] 일부 구현예에서, 데이터는 하드 디스크, 플래시 메모리, 광학 매체, 플로피 디스크 등과 같은 컴퓨터 판독 가능한 저장 매체에 저장된다.
- [0063] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 기술은 본원에 설명된 바와 같은 방법을 수행하기 위해 협력하여 동작하는 복수의 프로그램 가능한 장치와 관련된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, (예를 들어, 네트워크에 의해 연결된) 복수의 컴퓨터는 데이터를 수집하고 처리하기 위해 병렬로, 예를 들어, 클러스터 컴퓨팅 또는 그리드 컴퓨팅의 구현으로, 또는 이더넷(Ethernet), 광섬유와 같은 종래 네트워크 인터페이스를 통해 또는 무선 네트워크 기술을 통해 네트워크(개인, 공용 또는 인터넷)에 연결된 (온보드 CPU, 스토리지, 전원 공급 장치, 네트워크 인터페이스 등을 갖는) 완전한 컴퓨터에 의존하는 일부 다른 분산된 컴퓨터 구성(computer architecture)으로 작동할 수 있다.
- [0064] 예를 들어, 일부 구현예는 컴퓨터 판독 가능한 매체를 포함하는 컴퓨터를 제공한다. 상기 구현예는 프로세서에 결합된 랜덤 액세스 메모리(RAM)를 포함한다. 상기 프로세서는 메모리에 저장된 컴퓨터 실행 가능 프로그램 명령어를 실행한다. 이러한 프로세서는 마이크로프로세서, ASIC, 상태 머신 또는 기타 프로세서를 포함할 수 있으며, 인텔 코퍼레이션(Intel Corporation)(Santa Clara, California) 및 모토로라 코퍼레이션(Motorola Corporation)(Schaumburg, Illinois)의 프로세서와 같은 여러 컴퓨터 프로세서 중 임의의 것일 수 있다. 이러한 프로세서는 프로세서에 의해 실행될 때 프로세서가 본원에 설명된 단계를 수행하게 하는 명령어를 저장하는 컴퓨터 판독 가능한 매체와 같은 매체를 포함하거나 그와 통신할 수 있다.
- [0065] 컴퓨터 판독 가능한 매체의 구현예는 컴퓨터 판독 가능한 명령어를 프로세서에 제공할 수 있는 전자, 광학, 자기 또는 기타 저장 또는 전송 장치를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 적합한 매체의 다른 예는 플로피 디스크, CD-ROM, DVD, 자기 디스크, 메모리 칩, ROM, RAM, ASIC, 환경 설정된 프로세서(configured processor), 모든 광학 매체, 모든 자기 테이프 또는 기타 자기 매체, 또는 컴퓨터 프로세서가 명령어를 판독할 수 있는 임의의 기타 매체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 또한, 다양한 다른 형태의 컴퓨터 판독 가능한 매체는 라우터, 개인 또는 공용 네트워크, 또는 유선 및 무선 둘 다의 기타 전송 장치 또는 채널을 포함하여 컴퓨터에 명령어를 전송하거나 전달할 수 있다. 명령어는, 예를 들어, C, C++, C#, Visual Basic, Java, Python, Perl 및 JavaScript를 포함하는 임의의 적절한 컴퓨터 프로그래밍 언어의 코드를 포함할 수 있다.
- [0066] 일부 구현예에서 컴퓨터는 네트워크에 연결된다. 컴퓨터는 또한 마우스, CD-ROM, DVD, 키보드, 디스플레이 또는 기타 입력 또는 출력 장치와 같은 여러 외부 또는 내부 장치를 포함할 수 있다. 컴퓨터의 예로는 개인용 컴퓨터, 휴대 정보 단말기(digital assistant), 개인 휴대 정보 단말기(personal digital assistant), 휴대폰(cellular phone), 이동 전화(mobile phone), 스마트폰, 호출기, 디지털 태블릿(digital tablet), 랩톱 컴퓨터(laptop computer), 인터넷 기기 및 기타 프로세서 기반 장치가 있다. 일반적으로 본원에 제공된 기술의 측면과 관련된 컴퓨터는 본원에 제공된 기술을 포함하는 하나 이상의 프로그램을 지원할 수 있는 Microsoft Windows, Linux, UNIX, Mac OS X 등과 같은 임의의 운영 체제에서 작동하는 모든 유형의 프로세서 기반 플랫폼일 수 있다. 일부 구현예는 다른 애플리케이션 프로그램(예를 들어, 애플리케이션)을 실행하는 개인용 컴퓨터를 포함한다. 응용 프로그램은 메모리에 함유될 수 있으며, 예를 들어, 워드 프로세싱 응용 프로그램, 스프레드시트 응용 프로그램, 이메일 응용 프로그램, 인스턴트 메신저 응용 프로그램, 프레젠테이션 응용 프로그램, 인터넷 브라우저 응용 프로그램, 달력/오거나이저 응용 프로그램 및 클라이언트 장치에서 실행할 수 있는 응용 프로그램을 포함할 수 있다.
- [0067] 상기 기술과 관련하여 본원에 설명된 이러한 모든 구성요소, 컴퓨터 및 시스템은 논리적이거나 가상적일 수 있다.
- [0068] 따라서, 대상체로부터 얻은 샘플에서 난소암 및/또는 다양한 형태의 난소암 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)을 스크리닝하는 방법과 관련된 기술이 본원에 제공되며, 이 방법은 대상체로부터 얻은 샘플 (예를 들어, 난소 조직) (예를 들어, 혈장 샘플)에서 마커의 메틸화 상태를 검정하고 마커의 메틸화 상태가 암이 없는 대상체에서 검정된 마커의 메틸화 상태와 다른 경우 대상체가 OC 및/또는 특정 형태의 OC (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)를 갖는 것으로 확인하는 것을 포함하고, 상기 마커는 표 1A 및 6A에서 제공된 DMR 1-560로 이루어진 군으로부터 선택된 차등적 메틸화 영역 (DMR)에서 염기를 포함한다.
- [0069] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서

검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 난소암이 있음을 나타낸다: AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELM01_A, ELM01_B, ELM01_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, ST8SIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTB, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3 (표 1A, 1B, 6A; 실시예 I 참조);

[0070] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 난소암이 있음을 나타낸다: MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO1_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2 (표 3; 실시예 I 참조);

[0071] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 난소암이 있음을 나타낸다: PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D (표 4A; 실시예 I 참조).

[0072] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 난소암이 있음을 나타낸다: BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CD01_A, 및 DSCR6 (표 8A; 실시예 II 참조).

[0073] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 투명 세포 난소암이 있음을 나타낸다: TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4 (표 2A; 실시예 I 참조).

[0074] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 투명 세포 난소암이 있음을 나타낸다: MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CD01_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D (표 4B; 실시예 I 참조).

[0075] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 투명 세포 난소암이 있음을 나타낸다: NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D (표 5B; 실시예 I 참조).

[0076] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 투명 세포 난소암이 있음을 나타낸다: AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CD01_A, 및 DSCR6 (표 8B; 실시예 II 참조).

[0077] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 자궁내막양 난소암이 있음을 나타낸다: PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1 (표 2B; 실시예 I 참조).

[0078] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 자궁내막양 난소암이 있음을 나타낸다: NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671,

MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D (표 4C; 실시예 I 참조).

- [0079] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 자궁내막양 난소암이 있음을 나타낸다: NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CDO1_A, SIM2_A, IFFO1_A, 및 C2CD4D (표 5C; 실시예 I 참조).
- [0080] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 자궁내막양 난소암이 있음을 나타낸다: BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A (표 8C; 실시예 II 참조).
- [0081] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 점액성 난소암이 있음을 나타낸다: CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELM01_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A (표 2C; 실시예 I 참조).
- [0082] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 점액성 난소암이 있음을 나타낸다: NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2 (표 4D; 실시예 I 참조).
- [0083] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 점액성 난소암이 있음을 나타낸다: NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11 (표 5D; 실시예 I 참조).
- [0084] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 점액성 난소암이 있음을 나타낸다: BCAT1_6015, ELM01_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A (표 8D; 실시예 II 참조).
- [0085] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 장액성 난소암이 있음을 나타낸다: MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTf, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A (표 2D; 실시예 I 참조).
- [0086] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 장액성 난소암이 있음을 나타낸다: PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D (표 4E; 실시예 I 참조).
- [0087] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 장액성 난소암이 있음을 나타낸다: NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D (참고, 표 5A; 실시예 I).
- [0088] 대상체로부터 얻은 샘플이 난소 조직이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 난소암이 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 장액성 난소암이 있음을 나타낸다: SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 NR2F6 (표 8E; 실시예 II 참조).
- [0089] 대상체로부터 수득된 샘플은 혈액 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플)이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태는 OC가 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 OC: GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CDO1 (예를 들어, CDO1_A, CDO1_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1 (표 9; 실시예 III 참조)를 가지고 있음을 나타낸다.

- [0090] 대상체로부터 수득된 샘플은 혈액 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플)이고 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태가 OC가 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 OC: ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조)을 가지고 있음을 나타낸다.
- [0091] 대상체로부터 수득된 샘플은 혈액 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플)이고 1) 증가된 수준의 CA-125가 검출되고 그리고 2) 다음의 마커 중 하나 이상의 메틸화 상태가 OC가 없는 대상체에서 검정된 하나 이상의 마커의 메틸화 상태와 상이한 일부 구현예에서 대상체가 OC: ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, 및 SIM2_A (표 11-13, 실시예 III 참조)을 가지고 있음을 나타낸다.
- [0092] 이 기술은 난소암 및/또는 다양한 형태의 난소암 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)을 확인하고 식별하는 것과 관련이 있다. 일부 구현예는 복수의 마커를 검정하는 것, 예를 들어, 1, 2, 3, 2 내지 11 내지 100 또는 120 또는 375 또는 560개의 마커 (예를 들어, 1-4, 1-6, 1-7, 1-8, 1-9, 1-10, 1-11, 1-12, 1-13, 1-14, 1-15, 1-16, 1-17, 1-18, 1-19, 1-20, 1-25, 1-50, 1-75, 1-100, 1-200, 1-300, 1-400, 1-500, 1-560) (예를 들어, 2-4, 2-6, 2-7, 2-8, 2-9, 2-10, 2-11, 2-12, 2-13, 2-14, 2-15, 2-16, 2-17, 2-18, 2-19, 2-20, 2-25, 2-50, 2-75, 2-100, 2-200, 2-300, 2-400, 2-500, 2-560) (예를 들어, 3-4, 3-6, 3-7, 3-8, 3-9, 3-10, 3-11, 3-12, 3-13, 3-14, 3-15, 3-16, 3-17, 3-18, 3-19, 3-20, 3-25, 3-50, 3-75, 3-100, 3-200, 3-300, 3-400, 3-500, 3-560) (예를 들어, 4-5, 4-6, 4-7, 4-8, 4-9, 4-10, 4-11, 4-12, 4-13, 4-14, 4-15, 4-16, 4-17, 4-18, 4-19, 4-20, 4-25, 4-50, 4-75, 4-100, 4-200, 4-300, 4-400, 4-500, 4-560) (예를 들어, 5-6, 5-7, 5-8, 5-9, 5-10, 5-11, 5-12, 5-13, 5-14, 5-15, 5-16, 5-17, 5-18, 5-19, 5-20, 5-25, 5-50, 5-75, 5-100, 5-200, 5-300, 5-400, 5-500, 5-560)를 검정하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0093] 이 기술은 평가된 메틸화 상태에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서 샘플에서 마커의 메틸화 상태를 평가하는 것은 하나의 염기의 메틸화 상태를 결정하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 샘플에서 마커의 메틸화 상태를 검정하는 것은 복수의 염기에서 메틸화 정도를 결정하는 것을 포함한다. 더욱이, 일부 구현예에서 마커의 메틸화 상태는 마커의 정상 메틸화 상태에 비해 마커의 증가된 메틸화를 포함한다. 일부 구현예에서, 마커의 메틸화 상태는 마커의 정상 메틸화 상태에 비해 마커의 감소된 메틸화를 포함한다. 일부 구현예에서, 마커의 메틸화 상태는 마커의 정상 메틸화 상태에 비해 마커의 다른 패턴의 메틸화를 포함한다.
- [0094] 또한, 일부 구현예에서 마커는 100개 이하의 염기의 영역이고, 마커는 500개 이하의 염기의 영역이고, 마커는 1000개 이하의 염기의 영역이고, 마커는 5000개 이하의 염기의 영역이거나, 일부 구현예에서, 마커는 하나의 염기이다. 일부 구현예에서 마커는 높은 CpG 밀도 프로모터에 있다.
- [0095] 이 기술은 샘플 유형에 의해 제한되지 않는다. 예를 들어, 일부 구현예에서 샘플은 대변 샘플, 조직 샘플(예를 들어, 난소 조직 샘플), 혈액 샘플(예를 들어, 혈장, 혈청, 전혈), 배설물 또는 소변 샘플이다.
- [0096] 또한, 이 기술은 메틸화 상태를 결정하는 데 사용되는 방법에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 검정은 메틸화 특이적 증합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 또는 표적 포획을 사용하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 검정은 메틸화 특이적 올리고뉴클레오타이드의 사용을 포함한다. 일부 구현예에서, 이 기술은 메틸화 상태, 예를 들어, 합성에 의한 시퀀싱, 실시간(예를 들어, 단일 분자) 시퀀싱, 비드 에멀전 시퀀싱, 나노포어 시퀀싱 등을 결정하기 위해 대량 병렬 시퀀싱(massively parallel sequencing)(예를 들어, 차세대 시퀀싱)을 사용한다.
- [0097] 이 기술은 DMR을 검출하기 위한 시약을 제공하는데, 예를 들어, 일부 구현예에서는 서열 번호 1-283에 의해 제공된 서열을 포함하는 올리고 뉴클레오타이드 세트가 제공된다(표 1C 및 6B 참조). 일부 구현예에서 DMR에서 염

기를 갖는 염색체 영역에 상보적인 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어, DMR의 메틸화 상태에 민감한 올리고뉴클레오타이드가 제공된다.

- [0098] 기술은 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELM01_A, ELM01_B, ELM01_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, ST8SIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTf, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3 (표 1A, 1B, 6A, 6B; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0099] 기술은 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2 (표 3; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0100] 기술은 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D (표 4A; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0101] 기술은 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 DSCR6 (표 8A; 실시예 II 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0102] 기술은 투명 세포 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4 (표 2A; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0103] 기술은 투명 세포 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CDO1_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D (표 4B; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0104] 기술은 투명 세포 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CDO1_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D (표 5B; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0105] 기술은 투명 세포 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CDO1_A, 및 DSCR6 (표 8B; 실시예 II 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0106] 기술은 자궁내막양 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1 (표 2B; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0107] 기술은 자궁내막양 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-

14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D (표 4C; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.

- [0108] 기술은 자궁내막양 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, 및 C2CD4D (표 5C; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0109] 기술은 자궁내막양 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A (표 8C; 실시예 II 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0110] 기술은 점액성 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELMO1_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A (표 2C; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0111] 기술은 점액성 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2 (표 4D; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0112] 기술은 점액성 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11 (표 5D; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0113] 기술은 점액성 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 BCAT1_6015, ELMO1_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A (표 8D; 실시예 II 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0114] 기술은 장액성 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTf, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A (표 2D; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0115] 기술은 장액성 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D (표 4E; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0116] 기술은 장액성 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D (표 5A; 실시예 I 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0117] 기술은 장액성 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CD01_A, 및 NR2F6 (표 8E; 실시예 II 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0118] 기술은 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1 (표 9; 실시예 III 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.
- [0119] 기술은 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를

들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.

[0120]

기술은 난소암을 확인하는 데 사용되는 마커의 다양한 패널을 제공하고, 예를 들어, 일부 구현예에서 마커는 ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조)인 주석을 갖는 염색체 영역을 포함한다.

[0121]

키트 구현예가 제공되고, 예를 들어, 키트는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형할 수 있는 시약 (예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소, 및 중아황산염 시약); 및 DMR 1-560 (표 1A 및 6A)으로 이루어진 군으로부터 선택된 DMR로부터의 서열을 포함하고 난소암 또는 하위유형의 OC (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)를 가지고 있지 않는 대상체와 연관된 메틸화 상태를 갖는 대조군 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, 키트는 본원에 기재된 바와 같은 중아황산염 시약 및 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 키트는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형할 수 있는 시약 (예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소, 및 중아황산염 시약); 및 DMR 1-560(표 1A 및 6A)로 이루어진 군으로부터 선택된 DMR로부터의 서열을 포함하고 난소암 또는 하위유형의 난소암 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)가 있는 대상체와 연관된 메틸화 상태를 갖는 대조군 핵산을 포함한다. 일부 키트 구현예는 대상체의 샘플 (예를 들어, 대변 샘플; 난소 조직 샘플; 혈장 샘플, 혈청 샘플, 전혈 샘플)을 얻기 위한 샘플 수집기; 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형할 수 있는 시약 (예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소, 및 중아황산염 시약); 및 본원에 기재된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.

[0122]

이 기술은 조성물(예를 들어, 반응 혼합물)의 구현예와 관련된다. 일부 구현예에서, DMR을 포함하는 핵산 및 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약)을 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 구현예는 DMR을 포함하는 핵산 및 본원에 설명된 바와 같은 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구현예는 DMR을 포함하는 핵산 및 메틸화 민감성 제한 효소를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구현예는 DMR을 포함하는 핵산 및 중합효소를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0123]

추가로 관련된 방법 구현예는 대상체로부터 얻은 샘플 (예를 들어, 난소 조직 샘플; 혈장 샘플; 대변 샘플)에서 난소암 및/또는 다양한 형태의 난소암 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)을 스크리닝하기 위해 제공되고, 예를 들어, 상기 방법은 DMR 1-506 (표 1A 및 6A) 중 하나 이상인 DMR에서 염기를 포함하는 샘플에서 마커의 메틸화 상태를 결정하는 단계; 대상 샘플로부터의 마커의 메틸화 상태를 난소암 (예를 들어, 난소암 및/또는 난소암의 형태: 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)이 없는 대상체로부터의 정상 대조군 샘플로부터의 마커의 메틸화 상태와 비교하는 단계; 및 대상 샘플과 정상 대조군 샘플의 메틸화 상태의 차이의 신뢰 구간 및/또는 p 값을 결정하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 신뢰 구간은 90%, 95%, 97.5%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9% 또는 99.99%이고 p 값은 0.1, 0.05, 0.025, 0.02, 0.01, 0.005, 0.001, 또는 0.0001이다. 방법의 일부 구현예는 DMR을 포함하는 핵산을 메틸화 특이적 방식으로 핵산을 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약)과 반응시켜, 예를 들어, 메틸화 특이적 방식으로 변형된 핵산을 생산하는 단계; 메틸화 특이적 방식으로 변형된 핵산의 염기 서열을 시퀀싱하여 메틸화 특이적 방식으로 변형된 핵산의 뉴클레오타이드 서열을 제공하는 단계; 메틸화 특이적 방식으로 변형된 핵산의 뉴클레오타이드 서열을 난소암 및/또는 난소암의 형태가 없는 대상체로부터의 DMR을 포함하는 핵산의 뉴클레오타이드 서열과 비교하여 2개의 서열의 차이를 확인하는 단계; 및 차이가 있는 경우 대상체가 난소암 및/또는 난소암의 형태 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)를 갖는 것으로 확인하는 단계.

[0124]

대상체로부터 얻은 샘플에서 난소암을 스크리닝하기 위한 시스템이 이 기술에 의해 제공된다. 시스템의 예시적인 구현예는, 예를 들어, 대상체로부터 얻은 샘플 (예를 들어, 난소 조직 샘플; 혈장 샘플; 대변 샘플)에서 난소암 및/또는 난소암의 유형 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)을 스크리닝하기

위한 시스템을 포함하고, 상기 시스템은 샘플의 메틸화 상태를 결정하도록 구성된 분석 구성요소, 샘플의 메틸화 상태를 데이터베이스에 기록된 대조용 샘플 또는 기준 샘플 메틸화 상태와 비교하도록 구성된 소프트웨어 구성요소, 및 사용자에게 난소암 관련 메틸화 상태를 경고하도록 구성된 경고 구성요소를 포함한다. 경고는 일부 구현예에서 다중 검정(예를 들어, 표 1A 및 6A에 제공된 바와 같이 다중 마커, 예를 들어, DMR의 메틸화 상태 결정)으로부터 결과를 수신하고 여러 결과를 기반으로 보고하기 위한 값 또는 결과를 계산하는 소프트웨어 구성요소에 의해 결정된다. 일부 구현예는 사용자(예를 들어, 의사, 간호사, 임상의 등)에게 보고하기 위한 값 또는 결과 및/또는 경고를 계산하는 데 사용하기 위해 본원에 제공된 각 DMR과 연관된 가중치 매개 변수의 데이터베이스를 제공한다. 일부 구현예에서 다중 검정으로부터의 모든 결과가 보고되고 일부 구현예에서 하나 이상의 결과가 대상체에서 암 위험을 나타내는 다중 검정으로부터의 하나 이상의 결과의 복합에 기초하여 점수, 값 또는 결과를 제공하기 위해 사용된다.

[0125] 시스템의 일부 구현예에서, 샘플은 DMR을 포함하는 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, 시스템은 핵산을 분리하기 위한 구성요소, 샘플을 수집하기 위한 구성요소, 예컨대 대변 샘플을 수집하기 위한 구성요소를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 시스템은 DMR을 포함하는 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서 데이터베이스는 난소암 및/또는 특정 유형의 난소암(예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)이 없는 대상체로부터의 핵산 서열을 포함한다. 또한, 핵산, 예를 들어, 핵산 세트가 제공되며, 각 핵산은 DMR을 포함하는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 핵산 세트는 각각의 핵산이 난소암 및/또는 특정 유형의 난소암이 없는 대상체로부터의 서열을 갖는다. 관련 시스템 구현예는 설명된 바와 같은 핵산 세트 및 이 핵산 세트와 관련된 핵산 서열의 데이터베이스를 포함한다. 일부 구현예는 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약)을 추가로 포함한다. 그리고, 일부 구현예는 핵산 시퀀서를 추가로 포함한다.

[0126] 특정 구현예에서, 인간 환자의 샘플(예를 들어, 난소 조직 샘플; 혈장 샘플; 전혈 샘플; 혈청 샘플; 대변 샘플)을 특성화하는 방법이 제공된다. 예를 들어, 일부 구현예에서 이러한 구현예는 인간 환자의 샘플로부터 DNA를 획득하는 단계; 표 1A 및 6A의 DMR 1-560로 이루어진 군에서 선택된 메틸화 가변 영역(DMR)의 염기를 포함하는 DNA 메틸화 마커의 메틸화 상태를 검정하는 단계; 및 하나 이상의 DNA 메틸화 마커의 검정된 메틸화 상태를 난소암 및/또는 특정 유형 난소암 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)이 없는 인간 환자에 대한 하나 이상의 DNA 메틸화 마커에 대한 메틸화 수준 기준과 비교하는 단계를 포함한다.

[0127] 이러한 방법은 인간 환자의 특정 유형의 샘플에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 샘플은 난소 조직 샘플이다. 일부 구현예에서, 샘플은 혈장 샘플이다. 일부 구현예에서, 샘플은 대변 샘플, 조직 샘플, 난소 조직 샘플, 혈액 샘플(예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 혈청 샘플), 또는 소변 샘플이다.

[0128] 일부 구현예에서, 이러한 방법은 복수의 DNA 메틸화 마커 (예를 들어, 1-4, 1-6, 1-7, 1-8, 1-9, 1-10, 1-11, 1-12, 1-13, 1-14, 1-15, 1-16, 1-17, 1-18, 1-19, 1-20, 1-25, 1-50, 1-75, 1-100, 1-200, 1-300, 1-400, 1-500, 1-560) (예를 들어, 2-4, 2-6, 2-7, 2-8, 2-9, 2-10, 2-11, 2-12, 2-13, 2-14, 2-15, 2-16, 2-17, 2-18, 2-19, 2-20, 2-25, 2-50, 2-75, 2-100, 2-200, 2-300, 2-400, 2-500, 2-560) (예를 들어, 3-4, 3-6, 3-7, 3-8, 3-9, 3-10, 3-11, 3-12, 3-13, 3-14, 3-15, 3-16, 3-17, 3-18, 3-19, 3-20, 3-25, 3-50, 3-75, 3-100, 3-200, 3-300, 3-400, 3-500, 3-560) (예를 들어, 4-5, 4-6, 4-7, 4-8, 4-9, 4-10, 4-11, 4-12, 4-13, 4-14, 4-15, 4-16, 4-17, 4-18, 4-19, 4-20, 4-25, 4-50, 4-75, 4-100, 4-200, 4-300, 4-400, 4-500, 4-560) (예를 들어, 5-6, 5-7, 5-8, 5-9, 5-10, 5-11, 5-12, 5-13, 5-14, 5-15, 5-16, 5-17, 5-18, 5-19, 5-20, 5-25, 5-50, 5-75, 5-100, 5-200, 5-300, 5-400, 5-500, 5-560)를 검정하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 2 내지 11개의 DNA 메틸화 마커를 검정하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 12개 내지 120개의 DNA 메틸화 마커를 검정하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 2개 내지 375개의 DNA 메틸화 마커를 검정하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 샘플에서 하나 이상의 DNA 메틸화 마커의 메틸화 상태를 검정하는 것을 포함하며, 하나의 염기의 메틸화 상태를 결정하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 샘플에서 하나 이상의 DNA 메틸화 마커의 메틸화 상태를 검정하는 것을 포함하며, 복수의 염기에서 메틸화 정도를 결정하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 순방향 가닥의 메틸화 상태를 검정하거나 역방향 가닥의 메틸화 상태를 검정하는 것을 포함한다.

[0129] 일부 구현예에서, DNA 메틸화 마커는 100개 이하의 염기 영역이다. 일부 구현예에서, DNA 메틸화 마커는 500개 이하의 염기 영역이다. 일부 구현예에서, DNA 메틸화 마커는 1000개 이하의 염기 영역이다. 일부 구현예에서, DNA 메틸화 마커는 5000개 이하의 염기 영역이다. 일부 구현예에서, DNA 메틸화 마커는 하나의 염기이다. 일부

구현예에서, DNA 메틸화 마커는 높은 CpG 밀도 프로모터에 있다.

- [0130] 일부 구현예에서, 검정은 메틸화 특이적 중합 효소 연쇄 반응, 핵산 서열 분석, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 또는 표적 포획을 사용하는 것을 포함한다.
- [0131] 일부 구현예에서, 검정은 메틸화 특이적 올리고뉴클레오타이드의 사용을 포함한다. 일부 구현예에서, 메틸화 특이적 올리고뉴클레오타이드는 서열 번호 1-283(표 1C 및 6B)로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0132] 일부 구현예에서, AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELMO1_A, ELMO1_B, ELMO1_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, ST8SIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTf, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3 (표 1A, 1B, 6A, 6B; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0133] 일부 구현예에서, MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2 (표 3; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0134] 일부 구현예에서, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D (표 4A; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0135] 일부 구현예에서, BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 DSCR6 (표 8A; 실시예 II 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0136] 일부 구현예에서, TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4 (표 2A; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0137] 일부 구현예에서, MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CDO1_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D (표 4B; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0138] 일부 구현예에서, NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CDO1_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D (표 5B; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0139] 일부 구현예에서, AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CDO1_A, 및 DSCR6 (표 8B; 실시예 II 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0140] 일부 구현예에서, PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1 (표 2B; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0141] 일부 구현예에서, NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D (표 4C; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.
- [0142] 일부 구현예에서, NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671,

DSCR6, GPRIN1_A, CDO1_A, SIM2_A, IFFO1_A, 및 C2CD4D (표 5C; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0143] 일부 구현예에서, BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A (표 8C; 실시예 II 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0144] 일부 구현예에서, CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELMO1_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A (표 2C; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0145] 일부 구현예에서, NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2 (표 4D; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0146] 일부 구현예에서, NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11 (표 5D; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0147] 일부 구현예에서, BCAT1_6015, ELMO1_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A (표 8D; 실시예 II 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0148] 일부 구현예에서, MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTF, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A (표 2D; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0149] 일부 구현예에서, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D (표 4E; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0150] 일부 구현예에서, NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D (표 5A; 실시예 I 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0151] 일부 구현예에서, SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 NR2F6 (표 8E; 실시예 II 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0152] 일부 구현예에서, GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CDO1 (예를 들어, CDO1_A, CDO1_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1 (표 9; 실시예 III 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0153] 일부 구현예에서, ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CDO1 (예를 들어, CDO1_A, CDO1_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역은 DNA 메틸화 마커를 포함한다.

[0154] 일부 구현예에서, 이러한 방법은 2개의 DNA 메틸화 마커의 메틸화 상태를 결정하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 표 1A 및/또는 6A의 행에 제공된 DNA 메틸화 마커 쌍의 메틸화 상태를 결정하는 것을 포함한다.

[0155] 특정 구현예에서, 이 기술은 인간 환자로 부터 수득한 샘플(예를 들어, 난소 조직 샘플; 혈장 샘플; 전혈 샘플; 혈청 샘플; 대변 샘플)을 특성화하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 표 1A 및 6A의 DMR 1-

560로 이루어진 군으로부터 선택된 DMR의 염기를 포함하는 샘플에서 DNA 메틸화 마커의 메틸화 상태를 결정하는 단계; 환자 샘플의 DNA 메틸화 마커의 메틸화 상태를 및/또는 특정 형태의 난소암(예를 들어, 투명 세포 OC, 장궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)가 없는 인간 대상체의 정상 대조군 샘플의 DNA 메틸화 마커의 메틸화 상태와 비교하는 단계; 및 인간 환자의 메틸화 상태와 정상 대조군 샘플의 메틸화 상태의 차이의 신뢰 구간 및/또는 p 값을 결정하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 신뢰 구간은 90%, 95%, 97.5%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9% 또는 99.99%이고 p 값은 0.1, 0.05, 0.025, 0.02, 0.01, 0.005, 0.001, 또는 0.0001이다.

[0156] 특정 구현예에서, 이 기술은 인간 대상체로부터 수득한 샘플(예를 들어, 난소암 조직 샘플;; 혈장 샘플; 전혈 샘플; 혈청 샘플; 대변 샘플)을 특성화하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 DMR을 포함하는 핵산을 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약)과 반응시켜 메틸화 특이적 방식으로 변형된 핵산을 생성하는 단계; 메틸화 특이적 방식으로 변형된 핵산을 시퀀싱하여 메틸화 특이적 방식으로 변형된 핵산의 뉴클레오타이드 서열을 제공하는 단계; 메틸화 특이적 방식으로 변형된 핵산의 뉴클레오타이드 서열을 난소암이 없는 대상체의 DMR을 포함하는 핵산의 뉴클레오타이드 서열과 비교하여 두 서열의 차이를 확인하는 단계를 포함한다.

[0157] 특정 구현예에서, 이 기술은 인간 대상체로부터 수득한 샘플(예를 들어, 난소 조직 샘플; 혈장 샘플; 대변 샘플)을 특성화하기 위한 시스템을 제공하며, 상기 시스템은 샘플의 메틸화 상태를 결정하도록 구성된 분석 구성요소, 샘플의 메틸화 상태를 데이터베이스에 기록된 대조용 샘플 또는 기준 샘플 메틸화 상태와 비교하도록 구성된 소프트웨어 구성요소, 및 메틸화 상태의 조합을 기반으로 단일 값을 결정하고 사용자에게 난소암 관련 메틸화 상태를 경고하도록 구성된 경고 구성요소를 포함한다. 일부 구현예에서, 샘플은 DMR을 포함하는 핵산을 포함한다.

[0158] 일부 구현예에서, 이러한 시스템은 핵산을 분리하기 위한 성분을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 시스템은 샘플을 수집하기 위한 구성요소를 추가로 포함한다.

[0159] 일부 구현예에서, 샘플은 대변 샘플, 조직 샘플, 난소 조직 샘플, 혈액 샘플(예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 혈청 샘플) 또는 소변 샘플이다.

[0160] 일부 구현예에서, 데이터베이스는 DMR을 포함하는 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 데이터베이스는 난소암이 없는 대상체로부터의 핵산 서열을 포함한다.

[0161] 추가 구현예는 본원에 함유된 교시에 기초하여 관련 기술 분야의 숙련자에게 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0162] 도 1: 표 1A 및 6A에 인용된 다양한 메틸화된 DNA 마커 및 관련 프라이머 및 프로브 정보에 사용되는 마커 염색체 영역. PCR 표적 영역에서 자연 발생 서열(WT) 및 중아황산염 변형 서열(BST)이 도시된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0163] 정의

[0164] 본 기술에 대한 이해를 돕기 위해 여러 용어와 구문이 아래에 정의되어 있다. 추가 정의가 상세한 설명 전체에 명시되어 있다.

[0165] 명세서 및 청구범위 전체에 걸쳐, 다음 용어는 문맥이 명백하게 달리 지시하지 않는 한, 본원에서 명시적으로 연관된 의미를 취한다. 본원에 사용된 "한 구현예에서"라는 문구는 반드시 동일한 구현예를 지칭하는 것은 아니지만, 그럴 수도 있다. 또한, 본원에 사용된 "다른 구현예에서"라는 문구는 반드시 다른 구현예를 지칭하는 것은 아니지만, 그럴 수도 있다. 따라서, 후술하는 바와 같이, 본 발명의 다양한 구현예는 본 발명의 범위 또는 사상을 벗어나지 않고 쉽게 결합될 수 있다.

[0166] 또한, 본원에 사용된 용어 "또는"은 포괄적인 "또는" 연산자이며 문맥이 달리 명시하지 않는 한 "및/또는"이라는 용어와 동일하다. "기반"이라는 용어는 배타적이지 않으며 문맥에서 달리 명시하지 않는 한 설명되지 않은 추가 요소를 기반으로 할 수 있다. 또한, 명세서 전반에 걸쳐 "a", "an" 및 "the"의 의미는 복수형 언급을 포함한다. "~ 내에(in)"의 의미는 "~ 내에" 및 "~ 상에(on)"를 포함한다.

[0167] 본원의 청구범위에 사용된 연결구(transitional phrase) "본질적으로 이루어진"은, *In re Herz*, 537 F.2d 549, 551-52, 190 USPQ 461, 463 (CCPA 1976)에 논의된 바와 같이, 청구범위를 특정 재료 또는 단계 "및 청구된 발

명의 기본 및 신규 특성(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것들"로 제한한다. 예를 들어, 언급된 요소로 "본질적으로 이루어진" 조성물은 오염 물질이 비록 존재하더라도 순수한 조성물, 즉 언급된 요소로 "이루어진" 조성물과 비교하여 언급된 조성물의 기능을 변경하지 않는 수준으로 언급되지 않은 오염 물질을 함유할 수 있다.

[0168] 본원에 사용된 "핵산" 또는 "핵산 분자"는 일반적으로 변형되지 않거나 변형된 DNA 또는 RNA일 수 있는 임의의 리보핵산 또는 데옥시리보핵산을 지칭한다. "핵산"은 제한 없이 단일 가닥 및 이중 가닥 핵산을 포함한다. 본원에 사용된 용어 "핵산"은 또한 하나 이상의 변형된 염기를 함유하는 상술한 바와 같은 DNA를 포함한다. 따라서 안정성이나 다른 이유로 변형된 백본을 가진 DNA는 "핵산"이다. 본원에 사용된 용어 "핵산"은 이러한 화학적으로, 효소적으로 또는 대사적으로 변형된 형태의 핵산뿐만 아니라, 예를 들어, 단순 및 복합 세포를 포함하는 바이러스 및 세포의 특징적인 DNA의 화학적 형태를 포함한다.

[0169] 용어 "올리고뉴클레오타이드" 또는 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 2개 이상, 바람직하게는 3개 이상, 및 일반적으로 10개 이상의 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드를 갖는 분자를 지칭한다. 정확한 크기는 많은 요인에 따라 달라지며, 이는 궁극적인 기능 또는 올리고뉴클레오타이드의 사용에 따라 달라진다. 올리고뉴클레오타이드는 화학적 합성, DNA 복제, 역전사 또는 이들의 조합을 포함하는 임의의 방식으로 생성될 수 있다. DNA의 전형적인 데옥시리보뉴클레오타이드는 티민, 아데닌, 사이토신 및 구아닌이다. RNA의 전형적인 리보뉴클레오타이드는 우라실, 아데닌, 사이토신 및 구아닌이다.

[0170] 본원에 사용된, 핵산의 "유전자좌" 또는 "영역"이라는 용어는 핵산의 하위 영역, 예를 들어, 염색체상의 유전자, 단일 뉴클레오타이드, CpG 섬 등을 지칭한다.

[0171] 용어 "상보적(complementary)" 및 "상보성(complementarity)"은 염기쌍 규칙에 의해 관련된 뉴클레오타이드(예를 들어, 1개의 뉴클레오타이드) 또는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열)를 지칭한다. 예를 들어, 서열 5'-A-G-T-3'는 서열 3'-T-C-A-5'에 상보적이다. 상보성은 염기쌍 규칙에 따라 핵산 염기의 일부만 일치하는 "부분적"일 수 있다. 또는, 핵산 사이에 "완전한" 또는 "전체" 상보성이 있을 수 있다. 핵산 가닥 사이의 상보성의 정도는 핵산 가닥 사이의 하이브리드화의 효율성과 강도에 영향을 미친다. 이것은 증폭 반응과 핵산 사이의 결합에 의존하는 검출 방법에서 특히 중요하다.

[0172] 용어 "유전자"는 RNA, 또는 폴리펩타이드 또는 이의 전구체의 생산에 필요한 코딩 서열을 포함하는 핵산(예를 들어, DNA 또는 RNA) 서열을 지칭한다. 기능성 폴리펩타이드는 폴리펩타이드의 원하는 활성 또는 기능적 특성(예를 들어, 효소 활성, 리간드 결합, 신호 전달 등)이 유지되는 한 전장 코딩 서열 또는 코딩 서열의 임의의 부분(portion)에 의해 코딩될 수 있다. 유전자와 관련하여 사용될 때 용어 "부분"은 그 유전자의 단편을 의미한다. 단편은 몇 개의 뉴클레오타이드부터 전체 유전자 서열에서 하나의 뉴클레오타이드를 뺀 크기까지 다양하다. 따라서 "유전자의 적어도 일부를 포함하는 뉴클레오타이드"는 유전자의 단편 또는 전체 유전자를 포함할 수 있다.

[0173] 용어 "유전자"는 또한 구조적 유전자의 코딩 영역을 포괄하고 유전자가 전장 mRNA(예를 들어, 코딩, 조절, 구조 및 기타 서열 포함)의 길이에 해당하도록, 예를 들어, 양 말단에서 약 1kb의 거리에 대해 5' 및 3' 말단 모두에서 코딩 영역에 인접하여 위치하는 서열을 포함한다. 코딩 영역의 5'에 위치하고 mRNA에 존재하는 서열은 5' 비번역(non-translated) 또는 미번역(untranslated) 서열로 지칭된다. 코딩 영역의 3' 또는 다운스트림에 위치하고 mRNA에 존재하는 서열은 3' 비번역 또는 3' 미번역 서열로 지칭된다. 용어 "유전자"는 유전자의 cDNA 및 게놈 형태를 모두 포함한다. 일부 유기체(예를 들어, 진핵생물)에서, 유전자의 게놈 형태 또는 클론은 "인트론(intron)" 또는 "개재 영역(intervening region)" 또는 "개재 서열(intervening sequence)"이라고 하는 비코딩 서열로 중단된 코딩 영역을 함유한다. 인트론은 핵 RNA(hnRNA)로 전사되는 유전자의 일부이다; 인트론은 인핸서(enhancer)와 같은 조절 요소를 함유할 수 있다. 인트론은 핵 또는 1차 성적표에서 제거되거나 "분리"된다. 따라서 인트론은 메신저 RNA(mRNA) 전사체에 없다. mRNA는 번역 중에 기능하여 초기(nascent) 폴리펩타이드에서 아미노산의 서열 또는 순서를 지정한다.

[0174] 인트론을 함유하는 것 외에도, 유전자의 게놈 형태는 RNA 전사체에 존재하는 서열의 5' 및 3' 말단 모두에 위치한 서열을 포함할 수도 있다. 이들 서열은 "플랭킹(flanking)" 서열 또는 영역으로 지칭된다(이들 플랭킹 서열은 mRNA 전사체에 존재하는 비번역 서열에 대해 5' 또는 3'에 위치함). 5' 플랭킹 영역은 유전자의 전사를 제어하거나 전사에 영향을 미치는 프로모터 및 인핸서와 같은 조절 서열을 함유할 수 있다. 3' 플랭킹 영역은 전사의 종결, 전사 후 절단 및 폴리아데닐화를 지시하는 서열을 함유할 수 있다.

- [0175] 유전자를 언급할 때 용어 "야생형"은 자연 발생 공급원으로부터 분리된 유전자의 특성이 있는 유전자를 지칭한다. 유전자 산물을 언급할 때 용어 "야생형"은 자연 발생 공급원으로부터 분리된 유전자 산물의 특성이 있는 유전자 산물을 지칭한다. 대상물에 적용되는 용어 "자연 발생"은 대상물이 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 의미한다. 예를 들어, 자연의 공급원으로부터 분리될 수 있고 실험실에서 사람의 손에 의해 의도적으로 변형되지 않은 유기체(바이러스 포함)에 존재하는 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열은 자연 발생인 것이다. 야생형 유전자는 종종 집단에서 가장 빈번하게 관찰되는 유전자 또는 대립 유전자이며, 따라서 유전자의 "정상" 또는 "야생형" 형태로 임의로 지정된다. 대조적으로, 유전자 또는 유전자 산물을 언급할 때 용어 "변형된" 또는 "돌연변이"는 야생형 유전자 또는 유전자 산물과 비교할 때 각각 서열 및/또는 기능적 특성(예를 들어, 변경된 특성)에서 변형을 나타내는 유전자 또는 유전자 산물을 지칭한다. 자연 발생 돌연변이는 분리될 수 있음을 주목한다; 이들은 야생형 유전자 또는 유전자 산물과 비교할 때 특성이 변경되었다는 사실로 확인된다.
- [0176] 용어 "대립 유전자"는 유전자의 변이를 지칭하며; 변이는 변이체 및 돌연변이체, 다형성 유전자좌, 및 단일 뉴클레오타이드 다형성 유전자좌, 프레임시프트(frameshift) 및 스플라이스 돌연변이를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 대립 유전자는 집단에서 자연 발생하거나 집단의 임의의 특정 개체의 일생 동안 발생할 수 있다.
- [0177] 뉴클레오타이드 서열에 관하여 사용될 때 용어 "변이체" 및 "돌연변이체"는 하나 이상의 뉴클레오타이드가 다른, 일반적으로 관련된 뉴클레오타이드 산 서열과 다른 핵산 서열을 지칭한다. "변이"는 2개의 다른 뉴클레오타이드 서열 간의 차이이다; 전형적으로 하나의 서열이 기준 서열이다.
- [0178] "증폭"은 템플릿 특이성을 포함하는 핵산 복제의 특별한 경우이다. 이는 비특이적 템플릿 복제(예를 들어, 템플릿에 따라 다르지만 특정 템플릿에 의존하지 않는 복제)와 대조된다. 여기서 템플릿 특이성은 복제 충실도(예를 들어, 적절한 폴리뉴클레오타이드 서열의 합성) 및 뉴클레오타이드(리보- 또는 데옥시리보-) 특이성과 구별된다. 템플릿 특이성은 "표적" 특이성 측면에서 자주 설명된다. 표적 서열은 다른 핵산으로부터 분류하고자 하는 의미에서 "표적"이다. 증폭 기술은 주로 이러한 분류를 위해 설계되었다.
- [0179] 핵산과 관련하여 용어 "증폭하는(amplifying)" 또는 "증폭(amplification)"은 전형적으로 소량의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 단일 폴리뉴클레오타이드 분자)로부터 시작하는 폴리뉴클레오타이드의 다중 카피 또는 폴리뉴클레오타이드의 일부의 생성을 의미하고, 여기서 증폭 산물 또는 앰플리콘이 일반적으로 검출될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드의 증폭은 다양한 화학적 및 효소적 과정을 포함한다. 중합효소 연쇄 반응(PCR) 또는 리가아제 연쇄 반응(ligase chain reaction, LCR; 예를 들어, 미국 특허 제5,494,810호 참조; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨) 동안 표적 또는 템플릿 DNA 분자의 하나 또는 몇 개의 카피로부터 다중 DNA 카피의 생성은 증폭의 형태이다. 추가 유형의 증폭은 대립 유전자 특이적 PCR(예를 들어, 미국 특허 제5,639,611호 참조; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 어셈블리 PCR(참조: 예를 들어, 미국 특허 제5,965,408호; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 헬리카제 의존적 증폭(참조: 예를 들어, 미국 특허 제7,662,594호; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 핫-스타트 PCR(참조: 예를 들어, 미국 특허 제5,773,258호 및 제5,338,671호; 각각 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 서열간 특이적 PCR, 역 PCR(참조: 예를 들어, Triglia, 등 (1988) Nucleic Acids Res., 16: 8186; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 결찰 매개된 PCR(참조: 예를 들어, Guilfoyle, R. 등, Nucleic Acids Research, 25: 1854-1858 (1997); 미국 특허 제5,508,169호; 각각 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 메틸화 특이적 PCR(참조: 예를 들어, Herman, 등, (1996) PNAS 93(13) 9821-9826 참조; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 미니프라이머 PCR, 다중 결찰 의존성 프로브 증폭(참조: 예를 들어, Schouten, 등, (2002) Nucleic Acids Research 30(12): e57; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 다중 PCR(참조: 예를 들어, Chamberlain, 등, (1988) Nucleic Acids Research 16(23) 11141-11156; Ballabio, 등, (1990) Human Genetics 84(6) 571-573; Hayden, 등, (2008) BMC Genetics 9:80; 각각 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 네스티드(nested) PCR, 중첩-확장 PCR(참조: 예를 들어, Higuchi, 등, (1988) Nucleic Acids Research 16(15) 7351-7367; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 실시간 PCR(참조: 예를 들어, Higuchi, 등, (1992) Biotechnology 10: 413-417; Higuchi, 등, (1993) Biotechnology 11: 1026-1030; 각각 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 역전사 PCR(참조: 예를 들어, Bustin, SA (2000) J. Molecular Endocrinology 25: 169-193 참조; 그 전체가 본원에 참조로 포함됨), 고체상 PCR, 열 비대칭 인터레이스(thermal asymmetric interlaced) PCR 및 터치다운(Touchdown) PCR(참조: 예를 들어, Don, 등, Nucleic Acids Research (1991) 19(14) 4008; Roux, K. (1994) Biotechniques 16(5) 812-814; Hecker, 등, (1996) Biotechniques 20(3) 478-485; 각각 그 전체가 본원에 참조로 포함됨)을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 폴리뉴클레오타이드 증폭은 또한 디지털 PCR을 사용하여 수행할 수 있다(참조: 예를 들어, Kalinina, 등, Nucleic Acids Research. 25: 1999-2004, (1997); Vogelstein and Kinzler, Proc Natl Acad Sci USA. 96: 9236-41, (1999); 국제 특허 공개 제W005023091A2호; 미국 특허출원공보 제20070202525호; 각각

그 전체가 본원에 참조로 포함됨).

- [0180] 용어 "중합효소 연쇄 반응"("PCR")은 클로닝 또는 정제 없이 게놈 또는 기타 DNA 또는 RNA의 혼합물에서 표적 서열의 세그먼트 농도를 증가시키는 방법을 설명하는 K.B. Mullis 미국 특허 제4,683,195호, 제4,683,202호 및 제4,965,188호의 방법을 지칭한다. 표적 서열을 증폭하기 위한 이 과정은 원하는 표적 서열을 함유하는 DNA 혼합물에 과량의 2개의 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 도입한 다음, DNA 중합효소의 존재하에 정확한 순서의 열 순환을 도입하는 것으로 구성된다. 상기 2개의 프라이머는 이중 가닥 표적 서열의 각 가닥에 대해 상보적이다. 증폭을 수행하기 위해, 상기 혼합물을 변성시키고 상기 프라이머를 표적 분자 내의 상보적 서열에 어닐링한다. 어닐링 후, 상기 프라이머는 새로운 쌍의 상보적 가닥을 형성하기 위해 중합효소로 확장된다. 변성, 프라이머 어닐링 및 중합효소 연장 단계를 여러 번 반복(즉, 변성, 어닐링 및 연장은 하나의 "주기"를 구성한다; 여러 "주기"가 있을 수 있다)하여 원하는 표적 서열의 고농도의 증폭된 세그먼트를 수득할 수 있다. 원하는 표적 서열의 증폭된 세그먼트의 길이는 서열에 대한 프라이머의 상대적 위치에 의해 결정되므로, 이 길이는 제어 가능한 매개변수이다. 공정의 반복적인 측면으로 인해, 이 방법은 "중합효소 연쇄 반응"("PCR")으로 지칭된다. 표적 서열의 원하는 증폭된 세그먼트가 상기 혼합물에서 우세한 서열(농도 측면)이 되기 때문에, 이들은 "PCR 증폭"이라고 하며 "PCR 산물" 또는 "앰플리콘"이다. 당해 분야의 기술자는 용어 "PCR"이, 예를 들어, 실시간 PCR, 중첩된 PCR, 역전사 PCR(RT-PCR), 단일 프라이머 및 임의로 프라이밍된 PCR 등을 사용하는 원래 기재된 방법의 많은 변이체를 포함한다는 것을 이해할 것이다.
- [0181] 템플릿 특이성은 효소 선택에 의해 대부분의 증폭 기술에서 달성된다. 증폭 효소는 사용되는 조건에서 이중의 핵산 혼합물에서 특정 핵산 서열만 처리하는 효소이다. 예를 들어, Q-베타 복제효소(Q-beta replicase)의 경우 MDV-1 RNA는 상기 복제효소에 대한 특정 템플릿이다(Kacian 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 69: 3038 [1972]). 다른 핵산은 이 증폭 효소에 의해 복제되지 않는다. 유사하게, T7 RNA 중합효소의 경우, 이 증폭 효소는 자체 프로모터에 대해 엄격한 특이성을 가지고 있다(Chamberlin 등, Nature, 228: 227 [1970]). T4 DNA 리가아제의 경우, 이 효소는 결찰 접합부에서 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 기질과 템플릿 사이에 불일치가 있는 2개의 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드를 결찰하지 않는다(Wu and Wallace (1989) Genomics 4: 560). 마지막으로, 고온에서 기능할 수 있는 능력으로 인해 내열성 템플릿 의존성 DNA 중합효소(예를 들어, Taq 및 Pfu DNA 중합효소)는 경계가 있는 서열에 대해 높은 특이성을 나타내므로 프라이머에 의해 정의된다; 상기 고온은 비표적 서열과의 혼성화가 아닌 표적 서열과의 프라이머 혼성화를 선호하는 열역학적 조건을 초래한다(H.A. Erlich (ed.), PCR Technology, Stockton Press [1989]).
- [0182] 본원에 사용된 용어 "핵산 검출 검정"은 관심 핵산의 뉴클레오타이드 조성을 결정하는 임의의 방법을 지칭한다. 핵산 검출 검정은 DNA 시퀀싱 방법, 프로브 혼성화 방법, 구조 특이적 절단 검정(예를 들어, INVADER 검정(Hologic, Inc.))이고, 예를 들어, 모든 목적을 위해 각각 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제5,846,717호, 제5,985,557호, 제5,994,069호, 제6,001,567호, 제6,090,543호 및 제6,872,816호; Lyamichev 등, Nat. Biotech., 17: 292 (1999), Hall 등, PNAS, USA, 97: 8272 (2000) 및 미국 특허 제9,096,893호에 기술되어 있음); 효소 불일치 절단 방법(예를 들어, Variagenics, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제6,110,684호, 제5,958,692호, 제5,851,770호); 상술한 중합효소 연쇄 반응(PCR); 분지형 혼성화 방법(예를 들어, Chiron, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제5,849,481호, 제5,710,264호, 제5,124,246호 및 제5,624,802호); 롤링 서클 복제(예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제6,210,884호, 제6,183,960호 및 제6,235,502호); NASBA(예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제5,409,818호); 분자 비콘(beacon) 기술(예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제6,150,097호); E-센서 기술(Motorola, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제6,248,229호, 제6,221,583호, 제6,013,170호 및 제6,063,573호); 사이클링 프로브 기술(예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제5,403,711호, 제5,011,769호 및 제5,660,988호); Dade Behring 신호 증폭 방법(예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제6,121,001호, 제6,110,677호, 제5,914,230호, 제5,882,867호 및 제5,792,614호); 리가아제 연쇄 반응(예를 들어, Baranay Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 189-93 (1991)); 및 샌드위치 혼성화 방법(예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제5,288,609호)을 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0183] 용어 "증폭 가능한 핵산"은 임의의 증폭 방법에 의해 증폭될 수 있는 핵산을 지칭한다. "증폭 가능한 핵산"은 일반적으로 "샘플 템플릿"을 포함하는 것으로 고려된다.
- [0184] 용어 "샘플 템플릿"은 "표적"(아래 정의됨)의 존재에 대해 분석된 샘플에서 유래한 핵산을 의미한다. 대조적으로, "배경 템플릿"은 샘플에 존재하거나 존재하지 않을 수 있는 샘플 템플릿 이외의 핵산과 관련하여 사용된다. 배경 템플릿은 대부분 우연에 의한 것이다. 이것은 캐리오버(carryover)의 결과이거나 샘플로부터 정제하려는

핵산 오염 물질의 존재 때문일 수 있다. 예를 들어, 검출되지 않은 유기체로부터의 핵산은 테스트 샘플에서 배경으로 존재할 수 있다.

[0185] 용어 "프라이머"는, 예를 들어, 제한 분해(restriction digest)로부터의 핵산 단편으로서 자연 발생하거나 합성적으로 생성되는 올리고뉴클레오타이드를 지칭하며, 이는 핵산 템플릿 가닥에 상보적인 프라이머 확장 산물의 합성이 유도되는 조건하에(예를 들어, 뉴클레오타이드, 및 DNA 중합 효소와 같은 유도제의 존재하에 적절한 온도 및 pH에서) 배치될 때 합성 개시점으로서 작용할 수 있다. 프라이머는 증폭에서 최대 효율을 위해 바람직하게는 단일 가닥이지만, 대안적으로 이중 가닥일 수 있다. 이중 가닥이면, 프라이머는 확장 산물을 준비하는 데 사용되기 전에 먼저 그 가닥을 분리하기 위해 처리된다. 바람직하게는, 프라이머는 올리고데옥시리보뉴클레오타이드이다. 프라이머는 유도제의 존재하에 연장 산물의 합성을 프라이밍하기에 충분히 길어야 한다. 프라이머의 정확한 길이는 온도, 프라이머 공급원 및 방법 사용을 포함한 여러 요인에 따라 달라진다.

[0186] 용어 "프로브"는 정제된 제한 분해에서와 같이 자연 발생하는 합성, 재조합 또는 PCR 증폭에 의해 생성되든 관계없이 다른 관심 올리고뉴클레오타이드에 혼성화할 수 있는 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열)를 지칭한다. 프로브는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 프로브는 특정 유전자 서열의 검출, 식별 및 분리에 유용하다(예를 들어, "포획 프로브(capture probe)"). 본 발명에 사용되는 임의의 프로브는 일부 구현예에서 임의의 "리포터 분자(reporter molecule)"로 표지(label)될 수 있으며, 이에 제한되지는 않지만 효소(예를 들어, ELISA 뿐만 아니라 효소 기반 조직화학 검정), 형광, 방사성 및 발광 시스템을 포함하는 임의의 검출 시스템에서 검출될 수 있는 것으로 고려된다. 본 발명이 임의의 특정 검출 시스템 또는 표지로 제한되는 것은 아니다.

[0187] 본원에 사용된 용어 "표적"은, 예를 들어, 프로브 결합, 증폭, 분리, 포획 등에 의해 다른 핵산으로부터 분류하고자 하는 핵산을 지칭한다. 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응과 관련하여 사용될 때, "표적"은 중합효소 연쇄 반응에 사용되는 프라이머에 의해 결합된 핵산의 영역을 지칭하는 반면, 표적 DNA가 증폭되지 않은 검정에서 사용될 때, 예를 들어, 침습성 절단 검정의 일부 구현예에서, 표적은 프로브 및 침습성 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, INVADER 올리고뉴클레오타이드)가 결합하여 침습성 절단 구조를 형성하여 표적 핵산의 존재가 검출될 수 있는 부위를 포함한다. "세그먼트"는 표적 서열 내의 핵산 영역으로 정의된다.

[0188] 본원에 사용된 "메틸화"는 사이토신의 C5 또는 N4 위치, 아데닌의 N6 위치, 또는 다른 유형의 핵산 메틸화에서의 사이토신 메틸화를 지칭한다. 일반적인 시험관 내 DNA 증폭 방법은 증폭 템플릿의 메틸화 패턴을 유지하지 않기 때문에 시험관 내 증폭된 DNA는 일반적으로 메틸화되지 않는다. 그러나, "메틸화되지 않은 DNA" 또는 "메틸화 DNA"는 또한 본래 템플릿이 각각 메틸화되지 않은 또는 메틸화된 증폭된 DNA를 지칭할 수 있다.

[0189] 따라서, 본원에 사용된 "메틸화 뉴클레오타이드" 또는 "메틸화 뉴클레오타이드 염기"는 뉴클레오타이드 염기상의 메틸 모이어티의 존재를 지칭하며, 여기서 메틸 모이어티는 인식된 전형적인 뉴클레오타이드 염기에 존재하지 않는다. 예를 들어, 사이토신은 피리미딘 고리에 메틸 모이어티를 함유하지 않지만 5-메틸사이토신은 피리미딘 고리의 5 위치에 메틸 모이어티를 함유한다. 따라서 사이토신은 메틸화 뉴클레오타이드가 아니며 5-메틸사이토신은 메틸화 뉴클레오타이드이다. 또 다른 예에서, 티민은 피리미딘 고리의 5 위치에 메틸 모이어티를 함유한다; 그러나, 본원의 목적상 티민은 DNA의 전형적인 뉴클레오타이드 염기이기 때문에 DNA에 존재할 때 메틸화 뉴클레오타이드로 간주되지 않는다.

[0190] 본원에 사용된 "메틸화 핵산 분자"는 하나 이상의 메틸화 뉴클레오타이드를 함유하는 핵산 분자를 지칭한다.

[0191] 본원에 사용된, 핵산 분자의 "메틸화 상태(methylation state)", "메틸화 프로파일(methylation profile)" 및 "메틸화 정도(methylation status)"는 핵산 분자에 하나 이상의 메틸화 뉴클레오타이드 염기가 존재하지 않는 것을 지칭한다. 예를 들어, 메틸화 사이토신을 함유하는 핵산 분자는 메틸화된 것으로 간주된다(예를 들어, 핵산 분자의 메틸화 상태는 메틸화됨). 메틸화 뉴클레오타이드를 함유하지 않는 핵산 분자는 메틸화되지 않은 것으로 간주된다.

[0192] 특정 핵산 서열(예를 들어, 유전자 마커 또는 본원에 기술된 DNA 영역)의 메틸화 상태는 서열 내 모든 염기의 메틸화 상태를 나타낼 수 있거나, 서열 내 (예를 들어, 하나 이상의 사이토신의) 염기의 하위세트의 메틸화 상태를 나타낼 수 있거나, 메틸화가 발생하는 서열 내 위치에 대한 정확한 정보를 제공하거나 제공하지 않고 서열 내 국소적 메틸화 밀도에 관한 정보를 나타낼 수 있다.

[0193] 핵산 분자에서 뉴클레오타이드 유전자좌의 메틸화 상태는 핵산 분자의 특정 유전자좌에서 메틸화 뉴클레오타이드의 존재 또는 부재를 의미한다. 예를 들어, 핵산 분자의 7번째 뉴클레오타이드에 존재하는 뉴클레오타이드가

5-메틸사이토신일 때, 핵산 분자의 7번째 뉴클레오타이드에서의 사이토신의 메틸화 상태는 메틸화된다. 유사하게, 핵산 분자의 7번째 뉴클레오타이드에 존재하는 뉴클레오타이드가 사이토신(5-메틸사이토신이 아님)일 때, 핵산 분자의 7번째 뉴클레오타이드에서의 사이토신의 메틸화 상태는 메틸화되지 않는다.

[0194] 메틸화 상태는 선택적으로 (예를 들어, 메틸화 빈도, 분율, 비율, 백분율 등을 나타내는) "메틸화 값"으로 표시되거나 나타낼 수 있다. 메틸화 값은, 예를 들어, 메틸화 의존성 제한 효소로 제한 분해 후 존재하는 온전한 핵산의 양을 정량화하여 또는 중아황산염 반응 후 증폭 프로파일을 비교하여 또는 중아황산염 처리된 핵산과 처리되지 않은 핵산의 서열을 비교하여 생성할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 메틸화 값과 같은 값은 메틸화 상태를 나타내므로 유전자좌의 여러 카피에 걸쳐 메틸화 정도의 정량 지표로 사용될 수 있다. 이것은 샘플에서 서열의 메틸화 정도를 역치 또는 기준 값과 비교하는 것이 바람직한 경우에 특히 유용하다.

[0195] 본원에 사용된 "메틸화 빈도" 또는 "메틸화 백분율(%)"은 분자 또는 유전자좌가 메틸화되지 않은 경우의 수에 비해 분자 또는 유전자좌가 메틸화되는 경우의 수를 의미한다.

[0196] 따라서, 메틸화 상태는 핵산(예를 들어, 게놈 서열)의 메틸화 정도를 설명한다. 또한, 메틸화 상태는 메틸화와 관련된 특정 게놈 유전자좌에서 핵산 세그먼트의 특성을 나타낸다. 이러한 특성에는 이 DNA 서열 내의 임의의 사이토신(C) 잔기가 메틸화되었는지 여부, 메틸화 C 잔기(들)의 위치, 핵산의 임의의 특정 영역 전체에 걸친 메틸화 C의 빈도 또는 백분율, 및, 예를 들어, 대립 유전자의 기원 차이로 인한 메틸화의 대립 유전자 차이가 포함되나 이에 제한되지 않는다. 용어 "메틸화 상태", "메틸화 프로파일" 및 "메틸화 정도"는 또한 생물학적 샘플에서 핵산의 임의의 특정 영역에 걸친 메틸화 C 또는 비메틸화 C의 상대 농도, 절대 농도 또는 패턴을 지칭한다. 예를 들어, 핵산 서열 내의 사이토신(C) 잔기(들)가 메틸화되면 "과메틸화" 또는 "증가된 메틸화"로 지칭될 수 있는 반면, DNA 서열 내의 사이토신(C) 잔기(들)가 메틸화되지 않으면 "저메틸화" 또는 "감소된 메틸화"로 지칭될 수 있다. 마찬가지로, 핵산 서열 내의 사이토신(C) 잔기(들)가 (예를 들어, 다른 영역 또는 다른 개체 등으로부터의) 다른 핵산 서열과 비교하여 메틸화되면, 그 서열은 다른 핵산 서열과 비교하여 과메틸화되거나 메틸화가 증가된 것으로 간주된다. 대안적으로, DNA 서열 내의 사이토신(C) 잔기(들)가 (예를 들어, 다른 영역 또는 다른 개체 등으로부터의) 다른 핵산 서열과 비교하여 메틸화되지 않으면, 그 서열은 다른 핵산 서열과 비교하여 저메틸화되거나 메틸화가 감소된 것으로 간주된다. 추가로, 본원에 사용된 용어 "메틸화 패턴"은 핵산 영역에 걸친 메틸화 및 비메틸화 뉴클레오타이드의 집합적 부위를 지칭한다. 메틸화 및 비메틸화 뉴클레오타이드의 수가 영역 전체에서 동일하거나 유사하지만 메틸화 및 비메틸화 뉴클레오타이드의 위치가 다를 때 2개의 핵산은 동일하거나 유사한 메틸화 빈도 또는 메틸화 백분율을 가질 수 있지만 다른 메틸화 패턴을 가질 수 있다. 서열은 정도(예를 들어, 하나가 다른 것에 비해 메틸화가 증가 또는 감소함), 빈도 또는 메틸화 패턴면에서 다를 때 "차등적으로 메틸화"된다고 하거나 "메틸화 차이" 또는 "다른 메틸화 상태"를 갖는다고 한다. 용어 "차등 메틸화"는 암 음성 샘플에서 핵산 메틸화의 수준 또는 패턴과 비교한 암 양성 샘플에서 핵산 메틸화의 수준 또는 패턴의 차이를 의미한다. 또한, 수술 후 암이 재발한 환자와 재발하지 않은 환자 간의 수준이나 패턴의 차이를 지칭할 수도 있다. 차등 메틸화 및 DNA 메틸화의 특정 수준 또는 패턴은, 예를 들어, 올바른 컷오프(cut-off) 또는 예측 특성이 정의되면 예후 및 예측 바이오마커이다.

[0197] 메틸화 상태 빈도는 개체 집단 또는 단일 개체의 샘플을 설명하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 메틸화 상태 빈도가 50%인 뉴클레오타이드 유전자좌는 사례의 50%가 메틸화되고 사례의 50%는 메틸화되지 않는다. 이러한 빈도는, 예를 들어, 뉴클레오타이드 유전자좌 또는 핵산 영역이 개체 집단 또는 핵산 집합에서 메틸화되는 정도를 설명하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 핵산 분자의 첫 번째 집단 또는 풀의 메틸화가 핵산 분자의 두 번째 집단 또는 풀의 메틸화와 다를 때, 첫 번째 집단 또는 풀의 메틸화 상태 빈도는 두 번째 집단 또는 풀의 메틸화 상태 빈도와 다를 것이다. 이러한 빈도는 또한, 예를 들어, 단일 개체에서 뉴클레오타이드 유전자좌 또는 핵산 영역이 메틸화되는 정도를 설명하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 이러한 빈도는 조직 샘플의 세포 그룹이 뉴클레오타이드 유전자좌 또는 핵산 영역에서 메틸화되거나 메틸화되지 않는 정도를 설명하는 데 사용될 수 있다.

[0198] 본원에 사용된 "뉴클레오타이드 유전자좌"는 핵산 분자에서 뉴클레오타이드의 위치를 의미한다. 메틸화 뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 유전자좌는 핵산 분자에서 메틸화 뉴클레오타이드의 위치를 의미한다.

[0199] 전형적으로, 인간 DNA의 메틸화는 인접한 구아닌 및 사이토신을 포함하는 디 뉴클레오타이드 서열에서 발생하며, 여기서 사이토신은 구아닌의 5'에 위치한다(CpG 디뉴클레오타이드 서열이라고도 함). CpG 디뉴클레오타이드 내의 대부분의 사이토신은 인간 게놈에서 메틸화되지만, 일부는 CpG 섬으로 알려진 특정 CpG 디뉴클레오타이드가 풍부한 게놈 영역에서 메틸화되지 않은 채로 남아 있다(참조: 예를 들어, Antequera 등 (1990) *CeIl* 62 : 503-514).

- [0200] 본원에 사용된 "CpG 섬"은 전체 게놈 DNA에 비해 증가된 수의 CpG 디뉴클레오타이드를 함유하는 게놈 DNA의 G:C가 풍부한 영역을 지칭한다. CpG 섬은 길이가 적어도 100개, 200개 또는 그 이상의 염기쌍일 수 있으며, 여기서 상기 영역의 G:C 함량은 적어도 50%이고 예상 빈도에 대한 관찰된 CpG 빈도의 비율은 0.6이다; 일부 사례에서 CpG 섬은 길이가 적어도 500개의 염기쌍일 수 있으며, 여기서 상기 영역의 G:C 함량은 55% 이상이고 예상 빈도에 대한 관찰된 CpG 빈도의 비율은 0.65이다. 예상 빈도에 대한 관찰된 CpG 빈도는 Gardiner-Garden 등 (1987) *J. Mol. Biol.* **196**: 261-281에 제공된 방법에 따라 계산할 수 있다. 예를 들어, 예상 빈도에 대한 관찰된 CpG 빈도는 공식 $R = (A \times B) / (C \times D)$ 에 따라 계산할 수 있는데, 여기서 R은 예상 빈도에 대한 관찰된 CpG 빈도의 비율이고, A는 분석된 서열의 CpG 디뉴클레오타이드의 수이고, B는 분석된 서열의 총 뉴클레오타이드 수이고, C는 분석된 서열의 총 C 뉴클레오타이드 수이고, D는 분석된 서열의 총 G 뉴클레오타이드 수이다. 메틸화 상태는 일반적으로, 예를 들어, 프로모터 영역의 CpG 섬으로 결정된다. 인간 게놈의 다른 서열은 CpA 및 CpT와 같은 DNA 메틸화에 취약하다는 것을 알 수 있을 것이다(참조: Ramsahoye (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**: 5237-5242; Salmon 및 Kaye (1970) *Biochim. Biophys. Acta.* **204**: 340-351; Grafstrom (1985) *Nucleic Acids Res.* **13**: 2827-2842; Nyce (1986) *Nucleic Acids Res.* **14**: 4353-4367; Woodcock (1987) *Biochem. Biophys. Res. Commun* **145**: 888-894).
- [0201] 본원에 사용된 "메틸화 특이적 시약"은 핵산 분자의 메틸화 상태의 함수로서 핵산 분자의 뉴클레오타이드를 변형하는 시약을 지칭하거나, 메틸화 특이적 시약을 지칭하고, 핵산 분자의 메틸화 상태를 반영하는 방식으로 핵산 분자의 뉴클레오타이드 서열을 변경할 수 있는 화합물 또는 조성물 또는 다른 제제를 지칭한다. 핵산 분자를 그러한 시약으로 처리하는 방법은, 원하는 경우, 뉴클레오타이드 서열의 원하는 변화를 달성하기 위해 추가 단계와 함께 핵산 분자를 상기 시약과 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 이러한 방법은 메틸화되지 않은 뉴클레오타이드(예를 들어, 각각의 메틸화되지 않은 사이토신)가 다른 뉴클레오타이드로 변형되는 방식으로 적용될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 이러한 시약은 메틸화되지 않은 사이토신 뉴클레오타이드를 탈아미노화하여 테옥시 우라실 잔기를 생성할 수 있다. 이러한 시약의 예는 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약을 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0202] 메틸화 특이적 시약에 의한 핵산 뉴클레오타이드 서열의 변화는 각각의 메틸화 뉴클레오타이드가 다른 뉴클레오타이드로 변형되는 핵산 분자를 생성할 수도 있다.
- [0203] 용어 "메틸화 검정"은 핵산 서열 내에서 하나 이상의 CpG 디뉴클레오타이드 서열의 메틸화 상태를 결정하기 위한 임의의 검정을 지칭한다.
- [0204] 용어 "MS AP-PCR"(Methylation-Sensitive Arbitrarily-Primed Polymerase Chain Reaction)은 CG가 풍부한 프라이머를 사용하여 게놈을 전체적으로 스캔하여 CpG 디뉴클레오타이드를 함유할 가능성이 가장 큰 영역에 초점을 맞출 수 있고 Gonzalgo 등 (1997) *Cancer Research* **57**: 594-599에 기술되어 있는 당해 분야에서 인식된 기술을 말한다.
- [0205] 용어 "MethyLight™"는 Eads 등 (1999) *Cancer Res.* **59**: 2302-2306에 의해 기술된 당해 분야에서 인식된 형광 기반 실시간 PCR 기술을 의미한다.
- [0206] 용어 "HeavyMethyl™"은 증폭 프라이머 사이의 CpG 위치를 커버하거나 증폭 프라이머에 의해 커버되는 CpG 위치를 덮는 메틸화 특이적 차단 프로브(본원에서는 차단제로도 지칭됨)가 핵산 샘플의 메틸화 특이적 선택적 증폭을 가능하게 하는 검정을 지칭한다.
- [0207] 용어 "HeavyMethyl™ MethyLight™" 검정은 MethyLight™ 검정의 변형인 HeavyMethyl™ MethyLight™ 검정을 지칭하며, 여기서 MethyLight™ 검정은 증폭 프라이머 사이의 CpG 위치를 커버하는 메틸화 특이적 차단 프로브와 결합된다.
- [0208] 용어 "Ms-SNuPE"(Methylation-sensitive Single Nucleotide Primer Extension)는 Gonzalgo & Jones (1997) *Nucleic Acids Res.* **25**: 2529-2531에 기술된 당해 분야에서 인식된 검정을 지칭한다.
- [0209] 용어 "MSP"(Methylation-specific PCR)는 문헌(Herman 등 (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 9821-9826) 및 미국 특허 제5,786,146호에 기술된 당해 분야에서 인식된 메틸화 검정을 지칭한다.
- [0210] 용어 "COBRA"(Combined Bisulfite Restriction Analysis)는 Xiong & Laird (1997) *Nucleic Acids Res.* **25**: 2532-2534에 기술된 당해 분야에서 인식된 메틸화 검정을 지칭한다.
- [0211] 용어 "MCA"(Methylated CpG Island Amplification)는 Toyota 등 (1999) *Cancer Res.* **59**: 2307-12 및 WO

00/26401A1에 기술된 메틸화 검정을 지칭한다.

- [0212] 본원에 사용된 "선택된 뉴클레오타이드"는 핵산 분자(DNA의 경우 C, G, T 및 A, RNA의 경우 C, G, U 및 A)에서 전형적으로 발생하는 4개의 뉴클레오타이드 중 하나의 뉴클레오타이드를 지칭하며, 전형적으로 발생하는 뉴클레오타이드의 메틸화 유도체를 포함하고(예를 들어, C가 선택된 뉴클레오타이드일 때, 메틸화 C와 메틸화되지 않은 C는 모두 선택된 뉴클레오타이드의 의미에 포함됨), 반면 메틸화된 선택된 뉴클레오타이드는 특히 메틸화된 전형적으로 발생하는 뉴클레오타이드를 지칭하고 메틸화되지 않은 선택된 뉴클레오타이드는 특히 메틸화되지 않은 전형적으로 발생하는 뉴클레오타이드를 지칭한다.
- [0213] 용어 "메틸화 특이적 제한 효소"는 인식 부위의 메틸화 상태에 따라 핵산을 선택적으로 분해하는 제한 효소를 지칭한다. 인식 부위가 메틸화되지 않았거나 반메틸화되면 특별히 절단하는 제한 효소(메틸화 민감성 효소)의 경우, 인식 부위가 한 가닥 또는 두 가닥 모두에서 메틸화되면 절단은 일어나지 않을 것이다(또는 현저히 감소된 효율성으로 발생한다). 인식 부위가 메틸화될 때 특별히 절단하는 제한 효소(메틸화 의존성 효소)의 경우, 인식 부위가 메틸화되지 않으면 절단은 일어나지 않을 것이다(또는 현저히 감소된 효율성으로 발생한다). 바람직한 것은 인식 서열이 CG 디뉴클레오타이드(예를 들어, CGCG 또는 CCCGGG와 같은 인식 서열)를 함유하는 메틸화 특이적 제한 효소이다. 일부 구현예에 대해 추가로 바람직한 것은 이 디뉴클레오타이드의 사이토신이 탄소 원자 C5에서 메틸화되면 절단되지 않는 제한 효소이다.
- [0214] 본원에서 사용된 "다른 뉴클레오타이드"는 선택된 뉴클레오타이드와 화학적으로 다른 뉴클레오타이드를 지칭하며, 전형적으로 다른 뉴클레오타이드는 선택된 뉴클레오타이드와 다른 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기쌍 특성을 가지며, 이에 따라 선택된 뉴클레오타이드에 상보적인 전형적으로 발생하는 뉴클레오타이드는 다른 뉴클레오타이드에 상보적인 전형적으로 발생하는 뉴클레오타이드와 동일하지 않다. 예를 들어, C가 선택된 뉴클레오타이드일 때, U 또는 T는 다른 뉴클레오타이드일 수 있는데, 이는 G에 대한 C의 상보성 및 A에 대한 U 또는 T의 상보성에 의해 예시된다. 본원에 사용된 바와 같이, 선택된 뉴클레오타이드에 상보적이거나 다른 뉴클레오타이드에 상보적인 뉴클레오타이드는 높은 엄격성 조건하에서 4개의 전형적으로 발생하는 뉴클레오타이드 중 3개와의 상보적 뉴클레오타이드의 염기쌍보다 더 높은 친화도로 선택된 뉴클레오타이드 또는 다른 뉴클레오타이드와 염기쌍을 이루는 뉴클레오타이드를 지칭한다. 상보성의 예는 DNA(예를 들어, A-T 및 C-G) 및 RNA(예를 들어, A-U 및 C-G)의 왓슨-크릭 염기쌍이다. 따라서, 예를 들어, 높은 엄격성 조건하에서 G, A 또는 T와 G 염기쌍보다 C와 G 염기쌍이 더 높은 친화성을 갖고, 따라서 C가 선택된 뉴클레오타이드일 때, G는 선택된 뉴클레오타이드에 대해 상보적인 뉴클레오타이드이다.
- [0215] 본원에 사용된, 주어진 마커(또는 함께 사용된 마커 세트)의 "민감도"는 신생물 샘플과 비신생물 샘플을 구별하는 역치를 초과하는 DNA 메틸화 값을 보고하는 샘플의 백분율을 지칭한다. 일부 구현예에서, 양성 역치를 초과하는 DNA 메틸화 값(예를 들어, 질병과 관련된 범위)을 보고하는 조직학 확인된 신생물로 정의되고, 위음성(false negative)은 역치를 미만의 DNA 메틸화 값(예를 들어, 질병과 관련 없는 범위)을 보고하는 조직학 확인된 신생물로 정의된다. 따라서 민감도 값은 알려진 질병 샘플에서 수득한 주어진 마커에 대한 DNA 메틸화 측정이 질병 관련 측정 범위에 있을 확률을 반영한다. 본원에 정의된 바와 같이, 계산된 민감도 값의 임상 관련성은 주어진 마커가 해당 상태를 가진 대상체에게 적용될 때 임상 상태의 존재를 감지할 확률의 추정을 나타낸다.
- [0216] 본원에 사용된, 주어진 마커(또는 함께 사용된 마커 세트)의 "특이성"은 신생물 샘플과 비신생물 샘플을 구별하는 역치 미만의 DNA 메틸화 값을 보고하는 비신생물 샘플의 백분율을 지칭한다. 일부 구현예에서, 음성은 역치 미만의 DNA 메틸화 값(예를 들어, 질병과 관련 없는 범위)을 보고하는 조직학 확인된 비신생물 샘플로 정의되고, 위양성(false positive)은 역치를 초과하는 DNA 메틸화 값(예를 들어, 질병과 관련된 범위)을 보고하는 조직학 확인된 비신생물 샘플로 정의된다. 따라서 특이성 값은 알려진 비신생물 샘플에서 수득한 주어진 마커에 대한 DNA 메틸화 측정이 질환 관련이 아닌 측정 범위에 있을 확률을 반영한다. 본원에 정의된 바와 같이, 계산된 특이성 값의 임상 관련성은 주어진 마커가 해당 상태가 없는 환자에게 적용될 때 임상 상태의 부재를 감지할 확률의 추정을 나타낸다.
- [0217] 본원에 사용된 용어 "AUC"는 "곡선 아래 면적(area under a curve)"의 약어이다. 특히 수신자 작동 특성(Receiver Operating Characteristic, ROC) 곡선 아래 면적을 나타낸다. ROC 곡선은 진단 테스트의 여러 가능한 컷 포인트에 대한 위양성 비율에 대한 참양성(true positive) 비율의 플롯이다. 선택된 컷 포인트에 따라 민감도와 특이성 사이의 균형을 보여준다(민감도의 임의의 증가는 특이성의 감소를 동반한다). ROC 곡선 아래 면적(AUC)은 진단 테스트의 정확도에 대한 척도이다(면적이 클수록 좋다; 최적 값은 1이다; 무작위 테스트는 0.5 면적의 대각선에 ROC 곡선을 배치한다; 참고: J. P. Egan. (1975) *Signal Detection Theory and ROC Analysis*,

Academic Press, New York).

- [0218] 본원에 사용된 용어 "신생물"은 조직의 임의의 새로운 비정상 성장을 지칭한다. 따라서 신생물은 전악성 신생물 (premalignant neoplasm) 또는 악성 신생물일 수 있다.
- [0219] 본원에 사용된 용어 "신생물 특이적 마커"는 신생물의 존재를 표시하기 위해 사용될 수 있는 임의의 생물학적 물질 또는 요소를 지칭한다. 생물학적 물질의 예는 제한 없이 핵산, 폴리펩타이드, 탄수화물, 지방산, 세포 성분(예를 들어, 세포막 및 미토콘드리아) 및 전체 세포를 포함한다. 일부 예에서, 마커는 특정 핵산 영역(예를 들어, 유전자, 유전자 내 영역, 특정 유전자좌 등)이다. 마커인 핵산 영역은, 예를 들어, "마커 유전자", "마커 영역", "마커 서열", "마커 유전자좌" 등으로 지칭될 수 있다.
- [0220] 본원에 사용된 용어 "선종(adenoma)"은 선 기원(glandular origin)의 양성 종양을 지칭한다. 이러한 성장은 양성이지만 시간이 지남에 따라 악성으로 진행될 수 있다.
- [0221] 용어 "전암성(pre-cancerous)" 또는 "전신생물성(pre-neoplastic)" 및 이의 증가물은 악성 형질전환을 겪고 있는 임의의 세포 증식성 장애를 지칭한다.
- [0222] 신생물, 선종, 암 등의 "부위"는 신생물, 선종, 암 등이 있는 대상체의 신체의 조직, 기관, 세포 유형, 해부학적 영역, 신체 부위 등이다.
- [0223] 본원에 사용된 "진단" 테스트 애플리케이션은 대상체의 질병 상태 또는 병태의 검출 또는 식별, 대상체가 주어진 질병 또는 상태에 걸릴 가능성 결정, 질병 또는 병태가 있는 대상체가 치료에 반응할 가능성 결정, 질병 또는 병태(또는 이의 가능성이 있는 진행 또는 퇴행)가 있는 대상체의 예후 결정, 및 질병 또는 병태가 있는 대상체에 대한 치료 효과 결정을 포함한다. 예를 들어, 진단은 신생물에 걸린 대상체의 존재 또는 가능성, 또는 그러한 대상체가 화합물(예를 들어, 약제, 예를 들어, 약물) 또는 다른 치료에 유리하게 반응할 가능성을 검출하기 위해 사용될 수 있다.
- [0224] "단리된 올리고뉴클레오타이드"에서와 같이 핵산과 관련하여 사용될 때 용어 "단리된"은 천연 공급원에서 통상적으로 결합되는 적어도 하나의 오염 핵산으로부터 확인 및 분리된 핵산 서열을 지칭한다. 단리된 핵산은 자연에서 발견되는 것과 다른 형태 또는 설정으로 존재한다. 반대로, DNA 및 RNA와 같은 단리되지 않은 핵산은 자연에 존재하는 상태로 발견된다. 단리되지 않은 핵산의 예는 다음을 포함한다: 인접 유전자에 근접한 숙주 세포 염색체에서 발견되는 주어진 DNA 서열(예를 들어, 유전자); 다수의 단백질을 코딩하는 수많은 다른 mRNA와의 혼합물로 세포에서 발견되는 특정 단백질을 코딩하는 특정 mRNA 서열과 같은 RNA 서열. 그러나 특정 단백질을 코딩하는 단리된 핵산은, 예를 들어, 일반적으로 단백질을 발현하는 세포의 핵산을 포함하는데, 여기서 상기 핵산은 자연 세포와 다른 염색체 위치에 있거나 자연에서 발견되는 것과 다른 핵산이 옆에 있다. 단리된 핵산 또는 올리고뉴클레오타이드는 단일 가닥 또는 이중 가닥 형태로 존재할 수 있다. 단리된 핵산 또는 올리고뉴클레오타이드가 단백질을 발현하는 데 사용되는 경우, 올리고뉴클레오타이드는 최소한 센스 또는 코딩 가닥을 포함하지만(즉, 올리고뉴클레오타이드는 단일 가닥일 수 있음) 센스 및 안티센스 가닥 둘 다를 포함할 수 있다(즉, 올리고뉴클레오타이드는 이중 가닥일 수 있음). 단리된 핵산은 자연적 또는 전형적 환경으로부터 분리된 후 다른 핵산 또는 분자와 결합될 수 있다. 예를 들어, 단리된 핵산은, 예를 들어, 이중 발현을 위해 그것이 배치된 숙주 세포에 존재할 수 있다.
- [0225] 용어 "정제된"은 자연 환경에서 제거되거나 단리되거나 분리된 핵산 또는 아미노산 서열인 분자를 의미한다. 따라서 "단리된 핵산 서열"은 정제된 핵산 서열일 수 있다. "실질적으로 정제된" 분자는 자연적으로 결합된 다른 성분이 적어도 60%, 바람직하게는 적어도 75%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%가 없다. 본원에 사용된 용어 "정제된" 또는 "정제하다"는 또한 샘플에서 오염 물질을 제거하는 것을 지칭한다. 오염 단백질을 제거하면 샘플에서 관심 폴리펩타이드 또는 핵산의 비율이 증가한다. 또 다른 예에서, 재조합 폴리펩타이드는 식물, 박테리아, 효모 또는 포유류 숙주 세포에서 발현되고 폴리펩타이드는 숙주 세포 단백질의 제거에 의해 정제된다; 이에 의해 재조합 폴리펩타이드의 비율이 샘플에서 증가한다.
- [0226] 주어진 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 폴리펩타이드를 "포함하는 조성물" 용어는 광범위하게 주어진 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 폴리펩타이드를 함유하는 임의의 조성물을 지칭한다. 상기 조성물은 염(예를 들어, NaCl), 세제(예를 들어, SDS) 및 기타 성분(예를 들어, 덴하르트 용액(Denhardt's solution), 분유, 연어 정자 DNA 등)을 함유하는 수용액을 포함할 수 있다.
- [0227] 용어 "샘플"은 가장 넓은 의미로 사용된다. 어떤 의미에서 이것은 동물 세포 또는 조직을 나타낼 수 있다. 다른 의미에서 이것은 생물학 및 환경 샘플뿐만 아니라 임의의 공급원에서 수득한 표본 또는 배양물을 의미한다. 생

물학적 샘플은 식물이나 동물(인간 포함)에서 수득할 수 있으며 체액, 고체, 조직 및 가스를 포함한다. 환경 샘플은 표면 물질, 토양, 물 및 산업 샘플과 같은 환경 재료가 포함된다. 이러한 예는 본 발명에 적용 가능한 샘플 유형을 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0228] 본원에 사용된, 일부 상황에서 사용되는 "원격 샘플(remote sample)"은 샘플의 세포, 조직 또는 기관 공급원 샘플이 아닌 현장에서 간접적으로 수집된 샘플과 관련된다. 예를 들어, 채장에서 유래한 샘플 물질을 (예를 들어, 난소에서 직접 채취한 샘플이 아닌)대변 샘플에서 평가하는 경우, 샘플은 원격 샘플이다

[0229] 본원에 사용된 용어 "환자" 또는 "대상체"는 본 기술에 의해 제공되는 다양한 테스트를 받을 유기체를 지칭한다. 용어 "대상체"는 동물, 바람직하게는 인간을 포함한 포유동물을 포함한다. 바람직한 구현예에서, 대상체는 영장류이다. 더욱더 바람직한 구현예에서, 대상체는 인간이다. 또한 진단 방법과 관련하여, 바람직한 대상체는 척추동물 대상체이다. 바람직한 척추동물은 온혈 동물이다; 바람직한 온혈 척추동물은 포유동물이다. 바람직한 포유동물은 가장 바람직하게는 인간이다. 본원에 사용된 용어 "대상체"는 인간 및 동물 대상체를 모두 포함한다. 따라서 수의학적 치료 용도가 본원에서 제공된다. 따라서 본 기술은 인간과 같은 포유동물뿐만 아니라 시베리아 호랑이와 같이 멸종 위기에 처한 중요한 포유동물; 인간이 소비하기 위해 농장에서 자란 동물과 같이 경제적으로 중요한 동물; 및/또는 인간에게 사회적으로 중요한 동물, 예컨대 애완동물 또는 동물원에 기르는 동물을 진단한다. 그러한 동물의 예는 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다: 고양이 및 개와 같은 육식 동물; 돼지(pig), 거세돼지(hog) 및 멧돼지(wild boar)를 포함한 돼지(swine); 소, 황소, 양, 기린, 사슴, 염소, 들소 및 낙타와 같은 반추 동물 및/또는 유체류(ungulate); 기각류(pinniped); 및 말. 따라서 가축 돼지, 반추 동물, 유체류, 말(경마 포함) 등을 포함하나 이에 제한되지 않는 가축도 진단한다. 지금 개시되는 주제는 대상체의 폐암을 진단하기 위한 시스템을 추가로 포함한다. 예를 들어, 상기 시스템은 생물학적 샘플을 수집한 대상체의 폐암 위험을 스크리닝하거나 폐암을 진단하는 데 사용할 수 있는 상용 키트로서 제공될 수 있다. 본 기술에 따라 제공되는 예시적인 시스템은 본원에 기술된 마커의 메틸화 상태를 평가하는 것을 포함한다.

[0230] 본원에 사용된 용어 "키트"는 물질을 전달하기 위한 임의의 전달 시스템을 지칭한다. 반응 검정의 맥락에서, 이러한 전달 시스템은 반응 시약(예를 들어, 적절한 용기 내 올리고뉴클레오타이드, 효소 등) 및/또는 보조물(supporting materials)(예를 들어, 완충액, 검정 등을 수행하기 위한 서면 설명서)을 한 위치에서 다른 위치로 저장, 운반 또는 전달하는 시스템을 포함한다. 예를 들어, 키트는 관련 반응 시약 및/또는 보조물이 들어있는 하나 이상의 인클로저(enclosure)(예를 들어, 상자)를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "프래그먼트 키트(fragmented kit)"는 각각 전체 키트 구성요소의 일부를 함유하는 2개 이상의 개별 용기를 포함하는 전달 시스템을 지칭한다. 상기 용기는 의도된 수령인에게 함께 또는 별도로 전달될 수 있다. 예를 들어, 첫 번째 용기에는 검정에 사용하기 위한 효소가 들어있을 수 있는 반면, 두 번째 용기에는 올리고뉴클레오타이드가 들어 있다. 용어 "프래그먼트 키트"는 연방 식품, 의약품 및 화장품법(Federal Food, Drug, and Cosmetic Act)의 섹션 520(e)에 따라 규제되는 분석물 특정 시약(Analyte specific reagents, ASR)을 함유하는 키트를 포함하는 것으로 의도되나 이에 제한되지 않는다. 실제로, 각각 전체 키트 구성요소의 일부를 함유하는 2개 이상의 개별 용기를 포함하는 전달 시스템은 용어 "프래그먼트 키트"에 포함된다. 대조적으로, "통합 키트(combined kit)"는 단일 용기(예를 들어, 각각의 원하는 구성요소를 수용하는 단일 박스)에 모든 반응 검정 구성요소를 포함하는 전달 시스템을 지칭한다. 용어 "키트"는 프래그먼트 키트와 통합 키트를 모두 포함한다.

[0231] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "난소암"은 전통적으로 진단된 난소암, 나팔관암 및 원발성 복막암을 포함하지만 이에 제한되지 않는 난소에서 발생하는 임의의 암성 성장을 지칭한다. 일부 구현예에서, 난소암은 난소 조직에서 형성되는 암의 유형이다. 다른 구현예에서, 난소암은 난소 상피 암종(난소 표면의 세포에서 시작되는 암) 또는 악성 생식 세포 종양(난(egg) 세포에서 시작하는 암)이다.

[0232] 본원에 사용된 용어 "정보"는 사실 또는 데이터의 임의의 수집물을 지칭한다. 인터넷을 포함하되 이에 제한되지 않는 컴퓨터 시스템(들)을 사용하여 저장 또는 처리되는 정보와 관련하여, 이 용어는 임의의 형식(예를 들어, 아날로그, 디지털, 광학 등)으로 저장된 임의의 데이터를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "대상체와 관련된 정보"는 대상체(예를 들어, 인간, 식물 또는 동물)에 관한 사실 또는 데이터를 지칭한다. 용어 "게놈 정보"는 핵산 서열, 유전자, 메틸화 백분율, 대립 유전자 빈도, RNA 발현 수준, 단백질 발현, 유전자형과 관련된 표현형 등을 포함하나 이에 제한되지 않는 게놈에 관한 정보를 지칭한다. "대립 유전자 빈도 정보"는 대립 유전자 신원, 대립 유전자의 존재와 대상체(예를 들어, 인간 대상체)의 특성 사이의 통계적 상관 관계, 개체 또는 집단에서 대립 유전자의 존재 또는 부재, 하나 이상의 특정한 특징을 갖는 개체에게 대립 유전자가 존재할 가능성의 백분율 등을 포함하되 이에 제한되지 않는 대립 유전자 빈도와 관련된 사실 또는 데이터를 지칭한다.

[0233] 상세한 설명

[0234] 다양한 구현예의 이 상세한 설명에서, 설명의 목적으로, 개시된 구현예의 완전한 이해를 제공하기 위해 다수의 특정 세부 사항이 제시된다. 그러나 당해 분야의 기술자는 이러한 다양한 구현예가 이러한 특정 세부 사항을 포함하거나 포함하지 않고 실시될 수 있음을 인식할 것이다. 다른 경우에는 구조와 장치가 블록 다이어그램 형식으로 표시된다. 또한, 당해 분야의 기술자는 방법이 제시되고 수행되는 특정 순서가 예시적이라는 것을 쉽게 인식할 수 있으며, 그 순서가 변경될 수 있으며 본원에 개시된 다양한 구현예의 사상 및 범위 내에 여전히 남아 있는 것으로 생각된다.

[0235] 본원에서는 난소암 스크리닝을 위한 기술, 특히, 비제한적으로, 난소암 및/또는 특정 형태의 난소암 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)의 존재를 검출하기 위한 방법, 조성물 및 관련 용도에 대해 기술이 제공된다. 상기 기술이 본원에 설명되어 있으므로, 사용된 섹션 제목은 구성 목적으로만 사용되며 어떤 방식으로든 주제를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0236] 실제로, 실시예 I, II 및 III에 기술된 바와 같이, 본 발명에 대한 구현예를 확인하기 위한 과정 동안 수행된 실험은 난소 유래 DNA의 암을 비-신생물성 대조군 DNA로부터 구별하기 위한 560개의 차등적 메틸화 영역(DMR)의 신규 세트를 확인하였다. 이 560개의 신규 DNA 메틸화 마커로부터, 추가 실험을 통해 상이한 유형의 난소암을 정상 조직 및 혈장 샘플과 구별할 수 있는 마커를 확인하였다. 예를 들어, 1) 투명 세포 난소암 조직을 정상 조직으로부터 구별하고, 2) 자궁내막양 난소암 조직을 정상 조직으로부터 구별하고, 3) 점액성 난소암 조직을 정상 조직으로부터 구별하고, 4) 장액성 난소암 조직을 정상 조직으로부터 구별하고, 및 5) 혈액 샘플의 난소암을 구별할 수 있는 별도의 DMR 세트가 확인되었다.

[0237] 본원의 개시 내용이 특정 예시된 구현예를 언급하지만, 이들 구현예는 제한이 아닌 예로서 제시된다는 것을 이해해야 한다.

[0238] 특정 양태에서, 본 기술은 암 예컨대 난소암 및/또는 하위유형의 난소암 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)을 확인, 결정 및/또는 분류하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 방법은 대상체로부터 단리된 생물학적 샘플 (예를 들어, 대변 샘플, 난소 조직 샘플, 혈장 샘플)에서 적어도 하나의 메틸화 마커의 메틸화 상태를 결정하는 것을 포함하며, 상기 마커의 메틸화 상태의 변화는 난소암 및/또는 이의 하위유형의 존재, 부류, 또는 부위를 나타낸다. 특정 구현예는 난소암 및 다양한 난소암의 유형 (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)의 진단(예를 들어, 스크리닝)에 사용되는 차등적 메틸화 영역(DMR, 예를 들어, DMR 1-560, 표 1A 및 6A 참조)을 포함하는 마커에 관한 것이다.

[0239] 본원에 제공되고 표 1A 및 6A에 나열된 DMR(예를 들어, DMR 1-560과 같은 DMR)을 포함하는 적어도 하나의 마커, 마커 영역 또는 마커의 염기의 메틸화 분석이 분석되는 구현예에 추가하여, 본 기술은 또한 암, 특히 난소암의 검출을 위해 유용한 DMR을 포함하는 적어도 하나의 마커, 마커 영역 또는 마커의 염기를 포함하는 마커 패널을 제공한다.

[0240] 본 기술의 일부 구현예는 DMR을 포함하는 적어도 하나의 마커, 마커 영역 또는 마커의 염기의 CpG 메틸화 정도의 분석을 기반으로 한다.

[0241] 일부 구현예에서, 본 기술은 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약)과 DMR(예를 들어, DMR 1-560, 표 1A 및 6A 참조)을 포함하는 적어도 하나의 마커 내에서 CpG 디뉴클레오타이드 서열의 메틸화 상태를 결정하기 위한 하나 이상의 메틸화 검정과의 조합 사용을 제공한다. 게놈 CpG 디뉴클레오타이드는 메틸화되거나 메틸화되지 않을 수 있다(대안으로 각각 업- 및 다운-메틸화라고도 함). 그러나 본 발명의 방법은 원격 샘플(예를 들어, 혈액, 기관 유출물 또는 대변)의 배경 내에서 이종 특성의 생물학적 샘플, 예를 들어, 저농도 종양 세포 또는 그로부터 유래된 생물학적 물질의 분석에 적합하다. 따라서 이러한 샘플 내 CpG 위치의 메틸화 상태를 분석할 때 특정 CpG 위치에서 메틸화 수준(예를 들어, 백분율, 분율, 비, 비율 또는 정도)을 결정하기 위해 정량 검정을 사용할 수 있다.

[0242] 본 기술에 따르면, DMR을 포함하는 마커에서 CpG 디뉴클레오타이드 서열의 메틸화 상태의 결정은 난소암과 같은 암의 진단 및 특성화 모두에 유용하다.

[0243] 마커 조합

[0244] 일부 구현예에서, 본 기술은 표 1A 및 6A의 DMR(예를 들어, DMR 번호 1-560)을 포함하는 마커 조합의 메틸화 상태를 평가하는 것에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 하나 초과 마커의 메틸화 상태를 평가하는 것은 대상체에

서 신생물(예를 들어, 난소암)을 확인하기 위한 스크리닝 또는 진단의 특이성 및/또는 민감도를 증가시킨다.

[0245] 예를 들어, 예측 특이성 및 민감도와 관련된 통계적 기술로 식별되는 것과 같이 다양한 마커 조합에 의해 다양한 암이 예측된다. 이 기술은 일부 암에 대한 예측 조합 및 검증된 예측 조합을 식별하는 방법을 제공한다.

[0246] 메틸화 상태를 검정하는 방법

[0247] 특정 구현예에서, 5-메틸사이토신의 존재에 대한 핵산 분석 방법은 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 DNA를 처리하는 것을 포함한다. 이러한 시약의 예는 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소 및 중아황산염 시약을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0248] 5-메틸사이토신의 존재에 대해 핵산을 분석하는 데 자주 사용되는 방법은 DNA에서 5-메틸사이토신의 검출을 위해 Frommer 등에 의해 설명된 중아황산염 방법 또는 이의 변형을 기반으로 한다(Frommer 등 (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 1827-31; 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 본원에 명시적으로 포함됨). 5-메틸사이토신을 매핑하는 중아황산염 방법은 5-메틸사이토신이 아닌 사이토신이 아황산수소 이온(중아황산염이라고도 알려짐)과 반응한다는 관찰을 기반으로 한다. 상기 반응은 일반적으로 다음 단계에 따라 수행된다; 첫째, 사이토신이 아황산수소와 반응하여 설폰화 사이토신을 형성한다. 다음으로, 설폰화 반응 중간체의 자발적 탈아미노화로 설폰화 우라실을 생성한다. 마지막으로, 설폰화 우라실이 알칼리 조건에서 탈설폰화되어 우라실을 형성한다. 우라실 염기가 아데닌과 쌍을 이루고(따라서 티민처럼 행동함), 5-메틸사이토신 염기가 구아닌과 쌍을 이루어(따라서 사이토신처럼 행동함) 검출이 가능하다. 이것은, 예를 들어, 중아황산염 게놈 시퀀싱(Grigg G, & Clark S, *Bioessays* (1994) 16: 431-36; Grigg G, *DNA Seq.* (1996) 6: 189-98), 예를 들어, 미국 특허 제5,786,146호에 개시된 바와 같은 메틸화 특이적 PCR(MSP)에 의해, 또는 서열 특이적 프로브 절단을 포함하는 분석, 예를 들어, QuARTS 플랩 엔도뉴클레아제 분석(참조: 예를 들어, Zou 등 (2010) "Sensitive quantification of methylated markers with a novel methylation specific technology" *Clin Chem* 56: A199; 및 미국 특허 제8,361,720호; 제8,715,937호; 제8,916,344호; 및 제9,212,392호)을 사용하여 메틸화 사이토신을 비메틸화 사이토신과 구별할 수 있게 한다.

[0249] 일부 기존 기술은 분석할 DNA를 아가로스 매트릭스에 둘러싸서 DNA의 확산 및 재생을 방지하고(중아황산염은 단일 가닥 DNA와만 반응함) 침전 및 정제 단계를 빠른 투석으로 대체하는 방법과 관련이 있다(Olek A, 등 (1996) "A modified and improved method for bisulfite based cytosine methylation analysis" *Nucleic Acids Res.* 24: 5064-6). 따라서 메틸화 상태에 대해 개별 세포를 분석하여 방법의 유용성과 민감도를 설명할 수 있다. 5-메틸사이토신 검출을 위한 통상적인 방법의 개요는 Rein, T., 등 (1998) *Nucleic Acids Res.* 26: 2255에 의해 제공된다.

[0250] 중아황산염 기술은 전형적으로 중아황산염 처리 후 알려진 핵산의 짧은 특정 단편을 증폭한 다음, 시퀀싱(Olek & Walter (1997) *Nat. Genet.* 17: 275-6) 또는 프라이머 확장 반응(Gonzalzo & Jones (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 2529-31; WO 95/00669; 미국 특허 제6,251,594호)을 통해 생성물을 검정하여 개별 사이토신 위치를 분석하는 것을 포함한다. 일부 방법은 효소 분해를 사용한다(Xiong & Laird (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 2532-4). 혼성화에 의한 검출도 당해 분야에 기술되어 있다(Olek 등, WO 99/28498). 또한, 개별 유전자와 관련하여 메틸화 검출을 위한 중아황산염 기술의 사용이 설명되었다(Grigg & Clark (1994) *Bioessays* 16 : 431-6; Zeschnick 등 (1997) *Hum Mol Genet.* 6: 387-95; Feil 등 (1994) *Nucleic Acids Res.* 22: 695; Martin 등 (1995) *Gene* 157: 261-4; WO 9746705; WO 9515373).

[0251] 본 기술에 따른 중아황산염 처리와 함께 다양한 메틸화 검정 절차를 사용할 수 있다. 이러한 검정은 핵산 서열 내에서 하나 또는 복수의 CpG 디뉴클레오타이드(예를 들어, CpG 섬)의 메틸화 상태를 결정할 수 있게 한다. 이러한 검정은 다른 기술 중에서도 중아황산염 처리된 핵산의 시퀀싱, PCR(서열 특이적 증폭용), 서던 블롯 분석 및 메틸화 특이적 제한 효소, 예를 들어, 메틸화 민감성 또는 메틸화 의존성 효소의 사용을 포함한다.

[0252] 예를 들어, 중아황산염 처리를 사용함으로써 메틸화 패턴 및 5-메틸사이토신 분포 분석을 위해 게놈 시퀀싱이 단순화되었다(Frommer 등 (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 1827-1831). 또한, 중아황산염 전환된 DNA에서 증폭된 PCR 산물의 제한 효소 분해는, 예를 들어, Sadri & Hornsby (1997) *Nucl. Acids Res.* 24: 5058-5059에 의해 기술된 바와 같이 또는 COBRA(Combined Bisulfite Restriction Analysis)(Xiong & Laird (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 2532-2534)로 알려진 방법으로 구현되는 바와 같이 메틸화 상태를 평가하는 데 사용된다.

[0253] COBRA™ 분석은 소량의 게놈 DNA에서 특정 유전자좌에서 DNA 메틸화 수준을 결정하는 데 유용한 정량 메틸화 검

정이다(Xiong & Laird, Nucleic Acids Res. 25: 2532-2534, 1997). 간단히 말해서, 제한 효소 분해는 중아황산나트륨 처리된 DNA의 PCR 산물에서 메틸화 의존적 서열 차이를 밝히는 데 사용된다. 메틸화 의존적 서열 차이는 Frommer 등에 의해 설명된 절차에 따라 표준 중아황산염 처리에 의해 먼저 게놈 DNA에 도입된다(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 1827-1831, 1992). 중아황산염 변환된 DNA의 PCR 증폭은 관심 CpG 섬에 특이적인 프라이머의 사용에 이은 제한 엔도뉴클레아제 분해, 겔 전기영동 및 특정 표지된 혼성화 프로브를 사용한 검출을 사용하여 수행된다. 원래 DNA 샘플의 메틸화 수준은 광범위한 DNA 메틸화 수준에 걸쳐 선형 정량 방식으로 분해 및 분해되지 않은 PCR 산물의 상대적인 양으로 표시된다. 또한, 이 기술은 미세절개된(microdissected) 파라핀 봉입 조직 샘플에서 수득한 DNA에 안정적으로 적용될 수 있다.

[0254] COBRA™ 분석을 위한 전형적인 시약(예를 들어, 전형적인 COBRA™ 기반 키트에서 발견될 수 있는 것)은 다음을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다: 특정 유전자좌를 위한 PCR 프라이머(예를 들어, 특정 유전자, 마커, DMR, 유전자 영역, 마커 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬 등); 제한 효소 및 적절한 완충액; 유전자 혼성화 올리고뉴클레오타이드; 대조군 혼성화 올리고뉴클레오타이드; 올리고뉴클레오타이드 프로브용 키나제 라벨링 키트; 및 표지된 뉴클레오타이드. 추가로, 중아황산염 전환 시약은 다음을 포함할 수 있다: DNA 변성 완충액; 선평화 완충액; DNA 회수 시약 또는 키트(예를 들어, 침전, 한외 여과, 친화성 겔럼); 탈선평화 완충액; 및 DNA 회수 성분. "MethyLight™"(형광 기반 실시간 PCR 기술)(Eads 등, Cancer Res. 59: 2302-2306, 1999), Ms-SNuPE™(메틸화 민감성 단일 뉴클레오타이드 프라이머 확장) 반응(Gonzalzo & Jones, Nucleic Acids Res. 25: 2529-2531, 1997), 메틸화 특이적 PCR("MSP"; Herman 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 9821-9826, 1996; 미국 특허 제5,786,146호) 및 메틸화 CpG 섬 증폭("MCA"; Toyota 등, Cancer Res. 59: 2307-12, 1999)과 같은 분석은 단독으로 또는 이러한 방법 중 하나 이상과 함께 사용된다.

[0255] "HeavyMethyl™" 검정 기술은 중아황산염 처리된 DNA의 메틸화 특이적 증폭을 기반으로 메틸화 차이를 평가하는 정량 방법이다. 증폭 프라이머 사이에 CpG 위치를 덮는 또는 증폭 프라이머에 의해 덮이는 메틸화 특이적 차단 프로브("차단제")는 핵산 샘플의 메틸화 특이적 선택적 증폭을 가능하게 한다.

[0256] 용어 "HeavyMethyl™ MethyLight™" 검정은 MethyLight™ 검정의 변형인 HeavyMethyl™ MethyLight™ 검정을 지칭하며, 여기서 MethyLight™ 검정은 증폭 프라이머 사이의 CpG 위치를 덮는 메틸화 특이적 차단 프로브와 결합된다. HeavyMethyl™ 검정은 또한 메틸화 특정 증폭 프라이머와 함께 사용할 수 있다.

[0257] HeavyMethyl™ 분석을 위한 전형적인 시약(예를 들어, 전형적인 MethyLight™ 기반 키트에서 발견될 수 있는 것)은 다음을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다: 특정 유전자좌를 위한 PCR 프라이머(예를 들어, 특정 유전자, 마커, 유전자 영역, 마커 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬, 또는 중아황산염 처리된 DNA 서열 또는 CpG 섬 등); 차단 올리고뉴클레오타이드; 최적화된 PCR 완충액 및 테옥시뉴클레오타이드; 및 Taq 중합효소. MSP(메틸화 특이적 PCR)를 사용하면 메틸화 민감성 제한 효소의 사용과 관계없이 CpG 섬 내의 거의 모든 CpG 부위 그룹의 메틸화 상태를 평가할 수 있다(Herman 등 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 9821-9826, 1996; 미국 특허 제5,786,146호). 간단히 말해서, DNA는 메틸화되지 않았지만 메틸화되지 않은 사이토신을 우라실로 전환하는 중아황산나트륨에 의해 변형되고, 산물은 메틸화 DNA 대 메틸화되지 않은 DNA에 특이적인 프라이머로 증폭된다. MSP는 소량의 DNA만 필요하고 주어진 CpG 섬 유전자좌의 0.1% 메틸화 대립 유전자에 민감하며 파라핀 봉입된 샘플에서 추출한 DNA에서 수행할 수 있다. MSP 분석을 위한 전형적인 시약(예를 들어, 전형적인 MSP 기반 키트에서 발견될 수 있는 것)은 다음을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다: 특정 유전자좌(예를 들어, 특정 유전자, 마커, 유전자 영역, 마커 영역, 중아황산염처리된 DNA 서열, CpG 섬 등)에 대한 메틸화 및 메틸화되지 않은 PCR 프라이머; 최적화된 PCR 완충액 및 테옥시뉴클레오타이드, 및 특정 프로브.

[0258] MethyLight™ 검정은 PCR 단계 후에 추가 조작이 필요하지 않은 형광 기반 실시간 PCR(예를 들어, TaqMan®)을 활용하는 고처리량 정량 메틸화 검정이다(Eads 등, Cancer Res. 59: 2302-2306, 1999). 간단히 말해서 MethyLight™ 공정은 중아황산나트륨 반응에서 표준 절차에 따라 메틸화 의존적 서열 차이의 혼합 풀로 전환되는 게놈 DNA의 혼합 샘플로 시작된다(중아황산염 공정은 메틸화되지 않은 사이토신 잔기를 우라실로 전환한다). 형광 기반 PCR은, 예를 들어, 알려진 CpG 디뉴클레오타이드와 겹치는 PCR 프라이머를 사용하여 "편향된(biased)" 반응으로 수행된다. 서열 식별은 증폭 과정 수준과 형광 검출 과정 수준 모두에서 발생한다.

[0259] MethyLight™ 검정은 핵산, 예를 들어, 게놈 DNA 샘플에서 메틸화 패턴에 대한 정량 테스트로 사용되며, 프로브 혼성화 수준에서 서열 식별이 발생한다. 정량적 버전에서 PCR 반응은 특정 추정 메틸화 부위와 겹치는 형광 프로브의 존재하에 메틸화 특이적 증폭을 제공한다. 투입 DNA의 양에 대한 편향되지 않은 제어는 프라이머도 프로브도 어떠한 CpG 디뉴클레오타이드 위에도 놓이지 않는 반응에 의해 제공된다. 대안으로, 게놈 메틸화에 대한

정성 테스트는 알려진 메틸화 부위를 덮지 않는 대조군 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, HeavyMethyl™ 및 MSP 기술의 형광 기반 버전) 또는 잠재적인 메틸화 부위를 덮는 올리고뉴클레오타이드로 편향된 PCR 풀을 프로빙하여 달성된다.

- [0260] MethyLight™ 공정은 임의의 적합한 프로브(예를 들어, "TaqMan®" 프로브, Lightcycler® 프로브 등)와 함께 사용된다. 예를 들어, 일부 응용 분야에서는 이중 가닥 게놈 DNA를 중아황산나트륨으로 처리하고, 예를 들어, MSP 프라이머 및/또는 HeavyMethyl 차단제 올리고뉴클레오타이드를 사용하는 TaqMan® 프로브, 및 TaqMan® 프로브를 사용하는 두 세트의 PCR 반응 중 하나에 적용한다. TaqMan® 프로브는 형광 "리포터" 및 "소광제(quencher)" 분자로 이중 표지되어 있으며 상대적으로 높은 GC 함량 영역에 특이적으로 설계되어 정방향 또는 역방향 프라이머보다 PCR 사이클에서 약 10℃ 더 높은 온도에서 녹는다. 이를 통해 TaqMan® 프로브는 PCR 어닐링/확장 단계 동안 완전히 혼성화 상태를 유지할 수 있다. Taq 중합효소가 PCR 동안 새로운 가닥을 효소적으로 합성하면, 결국 어닐링된 TaqMan® 프로브에 도달하게 된다. Taq 중합효소 5'→3' 엔도뉴클레아제 활성은 TaqMan® 프로브를 분해하여 실시간 형광 검출 시스템을 사용하여 비소멸 신호의 정량 검출을 위해 형광 리포터 분자를 방출함으로써 TaqMan® 프로브를 대체한다.
- [0261] MethyLight™ 분석을 위한 전형적인 시약(예를 들어, 전형적인 MethyLight™ 기반 키트에서 발견될 수 있는 것)은 다음을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다: 특정 유전자좌(예를 들어, 특정 유전자, 마커, 유전자 영역, 마커 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬 등)에 대한 PCR 프라이머; TaqMan® 또는 Lightcycler® 프로브; 최적화된 PCR 완충액 및 데옥시뉴클레오타이드; 및 Taq 중합효소.
- [0262] QM™(정량 메틸화) 검정은 게놈 DNA 샘플의 메틸화 패턴에 대한 대체 정량 테스트로, 프로브 혼성화 수준에서 서열 식별이 발생한다. 이 정량 버전에서 PCR 반응은 특정 추정 메틸화 부위와 겹치는 형광 프로브의 존재하에 편향되지 않은 증폭을 제공한다. 투입 DNA의 양에 대한 편향되지 않은 제어는 프라이머도 프로브도 어떠한 CpG 디뉴클레오타이드 위에도 놓이지 않는 반응에 의해 제공된다. 대안으로, 게놈 메틸화에 대한 정성 테스트는 알려진 메틸화 부위를 덮지 않는 대조군 올리고뉴클레오타이드(HeavyMethyl™ 및 MSP 기술의 형광 기반 버전) 또는 잠재적인 메틸화 부위를 덮는 올리고뉴클레오타이드로 편향된 PCR 풀을 조사하여 달성된다.
- [0263] QM™ 프로세스는 증폭 프로세스에서 "TaqMan®" 프로브, Lightcycler® 프로브와 같은 적합한 프로브와 함께 사용할 수 있다. 예를 들어, 이중 가닥 게놈 DNA는 중아황산나트륨으로 처리되고 편향되지 않은 프라이머와 TaqMan® 프로브에 적용된다. TaqMan® 프로브는 형광 "리포터" 및 "소광제" 분자로 이중 표지되어 있으며 상대적으로 높은 GC 함량 영역에 특이적으로 설계되어 PCR 주기에서 정방향 또는 역방향 프라이머보다 약 10℃ 높은 온도에서 녹는다. 이를 통해 TaqMan® 프로브는 PCR 어닐링/확장 단계 동안 완전히 혼성화 상태를 유지할 수 있다. Taq 중합효소가 PCR 동안 새로운 가닥을 효소로 합성하면 결국 어닐링된 TaqMan® 프로브에 도달하게 된다. Taq 중합효소 5'→3' 엔도뉴클레아제 활성은 TaqMan® 프로브를 분해하여 실시간 형광 검출 시스템을 사용하여 비소멸 신호의 정량 검출을 위해 형광 리포터 분자를 방출함으로써 TaqMan® 프로브를 대체한다. QM™ 분석을 위한 전형적인 시약(예를 들어, 전형적인 QM™ 기반 키트에서 찾을 수 있는 것)은 다음을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다: 특정 유전자좌를 위한 PCR 프라이머(예를 들어, 특정 유전자, 마커, 유전자 영역, 마커 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬 등); TaqMan® 또는 Lightcycler® 프로브; 최적화된 PCR 완충액 및 데옥시뉴클레오타이드; 및 Taq 중합효소.
- [0264] Ms-SNuPE™ 기술은 DNA의 중아황산염 처리 후 단일 뉴클레오타이드 프라이머 확장을 기반으로 특정 CpG 부위에서 메틸화 차이를 평가하는 정량 방법이다(Gonzalzo & Jones, Nucleic Acids Res. 25:2529-2531, 1997). 간단히 말해서, 게놈 DNA는 중아황산나트륨과 반응하여 메틸화되지 않은 사이토신을 우라실로 변환하는 반면 5-메틸 사이토신은 변하지 않은 채로 둔다. 원하는 표적 서열의 증폭은 중아황산염 변환된 DNA에 특이적인 PCR 프라이머를 사용하여 수행되며, 결과 산물은 분리되어 관심 CpG 부위에서 메틸화 분석을 위한 템플릿으로 사용된다. 소량의 DNA를 분석할 수 있으며(예를 들어, 미세절개된 병리학 절편) CpG 부위에서 메틸화 상태를 결정하기 위한 제한 효소의 사용을 피할 수 있다.
- [0265] Ms-SNuPE™ 분석을 위한 전형적인 시약(예를 들어, 전형적인 Ms-SNuPE™ 기반 키트에서 찾을 수 있는 것)은 다음을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다: 특정 유전자좌를 위한 PCR 프라이머(예를 들어, 특정 유전자, 마커, 유전자 영역, 마커 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬 등); 최적화된 PCR 완충액 및 데옥시뉴클레오타이드; 겔 추출 키트; 양성 대조군 프라이머; 특정 유전자좌를 위한 Ms-SNuPE™ 프라이머; 반응 완충액(Ms-SNuPE 반응용); 및 표지된 뉴클레오타이드. 추가로, 중아황산염 변환 시약은 다음을 포함할 수 있다: DNA 변성 완충액; 설폰화 완충액; DNA 회수 시약 또는 키트(예를 들어, 침전, 한외여과, 친화성 컬럼); 탈설폰화 완충액;

및 DNA 회수 성분.

- [0266] 감소된 표현 중아황산염 시퀀싱(Reduced Representation Bisulfite Sequencing, RRBS)은 모든 메틸화되지 않은 사이토신을 우라실로 변환하기 위한 핵산의 중아황산염 처리로 시작하여 제한 효소 분해(예를 들어, MspI와 같은 CG 서열을 포함하는 부위를 인식하는 효소에 의함) 및 어댑터 리간드에 결합한 후 단편의 완전한 시퀀싱으로 시작된다. 제한 효소의 선택은 CpG 밀집 영역에 대한 단편을 풍부하게 하여 분석 중에 여러 유전자 위치에 매핑될 수 있는 중복 서열의 수를 줄인다. 이와 같이, RRBS는 시퀀싱을 위한 제한 단편의 하위세트(예를 들어, 분취 겔 전기영동을 사용한 크기 선택)를 선택함으로써 핵산 샘플의 복잡성을 줄인다. 전체 게놈 중아황산염 시퀀싱과는 달리, 제한 효소 분해에 의해 생성되는 모든 단편은 적어도 하나의 CpG 디뉴클레오타이드에 대한 DNA 메틸화 정보를 함유한다. 따라서 RRBS는 이러한 영역에서 높은 빈도의 제한 효소 절단 부위를 사용하여 프로모터, CpG 섬 및 기타 게놈 특징에 대해 샘플을 풍부하게 하여 하나 이상의 게놈 유전자좌의 메틸화 상태를 평가하는 검정을 제공한다.
- [0267] RRBS에 대한 전형적인 프로토콜은 MspI와 같은 제한 효소를 이용한 핵산 샘플 분해, 오버행 및 A-테일링 채우기, 어댑터 연결, 중아황산염 전환 및 PCR 단계로 구성된다. 예를 들어, 문헌 등 (2005) "Genome-scale DNA methylation mapping of clinical samples at single-nucleotide resolution" *Nat Methods* **7**: 133-6; Meissner 등 (2005) "Reduced representation bisulfite sequencing for comparative high-resolution DNA methylation analysis" *Nucleic Acids Res.* **33**: 5868-77 참조.
- [0268] 일부 구현예에서, 정량 대립 유전자 특이적 실시간 표적 및 신호 증폭(quantitative allele-specific real-time target and signal amplification, QuARTS) 검정을 사용하여 메틸화 상태를 평가한다. 1차 반응에서 증폭(반응 1) 및 표적 프로브 절단(반응 2); 및 2차 반응에서 FRET 절단 및 형광 신호 생성(반응 3)을 포함하여 각 QuARTS 분석에서 세 가지 반응이 순차적으로 발생한다. 표적 핵산이 특정 프라이머로 증폭되면 플랩 서열이 있는 특정 검출 프로브가 앰플리콘에 느슨하게 결합한다. 표적 결합 부위에 특이적인 침습성 올리고뉴클레오타이드의 존재는 5' 뉴클레아제, 예를 들어, FEN-1 엔도뉴클레아제가 검출 프로브와 플랩 서열 사이를 절단함으로써 플랩 서열을 방출하게 한다. 플랩 서열은 해당 FRET 카세트의 비헤어핀 부분(non-hairpin portion)에 상보적이다. 따라서 플랩 서열은 FRET 카세트에서 침습성 올리고뉴클레오타이드로서 기능하고 FRET 카세트 형광단과 형광 신호를 생성하는 소광제 사이의 절단에 영향을 미친다. 절단 반응은 표적당 여러 개의 프로브를 절단하여 플랩당 여러 개의 형광단을 방출함으로써 지수 신호 증폭을 제공할 수 있다. QuARTS는 다양한 염료가 포함된 FRET 카세트를 사용하여 단일 반응으로 여러 표적을 검출할 수 있다. 예를 들어, 각각 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된 Zou 등 (2010) "Sensitive quantification of methylated markers with a novel methylation specific technology" *Clin Chem* **56**: A199), 및 미국 특허 제8,361,720호; 제8,715,937호; 제8,916,344호; 및 제9,212,392호 참조.
- [0269] 용어 "중아황산염 시약"은 메틸화 CpG 디뉴클레오타이드 서열과 메틸화되지 않은 CpG 디뉴클레오타이드 서열을 구별하기 위해 본원에 개시된 바와 같이 유용한 중아황산염, 디설파이트, 아황산수소 또는 이들의 조합을 포함하는 시약을 지칭한다. 상기 치료 방법은 당해 분야에 공지되어 있다(예를 들어, 각각 그 전체가 참조로 포함된 PCT/EP2004/011715 및 WO 2013/116375). 일부 구현예에서, 중아황산염 처리는 n-알킬렌글리콜 또는 디에틸렌글리콜 디메틸 에테르(DME)와 같은 변성 용매의 존재하에, 또는 디옥산 또는 디옥산 유도체의 존재하에 수행된다. 일부 구현예에서 변성 용매는 1% 내지 35%(v/v) 농도로 사용된다. 일부 구현예에서, 중아황산염 반응은 크로만 유도체, 예를 들어, 6-하이드록시-2,5,7,8,-테트라메틸크로만 2-카복실산 또는 트리하이드록시벤존산 및 그의 유도체, 예를 들어, 갈산과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 스캐빈저의 존재하에 수행된다(참조: 그 전체가 참조로 포함된 PCT/EP2004/011715). 특정 바람직한 구현예에서, 중아황산염 반응은, 예를 들어, WO 2013/116375에 기술된 바와 같이 아황산수소암모늄으로 처리하는 것을 포함한다.
- [0270] 일부 구현예에서, 처리된 DNA의 단편은 본 발명에 따른 프라이머 올리고뉴클레오타이드 세트(예를 들어, 표 1C 및 6B 참조) 및 증폭 효소를 사용하여 증폭한다. 여러 DNA 세그먼트의 증폭은 하나의 동일한 반응 용기에서 동시에 수행할 수 있다. 일반적으로 증폭은 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 사용하여 수행한다. 앰플리콘은 일반적으로 길이가 100 내지 2000개인 염기쌍이다.
- [0271] 상기 방법의 또 다른 구현예에서, DMR(예를 들어, DMR 1-560, 표 1A 및 6A)을 포함하는 마커 내부 또는 근처의 CpG 위치의 메틸화 상태는 메틸화 특이적 프라이머 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 검출할 수 있다. 이 기술(MSP)은 허먼(Herman)의 미국 특허 제6,265,171호에 기술되어 있다. 중아황산염 처리된 DNA의 증폭을 위한 메틸화 상태 특이적 프라이머를 사용하면 메틸화 핵산과 메틸화되지 않은 핵산을 구별할 수 있다. MSP 프라이머 쌍

은 중아황산염 처리된 CpG 디뉴클레오타이드에 혼성화하는 하나 이상의 프라이머를 함유한다. 따라서 상기 프라이머의 서열은 하나 이상의 CpG 디뉴클레오타이드를 포함한다. 메틸화되지 않은 DNA에 특이적인 MSP 프라이머는 CpG의 C 위치에 "T"를 함유한다.

[0272] 증폭을 통해 수득한 단편은 직접 또는 간접적으로 검출 가능한 표지를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 표지는 형광 표지, 방사성핵종(radionuclide) 또는 질량 분광계에서 검출될 수 있는 전형적인 질량을 갖는 분리 가능한 분자 단편이다. 상기 표지가 질량 표지인 경우, 일부 구현예에서는 표지된 애플리콘이 단일 양 또는 음의 순전하를 가져 질량 분석기에서 더 나은 편향성이 허용된다. 검출은, 예를 들어, 매트릭스 보조 레이저 탈착/이온화 질량 분석법(matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, MALDI) 또는 전자 분무 질량 분석법(electron spray mass spectrometry, ESI)을 사용하여 수행하고 시각화할 수 있다.

[0273] 이들 분석 기술에 적합한 DNA를 분리하는 방법은 당해 분야에 공지되어 있다. 특히, 일부 구현예는 그 전체가 본원에 참조로 포함된 미국 특허출원 제13/470,251호("Isolation of Nucleic Acids")에 기술된 바와 같은 핵산 단리를 포함한다.

[0274] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 마커는 대변 샘플에 대해 수행된 QUARTS 검정에 사용된다. 일부 구현예에서, DNA 샘플을 생성하는 방법, 특히 소량(예를 들어, 100마이크로리터 미만, 60마이크로리터 미만)의 고도로 정제된 소량의 핵산을 포함하고 DNA 샘플을 테스트하는 데 사용되는 검정(예를 들어, PCR, INVADER, QuARTS 검정 등)을 저해하는 물질이 실질적으로 및/또는 효과적으로 없는 DNA 샘플을 생성하는 방법이 제공된다. 이러한 DNA 샘플은 환자로부터 채취한 샘플에 존재하는 유전자, 유전자 변이체(예를 들어, 대립 유전자) 또는 유전자 변형(gene modification)(예를 들어, 메틸화)의 존재를 정성 검출하거나 그 활성, 발현 또는 양을 정량 측정하는 진단 검정에 사용된다. 예를 들어, 일부 암은 특정 돌연변이 대립 유전자 또는 특정 메틸화 상태의 존재와 상관관계가 있으며, 따라서 이러한 돌연변이 대립 유전자 또는 메틸화 상태를 검출 및/또는 정량화하면 암의 진단 및 치료에 예측 가치가 있다. 많은 귀중한 유전자 마커가 샘플에 극히 적은 양으로 존재하며 이러한 마커를 생성하는 많은 이벤트는 드물다. 결과적으로, PCR과 같은 민감한 검출 방법조차도 검정의 검출 임계값을 충족하거나 대체하기에 충분한 적은 양의 표적을 제공하기 위해 많은 양의 DNA가 필요하다. 더욱이, 이러한 적은 양의 억제 물질의 존재는 이러한 적은 양의 표적을 검출하기 위한 이러한 검정의 정확성과 정밀도를 손상시킨다. 따라서 이러한 DNA 샘플을 생산하기 위해 부피 및 농도의 필수 관리를 제공하는 방법이 본원에 제공된다.

[0275] 일부 구현예에서, 샘플은 혈액, 혈청, 백혈구, 혈장 또는 타액을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 이러한 샘플은 당업자에게 명백한 바와 같이 당해 분야에 공지된 임의의 수의 수단에 의해 수득될 수 있다. 무세포 또는 실질적으로 무세포 샘플은 원심분리 및 여과를 포함하나 이에 제한되지 않는 당해 분야의 기술자에게 공지된 다양한 기술을 샘플에 적용함으로써 수득할 수 있다. 샘플을 수득하기 위해 침습적 기술을 사용하지 않는 것이 일반적으로 바람직하지만, 조직 균질물, 조직 절편 및 생검 표본과 같은 샘플을 수득하는 것이 여전히 바람직할 수 있다. 이 기술은 샘플을 준비하고 테스트를 위한 핵산을 제공하는 데 사용되는 방법에 제한되지 않는다. 예를 들어, 일부 구현예에서, DNA는, 예를 들어, 미국 특허 제8,808,990호 및 제9,169,511호, 및 WO 2012/155072에 기술된 바와 같은 직접 유전자 포획을 이용하여 또는 관련 방법에 의해 대변 샘플에서 또는 혈액 또는 혈장 샘플에서 분리된다.

[0276] 마커 분석은 하나의 테스트 샘플 내에서 추가 마커를 사용하여 개별적으로 또는 동시에 수행할 수 있다. 예를 들어, 여러 샘플을 효율적으로 처리하고 잠재적으로 더 큰 진단 및/또는 예후 정확도를 제공하기 위해 여러 마커를 하나의 테스트로 결합할 수 있다. 또한, 당해 분야의 기술자는 동일한 대상체로부터 여러 샘플을 (예를 들어, 연속인 시점에서) 테스트하는 값을 인식할 것이다. 이러한 일련의 샘플 테스트를 통해 시간에 따른 마커 메틸화 상태의 변화를 식별할 수 있다. 메틸화 상태의 변화 및 메틸화 상태 변화의 부재는 질병 정도에 대한 유용한 정보를 제공할 수 있는데, 여기에는 이벤트 발생 후 대략적인 시간, 구체 가능한 조직의 존재 및 양, 약물 요법의 적절성, 다양한 요법의 효과 및 미래 이벤트의 위험을 포함하여 대상체의 결과 식별을 식별하는 것이 포함되지만 이에 제한되지는 않는다. 바이오마커 분석은 다양한 물리적 형식으로 수행할 수 있다. 예를 들어, 마이크로타이터 플레이트 또는 자동화를 사용하여 많은 수의 테스트 샘플을 쉽게 처리할 수 있다. 대안으로 단일 샘플 형식을 개발하여, 예를 들어, 외래 수송 또는 응급실 설정으로 적시에 즉각적인 치료 및 진단을 수행할 수 있다.

[0277] 상기 기술의 구현예는 키트 형태로 제공되는 것이 고려된다. 키트는 본원에 기술된 조성물, 장치, 기구 등의 구현예, 및 키트 사용 설명서를 포함한다. 이러한 설명서는 샘플에서 분석물을 준비하기 위해, 예를 들어, 샘플을 수집하고 샘플에서 핵산을 준비하기 위해 적절한 방법을 설명한다. 키트의 개별 구성요소는 적절한 용기 및 포

장(예를 들어, 바이알, 상자, 블리스터 팩, 앰플, 병(jar), 병(bottle), 튜브 등)에 포장되고 구성요소는 편리한 보관, 배송 및/또는 키트 사용자에게 의한 사용을 위해 적절한 용기(예를 들어, 상자 또는 상자들)에 함께 포장된다. 액체 구성요소(예를 들어, 완충액)는 사용자에게 의해 재구성될 동결 건조된 형태로 제공될 수 있음을 이해한다. 키트는 키트의 성능을 평가, 검증 및/또는 보장하기 위한 대조군 또는 기준을 포함할 수 있다. 예를 들어, 샘플에 존재하는 핵산의 양을 검정하기 위한 키트는 비교를 위한 동일한 또는 다른 핵산의 알려진 농도를 포함하는 대조군과, 일부 구현예에서는 대조군 핵산에 특이적인 검출 시약(예를 들어, 프라이머)을 포함할 수 있다. 키트는 임상 환경에서 사용하기에 적합하며, 일부 양태에서는 사용자의 집에서 사용하기에 적합하다. 키트의 구성요소는 일부 구현예에서 샘플로부터 핵산 용액을 준비하기 위한 시스템의 기능을 제공한다. 일부 구현예에서, 시스템의 특정 구성요소는 사용자에게 의해 제공된다.

[0278] 방법

[0279] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0280] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 DMR(예를 들어, DMR 1-560, 예를 들어, 표 1A 및 6A에서 제공된 것)을 포함하는 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

[0281] 2) 난소암, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 또는 장액성 OC(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)를 검출하는 단계.

[0282] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0283] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELMO1_A, ELMO1_B, ELMO1_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDF1, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, ST8SIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTF, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3 로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

[0284] 2) 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

[0285] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0286] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CDO1 (예를 들어, CDO1_A, CDO1_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

[0287] 2) 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

[0288] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0289] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A,

ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333으로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오티드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

[0290] 2) 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

[0291] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0292] 1) 대상체로부터 얻은 혈액 샘플(예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플) 내의 CA-125의 수준을 측정하는 단계.

[0293] 2) 대상체로부터 얻은 핵산 (예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 혈액 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플)로부터 분리된 것)을 ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, 및 SIM2_A로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오티드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

[0294] 3) 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

[0295] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0296] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 분리된 것)을 MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오티드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

[0297] 2) 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

[0298] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0299] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 분리된 것)을 PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오티드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

[0300] 2) 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

[0301] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0302] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 분리된 것)을 TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오티드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

[0303] 2) 투명 세포 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

[0304] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0305] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 분리된 것)을 MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CD01_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖

는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 투명 세포 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 투명 세포 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CD01_A, 및 DSCR6으로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 투명 세포 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 자궁내막양 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 자궁내막양 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, 및 C2CD4D로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 자궁내막양 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의

마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 자궁내막양 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELM01_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 점액성 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 점액성 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 점액성 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 BCAT1_6015, ELM01_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDF1_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 점액성 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTf, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 장액성 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 단리된 것)을 PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및

2) 장액성 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.

- [0343] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0344] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 분리된 것)을 NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및
- [0345] 2) 장액성 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.
- [0346] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0347] 1) 대상체로부터 얻은 핵산(예를 들어, 게놈 DNA, 예를 들어, 체액 예컨대 혈액 또는 혈장 또는 난소 조직으로부터 분리된 것)을 SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 NR2F6으로 이루어진 군으로부터 선택된 주석을 갖는 염색체 영역으로부터 선택된 적어도 하나의 마커 내의 메틸화 및 비메틸화 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약과 접촉시키는 단계, 및
- [0348] 2) 장액성 난소암(예를 들어, 80% 이상의 민감도 및 80% 이상의 특이도로 제공됨)을 검출하는 단계.
- [0349] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0350] 1) 생물학적 샘플에서의 게놈 DNA를 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계로서 (예를 들어, 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소)임, 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:
- [0351] ● AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELMO1_A, ELMO1_B, ELMO1_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, STSIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTf, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3 (표 1A, 1B, 6A, 6B; 실시예 I 참조);
- [0352] ● MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2 (표 3; 실시예 I 참조);
- [0353] ● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D (표 4A; 실시예 I 참조); 및
- [0354] ● BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 DSCR6 (표 8A; 실시예 II 참조).
- [0355] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0356] 3) 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계.
- [0357] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0358] 1) 생물학적 샘플에서의 게놈 DNA를 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플 (예를 들어, 혈액 샘플, 혈장 샘플)에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계로서 (예를 들어, 상기 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소임), 상기 하나 이상의 유전자는 GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CDO1 (예를 들어, CDO1_A, CDO1_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1로부터 선택되는, 단계;

- [0359] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0360] 3) 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계.
- [0361] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0362] 1) 생물학적 샘플에서의 게놈 DNA를 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플 (예를 들어, 혈액 샘플, 혈장 샘플)에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계로서 (예를 들어, 상기 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소임), 상기 하나 이상의 유전자는 ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333로부터 선택되는, 단계;
- [0363] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0364] 3) 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계.
- [0365] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0366] 1) 인간 개체로부터 얻은 혈액 샘플(예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플) 내의 CA-125의 수준을 측정하는 단계;
- [0367] 2) 생물학적 샘플에서의 게놈 DNA를 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리함으로써 인간 개체의 혈액 샘플 (예를 들어, 혈장 샘플, 전혈 샘플, 백혈구 샘플, 혈청 샘플)에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계로서 (예를 들어, 상기 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소임), 상기 하나 이상의 유전자는 ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E, EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, 및 SIM2_A로부터 선택되는, 단계;
- [0368] 3) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0369] 4) 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계.
- [0370] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0371] 1) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:
- [0372] ● AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELM01_A, ELM01_B, ELM01_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, STSIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTf, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3 (표 1A, 1B, 6A, 6B; 실시예 I 참조);
- [0373] ● MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-

76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2 (표 3; 실시예 I 참조);

- [0374] ● GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1 (표 9; 실시예 III 참조);
- [0375] ● ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5, DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조);
- [0376] ● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D (표 4A; 실시예 I 참조); 및
- [0377] ● BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CD01_A, 및 DSCR6 (표 8A; 실시예 II 참조).
- [0378] 2) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및
- [0379] 3) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계.
- [0380] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0381] 1) 메틸화 특이적 방식으로 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소, 및 중아황산염 시약)으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;
- [0382] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 변형된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0383] 3) 메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성 DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계.
- [0384] 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택된다:
- [0385] ● AGRN_A, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, BCAT1, CCND2_D, CMTM3_A, ELMO1_A, ELMO1_B, ELMO1_C, EMX1, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D, FAIM2_A, FLJ34208_A, GPRIN1, GYPC_A, INA_A, ITGA4_B, KCNA3_A, KCNA3_C, LBH, LIME1_A, LIME1_B, LOC646278, LRRC4, LRRC41_A, MAX.chr1.110626771-110626832, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr1.161591532-161591608, MAX.chr15.28351937-28352173, MAX.chr15.28352203-28352671, MAX.chr15.29131258-29131734, MAX.chr4.8859995-8860062, MAX.chr5.42952182-42952292, MDFI, NCOR2, NKX2-6, OPLAH_A, PARP15, PDE10A, PPP1R16B, RASSF1_B, SEPTIN9, SKI, SLC12A8, SRC_A, SSBP4_B, ST8SIA1, TACC2_A, TSHZ3, UBTf, VIM, VIPR2_A, ZBED4, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZNF382_A, ZNF469_B, ATP6V1B1_A, BZRAP1, GDF6, IFFO1_A, IFFO1_B, KCNAB2, LIMD2, MAML3_B, MAX.chr14.102172350-102172770, MAX.chr16.85482307-85482494, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr5.42993898-42994179, 및 RASAL3 (표 1A, 1B, 6A, 6B; 실시예 I 참조);
- [0386] ● GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), SIM2 (예를 들어, SIM2_A, SIM2_B), AGRN (예를 들어, AGRN_A, AGRN_B, AGRN_C, AGRN_8794), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), DSCR6, GYPC (예를 들어, GYPC_A, GYPC_B, GYPC_C), CAPN2 (예를 들어, CAPN2_A, CAPN2_B), 및 BCAT1 (표 9; 실시예 III 참조);
- [0387] ● ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CD01 (예를 들어, CD01_A, CD01_B), GP5,

DSCR6, SKI, SIM2_A, AGRN_8794, BCAT1_6015, KCNA3_7518, KCNA3_7320, LOC10013136, GYPC_C, SRC (예를 들어, SRC_A, SRC_B), NR2F6, TSHZ3, CELF2 (예를 들어, CELF2_A, CELF2_B), TACC2 (예를 들어, TACC2_A, TACC2_B), VIPR2 (예를 들어, VIPR2_A, VIPR2_B), 및 SPOCK2_74333 (표 10, 실시예 III 참조);

[0388] ● MAX.chr16.85482307-85482494, GDF6, IFFO_A, MAX.chr5.42993898-42994179, MAX.chr17.76254728-76254841, MAX.chr14.102172350-102172770, RASAL3, BZRAP1, 및 LIMD2 (표 3; 실시예 I 참조);

[0389] ● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAML3_A, SKI, DNMT3A_A, 및 C2CD4D (표 4A; 실시예 I 참조); 및

[0390] ● BCAT1_6015, SKI, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 DSCR6 (표 8A; 실시예 II 참조).

[0391] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0392] 1) 생물학적 샘플에서의 게놈 DNA를 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계로서 (예를 들어, 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소임), 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:

[0393] ● TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4 (표 2A; 실시예 I 참조);

[0394] ● MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CDO1_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D (표 4B; 실시예 I 참조);

[0395] ● NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CDO1_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D (표 5B; 실시예 I 참조); 및

[0396] ● AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CDO1_A, 및 DSCR6 (표 8B; 실시예 II 참조);

[0397] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및

[0398] 3) 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계.

[0399] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:

[0400] 1) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:

[0401] ● TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4 (표 2A; 실시예 I 참조);

[0402] ● MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CDO1_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D (표 4B; 실시예 I 참조);

[0403] ● NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CDO1_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6 및 C2CD4D(표 5B 참조, 실시예 I); 그리고

[0404] ● AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CDO1_A, 및 DSCR6 (표 8B; 실시예 II 참조);

[0405] 2) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및

[0406] 3) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 유

전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계.

- [0407] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0408] 1) 메틸화 특이적 방식으로 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소, 및 중아황산염 시약)으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;
- [0409] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 변형된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0410] 3) 메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성 DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계.
- [0411] 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택된다:
- [0412] ● TACC2_A, LRRC41_A, EPS8L2, LBH, LIME1_B, MDFI, FAIM2_A, GYPC_A, AGRN_B, 및 ZBED4 (표 2A; 실시예 I 참조);
- [0413] ● MT1A_A, CELF2_A, KCNA3_A, MDFI, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, MAX.chr14.105512178-105512224, EPS8L2_E, SKI, GPRIN1_A, MAX.chr8.142215938-142216298, CD01_A, DNMT3A_A, SIM2_A, SKI, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, PISD, 및 C2CD4D (표 4B; 실시예 I 참조);
- [0414] ● NCOR2, MT1A_B, CELF2_A, PALLD, PRDM14, PARP15, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, AGRN_B, MAX.chr6.10382190-10382225, DSCR6, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, MT1A_B, GYPC_A, BCL2L11, GDF6, 및 C2CD4D (표 5B; 실시예 I 참조); 및
- [0415] ● AGRN_8794, BHLHE23_8339, EPS8L2_F, RASSF1_8293, MDFI_6321, SKI, GYPC_C, NKX2-6_4159, LOC100131366, FAIM2_B, GPRIN1_B, LRRC41_B, TACC2_B, LBH, SIM2_B, CD01_A, 및 DSCR6 (표 8B; 실시예 II 참조).
- [0416] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0417] 1) 생물학적 샘플에서의 게놈 DNA를 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계로서 (예를 들어, 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소임), 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:
- [0418] ● PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1 (표 2B; 실시예 I 참조);
- [0419] ● NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D (표 4C; 실시예 I 참조);
- [0420] ● NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFFO1_A, 및 C2CD4D (표 5C; 실시예 I 참조); 및
- [0421] ● BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A (표 8C; 실시예 II 참조);
- [0422] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0423] 3) 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계.
- [0424] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0425] 1) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:
- [0426] ● PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1 (표 2B; 실시예 I 참조);

- [0427] ● NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D (표 4C; 실시예 I 참조);
- [0428] ● NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFF01_A, 및 C2CD4D (표 5C; 실시예 I 참조); 및
- [0429] ● BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A (표 8C; 실시예 II 참조);
- [0430] 2) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및
- [0431] 3) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계.
- [0432] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0433] 1) 메틸화 특이적 방식으로 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 DNA를 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소, 및 중아황산염 시약)으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;
- [0434] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 변형된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0435] 3) 메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성 DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파이로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계.
- [0436] 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택된다:
- [0437] ● PARP15, GPRIN1_A, GYPC1_A, FLJ34208, MAX.chr1.147790358-147790381, FAIM2_A, SH2B3, KCNQ5, IRF4, 및 BCAT1 (표 2B; 실시예 I 참조);
- [0438] ● NCOR2, CELF2_A, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, MAX.chr11.14926602-14926671, MAML3_A, SKI, GPRIN1_A, SKI, BCL2L11, 및 C2CD4D (표 4C; 실시예 I 참조);
- [0439] ● NCOR2, PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr11.14926602-14926671, DSCR6, GPRIN1_A, CD01_A, SIM2_A, IFF01_A, 및 C2CD4D (표 5C; 실시예 I 참조); 및
- [0440] ● BCAT1_6015, EPS8L2_F, SKI, NKX2-6_4159, C1QL3_B, GPRIN1_B, PARP15, OXT_C, SIM2_B, DNMT3A_A, 및 CELF2_A (표 8C; 실시예 II 참조).
- [0441] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0442] 1) 생물학적 샘플에서의 게놈 DNA를 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계로서 (예를 들어, 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소임), 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:
- [0443] ● CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELM01_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A (표 2C; 실시예 I 참조);
- [0444] ● NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2 (표 4D; 실시예 I 참조);
- [0445] ● NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11 (표 5D; 실시예 I 참조); 및
- [0446] ● BCAT1_6015, ELM01_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A (표 8D; 실시예 II 참조);
- [0447] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0448] 3) 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계.

- [0449] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0450] 1) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:
- [0451] ● CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELM01_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A (표 2C; 실시예 I 참조);
- [0452] ● NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2 (표 4D; 실시예 I 참조);
- [0453] ● NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11 (표 5D; 실시예 I 참조); 및
- [0454] ● BCAT1_6015, ELM01_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A (표 8D; 실시예 II 참조);
- [0455] 2) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및
- [0456] 3) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계.
- [0457] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0458] 1) 메틸화 특이적 방식으로 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 DNA를 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소, 및 중아황산염 시약)으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;
- [0459] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 변형된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0460] 3) 메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성 DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파이로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계.
- [0461] 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택된다:
- [0462] ● CMTM3_A, ATP10A_C, TSHZ3, ZMIZ1_B, ATP10A_B, ELM01_B, TACC2_A, LRRC4, VIM, 및 ZNF382_A (표 2C; 실시예 I 참조);
- [0463] ● NCOR2, MT1A_A, KCNA3_A, ZMIZ1_C, TACC2_A, MAX.chr1.147790358-147790381, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, BCL2L11, 및 GATA2 (표 4D; 실시예 I 참조);
- [0464] ● NCOR2, PALLD, TACC2_A, BCAT1, AGRN_B, SKI, SLC12A8, ZMIZ1_B, 및 BCL2L11 (표 5D; 실시예 I 참조); 및
- [0465] ● BCAT1_6015, ELM01_9100, KCNA3_7518, KCNA3_7320, MDFI_6321, SKI, VIPR_B, ZNF382_B, ATP10A_E, CMTM3_B, ZMIZ1_D, SRC_B, HDGFRP3, TACC2_B, TSHZ3, LBH, DNMT3A_A (표 8D; 실시예 II 참조).
- [0466] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0467] 1) 생물학적 샘플에서의 게놈 DNA를 메틸화 특이적 방식으로 DNA를 변형시키는 시약으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 메틸화 수준을 측정하는 단계로서 (예를 들어, 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소임), 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:
- [0468] ● MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTf, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A (표 2D; 실시예 I 참조);
- [0469] ● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D (표 4E; 실시예 I 참조);
- [0470] ● NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D (참고, 표 5A; 실시예 I); 및
- [0471] ● SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 NR2F6 (표 8E; 실시예 II 참조);

- [0472] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 처리된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0473] 3) 중합효소 연쇄 반응, 핵산 시퀀싱, 질량 분석법, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량 기반 분리 및 표적 포획에 의해 상기 하나 이상의 유전자의 메틸화 수준을 결정하는 단계.
- [0474] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0475] 1) 샘플로부터의 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계로서, 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택되는, 단계:
- [0476] ● MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTf, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A (표 2D; 실시예 I 참조);
- [0477] ● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D (표 4E; 실시예 I 참조);
- [0478] ● NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D (참고, 표 5A; 실시예 I); 및
- [0479] ● SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 NR2F6 (표 8E; 실시예 II 참조);
- [0480] 2) DNA에서 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계; 및
- [0481] 3) DNA에서 측정된 참조 마커 유전자의 양에 대한 백분율로서 DNA에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 유전자의 양에 대한 값을 계산하는 단계로서, 상기 값은 샘플에서 측정된 적어도 하나의 메틸화된 마커 DNA의 양을 나타내는, 단계.
- [0482] 기술의 일부 구현예에서, 하기 단계를 포함하는 방법이 제공된다:
- [0483] 1) 메틸화 특이적 방식으로 중아황산염으로 생물학적 샘플에서 게놈 DNA를 변형할 수 있는 시약(예를 들어, 메틸화 민감성 제한 효소, 메틸화 의존성 제한 효소, 및 중아황산염 시약)으로 처리함으로써 인간 개체의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 유전자에 대한 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계;
- [0484] 2) 선택된 하나 이상의 유전자에 대한 프라이머 세트를 사용하여 상기 변형된 게놈 DNA를 증폭하는 단계; 및
- [0485] 3) 메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 민감성 DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파키로시퀀싱, 또는 중아황산염 게놈 시퀀싱 PCR에 의해 CpG 부위의 메틸화 수준을 측정하는 단계.
- [0486] 상기 하나 이상의 유전자는 하기 그룹 중 하나로부터 선택된다:
- [0487] ● MAX.chr1.147790358-147790381, MAML3, NR2F6, DNMT3A_A, SKI, SOBP, UBTf, AGRN_C, MAX.chr12.30975740-30975780, 및 CAPN2_A (표 2D; 실시예 I 참조);
- [0488] ● PALLD, PRDM14, MAX.chr1.147790358-147790381, CAPN2_A, MAX.chr6.10382190-10382225, SKI, NR2F6, IFFO1_A, MT1A_B, IFFO1_B, GDF6, 및 C2CD4D (표 4E; 실시예 I 참조);
- [0489] ● NCOR2, MAX.chr1.147790358-147790381, MAX.chr6.10382190-10382225, IFFO1_A, GDF6, 및 C2CD4D (참고, 표 5A; 실시예 I); 및
- [0490] ● SKI, PEAR1_B, CAPN2_B, SIM2_B, DNMT3A_A, CDO1_A, 및 NR2F6 (표 8E; 실시예 II 참조).
- [0491] 임의의 그러한 방법 내에서, 임의의 그러한 마커에 대한 메틸화 수준을 결정하는 것은 표 1C 또는 6B에 인용된 프라이머로 달성된다.
- [0492] 바람직하게는, 이러한 방법에 대한 민감도는 약 70% 내지 약 100%, 또는 약 80% 내지 약 90%, 또는 약 80% 내지 약 85%이다. 바람직하게는, 특이성은 약 70% 내지 약 100%, 또는 약 80% 내지 약 90%, 또는 약 80% 내지 약 85%이다.
- [0493] 게놈 DNA는 상업적으로 이용 가능한 키트의 사용을 포함하여 임의의 방법으로 분리할 수 있다. 간단히 말해서, 관심 DNA가 세포막에 의해 캡슐화되는 경우 생물학적 샘플은 효소적, 화학적 또는 기계적 수단에 의해 파괴되고 용해되어야 한다. 그런 다음 DNA 용액에서 단백질 및 기타 오염 물질을, 예를 들어, 단백질 분해 효소 K로 분해하여 제거할 수 있다. 그런 다음 게놈 DNA를 용액에서 회수한다. 이것은 염석, 유기 추출, 또는 고체상 지지체로의 DNA의 결합을 포함하는 다양한 방법에 의해 수행될 수 있다. 방법의 선택은 시간, 비용 및 필요한 DNA 양

을 포함하는 여러 요인의 영향을 받는다. 신생물 물질 또는 전종양 물질을 포함하는 모든 임상 샘플 유형, 예를 들어, 세포주, 조직학적 슬라이드, 생검, 파라핀 봉입된 조직, 체액, 대변, 난소 조직, 결장 유출물, 소변, 혈장, 혈청, 전혈, 단리된 혈액 세포, 혈액에서 단리된 세포 및 이들의 조합이 본 방법에 사용하기 적합하다.

[0494] 상기 기술은 샘플을 준비하고 테스트를 위한 핵산을 제공하는 데 사용되는 방법에 제한되지 않는다. 예를 들어, 일부 구현예에서, DNA는, 예를 들어, 미국 특허출원 제61/485386호에 기술된 바와 같은 직접 유전자 포획을 이용하여 또는 관련 방법으로 대변 샘플에서 또는 혈액 또는 혈장 샘플에서 단리된다.

[0495] 그런 다음 게놈 DNA 샘플은 DMR을 포함하는 하나 이상의 마커(예를 들어, DMR 1-560, 예를 들어, 표 1A 및 6A에 의해 제공되는 것) 내의 메틸화 CpG 디뉴클레오타이드와 메틸화되지 않은 CpG 디뉴클레오타이드를 구별하는 적어도 하나의 시약 또는 일련의 시약으로 처리된다.

[0496] 일부 구현예에서, 시약은 5' 위치에서 메틸화되지 않은 사이토신 염기를 우라실, 티민, 또는 혼성화 거동 측면에서 사이토신과 유사한 또 다른 염기로 전환한다. 그러나 일부 구현예에서, 시약은 메틸화 민감성 제한 효소일 수 있다.

[0497] 일부 구현예에서, 게놈 DNA 샘플은 5' 위치에서 메틸화되지 않은 사이토신 염기가 우라실, 티민, 또는 혼성화 거동 측면에서 사이토신과 유사하지 않은 또 다른 염기로 전환되는 방식으로 처리된다. 일부 구현예에서, 이 처리는 중아황산염(아황산수소, 디설파이트)를 이용한 다음 알칼리성 가수분해로 수행된다.

[0498] 그런 다음 처리된 핵산을 분석하여 표적 유전자 서열(DMR, 예를 들어, DMR 1-560, 예를 들어, 표 1A 및 6A에 의해 제공되는 것으로부터 선택된 적어도 하나의 DMR을 포함하는 마커로부터의 적어도 하나의 유전자, 게놈 서열 또는 뉴클레오타이드)의 메틸화 상태를 결정한다. 분석 방법은 본원에 나열된 것들, 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 QuARTS 및 MSP를 포함하여 당해 분야에 공지된 것들로부터 선택될 수 있다.

[0499] 비정상적인 메틸화, 보다 구체적으로 DMR(예를 들어, DMR 1-560, 예를 들어, 표 1A 및 6A에 제공된 바와 같음)을 포함하는 마커의 과메틸화는 난소암과 연관된다.

[0500] 상기 기술은 난소암과 관련된 모든 샘플의 분석에 관한 것이다. 예를 들어, 일부 구현예에서 샘플은 환자로부터 수득한 조직 및/또는 생물학적 유체를 포함한다. 일부 구현예에서, 샘플은 분비물을 포함한다. 일부 구현예에서, 샘플은 혈액, 혈청, 혈장, 위 분비물, 체장액, 위장 생검 샘플, 유방 생검으로부터의 미세절개된 세포 및/또는 대변에서 회수된 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 샘플은 난소 조직을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 샘플은 난소, 유방, 간, 담관, 체장, 위, 결장, 직장, 식도, 소장, 충수, 십이지장, 폴립, 담낭, 항문 및/또는 복막의 세포, 분비물 또는 조직을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 샘플은 세포액, 복수, 소변, 대변, 체장액, 내시경 검사 중에 얻은 체액, 혈액, 점액 또는 타액을 포함한다. 일부 구현예에서, 샘플은 대변 샘플이다.

[0501] 이러한 샘플은 당업자에게 명백한 바와 같이 당해 분야에 공지된 임의의 수의 수단에 의해 수득될 수 있다. 예를 들어, 소변 및 대변 샘플은 쉽게 얻을 수 있는 반면, 혈액, 복수, 혈청 또는 체장액 샘플은, 예를 들어, 바늘과 주사기를 사용하여 비경구로 얻을 수 있다. 무세포 또는 실질적으로 무세포 샘플은 원심분리 및 여과를 포함하나 이에 제한되지 않는 당해 분야의 기술자에게 공지된 다양한 기술을 샘플에 적용함으로써 수득할 수 있다. 일반적으로 샘플을 수득하기 위해 침습적 기술을 사용하지 않는 것이 바람직하지만, 조직 균질물, 조직 절편 및 생검 표본과 같은 샘플을 수득하는 것이 여전히 바람직할 수 있다.

[0502] 일부 구현예에서, 기술은 환자 (예를 들어, 난소암이 있는 환자) (예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC 중 하나 이상이 있는 환자)를 치료하는 방법과 관련이 있고, 상기 방법은 본원에 제공된 바와 같은 하나 이상의 DMR의 메틸화 상태를 결정하고 상기 메틸화 상태를 결정한 결과에 기초하여 상기 환자에게 치료를 투여하는 것을 포함한다. 상기 치료는 약제학적 화합물, 백신의 투여, 수술 수행, 환자 영상화, 다른 검사 수행일 수 있다. 바람직하게는, 상기 용도는 임상 스크리닝 방법, 예후 평가 방법, 치료 결과 모니터링 방법, 특정 치료적 치료에 가장 반응할 가능성이 높은 환자를 식별하는 방법, 환자 또는 대상체를 영상화하는 방법 및 약물 스크리닝 및 개발 방법에 있다.

[0503] 본 기술의 일부 구현예에서, 대상체의 난소암을 진단하는 방법이 제공된다. 본원에 사용된 용어 "진단하는" 및 "진단"은 숙련된 기술자가 대상체가 주어진 질병 또는 병태를 앓고 있는지, 또는 주어진 질병 또는 병태가 미래에 생길 수 있는지를 추정하고 결정할 수도 있는 방법을 지칭한다. 숙련된 기술자는 종종 하나 이상의 진단 지표, 예컨대 바이오마커(예를 들어, 본원에 개시된 DMR)에 기초하여 진단을 내리며, 이의 메틸화 상태는 병태의

존재, 중증도 또는 부재를 나타낸다.

- [0504] 진단과 함께 임상 암 예후는 암의 공격성과 종양 재발 가능성을 결정하여 가장 효과적인 치료법을 계획하는 것과 관련이 있다. 더 정확한 예후를 만들 수 있거나 암 발병의 잠재적 위험을 평가할 수 있다면 적절한 치료법을 선택하고 어떤 경우에는 환자에게 덜 심각한 치료법을 선택할 수 있다. 암 바이오마커의 평가(예를 들어, 메틸화 상태 결정)는 치료가 필요하지 않거나 제한적인 치료가 필요하지 않은 암 발병 위험이 낮거나 예후가 좋은 대상체를 더 집중적인 치료의 혜택을 받는 암에 걸리거나 재발할 가능성이 높은 대상체와 구분하는 데 유용하다.
- [0505] 이와 같이, 본원에 사용된 "진단하기" 또는 "진단"은 암 발병 위험을 결정하거나 예후를 결정하는 것을 추가로 포함하며, 이는 본원에 개시된 진단 바이오마커(예를 들어, DMR)의 측정에 기초하여 (의학적 치료 유무에 관계없이) 임상 결과의 예측, 적절한 치료(또는 치료가 효과적인지 여부), 또는 본 치료의 모니터링 및 잠재적으로 치료의 변경을 제공할 수 있다. 또한, 지금 개시되는 주제의 일부 구현예에서, 진단 및/또는 예후를 용이하게 하기 위해 시간에 따른 바이오마커의 다중 결정이 이루어질 수 있다. 바이오마커의 시간적 변화는 임상 결과를 예측하고, 난소암의 진행을 모니터링하고, 암에 대한 적절한 치료의 효능을 모니터링하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 그러한 구현예에서, 효과적인 치료 과정 동안 시간 경과에 따라 생물학적 샘플에서 본원에 개시된 하나 이상의 바이오마커(예를 들어, DMR)(및 잠재적으로 모니터링되는 경우 하나 이상의 추가 바이오마커(들))의 메틸화 상태의 변화를 기대할 수 있다.
- [0506] 지금 개시되는 주제는 일부 구현예에서 대상체에서 암의 예방 또는 치료를 개시할지 또는 계속할지를 결정하는 방법을 추가로 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 대상체로부터 일정 기간 일련의 생물학적 샘플을 제공하는 단계; 상기 일련의 생물학적 샘플을 분석하여 각각의 생물학적 샘플에서 본원에 개시된 적어도 하나의 바이오마커의 메틸화 상태를 결정하는 단계; 및 상기 각각의 생물학적 샘플에서 하나 이상의 바이오마커의 메틸화 상태의 임의의 측정 가능한 변화를 비교하는 단계를 포함한다. 일정 기간 동안 바이오마커의 메틸화 상태의 임의의 변화는 암 발병 위험을 예측하고, 임상 결과를 예측하고, 암 예방 또는 치료를 시작 또는 계속할지 및 본 치료가 암을 효과적으로 치료하고 있는지를 결정하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 제1 시점은 치료 개시 전에 선택될 수 있고 제2 시점은 치료 개시 후 어느 시점에서 선택될 수 있다. 메틸화 상태는 서로 다른 시점에서 채취한 각 샘플에서 측정할 수 있으며 정성 및/또는 정량 차이를 기록할 수 있다. 다른 샘플로부터의 바이오마커 수준의 메틸화 상태의 변화는 난소암 위험, 예후, 치료 효능 결정 및/또는 대상체에서 암의 진행과 상관될 수 있다.
- [0507] 바람직한 구현예에서, 본 발명의 방법 및 조성물은, 예를 들어, 질병의 증상이 나타나기 전에 초기 단계에서 질병의 치료 또는 진단을 위한 것이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 임상 단계에서 질병의 치료 또는 진단을 위한 것이다.
- [0508] 언급된 바와 같이, 일부 구현예에서, 하나 이상의 진단 또는 예후 바이오마커의 다중 결정이 이루어질 수 있고, 마커의 시간적 변화가 진단 또는 예후를 결정하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 진단 마커는 처음에 결정될 수 있고 두 번째에 다시 결정될 수 있다. 이러한 구현예에서, 처음에서 두 번째 시간까지 마커의 증가는 암의 특정 유형 또는 중증도의 진단 또는 주어진 예후일 수 있다. 마찬가지로, 처음에서 두 번째 시간까지 마커의 감소는 암의 특정 유형 또는 중증도 또는 주어진 예후를 나타낼 수 있다. 또한, 하나 이상의 마커의 변화 정도는 암의 중증도 및 향후 부작용과 관련될 수 있다. 숙련된 기술자는 특정 구현예에서 여러 시점에서 동일한 바이오마커로 비교 측정을 수행할 수 있지만, 한 시점에서 주어진 바이오마커를 측정할 수 있고, 두 번째 시점에서 두 번째 바이오마커를 측정할 수 있으며, 이들 마커를 비교하여 진단 정보를 제공할 수 있다는 것을 이해할 것이다.
- [0509] 본원에 사용된 "예후 결정"이라는 문구는 숙련된 기술자가 대상체에서 병태의 과정 또는 결과를 예측할 수 있는 방법을 의미한다. 용어 "예후"는 100% 정확도로 병태의 과정 또는 결과를 예측하는 능력을 의미하지 않으며, 심지어 주어진 과정 또는 결과가 바이오마커(예를 들어, DMR)의 메틸화 상태를 기반으로 어느 정도 예측 가능하게 발생할 가능성이 있음을 의미하지 않는다. 대신, 숙련된 기술자는 용어 "예후"가 특정 과정 또는 결과가 발생할 확률이 증가함을 의미한다는 것을 이해할 것이다; 즉, 해당 병태를 나타내지 않는 개체와 비교할 때 주어진 병태를 나타내는 대상체에서 특정 과정 또는 결과가 발생할 가능성이 더 크다. 예를 들어, 병태를 나타내지 않는(예를 들어, 하나 이상의 DMR의 정상 메틸화 상태를 갖는) 개체에서 주어진 결과(예를 들어, 난소암을 앓고 있음)의 변화 가능성은 매우 작을 수 있다.
- [0510] 일부 구현예에서, 통계 분석은 예후 지표를 불리한 결과에 대한 소인과 연관시킨다. 예를 들어, 일부 구현예에

서, 암이 없는 환자로부터 수득한 정상 대조군 샘플에서와 다른 메틸화 상태는 통계적 유의 수준에 의해 결정된 대조군 샘플의 메틸화 상태와 더 유사한 수준을 갖는 대상체보다 암에 걸릴 가능성이 더 크다는 신호를 보낼 수 있다. 추가로, 기준선(예를 들어, "정상") 수준으로부터의 메틸화 상태의 변화는 대상 예후를 반영할 수 있고, 메틸화 상태의 변화 정도는 부작용의 심각성과 관련될 수 있다. 통계적 유의성은 종종 두 집단 이상을 비교하고 신뢰 구간 및/또는 p 값을 결정함으로써 결정된다. 예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함된 Dowdy 및 Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York, 1983 참조. 본 주제의 예시적인 신뢰 구간은 90%, 95%, 97.5%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9% 및 99.99%이고, 예시적인 p 값은 0.1, 0.05, 0.025, 0.02, 0.01, 0.005, 0.001 및 0.0001이다.

[0511] 다른 구현예에서, 본원에 개시된 예후 또는 진단 바이오마커(예를 들어, DMR)의 메틸화 상태 변화의 역치 정도가 확립될 수 있고, 생물학적 샘플에서 바이오마커의 메틸화 상태의 변화 정도가 메틸화 상태 변화의 역치 정도와 간단히 비교된다. 본원에 제공된 바이오마커에 대한 메틸화 상태의 바람직한 역치 변화는 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 50%, 약 75%, 약 100% 및 약 150%이다. 또 다른 구현예에서, "노모그램(nomogram)"이 확립될 수 있으며, 이에 의해 예후 또는 진단 지표(바이오마커 또는 바이오마커의 조합)의 메틸화 상태가 주어진 결과에 대해 연관된 배치와 직접 관련된다. 숙련된 기술자는 개별 샘플 측정이 집단 평균이 아니라 참조되기 때문에 이 측정의 불확실성이 마커 농도의 불확실성과 동일하다는 것을 포함하여 두 숫자 값을 관련시키기 위해 이러한 노모그램을 사용하는 것에 대해 잘 알고 있다.

[0512] 일부 구현예에서, 대조군 샘플은 생물학적 샘플과 동시에 분석되어 생물학적 샘플에서 수득한 결과를 대조군 샘플에서 수득한 결과와 비교할 수 있다. 추가로, 생물학적 샘플에 대한 검정 결과를 비교할 수 있는 표준 곡선이 제공될 수 있음이 고려된다. 이러한 표준 곡선은 형광 표지가 사용되는 경우 검정 단위(예를 들어, 형광 신호 강도)의 함수로서 바이오마커의 메틸화 상태를 나타낸다. 여러 기증자로부터 채취한 샘플을 사용하여, 정상 조직에서 하나 이상의 바이오마커의 대조군 메틸화 상태에 대한 표준 곡선뿐만 아니라 화생(metaplasia) 또는 난소암을 가진 기증자로부터 채취한 조직 내 하나 이상의 바이오마커의 "위험" 수준에 대한 표준 곡선을 제공할 수 있다. 상기 방법의 특정 구현예에서, 대상체로부터 수득한 생물학적 샘플에서 본원에 제공된 하나 이상의 DMR의 비정상적인 메틸화 상태를 확인하면 대상체가 화생을 갖는 것으로 인정된다. 상기 방법의 다른 구현예에서, 대상체로부터 수득한 생물학적 샘플에서 이러한 바이오마커 중 하나 이상의 비정상적인 메틸화 상태의 검출은 대상체가 암을 갖는 것으로 인정된다.

[0513] 마커 분석은 하나의 테스트 샘플 내에서 추가 마커를 사용하여 개별적으로 또는 동시에 수행할 수 있다. 예를 들어, 여러 마커를 하나의 테스트로 합하여 여러 샘플을 효율적으로 처리하고 잠재적으로 더 큰 진단 및/또는 예후 정확도를 제공할 수 있다. 또한, 당업자는 동일한 대상체로부터 여러 샘플을 (예를 들어, 연속적인 시점에서) 테스트하는 값을 인식할 것이다. 이러한 일련의 샘플 테스트를 통해 시간에 따른 마커 메틸화 상태의 변화를 확인할 수 있다. 메틸화 상태의 변화와 메틸화 상태의 변화 부재는 질병 상태에 대해 유용한 정보를 제공할 수 있는데, 는 이벤트 발생 후 대략적인 시간의 식별, 구체 가능한 조직의 존재 및 양, 약물 요법의 적절성, 다양한 요법의 효과 및 미래 이벤트의 위험을 포함하여 대상체의 결과 식별을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0514] 바이오마커 분석은 다양한 물리적 형식으로 수행할 수 있다. 예를 들어, 마이크로타이타 플레이트 또는 자동화를 사용하여 많은 수의 테스트 샘플을 쉽게 처리할 수 있다. 대안으로, 단일 샘플 형식을 개발하여, 예를 들어, 외래 수송 또는 응급실 세팅과 같이 적시에 즉각적인 치료 및 진단을 수행할 수 있다.

[0515] 일부 구현예에서, 대조군 메틸화 상태와 비교할 때 샘플에서 하나 이상의 바이오마커의 메틸화 상태에 측정 가능한 차이가 있는 경우 대상체는 난소암을 갖는 것으로 진단된다. 반대로, 생물학적 샘플에서 메틸화 상태의 변화가 확인되지 않으면 대상체는 난소암이 없거나 암 위험이 없거나 암 위험이 낮은 것으로 확인될 수 있다. 이와 관련하여, 암 또는 이의 위험이 있는 대상체는 암 또는 이의 위험이 낮거나 실질적으로 없는 대상체와 구별될 수 있다. 난소암의 진행 위험이 있는 대상체는 내시경 감시(endoscopic surveillance)를 포함하여 더욱 집중적이고/거나 정기적인 스크리닝 일정에 배치될 수 있다. 반면에, 위험이 낮거나 실질적으로 없는 대상체는, 예를 들어, 본 기술에 따라 수행되는 스크리닝과 같은 향후 스크리닝이 해당 대상체에서 난소암 위험이 나타났음을 나타내는 시간까지 난소암에 대한 추가 테스트(예를 들어, 침습적 절차)를 피할 수 있다.

[0516] 위에서 언급한 바와 같이, 본 기술의 방법의 구현예에 따라 하나 이상의 바이오마커의 메틸화 상태의 변화를 검출하는 것은 정성적 결정일 수도 있고 정량적 결정일 수도 있다. 이와 같이, 난소암이 있거나 발병할 위험이 있는 대상체를 진단하는 단계는 특정 임계값 측정이 이루어짐을 나타내는데, 예를 들어, 생물학적 샘플에서 하나 이상의 바이오마커의 메틸화 상태는 미리 결정된 대조군 메틸화 상태와 다르다. 상기 방법의 일부 구현예에서,

대조군 메틸화 상태는 바이오마커의 임의의 검출 가능한 메틸화 상태이다. 대조군 샘플이 생물학적 샘플과 동시에 시험되는 방법의 다른 구현예에서, 미리 결정된 메틸화 상태는 대조군 샘플의 메틸화 상태이다. 상기 방법의 다른 구현예에서, 미리 결정된 메틸화 상태는 표준 곡선에 기초하고/거나 이에 의해 확인된다. 상기 방법의 다른 구현예에서, 미리 결정된 메틸화 상태는 특정 병태 또는 병태 범위이다. 이와 같이, 미리 결정된 메틸화 상태는 실시되는 방법의 구현예 및 원하는 특이성 등에 부분적으로 기초하여 당해 분야의 숙련가에게 명백할 허용 가능한 한계 내에서 선택될 수 있다.

[0517] 또한, 진단 방법과 관련하여 바람직한 대상은 척추동물 대상이다. 바람직한 척추동물은 온혈동물이다. 바람직한 온혈 척추동물은 포유동물이다. 바람직한 포유동물은 가장 바람직하게는 인간이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "대상체"는 인간 및 동물 대상체를 모두 포함한다. 따라서 수의학적 치료 용도가 본원에서 제공된다. 따라서 본 기술은 인간과 같은 포유동물뿐만 아니라 시베리아 호랑이와 같이 멸종 위기에 처한 중요한 포유동물; 인간에 의해 소비되기 위해 농장에서 자란 동물과 같이 경제적으로 중요한 포유동물; 및/또는 인간에게 사회적으로 중요한 동물, 예를 들어, 애완동물 또는 동물원에 기르는 동물의 진단을 제공한다. 그러한 동물의 예는 고양이와 개와 같은 육식 동물; 돼지(pig), 돼지(hog), 멧돼지를 포함한 돼지(swine); 소, 황소, 양, 기린, 사슴, 염소, 들소 및 낙타와 같은 반추 동물 및/또는 유제류; 및 말을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 따라서, 사육된 돼지, 반추 동물, 유제류, 말(경주마 포함) 등을 포함하나 이에 제한되지 않는 가축의 진단 및 치료도 제공된다.

[0518] 지금 개시되는 주제는 대상체에서 난소암 및/또는 특정 형태의 난소암(예를 들어, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC, 장액성 OC)를 진단하기 위한 시스템을 추가로 포함한다. 상기 시스템은, 예를 들어, 생물학적 샘플을 수집한 대상체에서 난소암 위험을 스크리닝하거나 난소암을 진단하는 데 사용할 수 있는 상용 키트로서 제공될 수 있다. 본 기술에 따라 제공된 예시적인 시스템은 표 1A 및 6A에 제공된 바와 같이 DMR의 메틸화 상태를 평가하는 것을 포함한다.

[0519] **실시예**

[0520] **실시예 I.**

[0521] 조직과 혈액은 기관의 IRB 감독하에 Mayo Clinic 생물건본 저장소에서 얻었다. 샘플은 주제 연구 승인 및 포함/제외 기준을 엄격하게 준수하여 선택되었다. 암 하위유형에는 1) 장액성 OC, 2) 투명 세포 OC, 3) 점액성 OC 및 4) 자궁내막양 OC가 포함되었다. 대조군에는 비-신생물성 나팔 조직 및 전혈 유래 백혈구가 포함되었다. 조직을 거시적으로 절개하고 전문 부인과 병리학자가 조직학을 검토하였다. 샘플은 연령 일치, 무작위, 맹검이었다. 77개의 냉동 조직(18개의 장액성 OC, 15개의 투명 세포 OC, 6개의 점액성 OC, 18개의 자궁내막성 OC, 6개의 양성 나팔관, 14개의 양성 나팔관 브러싱) 및 암이 없는 여성으로부터의 19개 버피 코트의 샘플 DNA를 각각 QIAamp DNA Tissue Mini kit 및 QIAamp DNA Blood Mini kit (Qiagen, Valencia CA)를 사용하여 정제하였다. DNA를 AMPure XP 비드(Beckman-Coulter, Brea CA)로 재정제하고 PicoGreen(Thermo-Fisher, Waltham MA)으로 정량화하였다. DNA 무결성은 qPCR을 사용하여 평가되었다. 4개의 난소암 세포주도 시퀀싱되었다(TOV21G, SKOV3, OVCAR3, CAOVB3).

[0522] RRBS 시퀀싱 라이브러리를 Meissner 프로토콜(참조: Gu 등 Nature Protocols 2011 Apr;6(4):468-81)에 따라 수정하여 준비하였다. 샘플은 4-플렉스 형식으로 합하고 Illumina HiSeq 2500 기기(Illumina, San Diego CA)로 Mayo Genomics Facility에서 시퀀싱하였다. 이미지 분석 및 염기 콜링을 위해 Illumina 파이프라인 모듈로 관독 처리하였다. 2차 분석은 Mayo가 개발한 생물 정보학 제품군인 SAAP-RRBS를 사용하여 수행하였다. 간단히 말해서, Trim-Galore를 사용하여 관독을 정리하고 BSMAP를 사용하여 GRCh37/hg19 기준 게놈 빌드로 정렬하였다. 메틸화 비율은 커버리지가 10X 이상이고 염기 품질 점수가 20 이상인 CpG에 대해 $C/(C + T)$ 를 계산하거나 반대로 역 가닥에 대한 관독 매핑의 경우 $G/(G + A)$ 를 계산하여 결정하였다.

[0523] 개별 CpG는 과메틸화 비율, 즉 해당 부위의 총 사이토신 수에 대해 주어진 유전자좌에서 메틸화된 사이토신의 수로 순위를 매겼다. 사례들에서, 비율은 ≥ 0.20 (20%), 조직 대조군의 경우 ≤ 0.05 (5%), 버피 코트 대조군의 경우 ≤ 0.01 (1%)이어야 한다. 이러한 기준을 충족하지 않는 CpG는 폐기하였다. 그 후, 후보 CpG는 게놈 위치에 따라 영역당 최소 컷오프가 5개의 CpG인 약 60 - 200bp 범위의 DMR(메틸화 가변 영역)로 비닝(binning)되었다. CpG 밀도가 지나치게 높은($>30\%$) DMR은 검증 단계에서 GC 관련 증폭 문제를 피하기 위해 제외하였다. 각 후보 영역에 대해 샘플의 개별 CpG를 사례와 대조군 모두에 대한 샘플 방식과 비교하는 2D 매트릭스를 생성하였다. 전체 OC 대 모든 양성 난소 조직 및/또는 암이 없는 버피 코트와 하위유형 비교를 분석하였다. 그런 다음 이러한 CpG 매트릭스를 기준 서열과 다시 비교하여 게놈적으로 인접한 메틸화 부위가 초기 필터링 동안 폐기되었는

지를 평가하였다. 영역의 이 하위세트로부터, 최종 선택에는 각 샘플 수준에서 DMR 서열 전반에 걸쳐 개별 CpG의 조정되고 연속적인 과메틸화(경우에 따라)가 필요하였다. 반대로 대조군 샘플은 사례보다 메틸화가 적어도 10배 적어야 하고 CpG 패턴은 더 무작위적이고 덜 조정되어야 한다. 하위 유형 코호트 내 암 샘플의 적어도 10%는 DMR 내 모든 CpG 부위에 대해 과메틸화 비율이 적어도 50%여야 한다.

[0524] 별도의 분석에서, CpG의 평균 메틸화 값을 기반으로 DMR을 도출하기 위해 독점 DMR 식별 파이프라인 및 회귀 패키지를 사용하였다. 평균 메틸화 비율의 차이는 OC 사례, 조직 대조군 및 버피 코트 대조군간에 비교하였다; 각각의 매핑된 CpG의 100개의 염기쌍 내의 타일링된 관독 프레임(tiled reading frame)을 사용하여 대조군 메틸화가 <5%인 DMR을 확인하였다; DMR은 총 커버리지 깊이가 대상체당 평균 10회 관독이고 하위 그룹 간의 분산이 >0인 경우에만 분석하였다. 생물학적으로 관련된 교차비(odds ratio) 증가가 >3x배이고 커버리지 깊이가 10개의 관독이라고 가정하면, 5%의 유의 수준에서 양측 검정을 수행하고 이항 분산 팽창 요인(binomial variance inflation factor) 1을 가정하여 80% 검정력을 달성하려면 그룹당 ≥ 18 개의 샘플이 필요하였다.

[0525] 회귀 분석 후, DMR은 p 값, 수신자 조작 특성 곡선(receiver operating characteristic curve)(AUC) 아래 영역 및 케이스와 모든 대조군 간의 배수 변화 차이로 순위를 매겼다. 독립 검증이 사전에(a priori) 계획되었기 때문에 이 단계에서는 잘못된 발견에 대한 조정이 이루어지지 않았다.

[0526] 샘플 제조, 시퀀싱, 분석 파이프라인 및 필터의 독점 방법론을 사용하여 이들 부인과 암에 영향을 미치고 임상 시험 환경에서 뛰어날 것으로 차등적 메틸화 영역 (DMR)을 확인하고 좁혔다. 조직 대 조직 분석에서, 471개의 과메틸화 난소암(OC) DMR이 확인되었다(표 1A 및 1B). 본원에는 OC 특정 영역, OC 하위유형 특정 영역, 뿐만 아니라 보다 보편적인 암 스펙트럼을 표적으로 하는 영역이 포함되었다. 상위 하위유형 순위 DMR은 표 2A, 2B, 2C 및 2D에 나열되어 있다. 조직 대 백혈구(버피 코트) 분석은 WBC에서 노이즈가 1% 미만인 55개의 과메틸화 난소 조직 DMR을 생성하였다(표 1A 및 1B에 표시된 DMR 472-525). 상위 전체 버피 DMR은 표 3에 나열되어 있다. 조직 및 버피 마커 그룹에서, 초기 파일럿을 위해 68명의 후보가 선택되었다. 메틸화 특이적 PCR 검정이 개발되었고 두 차례의 조직 샘플에 대해 테스트되었다; 시퀀싱된 것(동결) 및 더 큰 독립 코호트(FFPE)인 것들. 짧은 앰플리콘 프라이머(<150bp)는 DMR에서 가장 구별되는 CpG를 표적으로 하도록 설계되었으며 완전히 메틸화된 단편이 강력하고 선형 방식으로 증폭되었는지 확인하기 위해 대조군에서 테스트되었고; 메틸화되지 않은 및/또는 전환되지 않은 단편은 증폭되지 않는다. 136개의 프라이머 서열은 표 1C에 나열되어 있다. 궁극적으로 54개의 검정이 진행되었다(14개의 검정이 QC에 실패하여 탈락하였다).

[0527] 1단계 검증의 결과를 논리적으로 분석하여 AUC 및 배수 변화를 결정하였다. 이전 작업에서 기관 내 암 하위유형의 후성 유전학이 다르며 최상의 패널이 하위유형 마커의 조합에서 과생된다는 것이 인식되었다. 조직 및 버피 코트 대조군에 대한 분석은 별도로 수행되었다. 결과는 표 4A, 4B, 4C, 4D 및 4E에 강조 표시되어 있다. 다수의 검정은 OC에서 버피 코트 샘플과 100% 구별되었고 OC 대 양성 나팔관 비교에서 100%에 접근하였다.

[0528] 이러한 결과는 독립적인 샘플 테스트에 참여할 수 있는 우수한 성과를 보이는 후보자의 풍부한 소스를 제공하였다. 원래의 54개 검정 중 33개가 선택되었다. 대부분은 AUC 범위 0.90 - 1.00에 속했지만 FC 번호가 매우 높은(배경이 거의 없음) 및/또는 다른 메틸화 DNA 마커(MDMS)와 상보성을 나타내는 다른 것도 포함되었다. 모든 검정은 높은 분석 성능 - 선형성, 효율성, 서열 특이성(용융 곡선 분석을 사용하여 평가) 및 강력한 증폭을 입증하였다.

[0529] 이전 단계에서와 같이 2차 검증에서, 전체 샘플 및 마커 세트가 하나의 배치에서 실행되었다. 마커당 ~10 ng의 FFPE 유래 샘플 DNA가 실행되었다 - 총 350개. 개별 MDM에 대한 OC 하위 유형 대 정상 조직 및 버피 코트 결과는 표 5A, 5B, 5C 및 5D에 나열되어 있다. 다중 MDM은 모든 OC 조직학에서 현저한 메틸화 배수 변화 대 대조군(10 내지 >1000)를 보여주었다.

[0530] 데이터는 상보성을 시각화할 수 있는 히트 매트릭스 형식으로 플롯팅되었다. 교차 입증된 2-MDM 패널은 rPART 모델링에서 과생되었다: (C2CD4D, NCOR2)는 99%의 민감도와 97%의 특이도로 전체 OC를 양성 나팔 조직과 구별하였다. 하위유형 rPART 및 랜덤 포레스트 모델링은 모든 조직학에서 완벽한 구별을 산출하였다(AUC = 1).

[0531] 전체 메틸롬 시퀀싱, 엄격한 필터링 기준 및 생물학적 검증을 통해 난소암에 대한 탁월한 후보 MDM을 산출하였다. 일부 MDM은 비교적 높은 감도로 대조군으로부터 모든 OC 조직을 구별하는 반면, 다른 MDM은 조직을 정확하게 구별한다. 높은 식별력과 분석 용이성을 감안할 때, 이러한 MDM은 조기 발견 마커로서 임상 적용을 위한 추가 탐색을 할 가치가 있다.

[0532] 표 1A는 이러한 마커에 대한 염색체 번호, 유전자 주석 및 DMR 시작/종료 위치를 포함하는 DMR 정보를

제공한다. 표 1B는 p-값, 리시버 작동 특성 곡선(AUC) 아래 면적 및 OC 사례와 모든 대조군 사이의 배수 변화 차이를 제공한다. 표 1C는 표 1A 및 1B에 제공된 다양한 마커에 대한 프라이머 서열 정보를 제공한다.

표 1A.

DMR 번호	유전자 주석	염색체 번호	DMR 시작-종료 위치
1	A1BG	19	58858941-58858983
2	ABLM3	5	148521010-148521347
3	ADAM8	10	135090085-135090491
4	ADRB1	10	115803122-115803270
5	AEBP1	7	44143993-44144057
6	AGRN_A	1	968398-968861
7	AGRN_B	1	969237-969426
8	AGRN_C	1	975860-976046
9	AJAP1	1	4715931-4716109
10	AMIGO3	3	49756614-49757016
11	ANKLE1	19	17392948-17393075
12	ANKRD29	18	21199479-21199692
13	ANO8	19	17439360-17439541
14	ANPEP	15	90358365-90358451
15	ARHGEF1	19	42386936-42386997
16	ARL10	5	175792149-175792960
17	ARL5C	17	37321417-37321631
18	ATP10A_A	15	26107757-26107986
19	ATP10A_B	15	26107990-26108203
20	ATP10A_C	15	26108433-26108524
21	ATP10A_D	15	26108550-26108818
22	ATP2A3_A	17	3867152-3867216
23	ATP2A3_B	17	3867435-3867536
24	BCAN	1	156611761-156611950
25	BCAT1	12	25055793-25056189
26	BCL11B_A	14	99736361-99736463
27	BCL11B_B	14	99736933-99737063
28	BCL11B_C	14	99737497-99737609
29	BEND4	4	42153526-42153625
30	BEST4	1	45249967-45250240
31	BHLHE23_A	20	61638021-61638117
32	BHLHE23_B	20	61638192-61638565
33	BOLA1	1	149871496-149871610
34	C12orf42	12	103889256-103889370
35	C14orf184	14	92040736-92040870
36	C14orf38_A	14	60043243-60043329
37	C14orf38_B	14	60043455-60043565
38	C17orf107	17	4802571-4802889
39	C17orf46	17	43339216-43339594
40	C17orf64_A	17	58498720-58498794
41	C17orf64_B	17	58499005-58499095
42	C19orf35_A	19	2282272-2282493
43	C19orf35_B	19	2282568-2282640
44	C1orf200	1	9712789-9712900
45	C1QL3_A	10	16563117-16563891
46	C3orf72	3	138663788-138663885
47	C6orf147	6	74019480-74019585
48	CACNA1G	17	48639699-48639734
49	CACNA2D4	12	1906505-1906559

[0533]

50	CAPN2_A	1	223936868-223937004
51	CARD11	7	3083446-3083541
52	CCND2_A	12	4381398-4381485
53	CCND2_B	12	4381789-4381895
54	CCND2_C	12	4381964-4382142
55	CCND2_D	12	4383820-4384113
56	CD151	11	830191-830499
57	CD38	4	15780224-15780290
58	CD70	19	6590980-6591072
59	CD8A_A	2	87017985-87018012
60	CD8A_B	2	87018067-87018126
61	CDO1_A	5	115152022-115152432
62	CDO1_B	5	115152466-115152505
63	CELF2_A	10	11207221-11207812
64	CELF2_B	10	11207796-11207938
65	CLIC6	21	36041908-36042182
66	CMTM3_A	16	66638182-66638341
67	CNR1_A	6	88876927-88877128
68	CNR1_B	6	88877220-88877275
69	CNRIP1	2	68546519-68546627
70	COL14A1	8	121137165-121137326
71	CPT1A	11	68610548-68610744
72	CSDAP1	16	31580718-31580899
73	CYP11A1	15	74658391-74658453
74	CYTH2	19	48984042-48984183
75	DAB2IP	9	124462035-124462178
76	DDN	12	49391147-49391271
77	DGKZ	11	46389264-46389321
78	DIDO1	20	61560520-61560934
79	DLG4	17	7108434-7108738
80	DLL4	15	41218265-41218582
81	DNMT3A_A	2	25500046-25500305
82	DOCK2_A	5	169064274-169064312
83	DOCK2_B	5	169064321-169064452
84	DSCR6	21	38378492-38378858
85	ELAVL3	19	11593130-11593200
86	ELMO1_A	7	37487417-37487633
87	ELMO1_B	7	37487695-37488671
88	ELMO1_C	7	37488818-37488882
89	EMB	5	49736794-49737178
90	EMX1	2	73147710-73147772
91	ENO3	17	4853764-4853800
92	EPS8L2_A	11	725829-725907
93	EPS8L2_B	11	726000-726061
94	EPS8L2_C	11	726066-726121
95	EPS8L2_D	11	726129-726188
96	EPS8L2_E	11	726202-726557
97	ESPN	1	6508635-6508742
98	EVI5L	19	7927507-7927609
99	FAIM2_A	12	50297610-50297988
100	FAM69B	9	139606494-139606544
101	FEV	2	219849187-219849229

[0534]

102	FLJ22536	6	21666391-21666587
103	FLJ34208_A	3	194208242-194208346
104	FLJ34208_B	3	194208392-194208424
105	FLJ42875	1	2987463-2987488
106	FLJ45983_A	10	8097087-8097163
107	FLJ45983_B	10	8097491-8097541
108	FOXEl	9	100616468-100616545
109	FZD2	17	42635471-42635540
110	GAPDHS	19	36025078-36025197
111	GATA2	3	128209003-128209339
112	GBGT1	9	136038933-136039446
113	GDF7	2	20866066-20866362
114	GFI1_A	1	92948353-92948494
115	GFI1_B	1	92948564-92948643
116	GJA4	1	35258460-35258657
117	GOLGA8A_A	15	34728868-34729108
118	GOLGA8A_B	15	34729569-34729627
119	GP5	3	194118822-194118924
120	GPR144	9	127212625-127212653
121	GPRIN1_A	5	176023883-176024195
122	GSX1	13	28363905-28363973
123	GYPC_A	2	127413591-127413988
124	GYPC_B	2	127414040-127414189
125	HAAO	2	43019960-43020076
126	HCG4P6_A	6	29894629-29894706
127	HCG4P6_B	6	29894728-29895060
128	HDGFRP3	15	83875827-83875946
129	HIC1_A	17	1958916-1959035
130	HIC1_B	17	1959271-1959370
131	HIST1H2BE	6	26184228-26184336
132	HIST1H3G	6	26273744-26273884
133	HMX3	10	124895638-124895782
134	HOPX	4	57522384-57522421
135	HOXA6	7	27191540-27191631
136	HOXA7	7	27196032-27196120
137	HOXB3	17	46655280-46655642
138	HPDL	1	45792729-45792887
139	HPSE2	10	100994002-100994115
140	HRH2	5	175085230-175085493
141	ICAM4	19	10398100-10398242
142	IGFBP7	4	57976729-57976874
143	IKZF1	7	50343339-50343420
144	IL17C_A	16	88701004-88701036
145	IL17C_B	16	88701240-88701422
146	INA_A	10	105036646-105036836
147	IRAK2	3	10206783-10206832
148	IRF4_A	6	391420-391465
149	IRF4_B	6	391489-391525
150	IRF4_C	6	391630-391913
151	IRF4_D	6	393508-393550
152	IRF4_E	6	393636-393700
153	ITGA4_A	2	182321830-182322222

[0535]

154	ITGA4_B	2	182322260-182322569
155	ITGA5	12	54812397-54812487
156	ITGB2	21	46352783-46352834
157	ITPKB_A	1	226924944-226925001
158	ITPRIPL1	2	96991110-96991303
159	JAK3_A	19	17958411-17958512
160	JAM3_A	11	133938954-133939134
161	JSRP1	19	2253171-2253346
162	KCNA1_A	12	5018819-5019101
163	KCNA1_B	12	5019343-5019751
164	KCNA3_A	1	111217012-111217118
165	KCNA3_B	1	111217162-111217358
166	KCNA3_C	1	111217478-111217843
167	KCNA3_D	1	111217621-111217793
168	KCNK12	2	47748450-47748743
169	KCNK4	11	64059938-64059994
170	KCNK9_A	8	140715067-140715136
171	KCNK9_B	8	140715169-140715272
172	KCNK9_C	8	140715402-140715463
173	KCNQ5_A	6	73331057-73331808
174	KCNQ5_B	6	73331977-73332327
175	KCNQ5_C	6	73332569-73332850
176	KCTD15	19	34288332-34288538
177	KIAA1383	1	232941174-232941363
178	KL	13	33591064-33591101
179	KLF16	19	1857112-1857272
180	KLHL21	1	6663497-6663739
181	LAPTM4B	8	98788068-98788302
182	LBH	2	30453651-30453973
183	LCNL1	9	139880005-139880043
184	LIME1_A	20	62369116-62369184
185	LIME1_B	20	62369366-62369505
186	LIMK1	7	73509063-73509133
187	LMX1B	9	129377593-129377885
188	LOC100132891	8	72756370-72756468
189	LOC151174	2	239140297-239140360
190	LOC339674	22	42353684-42353820
191	LOC440461	17	66195680-66195779
192	LOC646278	15	29077327-29077630
193	LOC648809	15	84748786-84749007
194	LPHN1	19	14260451-14260665
195	LRRC10B	11	61277048-61277085
196	LRRC32	11	76382075-76382101
197	LRRC4	7	127671885-127672583
198	LRRC41_A	1	46767372-46769064
199	LRRC41_B	1	46769340-46769650
200	LRRC8D	1	90309263-90309378
201	LTB	6	31548580-31548608
202	LTK	15	41805316-41805441
203	LY75	2	160760789-160760845
204	MAML3_A	4	140656481-140656692
205	MAX.chr1.110626771-110626832	1	110626771-110626832

[0536]

206	MAX.chr1.147775386-147775483	1	147775386-147775483
207	MAX.chr1.147790358-147790381	1	147790250-147790489
208	MAX.chr1.148598377-148598471	1	148598377-148598471
209	MAX.chr1.161591532-161591608	1	161591532-161591608
210	MAX.chr1.21917279-21917313	1	21917279-21917313
211	MAX.chr1.2472236-2472504	1	2472236-2472504
212	MAX.chr1.2472508-2472586	1	2472508-2472586
213	MAX.chr1.32237654-32237674	1	32237654-32237674
214	MAX.chr1.32238032-32238105	1	32238032-32238105
215	MAX.chr1.32238359-32238419	1	32238359-32238419
216	MAX.chr1.32410292-32410428	1	32410292-32410428
217	MAX.chr1.46632623-46632858	1	46632623-46632858
218	MAX.chr1.48058986-48059074	1	48058986-48059074
219	MAX.chr1.98510937-98511077	1	98510937-98511077
220	MAX.chr1.98511049-98511077	1	98511049-98511077
221	MAX.chr1.98519485-98519592	1	98519485-98519592
222	MAX.chr10.22541609-22541719	10	22541609-22541719
223	MAX.chr10.22541684-22541719	10	22541684-22541719
224	MAX.chr10.22541986-22542037	10	22541986-22542037
225	MAX.chr10.22765282-22765351	10	22765282-22765351
226	MAX.chr11.14926602-14926671	11	14926602-14926671
227	MAX.chr11.14926840-14926955	11	14926840-14926955
228	MAX.chr11.45376949-45377082	11	45376949-45377082
229	MAX.chr11.45376949-45377204	11	45376949-45377204
230	MAX.chr11.57250516-57250847	11	57250516-57250847
231	MAX.chr12.29302564-29302695	12	29302564-29302695
232	MAX.chr12.30975740-30975780	12	30975740-30975780
233	MAX.chr12.4273826-4274239	12	4273826-4274239
234	MAX.chr14.100784600-100784781	14	100784600-100784781
235	MAX.chr14.103557836-103558188	14	103557836-103558188
236	MAX.chr14.105512178-105512224	14	105512131-105512271
237	MAX.chr14.60386315-60386417	14	60386315-60386417
238	MAX.chr14.97685168-97685437	14	97685168-97685437
239	MAX.chr14.97685552-97685839	14	97685552-97685839
240	MAX.chr15.28351937-28352173	15	28351937-28352173
241	MAX.chr15.28352203-28352671	15	28352203-28352671
242	MAX.chr15.29131258-29131734	15	29131258-29131734
243	MAX.chr15.31685160-31685245	15	31685160-31685245
244	MAX.chr15.65186050-65186150	15	65186050-65186150
245	MAX.chr15.74891008-74891138	15	74891008-74891138
246	MAX.chr15.75471061-75471202	15	75471061-75471202
247	MAX.chr16.50875166-50875262	16	50875166-50875262
248	MAX.chr16.50875166-50875301	16	50875166-50875301
249	MAX.chr17.37366022-37366321	17	37366022-37366321
250	MAX.chr19.2273768-2273823	19	2273768-2273823
251	MAX.chr19.30716607-30716756	19	30716607-30716756
252	MAX.chr19.37288390-37288811	19	37288390-37288811
253	MAX.chr19.42444222-42444334	19	42444222-42444334
254	MAX.chr19.55962661-55962773	19	55962661-55962773
255	MAX.chr19.5828277-5828498	19	5828277-5828498
256	MAX.chr2.118981858-118981934	2	118981858-118981934
257	MAX.chr2.118982007-118982089	2	118982007-118982089

[0537]

258	MAX.chr2.119067767-119068112	2	119067767-119068112
259	MAX.chr2.127783351-127783403	2	127783351-127783403
260	MAX.chr2.175191004-175191127	2	175191004-175191127
261	MAX.chr2.241855537-241855585	2	241855537-241855585
262	MAX.chr2.25438959-25439001	2	25438959-25439001
263	MAX.chr2.25439173-25439276	2	25439173-25439276
264	MAX.chr2.66653544-66653582	2	66653544-66653582
265	MAX.chr2.66653881-66653935	2	66653881-66653935
266	MAX.chr2.97193155-97193524	2	97193155-97193524
267	MAX.chr2.97193478-97193562	2	97193478-97193562
268	MAX.chr20.30175888-30175927	20	30175888-30175927
269	MAX.chr20.3073377-3073486	20	3073377-3073486
270	MAX.chr20.49308029-49308083	20	49308029-49308083
271	MAX.chr3.107148795-107148869	3	107148795-107148869
272	MAX.chr3.128274281-128274519	3	128274281-128274519
273	MAX.chr3.138679378-138679414	3	138679378-138679414
274	MAX.chr3.18485437-18485723	3	18485437-18485723
275	MAX.chr3.186490624-186490778	3	186490624-186490778
276	MAX.chr3.69591053-69591097	3	69591053-69591097
277	MAX.chr4.174430671-174430719	4	174430671-174430719
278	MAX.chr4.174430751-174430776	4	174430751-174430776
279	MAX.chr4.41869404-41869433	4	41869404-41869433
280	MAX.chr4.8859707-8859944	4	8859707-8859944
281	MAX.chr4.8859995-8860062	4	8859995-8860062
282	MAX.chr4.8860076-8860122	4	8860076-8860122
283	MAX.chr5.178957539-178957851	5	178957539-178957851
284	MAX.chr5.2038771-2038990	5	2038771-2038990
285	MAX.chr5.42951482-42951568	5	42951482-42951568
286	MAX.chr5.42952182-42952292	5	42952182-42952292
287	MAX.chr6.10382190-10382225	6	10382154-10382261
288	MAX.chr6.108440553-108440720	6	108440553-108440720
289	MAX.chr6.157557273-157557374	6	157557273-157557374
290	MAX.chr6.28175549-28175579	6	28175549-28175579
291	MAX.chr6.42738979-42739055	6	42738979-42739055
292	MAX.chr7.127744282-127744490	7	127744282-127744490
293	MAX.chr7.142494643-142495353	7	142494643-142495353
294	MAX.chr7.1706293-1706418	7	1706293-1706418
295	MAX.chr7.99595234-99595474	7	99595234-99595474
296	MAX.chr8.124173231-124173268	8	124173231-124173268
297	MAX.chr8.142215938-142216298	8	142215938-142216298
298	MAX.chr8.145103855-145103943	8	145103855-145103943
299	MAX.chr8.145104058-145104455	8	145104058-145104455
300	MAX.chr8.145105537-145105891	8	145105537-145105891
301	MAX.chr8.145105977-145106067	8	145105977-145106067
302	MAX.chr8.6658405-6658443	8	6658405-6658443
303	MAX.chr8.688047-688103	8	688047-688103
304	MAX.chr9.113594-113689	9	113594-113689
305	MAX.chr9.129485515-129485818	9	129485515-129485818
306	MDFI	6	41605839-41606346
307	MFSD2B	2	24233083-24233209
308	MGC16275	17	72210023-72210198
309	MPZ	1	161275472-161275996

[0538]

310	MSX2	5	174152507-174152713
311	MT1A_A	16	56669159-56669211
312	MT1A_B	16	56669458-56669636
313	MYO15B_A	17	73584228-73584557
314	MYO15B_B	17	73584560-73584600
315	MYO15B_C	17	73585026-73585115
316	MYOZ3	5	150051282-150051406
317	NBPF3	1	21767084-21767293
318	NCOR2	12	124941831-124942044
319	NEFL	8	24814074-24814163
320	NFATC1	18	77159828-77159857
321	NFATC4	14	24837473-24838153
322	NFIC_A	19	3358520-3358591
323	NFIC_B	19	3360968-3361330
324	NFIC_C	19	3435098-3435351
325	NFIX	19	13124203-13124307
326	NID2	14	52535746-52536302
327	NKX2-3	10	101290864-101290938
328	NKX2-6	8	23564076-23564181
329	NR2F6	19	17346347-17346780
330	NRTN	19	5828107-5828231
331	NTN1	17	9143253-9143499
332	NTRK3_A	15	88799927-88799988
333	NTRK3_B	15	88800193-88800380
334	OBSCN	1	228463593-228463779
335	OLIG1	21	34443688-34443868
336	OLIG2	21	34399771-34399916
337	OPLAH_A	8	145106349-145106488
338	OPLAH_B	8	145106672-145106921
339	OPRL1	20	62711578-62711704
340	OSR2	8	99954516-99954637
341	OXT_A	20	3052709-3052813
342	OXT_B	20	3052884-3052977
343	PALLD	4	169799211-169799372
344	PALM3	19	14168328-14168446
345	PARP15	3	122296692-122296851
346	PAX6	11	31825838-31825879
347	PDE6B	4	657799-658022
348	PDE10A	6	166076546-166077074
349	PDX1	13	28498334-28498404
350	PEAR1_A	1	156863509-156863554
351	PIF1	15	65116269-65116639
352	PIP5KL1	9	130689558-130689627
353	PISD	22	32026204-32026773
354	PLEKHA6	1	204328789-204328989
355	PLEKHO1	1	150123028-150123073
356	PLXNC1	12	94543384-94543621
357	PNMAL2	19	46996713-46996787
358	PPFIA4_A	1	203044930-203045036
359	PPP1R16B	20	37435478-37435773
360	PRDM14	8	70981925-70982133
361	PRKAG2	7	151480148-151480267

[0539]

362	PRKAR1B_A	7	641712-641771
363	PRKCB_A	16	23847557-23847586
364	PRKCB_B	16	23847659-23847699
365	PRKCB_C	16	23847825-23847924
366	PRKCB_D	16	23847935-23848025
367	PROCA1	17	27038756-27038861
368	PROKR2	20	5297178-5297272
369	PTGDR	14	52735279-52735395
370	PTP4A3_A	8	142427934-142428065
371	PTP4A3_B	8	142428209-142428278
372	PTPRS	19	5338930-5339005
373	PTPRU	1	29586282-29586672
374	PYCARD	16	31213961-31214287
375	RAI1_A	17	17626939-17627256
376	RAI1_B	17	17627449-17627542
377	RASGEF1A	10	43697946-43698226
378	RASSF1_A	3	50378163-50378232
379	RASSF1_B	3	50378242-50378506
380	RBFOX3	17	77216036-77216108
381	RET	10	43600358-43600417
382	RFTN1_A	3	16554307-16554544
383	RILPL2	12	123920605-123920783
384	RNF220	1	44873859-44874011
385	RTN4RL2	11	57244133-57244310
386	RUNX3	1	25256939-25256984
387	SALL3	18	76739367-76739410
388	SCGB3A1	5	180017894-180018010
389	SEPTIN9	17	75447349-75448208
390	SFMBT2_A	10	7450245-7450492
391	SFMBT2_B	10	7451000-7451219
392	SFMBT2_C	10	7451122-7451185
393	SH2B3	12	111844616-111844676
394	SH3PXD2A	10	105452732-105452854
395	SHH_A	7	155596622-155596834
396	SHH_B	7	155597896-155598039
397	SIM2_A	21	38076892-38077026
398	SKI	1	2222218-2222508
399	SLC12A8	3	124860558-124861019
400	SLC25A47	14	100784600-100784767
401	SLC4A11	20	3218820-3218937
402	SLC5A5_A	19	17983502-17983586
403	SLC5A5_B	19	17983598-17983715
404	SLC8A3	14	70654428-70654774
405	SLFN12L	17	33814255-33814301
406	SMTN	22	31480775-31481518
407	SOBP_A	6	107956180-107956211
408	SP9	2	175202051-175202128
409	SPATA18	4	52917781-52918182
410	SPDYA	2	29033199-29033781
411	SPEF1	20	3758385-3758848
412	SPOCK2_A	10	73847053-73847086
413	SPOCK2_B	10	73847235-73847539

[0540]

414	SPON2_A	4	1165210-1165299
415	SPON2_B	4	1165343-1165543
416	SRC_A	20	36013131-36013293
417	SSBP4_A	19	18539898-18539951
418	SSBP4_B	19	18540000-18540094
419	SSBP4_C	19	18540229-18540318
420	ST8SIA1	12	22487798-22487868
421	STX16	20	57225361-57225498
422	TACC1	8	38645352-38645822
423	TACC2_A	10	123922953-123923142
424	TBKBP1	17	45772630-45772754
425	TBX20	7	35293783-35293840
426	TCF3	19	1651228-1651464
427	TEAD3	6	35465820-35465933
428	TET2	4	106067300-106067367
429	TGFB1	19	41860019-41860100
430	TJP2	9	71788680-71789619
431	TMC4	19	54668457-54668534
432	TMC6	17	76123694-76123758
433	TMEFF2	2	193059694-193059802
434	TMEM101	17	42092155-42092451
435	TMEM106A	17	41364038-41364262
436	TNFRSF10C	8	22960622-22960682
437	TNFRSF8	1	12123499-12123582
438	TRIM15	6	30139641-30139719
439	TRIM71	3	32859445-32859594
440	TRIM9_A	14	51561036-51561087
441	TRIM9_B	14	51561136-51561442
442	TRPV2	17	16319144-16319187
443	TSC22D4	7	100075240-100075445
444	TSHZ3	19	31839415-31840120
445	TSPY26P	20	30777758-30778400
446	TXNRD1	12	104609676-104609867
447	UBTF	17	42287818-42288018
448	ULBP1	6	150286136-150286230
449	UST	6	149069280-149069352
450	VASP	19	46012679-46012761
451	VILL	3	38035507-38035975
452	VIM	10	17271136-17272017
453	VIPR2_A	7	158937338-158937701
454	WNT7B	22	46367055-46367110
455	XKR6	8	11059151-11059333
456	XYLT1	16	17563754-17564236
457	ZBED4	22	50243124-50243470
458	ZEB2_A	2	145273503-145273611
459	ZEB2_B	2	145273632-145273799
460	ZFP3	17	4981325-4981972
461	ZMIZ1_A	10	81001957-81002169
462	ZMIZ1_B	10	81002179-81002856
463	ZMIZ1_C	10	81002774-81003124
464	ZNF132	19	58951346-58951858
465	ZNF382_A	19	37095829-37096330

[0541]

466	ZNF469_A	16	88496936-88497068
467	ZNF469_B	16	88497173-88497294
468	ZNF703	8	37554309-37554811
469	ZNF781	19	38182950-38183200
470	ZSCAN12	6	28367509-28367628
471	ZSCAN23	6	28411060-28411316
472	ATP6V1B1_A	2	71192303-71192387
473	ATP6V1B1_B	2	71192391-71192453
474	BANK1	4	102712067-102712226
475	BCL2L11	2	111876417-111876495
476	BZRAP1	17	56405949-56406457
477	C17orf64_C	17	58498720-58499190
478	C19orf35_C	19	2282230-2282493
479	C2CD4D	1	151810778-151810945
480	CCDC88C	14	91790479-91790734
481	TRIM9_C	14	51560749-51561240
482	CORO1A	16	30195584-30195646
483	DNMT3A_B	2	25499898-25500026
484	DNMT3A_C	2	25500061-25500236
485	FAM189B	1	155220306-155220461
486	FCHO1	19	17862130-17862551
487	FXYS5	19	35646113-35646632
488	GDF6	8	97157560-97158030
489	GMD5	6	1624813-1624862
490	IFFO1_A	12	6664906-6665023
491	IFFO1_B	12	6665135-6665425
492	INA_B	10	105036559-105036778
493	ITPKB_B	1	226862888-226863048
494	ITPKB_C	1	226924740-226924976
495	JAK3_B	19	17958411-17958961
496	KANK3	19	8407580-8407717
497	KCNAB2	1	6053564-6053753
498	LIMD2	17	61778317-61778400
499	MAML3_B	4	140656559-140656624
500	MAX.chr1.9689803-9690241	1	9689803-9690241
501	MAX.chr10.101300125-101300155	10	101300125-101300155
502	MAX.chr11.14926756-14927227	11	14926756-14927227
503	MAX.chr12.30975740-30975961	12	30975740-30975961
504	MAX.chr14.102172350-102172770	14	102172350-102172770
505	MAX.chr16.85482307-85482494	16	85482307-85482494
506	MAX.chr17.76254728-76254841	17	76254728-76254841
507	MAX.chr20.56008090-56008227	20	56008090-56008227
508	MAX.chr4.174430662-174430790	4	174430662-174430790
509	MAX.chr5.42993898-42994179	5	42993898-42994179
510	MAX.chr6.1379890-1379965	6	1379890-1379965
511	MAX.chr7.2569526-2569650	7	2569526-2569650
512	MAX.chr8.124173112-124173541	8	124173112-124173541
513	PPFIA4_B	1	203044753-203044863
514	PPFIA4_C	1	203044899-203044961
515	PRKAR1B_B	7	641251-641544
516	PRKAR1B_C	7	641566-641742
517	PTGER4_A	5	40681137-40681372

[0542]

518	PTGER4_B	5	40681717-40682193
519	PTPRCAP	11	67204667-67204747
520	RASAL3	19	15574876-15575148
521	RASSF1_C	3	50378163-50378750
522	RUNX1	21	36398973-36399247
523	SLC29A4	7	5336631-5336744
524	SLC35D3	6	137244314-137244409
525	SOBP_B	6	107956152-107956211

표 1B.

DMR 번호	유전자 주석	곡선 아래 면적	배수-변화	p-값
1	A1BG	0.6544	8.881	0.0006461
2	ABLM3	0.7567	14.96	0.000006848
3	ADAM8	0.75	22.84	0.003361
4	ADRB1	0.6933	10.87	0.002295
5	AEBP1	0.8933	42.27	0.0002977
6	AGRN_A	0.99	80	0.006998
7	AGRN_B	0.7986	11.38	0.0006022
8	AGRN_C	0.8903	19.04	0.002814
9	AJAP1	0.8382	21.54	0.000009943
10	AMIGO3	0.9567	28.8	7.815E-08
11	ANKLE1	0.7118	7.758	0.006422
12	ANKRD29	0.7233	13.1	0.005132
13	ANO8	0.7683	7.53	0.004867
14	ANPEP	0.6853	5.584	0.0001538
15	ARHGEF1	0.7267	18.41	0.009129
16	ARL10	0.94	28.12	0.00002384
17	ARL5C	0.7528	27.61	0.0001708
18	ATP10A_A	1	30.73	6.249E-09
19	ATP10A_B	1	245.4	1.1E-09
20	ATP10A_C	1	341.2	0.00007308
21	ATP10A_D	1	34.16	1.608E-11
22	ATP2A3_A	0.8583	14.21	0.00000201
23	ATP2A3_B	0.6867	17.2	0.003838
24	BCAN	0.9583	13.08	0.000001579
25	BCAT1	1	79.37	5.014E-12
26	BCL11B_A	0.9867	6.934	6.682E-07
27	BCL11B_B	0.9833	57.45	0.0001541
28	BCL11B_C	0.8283	10.78	0.00004186
29	BEND4	0.7941	7.411	0.0001528
30	BEST4	0.66	24.18	0.0003696
31	BHLHE23_A	0.97	28.06	0.000001769
32	BHLHE23_B	0.9533	28.66	8.302E-07
33	BOLA1	0.8133	5.7	0.00739
34	C12orf42	0.6912	7.798	0.003686
35	C14orf184	0.8567	46.56	0.001492
36	C14orf38_A	0.7333	8.048	0.000008448
37	C14orf38_B	0.6824	10.58	0.002335
38	C17orf107	0.9206	19.7	0.0035
39	C17orf46	0.8806	93.94	0.00008659

[0543]

40	C17orf64_A	0.7456	19.39	0.000006859
41	C17orf64_B	0.8556	15.67	0.000002679
42	C19orf35_A	0.7485	8.741	0.0003768
43	C19orf35_B	0.8826	14.91	0.00001519
44	C1orf200	0.9533	12.6	3.491E-07
45	C1QL3_A	0.8133	19.06	0.0001654
46	C3orf72	0.6833	8.511	0.0001902
47	C6orf147	0.6596	3.923	0.002154
48	CACNA1G	0.8267	18.84	0.0004358
49	CACNA2D4	0.8867	19.07	0.0001017
50	CAPN2_A	0.8806	49.97	0.004007
51	CARD11	0.9015	28.11	0.001149
52	CCND2_A	0.8765	12.62	0.00004201
53	CCND2_B	0.8033	6.981	0.0004369
54	CCND2_C	0.9853	28.97	0.00005149
55	CCND2_D	0.9967	38.38	0.0001518
56	CD151	0.6853	16.18	0.007558
57	CD38	0.7309	5.398	0.0001178
58	CD70	0.7118	9.494	0.0001615
59	CD8A_A	0.8183	5.041	0.0002965
60	CD8A_B	0.6867	4.417	0.003114
61	CDO1_A	0.9167	27.11	0.000002148
62	CDO1_B	0.8987	12.31	2.355E-07
63	CELF2_A	0.9706	55.52	0.000000824
64	CELF2_B	0.9235	69.19	0.000000867
65	CLIC6	0.88	37.52	0.00001932
66	CMTM3_A	1	379.6	0.000004797
67	CNR1_A	0.8333	11.08	0.0002641
68	CNR1_B	0.8986	6.632	2.378E-08
68	CNR1_B	0.965	47.74	0.008
69	CNRIP1	0.7083	8.175	0.004742
70	COL14A1	0.7194	7.588	0.00346
71	CPT1A	0.6985	5.504	0.0004104
72	CSDAP1	0.8564	8.104	0.000002696
73	CYP11A1	0.785	174.8	0.006516
74	CYTH2	0.7147	11.12	0.001887
75	DAB2IP	0.7633	8.707	0.0005873
76	DDN	0.8361	13.65	0.00001727
77	DGKZ	0.8147	8.819	0.00001577
78	DIDO1	0.9033	19.96	0.001844
79	DLG4	0.685	10.81	0.0004877
80	DLL4	0.7767	6.585	0.005444
81	DNMT3A_A	0.9333	29.9	0.0003524
82	DOCK2_A	0.6765	4.147	0.001841
83	DOCK2_B	0.6794	7.295	0.00009245
84	DSCR6	0.9241	24.78	0.000005174
85	ELAVL3	0.74	11.23	0.00009692
86	ELMO1_A	1	132.1	2.564E-08
87	ELMO1_B	1	203.7	0.0000838
88	ELMO1_C	1	59.3	7.298E-07
89	EMB	0.93	35.78	0.0003639
90	EMX1	1	20.6	3.807E-09

[0544]

91	ENO3	0.8683	16.03	0.000003145
92	EPS8L2_A	1	57.73	9.647E-12
93	EPS8L2_B	1	68.16	0.000006863
94	EPS8L2_C	1	160.2	0.000005736
95	EPS8L2_D	1	52.76	0.00009573
96	EPS8L2_E	0.9567	102.7	9.648E-07
97	ESPN	0.6132	6.202	0.00143
98	EVI5L	0.8933	11.73	0.0004139
99	FAIM2_A	1	47	2.702E-09
100	FAM69B	0.7471	27.75	0.005765
101	FEV	0.7368	10.38	0.0007329
102	FLJ22536	0.8833	15.99	0.002614
103	FLJ34208_A	0.9912	28	3.514E-08
104	FLJ34208_B	0.8806	18.98	0.00001492
105	FLJ42875	0.7838	6.465	0.003577
106	FLJ45983_A	0.7812	8.717	0.00002707
107	FLJ45983_B	0.8699	10.64	0.000005396
108	FOXEl	0.7639	6.357	0.00338
109	FZD2	0.7083	99.24	0.009477
110	GAPDHS	0.7667	29.01	0.003253
111	GATA2	0.9833	6.062	2.356E-08
112	GBGT1	0.8567	28.95	0.0005991
113	GDF7	0.8433	34.55	0.00002293
114	GFI1_A	0.8147	4.787	6.398E-07
115	GFI1_B	0.9367	13.76	0.000001453
116	GJA4	0.8067	51.6	0.002206
117	GOLGA8A_A	0.67	7.573	0.0004803
118	GOLGA8A_B	0.6853	8.917	0.003308
119	GP5	0.8941	13.92	0.000009619
120	GPR144	0.8	21.8	0.001782
121	GPRIN1_A	1	56.59	1.866E-07
122	GSX1	0.6926	4.784	0.002045
123	GYPC_A	1	46.94	1.207E-08
124	GYPC_B	0.9598	25.93	0.000000743
125	HAAO	0.6875	14.23	0.00987
126	HCG4P6_A	0.8559	19.03	0.00004768
127	HCG4P6_B	0.8643	53.23	0.00001682
128	HDGFRP3	0.9083	264.6	0.005772
129	HIC1_A	0.82	15.78	0.008269
130	HIC1_B	0.84	8.745	0.009024
131	HIST1H2BE	0.7583	20.23	0.0003459
132	HIST1H3G	0.7559	8.885	0.0008868
133	HMX3	0.7765	5.382	0.001231
134	HOPX	0.8279	6.978	0.0002184
135	HOXA6	0.8745	8.803	0.00222
136	HOXA7	0.7235	7.266	0.0001254
137	HOXB3	0.8792	255.3	0.0009786
138	HPDL	0.7867	7.105	0.00005945
139	HPSE2	0.67	9.805	0.005669
140	HRH2	0.9333	11.87	5.858E-10
141	ICAM4	0.8625	7.528	0.00002389
142	IGFBP7	0.7639	16.19	0.002099

[0545]

143	IKZF1	0.7735	6.009	0.007191
144	IL17C_A	0.6574	10.14	0.006494
145	IL17C_B	0.7647	42.2	0.009096
146	INA_A	0.9933	11.07	0.000002026
147	IRAK2	0.6632	16.61	0.00237
148	IRF4_A	0.8309	27.17	0.00009321
149	IRF4_B	0.9765	36.51	9.513E-07
150	IRF4_C	0.9824	25.5	0.000017
151	IRF4_D	0.7324	9.383	0.008479
152	IRF4_E	0.7456	8.068	0.002086
153	ITGA4_A	0.95	23.1	0.000003344
154	ITGA4_B	0.9917	17.91	0.000001087
155	ITGA5	0.8375	9.488	0.00007725
156	ITGB2	0.7306	4.286	0.001626
157	ITPKB_A	0.7167	15.83	0.002895
158	ITPRIPL1	0.6567	8.02	0.004609
159	JAK3_A	0.8441	37.73	0.00007119
160	JAM3_A	0.8117	9.335	0.00002176
161	JSRP1	0.8533	30	0.0000128
162	KCNA1_A	0.8456	18.55	0.00002068
163	KCNA1_B	0.9222	27.8	0.00001255
164	KCNA3_A	1	11.77	0.000000026
165	KCNA3_B	0.975	14.21	4.593E-08
166	KCNA3_C	1	27.74	0.000000133
167	KCNA3_D	0.6778	14.56	0.002861
168	KCNK12	0.8233	13.36	0.0001527
169	KCNK4	0.8412	10.95	0.001631
170	KCNK9_A	0.6967	9.458	0.0009651
171	KCNK9_B	0.6833	11.69	0.008939
172	KCNK9_C	0.7833	13.34	0.00008646
173	KCNQ5_A	0.9206	36.2	0.0002181
174	KCNQ5_B	0.8278	29.53	0.002382
175	KCNQ5_C	0.9853	25.67	0.0002584
176	KCTD15	0.93	75.32	0.005265
177	KIAA1383	0.6639	13.01	0.0003342
178	KL	0.7471	5.618	0.00007553
179	KLF16	0.8867	43.9	0.0002147
180	KLHL21	0.7042	14.21	0.000305
181	LAPTM4B	0.6667	93190000	0.9955
182	LBH	1	158.1	0.0000823
183	LCNL1	0.8204	13.69	0.0005437
184	LIME1_A	0.99	53.73	1.862E-08
185	LIME1_B	1	80.14	8.084E-07
186	LIMK1	0.9118	13.08	0.00005383
187	LMX1B	0.8667	17.28	0.0004894
188	LOC100132891	0.7319	7.814	0.001522
189	LOC151174	0.7324	10.59	0.00003981
190	LOC339674	0.7029	12.95	0.00007156
191	LOC440461	0.6633	10.07	0.005412
192	LOC646278	1	13.65	3.871E-08
193	LOC648809	0.6633	8.992	0.0002679
194	LPHN1	0.8982	18.43	0.00004102

[0546]

195	LRRC10B	0.8	5.359	0.000004834
196	LRRC32	0.7412	11.54	0.0002366
197	LRRC4	1	177.2	0.0002576
198	LRRC41_A	1	189.9	0.000006696
199	LRRC41_B	0.9233	331.1	0.00001455
200	LRRC8D	0.67	3.422	0.006004
201	LTB	0.8132	3.637	0.000402
202	LTK	0.8033	8.959	0.00003262
203	LY75	0.7556	7.301	0.002031
204	MAML3_A	0.9583	14.34	5.424E-08
205	MAX chr1.110626771-110626832	1	36.78	1.847E-07
206	MAX chr1.147775386-147775483	0.7286	39.08	0.001102
207	MAX chr1.147790358-147790381	0.9917	21.51	5.145E-07
208	MAX chr1.148598377-148598471	0.6559	8.982	0.008606
209	MAX chr1.161591532-161591608	1	17.5	1.128E-07
210	MAX chr1.21917279-21917313	0.8778	9.553	0.00001685
211	MAX chr1.2472236-2472504	0.92	18.64	0.0004799
212	MAX chr1.2472508-2472586	0.8267	26.72	0.002689
213	MAX chr1.32237654-32237674	0.7542	7.453	0.0004997
214	MAX chr1.32238032-32238105	0.7778	16.66	0.0007896
215	MAX chr1.32238359-32238419	0.7056	9.275	0.004603
216	MAX chr1.32410292-32410428	0.7118	10.9	0.009478
217	MAX chr1.46632623-46632858	0.8533	34.46	0.00004827
218	MAX chr1.48058986-48059074	0.9	12.01	2.751E-08
219	MAX chr1.98510937-98511077	0.8412	11.62	0.00001779
220	MAX chr1.98511049-98511077	0.6833	17.37	0.002974
221	MAX chr1.98519485-98519592	0.6517	28.32	0.001259
222	MAX chr10.22541609-22541719	0.675	8.215	0.00122
223	MAX chr10.22541684-22541719	0.7083	4.839	0.004316
224	MAX chr10.22541986-22542037	0.91	12.16	5.242E-07
225	MAX chr10.22765282-22765351	0.84	14.52	0.0001487
226	MAX chr11.14926602-14926671	0.8467	12.76	0.000004841
227	MAX chr11.14926840-14926955	0.97	16.98	9.164E-09
228	MAX chr11.45376949-45377082	0.9517	115.3	0.000004361
229	MAX chr11.45376949-45377204	0.9221	46.27	0.0003883
230	MAX chr11.57250516-57250847	0.9333	80.85	0.000003486
231	MAX chr12.29302564-29302695	0.7338	10.06	0.0000429
232	MAX chr12.30975740-30975780	0.8861	13.36	2.012E-07
233	MAX chr12.4273826-4274239	0.8647	69	0.0002053
234	MAX chr14.100784600-100784781	0.7847	31.75	0.0008823
235	MAX chr14.103557836-103558188	0.73	45.31	0.002456
236	MAX chr14.105512178-105512224	0.9367	7.222	0.00002564
237	MAX chr14.60386315-60386417	0.8817	35.08	0.00287
238	MAX chr14.97685168-97685437	0.85	12.5	0.00002023
239	MAX chr14.97685552-97685839	0.8786	14.81	3.795E-08
240	MAX chr15.28351937-28352173	0.9917	147.2	0.0002627
241	MAX chr15.28352203-28352671	1	67.39	0.00005411
242	MAX chr15.29131258-29131734	1	86.77	0.000000195
243	MAX chr15.31685160-31685245	0.7407	21.19	0.005291
244	MAX chr15.65186050-65186150	0.8853	10.04	0.00008134
245	MAX chr15.74891008-74891138	0.7267	10.41	0.006328
246	MAX chr15.75471061-75471202	0.8929	21.23	0.001064

[0547]

247	MAX.chr16.50875166-50875262	0.7059	7.995	0.0008048
248	MAX.chr16.50875166-50875301	0.765	5.509	0.00009394
249	MAX.chr17.37366022-37366321	0.84	61.52	0.00969
250	MAX.chr19.2273768-2273823	0.6931	9.226	0.0002203
251	MAX.chr19.30716607-30716756	0.9324	30.77	0.001229
252	MAX.chr19.37288390-37288811	0.7971	68.63	0.007985
253	MAX.chr19.42444222-42444334	0.8767	19.68	0.0007796
254	MAX.chr19.55962661-55962773	0.8633	13.64	0.002362
255	MAX.chr19.5828277-5828498	0.6412	53.01	0.0001286
256	MAX.chr2.118981858-118981934	0.8467	9.919	0.0002715
257	MAX.chr2.118982007-118982089	0.89	12.5	0.000007672
258	MAX.chr2.119067767-119068112	0.9267	9.924	2.498E-07
259	MAX.chr2.127783351-127783403	0.6853	16.1	0.006544
260	MAX.chr2.175191004-175191127	0.68	5.084	0.002279
261	MAX.chr2.241855537-241855585	0.8319	5.466	0.00001195
262	MAX.chr2.25438959-25439001	0.7361	8.401	0.0003554
263	MAX.chr2.25439173-25439276	0.655	15.85	0.006701
264	MAX.chr2.66653544-66653582	0.8724	16.31	0.0003529
265	MAX.chr2.66653881-66653935	0.9062	16.45	0.00002628
266	MAX.chr2.97193155-97193524	0.6764	11.81	0.009997
267	MAX.chr2.97193478-97193562	0.8819	15.24	0.0000772
268	MAX.chr20.30175888-30175927	0.9333	13.48	0.000008072
269	MAX.chr20.3073377-3073486	0.7567	5.665	0.0006037
270	MAX.chr20.49308029-49308083	0.8719	20.88	0.0003897
271	MAX.chr3.107148795-107148869	0.7569	46.05	0.004906
272	MAX.chr3.128274281-128274519	0.9133	16.16	0.000007595
273	MAX.chr3.138679378-138679414	0.8667	29.07	0.000004821
274	MAX.chr3.18485437-18485723	0.8533	20.2	0.0001419
275	MAX.chr3.186490624-186490778	0.6733	8.495	0.009519
276	MAX.chr3.69591053-69591097	0.9518	21.05	0.00000792
277	MAX.chr4.174430671-174430719	0.9441	13.81	5.443E-08
278	MAX.chr4.174430751-174430776	0.6694	9.455	0.001239
279	MAX.chr4.41869404-41869433	0.8639	8.957	7.459E-07
280	MAX.chr4.8859707-8859944	0.9304	11.03	0.00001052
281	MAX.chr4.8859995-8860062	1	15.92	6.853E-09
282	MAX.chr4.8860076-8860122	0.725	7.894	0.0001833
283	MAX.chr5.178957539-178957851	0.7267	9.425	0.0001272
284	MAX.chr5.2038771-2038990	0.9	28.04	7.505E-07
285	MAX.chr5.42951482-42951568	0.8983	8.985	7.898E-07
286	MAX.chr5.42952182-42952292	1	12.51	7.848E-09
287	MAX.chr6.10382190-10382225	0.9412	17.5	7.771E-10
288	MAX.chr6.108440553-108440720	0.8866	13.62	0.00004107
289	MAX.chr6.157557273-157557374	0.8583	9.341	0.00009311
290	MAX.chr6.28175549-28175579	0.9	8.988	0.00002146
291	MAX.chr6.42738979-42739055	0.7807	11.24	0.0006332
292	MAX.chr7.127744282-127744490	0.65	11.98	0.0001731
293	MAX.chr7.142494643-142495353	0.9433	45.64	0.0005619
294	MAX.chr7.1706293-1706418	0.8485	5.619	0.0001293
295	MAX.chr7.99595234-99595474	0.6667	8.374	0.0001195
296	MAX.chr8.124173231-124173268	0.7722	4.552	0.001168
297	MAX.chr8.142215938-142216298	0.9567	87.27	3.469E-07
298	MAX.chr8.145103855-145103943	0.6882	6.976	0.007105

[0548]

299	MAX.chr8.145104058-145104455	0.9267	50.22	0.001557
300	MAX.chr8.145105537-145105891	0.8777	20.95	0.003006
301	MAX.chr8.145105977-145106067	0.9196	18.25	0.0001214
302	MAX.chr8.6658405-6658443	0.6833	6.011	0.003327
303	MAX.chr8.688047-688103	0.8817	28	0.001064
304	MAX.chr9.113594-113689	0.8971	5.339	0.00004707
305	MAX.chr9.129485515-129485818	0.9133	106	0.006038
306	MDFI	1	73.57	0.000004885
307	MFSD2B	0.7933	37.02	0.001475
308	MGC16275	0.9333	10.26	0.00006057
309	MPZ	0.8417	23.23	0.0005555
310	MSX2	0.7639	5.593	0.0001681
311	MT1A_A	0.7678	10.91	0.0000658
312	MT1A_B	0.9339	12.34	0.000001177
313	MYO15B_A	0.93	43.36	0.0001431
314	MYO15B_B	0.8433	17.27	0.003642
315	MYO15B_C	0.9	14.9	0.007671
316	MYOZ3	0.7912	5.008	0.0001528
317	NBPF3	0.6706	8.853	0.005487
318	NCOR2	0.9955	38.93	2.476E-10
319	NEFL	0.8825	25.46	0.0006411
320	NFATC1	0.82	8.974	0.0003065
321	NFATC4	0.91	22.36	0.006938
322	NFIC_A	0.96	27.22	0.000488
323	NFIC_B	0.9367	84.11	0.00185
324	NFIC_C	0.6972	32.63	0.0001043
325	NFIX	0.8234	14.95	0.00007753
326	NID2	0.9278	7.711	3.206E-07
327	NKX2-3	0.8579	8.629	0.00000336
328	NKX2-6	1	14.31	9.91E-11
329	NR2F6	0.9417	67.65	0.0001251
330	NRTN	0.6997	89.44	0.002364
331	NTN1	0.6676	21.88	0.0001142
332	NTRK3_A	0.8553	31.75	0.005009
333	NTRK3_B	0.9529	39.83	0.003353
334	OBSCN	0.7347	35.22	0.002406
335	OLIG1	0.6767	6.84	0.003567
336	OLIG2	0.9107	11.58	0.000001446
337	OPLAH_A	0.9917	15.82	0.000007607
338	OPLAH_B	0.9235	29.03	0.0001982
339	OPRL1	0.8317	6.596	0.0004722
340	OSR2	0.6176	5.538	0.003435
341	OXT_A	0.9233	17.05	0.000002882
342	OXT_B	0.9467	63.26	0.0002042
343	PALLD	0.9656	19.54	1.219E-10
344	PALM3	0.88	168.5	0.006656
345	PARP15	1	62.6	1.898E-08
346	PAX6	0.8728	9.994	0.000000247
347	PDE6B	0.9118	19.01	0.00001524
348	PDE10A	1	45.15	0.000009912
349	PDX1	0.9167	30.83	0.0000925
350	PEAR1_A	0.8786	6.704	0.00007155

[0549]

351	PIF1	0.9633	13.9	1.939E-09
352	PIP5KL1	0.6933	6.343	0.008768
353	PISD	0.93	465.4	0.03728
354	PLEKHA6	0.9393	21.27	0.000001155
355	PLEKHO1	0.7567	4.877	0.008098
356	PLXNC1	0.8162	7.564	0.0006475
357	PNMAL2	0.6574	9.419	0.001336
358	PPFIA4_A	0.9054	22.96	0.000005626
359	PPP1R16B	1	16.73	9.679E-10
360	PRDM14	0.9295	13.12	0.000002319
361	PRKAG2	0.7722	31.49	0.00008639
362	PRKAR1B_A	0.8972	25.88	0.00003686
363	PRKCB_A	0.7706	8.209	0.0002441
364	PRKCB_B	0.9167	7.564	0.00003846
365	PRKCB_C	0.7508	8.802	0.0003597
366	PRKCB_D	0.8279	10.52	0.000001553
367	PROCA1	0.8706	27.19	0.00001691
368	PROKR2	0.7088	16.37	0.00005348
369	PTGDR	0.875	15.13	0.000001258
370	PTP4A3_A	0.6389	81100000	0.9931
371	PTP4A3_B	0.95	19.27	0.000007774
372	PTPRS	0.8556	15.35	0.000009913
373	PTPRU	0.8433	19.24	0.001639
374	PYCARD	0.9833	66.56	0.0002255
375	RAI1_A	0.87	114	0.000005652
376	RAI1_B	0.955	163.4	0.00001528
377	RASGEF1A	0.83	17.9	0.0001497
378	RASSF1_A	0.9833	41.85	0.000002522
379	RASSF1_B	0.9933	24.8	9.235E-09
380	RBFOX3	0.7681	7.262	0.00104
381	RET	0.7838	9.604	0.0004724
382	RFTN1_A	0.8389	18.25	0.0002672
383	RILPL2	0.9083	89.71	0.0009295
384	RNF220	0.9364	7.609	7.141E-07
385	RTN4RL2	0.7183	12.52	0.004958
386	RUNX3	0.805	10.17	0.0007233
387	SALL3	0.8309	27.66	0.0005659
388	SCGB3A1	0.8042	14.23	0.00007877
389	SEPTIN9	0.9933	87.79	0.0007871
390	SFMBT2_A	0.7353	17.61	0.00299
391	SFMBT2_B	0.7681	30.47	0.002173
392	SFMBT2_C	0.9133	36.08	0.00007163
393	SH2B3	0.9868	17.79	0.00003501
394	SH3PXD2A	0.7603	12.73	0.006045
395	SHH_A	0.7933	86.22	0.0009818
396	SHH_B	0.725	17.6	0.004096
397	SIM2_A	0.9152	14.67	1.523E-07
398	SKI	1	79.27	1.098E-07
399	SLC12A8	1	77.66	3.571E-08
400	SLC25A47	0.9733	66.69	0.001407
401	SLC4A11	0.8833	13.13	0.0001207
402	SLC5A5_A	0.8767	9.298	0.000003536

[0550]

403	SLC5A5_B	0.7767	9.372	0.002392
404	SLC8A3	0.9353	38.43	0.0001207
405	SLFN12L	0.8421	43.3	0.0001534
406	SMTN	0.91	16.65	0.00177
407	SOBP_A	0.9333	8.568	4.472E-08
408	SP9	0.6676	3.771	0.0008535
409	SPATA18	0.6833	11.52	0.0003341
410	SPDYA	0.8324	22.84	0.000003646
411	SPEF1	0.81	44.2	0.001272
412	SPOCK2_A	0.9467	56.14	0.0001242
413	SPOCK2_B	0.9733	18.93	0.00001608
414	SPON2_A	0.8333	9.385	0.00001783
415	SPON2_B	0.8667	7.556	0.000009146
416	SRC_A	0.9933	364.7	0.002044
417	SSBP4_A	0.9433	12.18	2.734E-09
418	SSBP4_B	0.99	33.82	4.907E-10
419	SSBP4_C	0.9404	17.04	2.022E-08
420	ST8SIA1	0.9917	34.46	2.652E-09
421	STX16	0.8735	25.58	0.0002471
422	TACC1	0.9583	30.34	0.00001213
423	TACC2_A	1	217.2	0.0003304
424	TBKBP1	0.94	35.27	2.28E-10
425	TBX20	0.93	28.72	0.00199
426	TCF3	0.9267	18.76	0.000004029
427	TEAD3	0.8633	11.71	0.00002807
428	TET2	0.7778	5.054	0.0006353
429	TGFB1	0.8917	17.59	0.0006773
430	TJP2	0.9765	56.47	0.002008
431	TMC4	0.6667	5.203	0.004701
432	TMC6	0.89	8.028	0.0002984
433	TMEFF2	0.7735	7.797	0.0001361
434	TMEM101	0.93	51.4	0.00001231
435	TMEM106A	0.7417	14.14	0.0004017
436	TNFRSF10C	0.6647	7.404	0.001976
437	TNFRSF8	0.678	14.86	0.002477
438	TRIM15	0.9737	25.3	0.00002151
439	TRIM71	0.6912	17.62	0.004034
440	TRIM9_A	0.7867	9.348	0.00001029
441	TRIM9_B	0.9412	7.746	0.000001165
442	TRPV2	0.7983	5.552	0.001986
443	TSC22D4	0.8667	45.25	0.0002631
444	TSHZ3	1	330.4	0.002852
445	TSPY26P	0.72	13.24	0.005337
446	TXNRD1	0.7779	29.56	0.00005732
447	UBTF	0.99	37.3	1.175E-07
448	ULBP1	0.9567	21.94	0.000001494
449	UST	0.96	73.73	0.0009294
450	VASP	0.8167	25.26	0.007948
451	VILL	0.8324	26.28	0.003267
452	VIM	1	128.6	3.678E-07
453	VIPR2_A	1	49.5	0.000003125
454	WNT7B	0.83	113.3	0.0002042

[0551]

455	XKR6	0.7162	13.39	0.006601
456	XYLT1	0.7765	5.564	0.000001447
457	ZBED4	1	33.68	0.00003722
458	ZEB2_A	0.9386	59.23	0.004218
459	ZEB2_B	0.8833	17.62	0.0001426
460	ZFP3	0.865	94.31	0.003443
461	ZMIZ1_A	1	43.45	2.878E-07
462	ZMIZ1_B	1	307.9	3.498E-09
463	ZMIZ1_C	1	297.4	2.396E-09
464	ZNF132	0.8867	56.31	0.000001664
465	ZNF382_A	1	86.86	1.14E-09
466	ZNF469_A	0.9833	24.13	0.0001099
467	ZNF469_B	1	15.78	0.000000149
468	ZNF703	0.98	66.04	0.005629
469	ZNF781	0.7191	40.16	0.0009516
470	ZSCAN12	0.7426	50.98	0.009365
471	ZSCAN23	0.7309	26.36	0.0004899
472	ATP6V1B1_A	0.999	169.2	0.003
473	ATP6V1B1_B	0.984	116.5	0.002
474	BANK1	0.813	10.77	0.048
475	BCL2L11	0.979	63.01	0.003
476	BZRAP1	0.994	77.62	0.00001416
477	C17orf64_C	0.983	101.6	0.009
478	C19orf35_C	0.951	40.84	0.007
479	C2CD4D	0.982	103.7	3E-04
480	CCDC88C	0.965	124.5	0.005
481	TRIM9_C	0.956	32.22	0.01
482	CORO1A	0.958	33.47	0.002
483	DNMT3A_B	0.958	44.81	0.004
484	DNMT3A_C	0.987	57.07	0.002
485	FAM189B	0.982	41.54	0.002
486	FCHO1	0.979	54.92	0.002
487	FXVD5	0.963	43.45	7E-04
488	GDF6	1	80.2	0.003
489	GMDS	0.967	91.6	0.01
490	IFFO1_A	0.999	285.5	1E-03
491	IFFO1_B	0.998	164.8	1E-04
492	INA_B	0.969	38.89	0.004
493	ITPKB_B	0.978	207.9	0.00002857
494	ITPKB_C	0.981	97.94	0.006
495	JAK3_B	0.981	41.07	0.002
496	KANK3	0.984	41.48	0.002
497	KCNAB2	0.991	50.86	0.003
498	LIMD2	0.992	153.6	6E-04
499	MAML3_B	0.991	39.57	0.002
500	MAX chr1.9689803-9690241	0.984	86.99	0.00001809
501	MAX chr10.101300125-101300155	0.962	30.08	0.002
502	MAX chr11.14926756-14927227	0.97	64.79	0.004
503	MAX chr12.30975740-30975961	0.966	71.51	0.004
504	MAX chr14.102172350-102172770	0.998	60.04	0.003
505	MAX chr16.85482307-85482494	1	110.5	0.001
506	MAX chr17.76254728-76254841	0.998	79.79	0.003

[0552]

507	MAX chr20.56008090-56008227	0.973	62.96	8E-04
508	MAX chr4.174430662-174430790	0.963	90.75	0.009
509	MAX chr5.42993898-42994179	0.999	103.2	0.000006147
510	MAX chr6.1379890-1379965	0.964	42.04	0.002
511	MAX chr7.2569526-2569650	0.983	40.92	0.004
512	MAX chr8.124173112-124173541	0.966	54.57	0.003
513	PPFIA4_B	0.969	56.41	5E-04
514	PPFIA4_C	0.961	54.65	0.002
515	PRKAR1B_B	0.981	110.1	0.004
516	PRKAR1B_C	0.953	73.58	0.004
517	PTGER4_A	0.965	66.17	0.006
518	PTGER4_B	0.983	75.21	0.004
519	PTPRCAP	0.985	80.48	2E-04
520	RASAL3	0.995	115.7	0.00001693
521	RASSF1_C	0.984	106.3	0.009
522	RUNX1	0.987	152.2	0.007
523	SLC29A4	0.96	45.59	0.001
524	SLC35D3	0.961	56.18	0.003
525	SOBP_B	0.98	61.02	0.002

표 1C.

DMR #	명칭	5'-3' 서열 (hg19)	서열번호
318	NCOR2	정방향: GAGGAGTTTAAATATTTTATAGCGG	1
318	NCOR2	역방향: AACAACTTCAATAAACCCGACGCA	2
343	PALLD	정방향: GGCGACGCGGAGGAGGAGTTTAC	3
343	PALLD	역방향: GCAACCTTCGACGCTAAACCCG	4
207	MAX chr1.147790358-147790381	정방향: GATATGTTGTCGGGTTCTGTACGA	5
207	MAX chr1.147790358-147790381	역방향: CAAAATACCCGATAAAACAATCGAA	6
287	MAX chr6.10382190-10382225	정방향: CGTTAGTCGTTTTATTTTAATTATCGT	7
287	MAX chr6.10382190-10382225	역방향: CTTCAAAAACCTCCAACGCGTC	8
354	PLEKHA6	정방향: GATTAGATTAGATTCGGAGTTTCGT	9
354	PLEKHA6	역방향: ACCAACTAAAATCCTCCTCCCCGC	10
384	RNF220	정방향: TAGTTTGGTTAAAGGGTGCGAATTCGA	11
384	RNF220	역방향: CGAAACTCTCCGAACTAAATAATACACCCGCT	12
81	DNMT3A_A	정방향: TTTGTGGGAGTTCGGGGTTTATC	13
81	DNMT3A_A	역방향: AACCTATCCGAAACCTCCCCGTT	14
312	MT1A_B	정방향: TTGCGTATAGTTAGTTTAGGATCGT	15
312	MT1A_B	역방향: CTTACACCCGCCCCGCTAAATTCG	16
311	MT1A_A	정방향: TCGTTGGTTATCGTACGTTTTCGT	17
311	MT1A_A	역방향: ACTAAACCTATCCCGAAATCCCGAT	18
360	PRDM14	정방향: GGTTGTTTTGTAGTGTATATAGACGG	19

[0553]

360	PRDM14	역방향: AAAACAAAATATACTACCCGCCGAA	20
25	BCAT1	정방향: GGGGAGGAGTTTTTAATCGTTTCGT	21
25	BCAT1	역방향: AAACAACCGCTTCGATTTTAACGAC	22
84	DSCR6	정방향: CGGTAGGGGAAGTTTAGTAGGTGAGCGT	23
84	DSCR6	역방향: GAACTAAAAACGTTTCCGTCGAACGCA	24
398	SKI	정방향: GGTAGTTAGGCGGTTATTACGGGTCGC	25
398	SKI	역방향: AAAATCTACTCCCTCCCCGAACGCT	26
61	CDO1_A	정방향: CGCGCGTTTTATTGTTGGGTTGC	27
61	CDO1_A	역방향: AACGAACTATTAACCTCCCTCGCC	28
397	SIM2_A	정방향: GTTAGTAGTTGTGGGGCGGCGTTC	29
397	SIM2_A	역방향: AACCCGATACCCCATACCGTACG	30
185	LIME1_B	정방향: CGCGTAGTAGTAGGGGTGAGTAGAGGGC	31
185	LIME1_B	역방향: GAATCTAACCCAAAAATTAACACGCGCT	32
63	CELF2_A	정방향: CGGGATCGGAGTTAGAATTTTTCGT	33
63	CELF2_A	역방향: ACCTAAACGCCTAACGACCCCG	34
99	FAIM2_A	정방향: TATTCGGGGGAGGGTTAAGGGCG	35
99	FAIM2_A	역방향: GCTACGAATTCGCGAACCCGAA	36
64	CELF2_B	정방향: GGGTTGTTTAGAAAGTGATTTTTCGGGAGC	37
64	CELF2_B	역방향: AAAACCGAAACAAAACGAAAACGCA	38
204	MAML3_A	정방향: TGTITTTTTATTTTATTTTAGTITTTTCGT	39
204	MAML3_A	역방향: AATTTCTCATTACCGACTTTTCTTCCAACCGAA	40
329	NR2F6	정방향: GGCGCGTATTTGGTTTATGAAAGTTACGG	41
329	NR2F6	역방향: CAAACGACGCTACCCCTACACACGA	42
447	UBTF	정방향: GGCGTTAGTITTTTTATTTATTTTAGGGGGC	43
447	UBTF	역방향: CCAACCCATACTTCTACCCGCCGAC	44
398	SKI	정방향: ACGAAATATTTTAATTGAGTTCGA	45
398	SKI	역방향: AAAAAATACGAAACACAAAAACGAC	46
131	HIST1H2BE	정방향: TTGGCGTATTATAATAAGCGTTCGA	47
131	HIST1H2BE	역방향: GAAAAACAACAAACGCACGACCGTC	48
164	KCNA3_A	정방향: ACGTAGTTGAAGATTTTTTGTAGTTTTTCGA	49
164	KCNA3_A	역방향: ACCTCATACGCCGCTTAAAAATCGCC	50
345	PARP15	정방향: TAGTAGGGTTGAGTTGGGGTTCGT	51
345	PARP15	역방향: GTAAAATCTCTACGCCCGCTCGAA	52
50	CAPN2_A	정방향: CGTTCGAGTTGCGAAAGGGACGT	53

[0554]

50	CAPN2_A	역방향: GCACCTCCTAAAAATTCGCGCGGAA	54
		정방향: GGTAAAAATTTACGTTGTGTAGAATTAGGCGG	
334	OBSCN	G	55
334	OBSCN	역방향: ACGTAAAAATCCACGCCGAAAAACGC	56
399	SLC12A8	정방향: TTATTTTGGATTAGCGATCGACGA	57
399	SLC12A8	역방향: GCGCTAACTATTCTCGATTACGCC	58
452	VIM	정방향: CGTTTAGGTTATCGTTATTTTTCGT	59
452	VIM	역방향: GAACCGCCGAACATCCTACGAT	60
462	ZMIZ1_B	정방향: GGGGGCGGGAGATATTCGAAGTTATTTATC	61
462	ZMIZ1_B	역방향: AAACGCTATCGCCCCGAAAAAACCG	62
19	ATP10A_B	정방향: TTTTGGGTAGGAAGGATAGTAGCGT	63
19	ATP10A_B	역방향: CAAAAACGAACGACGACGAC	64
463	ZMIZ1_C	정방향: GCGAGTCGGGGTTTTTGGAGAC	65
463	ZMIZ1_C	역방향: CACCCACCTACGTATACCCGCGT	66
444	TSHZ3	정방향: GATTTGGCGCGGTTTAGCGC	67
444	TSHZ3	역방향: CCTCTCGCACCCATTAAAAAACCG	68
226	MAX chr11.14926602-14926671	정방향: TGAATGTTAATTAAGATTGCGTTTCG	69
226	MAX chr11.14926602-14926671	역방향: AACACCCTCACGAAAAACCCGCG	70
236	MAX chr14.105512178-105512224	정방향: TTGTAGTTGTTGTTTTTGGCGGTCGC	71
236	MAX chr14.105512178-105512224	역방향: AAACCGAACGAATTTTCGCTTCCCG	72
121	GPRIN1_A	정방향: TGGCGGCGTCGTATATTTTTACGT	73
121	GPRIN1_A	역방향: ACCGCTATAACGCCCCGAA	74
39	C17orf46	정방향: TAGTTAAAGAGTATATTGGAGGCGG	75
39	C17orf46	역방향: CTCTATCCTAAAAACGAAAAACGAA	76
434	TMEM101	정방향: AGGGGTAGCGTGTGAGTAGTATCGA	77
434	TMEM101	역방향: TACCCTTTCCCAAAATAACGTCGAA	78
123	GYPC_A	정방향: GTTAGTTTTTCGCGGTTTTTGTTCGG	79
123	GYPC_A	역방향: CGCCGTACTATTAAACTTCTCGTCGAC	80
306	MDFI	정방향: TTTTGGTTGGGTTAAGTTCGGCGC	81
306	MDFI	역방향: GCCTTCTCAATCGCCCTCTACGAA	82
423	TACC2_A	정방향: TTAGTTTCGTTTTTCGGAGTTCGCGA	83
423	TACC2_A	역방향: CTCCTATATATAACACGATAATATCATCATC GCC	84
7	AGRN_B	정방향: TTTTGTAGTTTTTTTCGTTTTTCGCGG	85
7	AGRN_B	역방향: ACGACTTCCTTTATCTCTACTCCCGCC	86
96	EPS8L2_E	정방향: CGGAAAATTAGTAATATTAGGGCGT	87
96	EPS8L2_E	역방향: CGAACCCGACTCGTAAATAAACGAC	88
297	MAX chr8.142215938-142216298	정방향: GTCGTACGTATCGGGTGGACGA	89

[0555]

297	MAX chr8.142215938-142216298	역방향: CCCTAACTAACGCGAACCCG	90
418	SSBP4_B	정방향: GGAGGGGCGAATAGAGTTTTTTCG	91
418	SSBP4_B	역방향: AAAACGACCCCTTCTCTCTCGCC	92
490	IFFO1_A	정방향: TTTGGTTAGGAAGTAGCGGAATCGG	93
490	IFFO1_A	역방향: GCAATAACCTAAACTCCAACATCAACGTA	94
493	ITPKB_B	정방향: ATAATTTTAAGGGGGAACGTTTCGT	95
493	ITPKB_B	역방향: CCAATATAACCGACTTCTTAAACGCT	96
491	IFFO1_B	정방향: GATTAATTAGGCGTTCGGTAGCGG	97
491	IFFO1_B	역방향: CAATTAACCTATCATTAACTCCCTCGA C	98
475	BCL2L11	정방향: GGTTGTAAGGGTTTTTGGTTTCGACGC	99
475	BCL2L11	역방향: AACGAATTCATACGTCCCCGAA	100
488	GDF6	정방향: CGTTTCGTTAGTAGTTATCGATTTTCGT	101
488	GDF6	역방향: AAACGAACCCCTCCTTCGCGT	102
479	C2CD4D	정방향: GTTACGCGCGAGAGCGTGTTC	103
479	C2CD4D	역방향: GCCCGAACCCGACCTAATATTCGAT	104
250	MAX chr19.2273768-2273823	정방향: GGATGTTTGTGTTTTTAATTAATTTTGAGT TC	105
250	MAX chr19.2273768-2273823	역방향: AAATACTACTACCCGAACGACGCT	106
409	SPATA18	정방향: ACATATACACATATCCTTCTTCCCAAC GAT	107
409	SPATA18	역방향: TTTTGTAAGTTTTCGCGTTGCGA	108
370	PTP4A3_A	정방향: TCGTCGGTTACGTTTTTACGTGAC	109
370	PTP4A3_A	역방향: CGAAACCGACTCCAAACGCT	110
310	MSX2	정방향: GGGTGTCGAAGTCGGATTTTACGA	111
310	MSX2	역방향: AACCACAAAAAACATTTCTCCCCGC	112
348	PDE10A	정방향: GAGTTTCGGCGGTTTTTCGAAAGTAGC	113
348	PDE10A	역방향: CCACGAACAACGACACTACGACGCT	114
137	HOXB3	정방향: TGTTTTTTCGTTTTTGGTCGTCGGC	115
137	HOXB3	역방향: AACCCCAAATCCCTCCATACGAA	116
388	SCGB3A1	정방향: GGGAGGCGTTAGGAATCGTCGC	117
388	SCGB3A1	역방향: CCTATATCCCGAAAACTCGCA	118
111	GATA2	정방향: AGGAGTGTTGAGTAGGGGTTTCGG	119
111	GATA2	역방향: TTTTTCCTCTACACCGAATTACGAA	120
340	OSR2	정방향: TAGGGTTAGTAGGCGGTTTAGGCGC	121
340	OSR2	역방향: CGAACTCCAACTTAAAAAATACCGCGTA	122
255	MAX chr19.5828277-5828498	정방향: GATTTATTTTCGGCGAGGGGTTTCGC	123
255	MAX chr19.5828277-5828498	역방향: CGCTTCCCGATAAAAAACGACGACGTA	124

181	LAPTM4B	정방향: AGTAGTAGTTGTTGGAGTAGAATCGCGT	125
181	LAPTM4B	역방향: GCCCGAAACGATAAAAAATAATCGCGC	126
317	NBPF3	정방향: TTTTATTTTCGAGGTCGGAATCGG	127
317	NBPF3	역방향: CAAATCAAAAACGCGAACGCTCTCG	128
97	ESPN	정방향: TTAGTTGCGGGAAGATAGTGATCGG	129
97	ESPN	역방향: AACGCCTACCGAACAAATACCCGAA	130
353	PISD	정방향: TCGTGTTTACGTGGGACGG	131
353	PISD	역방향: CGCGAACAAAATTAACGAATCGTA	132
33	BOLA1	정방향: TAGACGTTAGGAGTGAGGGTCGGGGC	133
33	BOLA1	역방향: TAAACGAATACGAAAATCGCGAAACGAA	134
474	BANK1	정방향: TTTAGGTGGGTAGTCGCGTATTCGG	135
474	BANK1	역방향: CTAACGATAACCCGTAATCTCCGCA	136

[0556] 추가 진행을 위해 DMR의 하위 집합을 선택하였다. 기준은 주로 영역의 판별식 퍼텐셜(discriminant potential)

에 대한 성능 평가를 제공하는 ROC 곡선 메트릭 아래의 로지스틱 유래 영역이었다. 0.85의 AUC가 컷오프로 선택되었다. 또한, 메틸화 배수 변화 비율(평균 암 과메틸화 비율/평균 대조군 과메틸화 비율)을 계산하고 조직 대 조직 비교를 위해 10의 하한을 사용하고 조직 대 버피 코트 비교를 위해 20을 사용하였다. p 값은 0.01 미만이어야 하였다. DMR은 평균 및 개별 CpG 선택 프로세스 모두에 나열되어야 하였다. 정량 메틸화 특이적 PCR(qMSP) 프라이머는 MethPrimer(Li LC and Dahiya R. Bioinformatics 2002 Nov;18(11):1427-31)를 사용하여 후보 영역에 대해 설계되었고 QC는 양성 및 음성 계놈 메틸화 대조군 20ng(6250 당량)에 대해 체크하였다. 최적의 판별을 위해 다중 어닐링 온도를 테스트하였다. 검증은 두 단계의 qMSP로 수행하였다. 첫 번째는 시퀀싱된 DNA 샘플을 다시 테스트하는 것으로 구성되었다. 이는 DMR이 매우 큰 차세대 데이터 세트를 과도하게 피팅한 결과가 아니라 진정으로 판별적인지 확인하기 위해 수행되었다. 두 번째는 더 큰 독립 샘플 세트를 활용하였다(장액성 OC - 36개의 샘플; 투명 세포 OC - 21개의 샘플; 점액성 OC - 14개의 샘플; 자궁내막양 OC - 23개의 샘플; 대조군 나팔관 양성 - 29개의 샘플; 대조군 버피 코트 - 28개의 샘플).

[0559] 조직은 전문적인 임상 및 병리학적 검토를 통해 이전과 같이 확인되었다. DNA 정제는 이전에 설명한 대로 수행하였다. 중아황산염 전환 단계에는 EZ-96 DNA 메틸화 키트(Zymo Research, Irvine CA)를 사용하였다. 10ng의 전환된 DNA(마커당)는 Roche 480 LightCyclers(Roche, Basel Switzerland)에서 SYBR Green 검출을 사용하여 증폭하였다. 연속 희석된 범용 메틸화 계놈 DNA(Zymo Research)를 정량 표준으로 사용하였다. CpG 애그노스틱(agnostic) ACTB(β -액틴) 검정은 입력 기준 및 정규화 제어로서 사용되었다. 결과는 ACTB의 메틸화 카피(특정 마커)/ACTB 카피로 표현되었다.

[0560] 결과는 개별 MDM(메틸화 DNA 마커) 성능에 대해 논리적으로 분석되었다. 마커 조합의 경우 두 가지 기술이 사용되었다. 첫째, rPart 기술은 전체 MDM 세트에 적용되었고 3개의 MDM 조합으로 제한되었으며, rPart 예측 압 확률을 계산하였다. 두 번째 접근 방식은 무작위 포레스트 회귀(random forest regression)(rForest)를 사용하여 원본 데이터의 부트 스트랩 샘플(학습용 데이터의 약 2/3)에 적합하고 전체 MDM 패널의 교차 검증 오류(테스트용 데이터 중 1/3)를 추정하는 데 사용되며는 500개의 개별 rPart 모델을 생성하였고 500회 반복하여 실제 교차 검증 매트릭스를 과소평가 또는 과대평가하는 허위 분할(spurious split)을 방지하였다. 그런 다음 결과는 500회 반복에 걸쳐 평균화되었다.

[0561] 표 2A는 투명 세포 OC 조직을 버피 코트 대조군 및 대조군 나팔관 조직과 구별하는 10개의 메틸화 영역을 보여준다(대조군 버피 코트, 대조군 나팔관 조직 및 투명 세포 OC 조직에 대한 백분율 메틸화)(% 메틸화 투명 세포 조직과 % 메틸화 대조군 나팔관 사이의 AUC 및 p-값).

표 2A. 투명 세포 OC 조직을 버피 코트 대조군, 대조군 나팔관 조직, 투명 세포 난소암 조직과 구별하는 10 개의 메틸화 영역.

DMR#	유전자	%M 버피 코트	%M 나팔관	%M 투명 세포 OC	AUC	배수 변화	p 값
423	TACC2_A	0.99%	0.40%	46.37%	1	217	0.0003304
198	LRRC41_A	0.46%	0.30%	36.28%	1	190	6.696E-06
94	EPS8L2_C	0.56%	0.96%	60.94%	1	160	5.736E-06
182	LBH	0.40%	0.25%	28.17%	1	158	0.0000823
185	LIME1_B	0.27%	1.32%	51.66%	1	80	8.084E-07
306	MDFI	0.51%	0.78%	36.78%	1	74	4.885E-06
99	FAIM2_A	0.59%	1.58%	42.93%	1	47	2.702E-09
123	GYPC_A	0.37%	1.52%	41.92%	1	47	1.207E-08
7	AGRN_B	0.73%	2.39%	51.24%	1	43	6.792E-10
457	ZBED4	0.70%	1.13%	27.85%	1	34	3.722E-05

[0562]

[0563] 표 2B는 자궁내막양 OC 조직을 버피 코트 대조군 및 대조군 나팔관 조직과 구별하는 10개의 메틸화된 영역을 보여준다(대조군 버피 코트, 대조군 나팔관 조직, 및 자궁내막양 OC 조직에 대한 백분율 메틸화)(% 메틸화 자궁내막양 조직 및 % 메틸화 대조군 나팔관 사이의 AUC 및 p-값).

표 2B. 자궁내막양 OC 조직을 버피 코트 대조군, 대조군 나팔관 조직, 자궁내막양 난소암 조직과 구별하는 10 개의 메틸화 영역.

DMR#	유전자	%M 버피 코트	%M 나팔관	%M 자궁내막양 OC	AUC	배수 변화	p 값
345	PARP15	0.44%	1.27%	44.65%	1	63	1.898E-08
121	GPRIN1_A	0.58%	1.41%	44.79%	1	57	1.866E-07
123	GYPC_A	0.37%	1.52%	39.96%	0.9912	43	7.342E-07
103	FLJ34208	0.16%	2.51%	41.87%	0.9912	28	3.514E-08
207	MAX.chr1. 147790358- 147790381	0.62%	4.41%	48.42%	0.9912	20	2.389E-08
99	FAIM2_A	0.59%	1.58%	42.27%	0.9889	46	7.617E-07
393	SH2B3	0.86%	1.62%	22.66%	0.9868	18	3.501E-05
175	KCNQ5	0.24%	1.14%	22.85%	0.9853	26	0.0002584
150	IRF4	0.17%	1.57%	28.91%	0.9824	26	0.000017
25	BCAT1	0.30%	1.25%	24.95%	0.9722	26	0.0001114

표 2C는 점액성 OC 조직을 버피 코트 대조군 및 대조군 나팔관 조직과 구별하는 10개의 메틸화 영역을 보여준다 (대조군 버피 코트, 대조군 나팔관 조직 및 점액성 OC 조직에 대한 백분율 메틸화)(% 메틸화 점액성 조직과 % 메틸화 대조군 나팔관 사이의 AUC 및 p-값).

표 2C. 점액성 OC 조직을 버피 코트 대조군, 대조군 나팔관 조직, 점액성 난소암 조직과 구별하는 10 개의 메틸화 영역.

DMR#	유전자	%M 버피 코트	%M 나팔관	%M 점액성 OC	AUC	배수 변화	p 값
66	CMTM3_A	0.32%	0.22%	45.24%	1	380	4.80E-06
20	ATP10A_C	0.35%	0.27%	47.77%	1	341	7.31E-05
444	TSHZ3	0.68%	0.27%	47.30%	1	330	0.002852
462	ZMIZ1_B	0.19%	0.23%	41.58%	1	308	3.50E-09
19	ATP10A_B	0.69%	0.20%	32.41%	1	245	1.10E-09
87	ELMO1_B	0.11%	0.16%	24.45%	1	204	8.38E-05
423	TACC2_A	0.99%	0.40%	44.62%	1	202	3.82E-08
197	LRRC4	0.37%	0.21%	26.81%	1	177	0.0002576
452	VIM	0.11%	0.27%	25.61%	1	129	3.68E-07
465	ZNF382_A	0.47%	0.51%	30.72%	1	87	1.14E-09

표 2D는 장액성 OC 조직을 버피 코트 대조군 및 대조군 나팔관 조직과 구별하는 10개의 메틸화 영역을 보여준다 (대조군 버피 코트, 대조군 나팔관 조직 및 장액성 OC 조직에 대한 백분율 메틸화)(% 메틸화 장액성 조직과 % 메틸화 대조군 나팔관 사이의 AUC 및 p-값).

표 2D. 장액성 OC 조직을 버피 코트 대조군, 대조군 나팔관 조직, 난소암 조직과 구별하는 10 개의 메틸화 영역.

DMR#	유전자	%M 버피 코트	%M 나팔관	%M 장액 OC	AUC	배수 변화	p 값
207	MAX.chr1. 147790358- 147790381	0.62%	4.41%	49.78%	0.9917	22	5.145E-07
204	MAML3	0.75%	2.88%	17.15%	0.9583	7	1.176E-07
329	NR2F6	0.23%	0.73%	33.21%	0.9417	68	0.0001251
81	DNMT3A_A	0.44%	0.90%	21.39%	0.9333	30	0.0003524
398	SKI	0.31%	1.03%	32.03%	0.9284	45	6.022E-07
407	SOBP	0.56%	4.19%	28.61%	0.925	9	3.089E-06
447	UBTF	0.49%	1.57%	39.00%	0.8972	40	1.662E-07
8	AGRN_C	0.46%	0.74%	12.44%	0.8903	19	0.002814
232	MAX.chr12. 30975740- 30975780	0.18%	4.76%	40.01%	0.8861	13	2.012E-07
50	CAPN2_A	0.21%	0.79%	28.39%	0.8806	50	0.004007

[0569]

표 3은 OC 조직을 버피 코트 대조군과 구별한 상위 10개의 메틸화 영역을 보여준다 (제공된 OC와 대조군 버피 코트 사이의 백분율 메틸화 차이; 제공된 OC와 대조군 나팔관 사이의 백분율 메틸화 차이; 제공된 AUC; 제공된 배수 변화 차이; 및 제공된 p-값.

표 3.

DMR#	유전자	%M 버피 코트	%M 나팔관	%M OC	AUC	배수 변화	p 값
MAX.chr16.85482307-85482494	505	0.52%	19.64%	36.76%	1	111	0.001246
GDF6	488	0.52%	17.12%	29.59%	1	80	0.002582
IFFO1_A	490	0.49%	15.96%	58.34%	0.999	286	0.0009795
ATP6V1B1_A	472	0.60%	21.70%	50.68%	0.9989	169	0.002853
MAX.chr5.42993898-42994179	509	0.94%	21.49%	49.41%	0.9989	103	0.000006147
MAX.chr17.76254728-76254841	506	0.53%	13.96%	29.83%	0.9979	80	0.003074
MAX.chr14.102172350-102172770	504	0.46%	14.88%	21.82%	0.9979	60	0.003098
RASAL3	520	0.68%	35.36%	44.23%	0.9954	116	0.00001693
BZRAP1	476	0.72%	25.52%	36.09%	0.9937	78	0.00001416
LIMD2	498	0.45%	12.86%	40.78%	0.9919	154	0.000554

[0570]

[0571]

표 4A-E는 60개 이상의 상위 DMR이 시퀀싱 데이터 및 설계된 qMSP 검정으로부터 선택된 초기 조직 검증의 결과이다. 이러한 DMR은 OC 조직, 투명 세포 OC 조직, 자궁내막양 OC 조직, 점액성 OC 조직, 장액성 OC 조직, 및 대조군 나팔관 조직에서 실행되었다. 다음으로, 신규 미검증 사례 및 대조군이 테스트되는 더 크고 독립적인 조직 검증이 수행되었다(표 5 참조).

표 4A.

DMR 번호	마커	AUC (모든 OC 대 모든 양성 조직)	AUC (모든 OC 대 버퍼)
318	NCOR2	0.88377	0.99908
311	MT1A_A	0.88816	0.988
63	CELF2_A	0.89232	0.97599
164	KCNA3_A	0.87259	0.94598
463	ZMIZ1_C	0.55789	0.71191
306	MDFI	0.62719	0.77101
343	PALLD	0.93114	1
360	PRDM14	0.91667	1
345	PARP15	0.8057	0.91782
423	TACC2_A	0.68969	0.88458
207	MAX chr1.147790358-147790381	0.97675	1
25	BCAT1	0.93991	0.98199
64	CELF2_B	0.84649	0.93629
50	CAPN2_A	0.79671	0.89612
226	MAX chr11.14926602-14926671	0.86886	0.97922
7	AGRN_B	0.77325	0.95199
287	MAX chr6.10382190-10382225	0.88158	0.97692
84	DSCR6	0.86667	0.94183
204	MAML3_A	0.92412	0.94737
334	OBSCN	0.69561	0.90028
236	MAX chr14.105512178-105512224	0.78026	0.91782
96	EPS8L2_E	0.76404	0.84765
398	SKI	0.96579	1
329	NR2F6	0.70614	0.91413
399	SLC12A8	0.74386	0.90859
121	GPRIN1_A	0.87018	0.89751
297	MAX chr8.142215938-142216298	0.6557	0.8144
61	CDO1_A	0.86228	0.91043
81	DNMT3A_A	0.90132	0.98615
397	SIM2_A	0.88026	0.98615
398	SKI	0.95482	0.99815
462	ZMIZ1_B	0.60439	0.70083
434	TMEM101	0.62939	0.84765
490	IFFO1_A	0.81404	1
312	MT1A_B	0.89825	0.99169
19	ATP10A_B	0.46009	0.64774
123	GYPC_A	0.77281	0.91136
491	IFFO1_B	0.80175	0.99354
348	PDE10A	0.58333	0.72946
475	BCL2L11	0.86228	1
137	HOXB3	0.46711	0.27239
353	PISD	0.63684	0.62512
488	GDF6	0.82982	1
388	SCGB3A1	0.47193	0.54663
33	BOLA1	0.67544	0.65374

[0572]

479	C2CD4D	0.92982	0.99123
111	GATA2	0.59298	0.89104
474	BANK1	0.63114	0.89935
250	MAX chr19.2273768-2273823	0.58596	0.85134
340	OSR2	0.775	0.90397
370	PTP4A3_A	0.62522	0.7627
181	LAPTM4B	0.48289	0.49354
310	MSX2	0.44781	0.5337
317	NBPF3	0.4943	0.46491

표 4B.

DMR 번호	마커	AUC (투명 세포 대 모든 양성 조직)
318	NCOR2	0.89333
311	MT1A_A	0.96833
63	CELF2_A	0.91833
164	KCNA3_A	0.9225
463	ZMIZ1_C	0.48167
306	MDFI	0.90333
343	PALLD	0.96333
360	PRDM14	0.95333
345	PARP15	0.965
423	TACC2_A	0.985
207	MAX chr1.147790358-147790381	0.97667
25	BCAT1	0.93
64	CELF2_B	0.89667
50	CAPN2_A	0.85417
226	MAX chr11.14926602-14926671	0.96167
7	AGRN_B	0.94333
287	MAX chr6.10382190-10382225	0.9425
84	DSCR6	1
204	MAML3_A	0.94583
334	OBSCN	0.84333
236	MAX chr14.105512178-105512224	0.91667
96	EPS8L2_E	0.99833
398	SKI	0.99833
329	NR2F6	0.675
399	SLC12A8	0.73
121	GPRIN1_A	0.99833
297	MAX chr8.142215938-142216298	0.97833
61	CDO1_A	1
81	DNMT3A_A	0.95667
397	SIM2_A	1
398	SKI	0.98667
462	ZMIZ1_B	0.49167
434	TMEM101	0.88583
490	IFFO1_A	0.83
312	MT1A_B	0.995

[0573]

19	ATP10A_B	0.58667
123	GYPC_A	0.98667
491	IFFO1_B	0.81333
348	PDE10A	0.66
475	BCL2L11	0.94833
137	HOXB3	0.39333
353	PISD	0.995
488	GDF6	0.86333
388	SCGB3A1	0.41833
33	BOLA1	0.87833
479	C2CD4D	0.95833
111	GATA2	0.50167
474	BANK1	0.54667
250	MAX.chr19.2273768-2273823	0.62667
340	OSR2	0.83333
370	PTP4A3_A	0.74167
181	LAPTM4B	0.57333
310	MSX2	0.34167
317	NBPF3	0.44167

표 4C.

DMR 번호	마커	AUC (자궁내막양 대 모든 양성 조직)
318	NCOR2	0.90278
311	MT1A_A	0.81111
63	CELF2_A	0.97639
164	KCNA3_A	0.84097
463	ZMIZ1_C	0.45139
306	MDFI	0.45278
343	PALLD	0.91667
360	PRDM14	0.90278
345	PARP15	0.89722
423	TACC2_A	0.65694
207	MAX.chr1.147790358-147790381	0.9875
25	BCAT1	0.98611
64	CELF2_B	0.89514
50	CAPN2_A	0.75556
226	MAX.chr11.14926602-14926671	0.93889
7	AGRN_B	0.67639
287	MAX.chr6.10382190-10382225	0.75903
84	DSCR6	0.7875
204	MAML3_A	0.96042
334	OBSCN	0.49306
236	MAX.chr14.105512178-105512224	0.84583
96	EPS8L2_E	0.725
398	SKI	0.95
329	NR2F6	0.6875
399	SLC12A8	0.66944

[0574]

121	GPRIN1_A	0.99722
297	MAX.chr8.142215938-142216298	0.58889
61	CDO1_A	0.81111
81	DNMT3A_A	0.88472
397	SIM2_A	0.88472
398	SKI	0.93472
462	ZMIZ1_B	0.57083
434	TMEM101	0.86736
490	IFFO1_A	0.77917
312	MT1A_B	0.81667
19	ATP10A_B	0.39722
123	GYPC_A	0.78194
491	IFFO1_B	0.7625
348	PDE10A	0.64306
475	BCL2L11	0.90972
137	HOXB3	0.6375
353	PISD	0.49653
488	GDF6	0.7375
388	SCGB3A1	0.62361
33	BOLA1	0.41667
479	C2CD4D	0.96528
111	GATA2	0.53194
474	BANK1	0.58472
250	MAX.chr19.2273768-2273823	0.40833
340	OSR2	0.73056
370	PTP4A3_A	0.58264
181	LAPTM4B	0.43611
310	MSX2	0.30417
317	NBPF3	0.42917

표 4D.

DMR 번호	마커	AUC (점액성 대 모든 양성 조직)
318	NCOR2	0.925
311	MT1A_A	1
63	CELF2_A	0.71667
164	KCNA3_A	0.99583
463	ZMIZ1_C	1
306	MDFI	0.23333
343	PALLD	0.80833
360	PRDM14	0.83333
345	PARP15	0.42917
423	TACC2_A	1
207	MAX.chr1.147790358-147790381	0.90417
25	BCAT1	1
64	CELF2_B	0.6625
50	CAPN2_A	0.56667
226	MAX.chr11.14926602-14926671	0.62083

[0575]

7	AGRN_B	0.9125
287	MAX.chr6.10382190-10382225	0.7875
84	DSCR6	0.775
204	MAML3_A	0.88125
334	OBSCN	0.49167
236	MAX.chr14.105512178-105512224	0.8625
96	EPS8L2_E	0.49583
398	SKI	0.95
329	NR2F6	0.83333
399	SLC12A8	0.97917
121	GPRIN1_A	0.5125
297	MAX.chr8.142215938-142216298	0.57083
61	CDO1_A	0.8375
81	DNMT3A_A	0.89583
397	SIM2_A	0.8625
398	SKI	0.97917
462	ZMIZ1_B	1
434	TMEM101	0.81875
490	IFFO1_A	0.47083
312	MT1A_B	0.87917
19	ATP10A_B	0.8375
123	GYPC_A	0.74167
491	IFFO1_B	0.54583
348	PDE10A	0.47083
475	BCL2L11	0.99583
137	HOXB3	0.80417
353	PISD	0.69375
488	GDF6	0.62917
388	SCGB3A1	0.72917
33	BOLA1	0.5375
479	C2CD4D	0.725
111	GATA2	0.9125
474	BANK1	0.525
250	MAX.chr19.2273768-2273823	0.52083
340	OSR2	0.8375
370	PTP4A3_A	0.70417
181	LAPTM4B	0.36458
310	MSX2	0.70417
317	NBPF3	0.64167

표 4E.

DMR 번호	마커	AUC (장액 대 모든 양성 조직)
318	NCOR2	0.84306
311	MT1A_A	0.86111
63	CELF2_A	0.84514
164	KCNA3_A	0.82153
463	ZMIZ1_C	0.58056

[0576]

306	MDFI	0.56875
343	PALLD	0.95972
360	PRDM14	0.92778
345	PARP15	0.70694
423	TACC2_A	0.37292
207	MAX.chr1.147790358-147790381	0.99028
25	BCAT1	0.88194
64	CELF2_B	0.81736
50	CAPN2_A	0.91111
226	MAX.chr11.14926602-14926671	0.80417
7	AGRN_B	0.68194
287	MAX.chr6.10382190-10382225	0.98472
84	DSCR6	0.86528
204	MAML3_A	0.88403
334	OBSCN	0.8375
236	MAX.chr14.105512178-105512224	0.81528
96	EPS8L2_E	0.69722
398	SKI	0.95972
329	NR2F6	0.93056
399	SLC12A8	0.75139
121	GPRIN1_A	0.76389
297	MAX.chr8.142215938-142216298	0.70694
61	CDO1_A	0.80694
81	DNMT3A_A	0.87361
397	SIM2_A	0.78194
398	SKI	0.94028
462	ZMIZ1_B	0.6
434	TMEM101	0.32708
490	IFFO1_A	0.93056
312	MT1A_B	0.90556
19	ATP10A_B	0.56389
123	GYPC_A	0.59583
491	IFFO1_B	0.91667
348	PDE10A	0.50278
475	BCL2L11	0.69861
137	HOXB3	0.44861
353	PISD	0.58889
488	GDF6	0.96111
388	SCGB3A1	0.47361
33	BOLA1	0.66944
479	C2CD4D	0.93889
111	GATA2	0.37361
474	BANK1	0.78333
250	MAX.chr19.2273768-2273823	0.76528
340	OSR2	0.75
370	PTP4A3_A	0.70972
181	LAPTM4B	0.475
310	MSX2	0.73056
317	NBPF3	0.50694

[0577]

[0578]

표 5A는 장액성 OC 조직을 양성 난소 조직 및 비피 코드와 구별하는 표 1의 다양한 마커에 대한 곡선 아래 면적을 보여준다.

표 5A.

DMR 번호	마커	조직 AUC	버퍼 AUC
318	NCOR2	0.90805	0.96329
312	MT1A_B	0.71169	0.94147
63	CELF2_A	0.70642	0.83333
164	KCNA3_A	0.78065	0.79663
343	PALLD	0.87931	0.93452
360	PRDM14	0.85441	0.78671
345	PARP15	0.77395	0.77579
423	TACC2_A	0.76054	0.70139
207	MAX.chr1.147790358-147790381	0.91092	0.98413
25	BCAT1	0.88697	0.85417
50	CAPN2_A	0.84674	0.89484
226	MAX.chr11.14926602-14926671	0.7931	0.85516
7	AGRN_B	0.83238	0.93056
287	MAX.chr6.10382190-10382225	0.92816	0.92063
84	DSCR6	0.84195	0.78869
204	MAML3_A	0.81466	0.92758
236	MAX.chr14.105512178-105512224	0.70259	0.84474
398	SKI	0.87452	0.99802
329	NR2F6	0.86973	0.95437
399	SLC12A8	0.79502	1
121	GPRIN1_A	0.65134	0.5129
61	CDO1_A	0.7318	0.71825
81	DNMT3A_A	0.67529	0.60863
397	SIM2_A	0.81609	0.90278
462	ZMIZ1_B	0.55077	0.46528
490	IFFO1_A	0.91954	1
312	MT1A_B	0.78161	0.97321
123	GYPC_A	0.62165	0.87599
475	BCL2L11	0.64847	0.9375
488	GDF6	0.93487	1
479	C2CD4D	0.91284	0.98413
111	GATA2	0.48755	0.39583
474	BANK1	0.57375	0.94444

[0579]

[0580]

표 5B는 투명 세포 OC 조직을 양성 난소 조직 및 버퍼 코드와 구별하는 표 1의 다양한 마커에 대한 곡선 아래 면적을 보여준다.

표 5B.

DMR 번호	마커	조직 AUC	버피 AUC
318	NCOR2	0.99343	1
312	MT1A_B	0.99015	1
63	CELF2_A	0.94828	0.97279
164	KCNA3_A	0.89491	0.90136
343	PALLD	1	1
360	PRDM14	0.99507	0.9966
345	PARP15	1	1
423	TACC2_A	0.96388	0.95068
207	MAX.chr1.147790358-147790381	1	1
25	BCAT1	0.99343	0.9966
50	CAPN2_A	0.83251	0.90646
226	MAX.chr11.14926602-14926671	0.95567	0.95493
7	AGRN_B	0.99507	0.9966
287	MAX.chr6.10382190-10382225	1	1
84	DSCR6	1	1
204	MAML3_A	0.96388	1
236	MAX.chr14.105512178-105512224	0.79228	0.91241
398	SKI	0.96223	0.98639
329	NR2F6	0.83333	0.91412
399	SLC12A8	0.86535	1
121	GPRIN1_A	1	1
61	CDO1_A	1	1
81	DNMT3A_A	0.89491	0.87245
397	SIM2_A	1	1
462	ZMIZ1_B	0.54187	0.46429
490	IFFO1_A	0.95402	1
312	MT1A_B	1	1
123	GYPC_A	1	1
475	BCL2L11	0.96059	1
488	GDF6	0.95895	1
479	C2CD4D	1	1
111	GATA2	0.42529	0.39116
474	BANK1	0.77668	0.93367

[0581]

[0582]

표 5C는 자궁내막양 OC 조직을 양성 난소 조직 및 버피 코드와 구별하는 표 1의 다양한 마커에 대한 곡선 아래 면적을 보여준다.

표 5C.

DMR 번호	마커	조직 AUC	버퍼 AUC
318	NCOR2	0.94003	0.95807
312	MT1A_B	0.78711	0.93323
63	CELF2_A	0.85007	0.90683
164	KCNA3_A	0.8051	0.81832
343	PALLD	1	1
360	PRDM14	0.90555	0.87267
345	PARP15	0.86132	0.85714
423	TACC2_A	0.84558	0.79814
207	MAX.chr1.147790358-147790381	0.997	1
25	BCAT1	0.89805	0.88509
50	CAPN2_A	0.73013	0.79969
226	MAX.chr11.14926602-14926671	0.92804	0.95807
7	AGRN_B	0.7099	0.78882
287	MAX.chr6.10382190-10382225	0.86807	0.86491
84	DSCR6	0.96252	0.91925
204	MAML3_A	0.86057	0.94099
236	MAX.chr14.105512178-105512224	0.85907	0.9441
398	SKI	0.73988	0.93944
329	NR2F6	0.61694	0.76941
399	SLC12A8	0.8021	1
121	GPRIN1_A	0.92054	0.87811
61	CDO1_A	0.93778	0.93634
81	DNMT3A_A	0.71514	0.64596
397	SIM2_A	0.93553	0.99845
462	ZMIZ1_B	0.53523	0.45497
490	IFFO1_A	0.90105	0.99845
312	MT1A_B	0.85607	0.92857
123	GYPC_A	0.89205	0.96661
475	BCL2L11	0.81934	0.93012
488	GDF6	0.61169	1
479	C2CD4D	0.997	1
111	GATA2	0.33358	0.2764
474	BANK1	0.30735	0.87422

[0583]

[0584]

표 5D는 점액성 OC 조직을 양성 난소 조직 및 버퍼 코드와 구별하는 표 1의 다양한 마커에 대한 곡선 아래 면적을 보여준다.

표 5D.

DMR 번호	마커	조직 AUC	버피 AUC
318	NCOR2	0.98768	1
312	MT1A_B	0.82759	1
63	CELF2_A	0.68596	0.80867
164	KCNA3_A	0.88177	0.88903
343	PALLD	0.91626	0.95663
360	PRDM14	0.82759	0.75
345	PARP15	0.77833	0.78061
423	TACC2_A	0.9803	0.96173
207	MAX.chr1.147790358-147790381	0.87685	0.97194
25	BCAT1	0.99754	0.9949
50	CAPN2_A	0.6601	0.77806
226	MAX.chr11.14926602-14926671	0.85961	0.90689
7	AGRN_B	0.92118	0.95408
287	MAX.chr6.10382190-10382225	0.86207	0.85969
84	DSCR6	0.62808	0.55102
204	MAML3_A	0.85961	0.9898
236	MAX.chr14.105512178-105512224	0.75739	0.67474
398	SKI	1	1
329	NR2F6	0.47167	0.70281
399	SLC12A8	0.90887	1
121	GPRIN1_A	0.63793	0.49617
61	CDO1_A	0.84975	0.85459
81	DNMT3A_A	0.78325	0.70536
397	SIM2_A	0.8399	0.96173
462	ZMIZ1_B	0.92365	0.90816
490	IFFO1_A	0.84729	1
312	MT1A_B	0.84606	0.93878
123	GYPC_A	0.76108	0.98469
475	BCL2L11	0.94828	1
488	GDF6	0.69458	1
479	C2CD4D	0.73153	1
111	GATA2	0.85714	0.84184
474	BANK1	0.4532	0.93367

[0585]

[0586]

실시예 II.

[0587]

이 실시예는 난소암 조직 마커, 투명 세포 난소암 조직 마커, 자궁내막양 난소암 조직 마커, 점액성 난소암 조직 마커, 및 장액성 난소암 조직 마커의 확인을 기재한다.

[0588]

난소암, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC 및 장액성 OC의 검출을 위한 후보 메틸화 마커는 난소 조직 샘플, 투명 세포 OC 조직 샘플, 자궁내막양 OC 조직 샘플, 점액성 OC 조직 샘플, 장액성 OC 조직 샘플, 및 정상 난소 조직 샘플의 RRBS에 의해 확인되었다. 메틸화 DNA 마커를 확인하기 위해, 환자 그룹당 149개 샘플(표 7 참조)에서 RRBS 프로세스를 거친 후, 중아황산염 전환 인간 게놈에 정렬하였다. 정상 난소 조직 및 버피 코트에 비해 난소암, 투명 세포 OC, 자궁내막양 OC, 점액성 OC 및 장액성 OC에서 메틸화 비율이 높은 CpG 영역을 선택하고 해당 유전자 이름에 맵핑하였다.

표 7.

샘플 유형	수	단계 I	단계 II	단계 III	단계 IV
정상	35	NA	NA	NA	NA
암	57	25	8	19	5
암 하위유형	수	단계 I	단계 II	단계 III	단계 IV
투명 세포	15	8	4	3	0
자궁내막양	18	12	3	3	0
점액성	6	4	1	0	1
장액	18	1	0	13	4

[0589]

[0590] 마커가 RRBS에 의해 선택된 후, 총 49개의 메틸화 마커가 확인되었고 표적 풍부화 긴 프로브 정량적 증폭 신호 검정이 설계 및 정렬되었다 (예를 들어, 일반 기술 참조에 대한 W02017/075061 및 미국 특허 출원 일련 번호 15/841,006). 표 6A는 49개의 메틸화 마커에 사용된 마커 염색체 영역을 보여준다. 표 6B는 마커에 대한 프라이머 정보 및 프로브 정보를 보여준다. 도 1은 49개의 메틸화 마커 및 관련 프라이머 및 프로브 정보에 사용되는 마커 염색체 영역을 추가로 제공한다.

표 6A.

DMR 번호	유전자 주석	염색체 번호	DMR 시작-종료 위치
526	AGRN_8794	1	968670-968849
527	BCAT1_6015	12	25055940-25056138
528	BHLHE23_8339	20	61638294-61638506
529	ELMO1_9100	7	37488054-37488165
530	EPS8L2_F	11	726397-726519
531	JAM3_B	11	133938908-133939011
532	KCNA3_7320	1	111217250-111217357
533	KCNA3_7518	1	111217487-111217673
534	MDFI_6321	6	41606064-41606357
545	RASSF1_8293	3	50378182-50378372
536	SFMBT2_2363	10	7451790-7452428
398	SKI	1	2222218-2222508
537	SPOCK2_7433	10	73847355-73847446
538	VIPR2_B	7	158937203-158937476
539	ZMIZ1_D	8	81002589-81002797
540	ZNF382_B	19	37096085-37096209
541	GYPC_3753	2	127413592-127413887
542	GYPC_C	2	127413898-127413988
543	RFTN1_B	3	16554329-16554496
345	PARP15	3	122296692-122296851
119	GP5	3	194118822-194118924
544	GPRIN1_B	5	176023887-176023974
545	HCG4_0331	6	29760284-29760410
546	HCG4_0556	6	29760436-29760577
547	NKX2-6_4159	8	23564076-23564193
548	C1QL3_B	10	16562562-16562645
549	FAIM2_B	12	50297643-50297814
550	LOC100131366	14	103655515-103655633
551	NTN1	17	9143164-9143445
552	ARL5C_1519	17	37321484-37321627
40	C17orf64_A	17	58498720-58498794
553	OXT_C	20	3052753-3052884
554	PEAR1_B	1	156863357-156863488
555	ATP10A_E	15	26108540-26108828
63	CELF2_A	10	11207221-11207812
556	CAPN2_B	1	223936858-223937009
84	DSCR6	21	38378492-38378858
329	NR2F6	19	17346347-17346780
61	CDO1_A	5	115152022-115152432
81	DNMT3A_A	2	25500046-25500305
557	SIM2_B	21	38076882-38077036
558	CMTM3_B	16	66638172-66638351
559	SRC_B	20	36013121-36013303
199	LRRC41_B	1	46769340-46769650
444	TSHZ3	19	31839415-31840120
128	HDGFRP3	15	83875827-83875946
560	TACC2_B	10	123922953-123923142
182	LBH	2	30453651-30453973

[0591]

표 6B.

유전자 주석	DM R 번호	정방향 프라이머 5'-3'	서열번 호:	역방향 프라이머 5'- 3'	서열번 호:	프로브 서열	서열번 호:
AGRN_8794	526	GCGGTT TTTCGA GTTTTT TGCG	137	GAACGAAT CCGCGCC	138	AGGCCA CGGACG GGCGAT TTCGATT TATTTTC G/3C6/	235
BCAT1_6015	527	GCGGTG TGGTTA AGTTTC GG	139	CGCGACCC CAAATCGT A	140	CGCGCC GAGG GCGTAC GGTTTAT AGGGC/3 C6/	236
BHLHE23_8339	528	CGGGTT TTATTT TTTTTTC GTTTTTC GTTTC	141	AACGAAAT CCCACCGA ACG	142	CGCGCC GAGG CGGTTTT AAGTCG CGGA/3C 6/	237
ELMO1_9100	529	GTAGAG CGTTTC GACGCG	143	TCGAACGA AAATAACC GCCG	144	AGGCCA CGGACG GCGCTC GACAAA ATAAAA AC/3C6/	238
EPS8L2_F	530	GTTTTT AGTTAG GCGCGG ATTTC	145	AACCCGTA AACCAACC GC	146	CGCGCC GAGG CGTTCGG ATTCGAT TCGT/3C6 /	239
JAM3_B	531	TGGTCG TTTTAG CGTTAT GTCG	147	CGAAAACT ACAAACCG CGC	148	AGGCCA CGGACG CCGCGCT ACCGCT A/3C6/	240
KCNA3_7320	532	CGGTTA TGTCGG GCGG	149	CAACGACG ATACCCAC ACG	150	CGCGCC GAGG GCTAAT AAACCA CGACTA CG/3C6/	241
KCNA3_7518	533	TCGTTT TTTCGT CGTTTT CGTTTT C	151	CCCGTACG AAAACCCG A	152	AGGCCA CGGACG CGAGTC GAGTTTA TCGTTTG /3C6/	242
MDFI_6321	534	GTTCGT TATGCG CGTTTG TTTC	153	GAACACCC GAAAACCA ACGA	154	CGCGCC GAGG CGGGCG TTTTTGT TTAGG/3	243

[0592]

						C6/	
RASSF1_8293	545	GTTTTG TGGTTT CGTTCG GTTT	155	CCGATTAA ACCCGTAC TTCGC	156	AGGCCA CGGACG CGCGTTT GTTAGC GTTTAAA /3C6/	244
SFMBT2_2363	536	TTTCGT TTTTGT ATTTAT TTTAGC GACGT	157	ACGCGAAA AAAACGCG AAAACG	158	CGCGCC GAGG GCGAAA TAAATA ACAACG ACGA/3C 6/	245
SKI	398	GTTAGG CGGTTA TTACGG GTC	159	GAAATCTA CTCCCTCC CCGA	160	AGGCCA CGGACG CGCGTTT TTTATTA GTTAGTC GTT/3C6/	246
SPOCK2_7433	537	TATGTT GTTTTT TTTTCG TAAAGT TTACGG T	161	CCGACAAT AAAAATAA CATCGACT CG	162	CGCGCC GAGG GCGCGA TACCCTC TATTC/3C 6/	247
VIPR2_B	538	TCGTTC GCGTTT TAGTAT TCGG	163	CGAAAAA AACGCTCC TCCCG	164	AGGCCA CGGACG GCCGAT CTTCGCC TT/3C6/	248
ZMIZ1_D	539	GTTTCG TCGGTA GCGGC	165	ACCACTTC GCTACGAA AAAACG	166	CGCGCC GAGG GCGAAC GAATAT AAATCG AAAAC/3 C6/	249
ZNF382_B	540	TAGTCG TAATAG GGCGGT CG	167	CCGAAACG ACCCGTTA ATCG	168	AGGCCA CGGACG GCCGCG CGATACT AA/3C6/	250
GYPC_3753	541	TGATTT AGGTGT CGTTTT TTTTCG TC	169	GAAAAAA AATCGCGC TCCCG	170	AGGCCA CGGACG CGTCGA GGGTTA GGAGT/3 C6/	251
GYPC_C	542	ATTTAT TGGAGG TCGCGG TTC	171	CCGAAACA CCAAAACG TCCG	172	CGCGCC GAGG GTAACC GTAACCTC GACCC/3 C6/	252
RFTN1_B	543	GTGTTT TTGGTG GTTTCG GC	173	ATACTAAA CGTATAAA AACAAACA TACCGC	174	AGGCCA CGGACG CGCGCTC CGAAAA	253

[0593]

						AAC/3C6/	
PARP15	345	GGTTCG TAAGAT TTAGTA GTTCGA GC	175	CGAAACAA AAAAATCA ATATAATC GACGC	176	CGCGCC GAGG CGGGCG TAGAGA TTTTACG /3C6/	254
GP5	119	TAGGAC GTCGCG GTTTAT TTC	177	CGCAATAC TCGAAAAA CGACG	178	AGGCCA CGGACG GTAACG CGCATCT CCG/3C6/	255
GPRIN1_B	544	TCGCGT CGTCGT TCGT	179	GACGCCAT CTAAAAAC GCGA	180	CGCGCC GAGG TCGTTCG TGTCGGT TTC/3C6/	256
HCG4_0331	545	GGCGAC GTGGAC GATAC	181	CTAAAACT CGTAACGT CGCTATCG	182	AGGCCA CGGACG GAACCG CACGCA CTA/3C6/	257
HCG4_0556	546	GGTTTG TGAGTG ATATCG GTCG	183	CGAACCCA AAAACTCG AAAAAAC	184	CGCGCC GAGG CCGAAC GATCCGT AAAAAA TATAA/3 C6/	258
NKX2-6_4159	547	GGGTTT AGTAGT ATTTCG AAGGCG	185	GAAAAATT CAAAATAC CGCTCCTC AC	186	AGGCCA CGGACG CCCGAA CCTCCTC GA/3C6/	259
C1QL3_B	548	GAAGGT TACGAG GTGTTT AAGTTC G	187	AACAAATA AACTTACC GATAATAA AATCGTAA TAATTTC	188	CGCGCC GAGG GACGAC GTGGTTA TTAATTT CG/3C6/	260
FAIM2_B	549	TTGCGG AGGACG TTGC	189	GAAAAAA AACGATAC GCCGCC	190	CGCGCC GAGG CGGATTC GCGAGT TCG/3C6/	261
LOC100131366	550	TTTCGA TTTCGT AGTTTC GCGG	191	CTCGCGAA ACGTAACG AAAAC	192	AGGCCA CGGACG GCGCGTT TTTTGAG GC/3C6/	262
NTN1	551	CGTTCG TTTTCG TTCGGT TTC	193	ACCTAACG CCGAAACA ACG	194	CGCGCC GAGG CGTTTTG GCGTTTCG TTC/3C6/	263
ARL5C_1519	552	GTTGTT TTTTTT ATCGTT TCGGAG	195	CCTCTACC CACCGTAC CG	196	AGGCCA CGGACG GCGTCTA CTTCCA	264

[0594]

		TG				CC/3C6/	
C17orf64_A	40	GTTTTC GGGTTA TTTTTA TTTGAA GTCG	197	TCCCCTAC CACCCAAC G	198	CGCGCC GAGG GACCAC CTCGAA CACAAA/ 3C6/	265
OXT_C	553	GGGTTT AATATT TGTTGC GCGG	199	CGAAGCGT TGCGTTGT TAG	200	AGGCCA CGGACG GACGAT ACCCAC GAAACA A/3C6/	266
PEAR1_B	554	TTGGCG AGGGTT CGAGT	201	CTAATCGC AAAACCGA AAAAAAC G	202	CGCGCC GAGG GCCGAA AAACGA AAAACA AAAA/3C 6/	267
ATP10A_E	555	GAGAGG AAATCG CGAAGC G	203	CCCCTAAA AAAACGCG CGA	204	AGGCCA CGGACG GCGAGA AAAGGC GTTTTC/3 C6/	268
CELF2_A	63	GACGTT TATTTG GACGTT TGGC	205	ACCGAAAT CAAAACCC TCCG	206	CGCGCC GAGG CGATTTT CGTTTCG CGTT/3C6 /	269
CELF2_A	63	GTTTCG CGACGT TTATTT GGAC	207	ACCGAAAT CAAAACCC TCCG	208	CGCGCC GAGG CGTTTGG CGATTTT CGTT/3C6 /	270
CAPN2_B	556	GCGCGG AATTTT AGGAGT GC	209	CGCGACCC CACGATAA TC	210	AGGCCA CGGACG CGGGGT TCGAGT GTAAAT/ 3C6/	271
DSCR6	84	GTTTTC GAGGGA GTGCGT TC	211	CGAAAAA AAAAAAC GAAACCCG C	212	CGCGCC GAGG CGACGG AAACGT TTTTAGT TC/3C6/	272
NR2F6	329	GGTGTT GAAGAG TAGTCG CGT	213	CGACGCAA AAAACGAC GC	214	AGGCCA CGGACG TCGTTAG TTCGTAT ACGTTGT C/3C6/	273
CDO1_A	61	CGAAAC GTAAGG ATGTCG	215	AATTTATA TATACACC GCGTCTCC	216	CGCGCC GAGG CGATCCC	274

[0595]

		TCG		AAC		GAATCC ACTAC/3 C6/	
DNMT3A_A	81	TGTTTT GTTCGG TGAGGT TTCG	217	CAAACCGC CACCTAAT CGC	218	AGGCCA CGGACG CGAACA AACGCC CCC/3C6/	275
SIM2_B	557	AAAGGG AGTTTT CGGGCG	219	ACCCGATA CCCCATT ACC	220	CGCGCC GAGG CGTACG CAAACC TAAAAA ATTG/3C6 /	276
CMTM3_B	558	GGTGGT TAAGAA AGTCGT AAGAAA ATTTTCG	221	TCTAAACA ACAAAAAC CCCGACC	222	AGGCCA CGGACG CGTAAT ATCGACT CCGCAA/ 3C6/	277
SRC_B	559	GGATGG TTTCGG TTGGGT TC	223	GCAAAACG CCAACAAA AAACG	224	AGGCCA CGGACG CGCGTTA GGATGC GT/3C6/	278
LRRC41_B	199	GGTCGA GGGAAT TAGAGT TTTCG	225	AACCTAAC CCGCCAAA ACAC	226	CGCGCC GAGG CGCACG AAACCC TCTTA/3C 6/	279
TSHZ3	444	GGGATC GGTTCG TTTATT CGTTC	227	CCCGAAAC ATCTTCG CG	228	AGGCCA CGGACG CGCGTTT TTTGGTT CGG/3C6/	280
HDGFRP3	128	GATTTCG TTTTTCG AAAGTG GGC	229	TAAAACAA AAACTCCC GACCTCG	230	CGCGCC GAGG CGGAAG GATGGT CGTTTT/3 C6/	281
TACC2_B	560	GTTTTT GTGTGT GATACG ATGATG TTATTA TC	231	GTTTCCGA AACCCGCG A	232	AGGCCA CGGACG CGTCGA GTAGTTT TAACGTT TG/3C6/	282
LBH	182	TAGTTT TTCGTA AGTTAA CGCGTT TC	233	CCCGCAAC CTTACGAT CAAC	234	CGCGCC GAGG CGTGGG TATTCGG TTTTTC/3 C6/	283

[0596]

[0597]

각 메틸화 마커에 대한 민감도는 하위유형당 95% 컷오프로 계산되었으며 표 8A(난소암), 8B(투명 세포 OC), 8C(자궁내막암 OC), 8D(점액성 OC) 및 8E(장액성 OC)에 나열되어 있다. 표 8A-E는 OC, 투명 세포 OC, 자궁내막암 OC, 점액성 및 장액성 OC에 대해 표 6A에 나타난 마커에 대한 95% 특이도에서 난소암 및 하위유형 조직 민감도를 보여준다.

표 8A.

DMR 번호	마커	OC 민감도 @95% 특이도
526	AGRN_8794	49.1%
527	BCAT1_6015	80.7%
529	ELMO1_9100	24.6%
528	BHLHE23_8339	63.2%
531	JAM3_B	26.3%
530	EPS8L2_F	77.2%
533	KCNA3_7518	33.3%
532	KCNA3_7320	52.6%
545	RASSF1_8293	61.4%
534	MDFI_6321	70.2%
398	SKI	89.5%
536	SFMBT2_2363	59.6%
538	VIPR_B	56.1%
537	SPOCK2_7433	42.1%
540	ZNF382_B	15.8%
551	NTN1	56.1%
541	GYPC_3753	63.2%
542	GYPC_C	70.2%
545	HCG4_0331	43.9%
546	HCG4_0556	40.4%
547	NKX2-6_4159	77.2%
548	C1QL3_B	64.9%
550	LOC100131366	71.9%
549	FAIM2_B	71.9%
555	ATP10A_E	45.6%
544	GPRIN1_B	73.7%
558	CMTM3_B	56.1%
199	LRRC41_B	56.1%
119	GP5	61.4%
345	PARP15	70.2%
552	ARL5C_1519	64.9%
539	ZMIZ1_D	38.6%
553	OXT_C	68.4%
40	C17orf64_A	45.6%
557	SRC_B	66.7%
128	HDGFRP3	26.3%
560	TACC2_B	68.4%
543	RFTN1_B	33.3%
554	PEAR1_B	73.7%
444	TSHZ3	70.2%
182	LBH	63.2%
556	CAPN2_B	68.4%

[0598]

557	SIM2_B	87.7%
81	DNMT3A_A	82.5%
61	CDO1_A	84.2%
329	NR2F6	61.4%
84	DSCR6	80.7%
63	CELF2_A	70.2%

표 8B.

DMR 번호	마커	투명 세포 OC 민감도 @95% 특이도
526	AGRN_8794	100.0%
527	BCAT1_6015	73.3%
529	ELMO1_9100	6.7%
528	BHLHE23_8339	100.0%
531	JAM3_B	53.3%
530	EPS8L2_F	100.0%
533	KCNA3_7518	40.0%
532	KCNA3_7320	53.3%
545	RASSF1_8293	100.0%
534	MDFI_6321	100.0%
398	SKI	100.0%
536	SFMBT2_2363	66.7%
538	VIPR_B	66.7%
537	SPOCK2_7433	73.3%
540	ZNF382_B	0.0%
551	NTN1	80.0%
541	GYPE_3753	93.3%
542	GYPE_C	100.0%
545	HCG4_0331	46.7%
546	HCG4_0556	53.3%
547	NKX2-6_4159	100.0%
548	C1QL3_B	93.3%
550	LOC100131366	100.0%
549	FAIM2_B	100.0%
555	ATP10A_E	20.0%
544	GPRIN1_B	100.0%
558	CMTM3_B	80.0%
199	LRRC41_B	100.0%
119	GP5	93.3%
345	PARP15	93.3%
552	ARL5C_1519	93.3%
539	ZMIZ1_D	46.7%
553	OXT_C	93.3%
40	C17orf64_A	46.7%

[0599]

557	SRC_B	86.7%
128	HDGFRP3	20.0%
560	TACC2_B	100.0%
543	RFTN1_B	40.0%
554	PEAR1_B	93.3%
444	TSHZ3	93.3%
182	LBH	100.0%
556	CAPN2_B	73.3%
557	SIM2_B	100.0%
81	DNMT3A_A	86.7%
61	CDO1_A	100.0%
329	NR2F6	60.0%
84	DSCR6	100.0%
63	CELF2_A	73.3%

표 8C.

DMR 번호	마커	자궁내막양 OC 민감도 @95% 특이도
526	AGRN_8794	22.2%
527	BCAT1_6015	88.9%
529	ELMO1_9100	22.2%
528	BHLHE23_8339	77.8%
531	JAM3_B	27.8%
530	EPS8L2_F	83.3%
533	KCNA3_7518	44.4%
532	KCNA3_7320	55.6%
545	RASSF1_8293	72.2%
534	MDFI_6321	66.7%
398	SKI	83.3%
536	SFMBT2_2363	55.6%
538	VIPR_B	66.7%
537	SPOCK2_7433	55.6%
540	ZNF382_B	11.1%
551	NTN1	61.1%
541	GYPC_3753	72.2%
542	GYPC_C	77.8%
545	HCG4_0331	50.0%
546	HCG4_0556	55.6%
547	NKX2-6_4159	88.9%
548	C1QL3_B	83.3%
550	LOC100131366	77.8%
549	FAIM2_B	77.8%
555	ATP10A_E	50.0%
544	GPRIN1_B	100.0%

[0600]

558	CMTM3_B	55.6%
199	LRRC41_B	38.9%
119	GP5	50.0%
345	PARP15	88.9%
552	ARL5C_1519	72.2%
539	ZMIZ1_D	27.8%
553	OXT_C	88.9%
40	C17orf64_A	50.0%
557	SRC_B	55.6%
128	HDGFRP3	22.2%
560	TACC2_B	61.1%
543	RFTN1_B	44.4%
554	PEAR1_B	61.1%
444	TSHZ3	66.7%
182	LBH	66.7%
556	CAPN2_B	66.7%
557	SIM2_B	88.9%
81	DNMT3A_A	83.3%
61	CDO1_A	77.8%
329	NR2F6	55.6%
84	DSCR6	72.2%
63	CELF2_A	94.4%

표 8D.

DMR 번호	마커	점액성 OC 민감도 @95% 특이도
526	AGRN_8794	16.7%
527	BCAT1_6015	100.0%
529	ELMO1_9100	83.3%
528	BHLHE23_8339	66.7%
531	JAM3_B	16.7%
530	EPS8L2_F	50.0%
533	KCNA3_7518	83.3%
532	KCNA3_7320	83.3%
545	RASSF1_8293	33.3%
534	MDFI_6321	100.0%
398	SKI	83.3%
536	SFMBT2_2363	66.7%
538	VIPR_B	100.0%
537	SPOCK2_7433	0.0%
540	ZNF382_B	100.0%
551	NTN1	0.0%
541	GYPC_3753	33.3%
542	GYPC_C	33.3%

[0601]

545	HCG4_0331	16.7%
546	HCG4_0556	0.0%
547	NKX2-6_4159	66.7%
548	C1QL3_B	66.7%
550	LOC100131366	33.3%
549	FAIM2_B	50.0%
555	ATP10A_E	100.0%
544	GPRIN1_B	0.0%
558	CMTM3_B	100.0%
199	LRRRC41_B	0.0%
119	GP5	50.0%
345	PARP15	33.3%
552	ARL5C_1519	33.3%
539	ZMIZ1_D	100.0%
553	OXT_C	0.0%
40	C17orf64_A	0.0%
557	SRC_B	83.3%
128	HDGFRP3	83.3%
560	TACC2_B	100.0%
543	RFTN1_B	16.7%
554	PEAR1_B	33.3%
444	TSHZ3	83.3%
182	LBH	100.0%
556	CAPN2_B	16.7%
557	SIM2_B	66.7%
81	DNMT3A_A	83.3%
61	CDO1_A	66.7%
329	NR2F6	0.0%
84	DSCR6	66.7%
63	CELF2_A	16.7%

표 8E.

DMR 번호	마커	장액 OC 민감도 @95% 특이도
526	AGRN_8794	44.4%
527	BCAT1_6015	72.2%
529	ELMO1_9100	22.2%
528	BHLHE23_8339	16.7%
531	JAM3_B	5.6%
530	EPS8L2_F	61.1%
533	KCNA3_7518	0.0%
532	KCNA3_7320	38.9%
545	RASSF1_8293	27.8%
534	MDFI_6321	38.9%

[0602]

398	SKI	88.9%
536	SFMBT2_2363	55.6%
538	VIPR_B	22.2%
537	SPOCK2_7433	16.7%
540	ZNF382_B	5.6%
551	NTN1	50.0%
541	GYPEC_3753	38.9%
542	GYPEC_C	50.0%
545	HCG4_0331	44.4%
546	HCG4_0556	27.8%
547	NKX2-6_4159	50.0%
548	C1QL3_B	22.2%
550	LOC100131366	55.6%
549	FAIM2_B	50.0%
555	ATP10A_E	44.4%
544	GPRIN1_B	50.0%
558	CMTM3_B	22.2%
199	LRRC41_B	55.6%
119	GP5	50.0%
345	PARP15	44.4%
552	ARL5C_1519	44.4%
539	ZMIZ1_D	22.2%
553	OXT_C	50.0%
40	C17orf64_A	55.6%
557	SRC_B	55.6%
128	HDGFRP3	16.7%
560	TACC2_B	38.9%
543	RFTN1_B	22.2%
554	PEAR1_B	83.3%
444	TSHZ3	50.0%
182	LBH	16.7%
556	CAPN2_B	83.3%
557	SIM2_B	83.3%
81	DNMT3A_A	77.8%
61	CDO1_A	83.3%
329	NR2F6	88.9%
84	DSCR6	77.8%
63	CELF2_A	61.1%

[0603]

[0604]

실시예 III.

[0605]

이 실시예는 난소암(OC)을 검출하기 위한 혈장 마커의 확인을 기재한다.

[0606]

DNA 메틸화는 발암의 초기 사건이며 암 환자의 혈장 샘플에서 검출될 수 있다. 조직에서 추출한 DNA에서, 실험(실시예 I 및 II에 기재됨)을 먼저 발견한 다음, 조직 샘플 내 OC에 대한 판별식 메틸화 DNA 마커(MDM) 후보를 입증하였다. 후속 실험은 OC가 있거나 없는 여성으로부터의 혈장을 독립적으로 테스트하고 OC의 혈장 검출을 위한 메틸화 DNA 마커에 대한 임상적 실현성을 확인, 검증 및 입증하였다.

[0607]

발견을 위해, 67개의 동결 조직(18개의 고등급 장액(HGS), 18개의 자궁내막양, 15개의 투명 세포(CC), 6개의 점액성 OC; 10개의 양성 나팔관 상피(FTE); 및 암이 없는 여성의 19개의 비피 코트)의 DNA는 OC와 연관된 MDM을 확인하기 위한 감소된 발현 중아황산염 시퀀싱(RRBS)을 수행한다. 후보 MDM 선택은 대조군 중에서 리시버 작동 특성(ROC) 식별, 메틸화 배수 변화 및 낮은 배경 메틸화를 기반으로 하였다. 맹검 생물학적 검증은 OC(36개의 HGS, 22개의 자궁내막양, 21개의 CC 및 14개의 점액) 및 29개의 FTE로부터의 독립적인 FFPE 조직에서 추출한 DNA에 대해 MSP를 사용하여 수행되었다. 조직에서 상위 수행 MDM은 OC로 새로 진단된 여성 및 집단 샘플링 건강한 여성으로부터의 독립적인 전처리 혈장 샘플에서 긴 프로브 정량적 신호 검정을 사용하여 테스트되었다. 질환의 예측 확률을 생성하기 위해 랜덤 포레스트 모델링 분석이 수행되었고; 결과는 500배 인실리코(in silico) 교차 검증되었다.

[0608]

RRBS 발견 및 생물학적 검증 후, 33개의 MDM은 모든 OC 조직학 대 FTE에 걸쳐 현저한 메틸화 배수 변화(10에서

>1000)를 보여주었다. 상위 11개 MDM(*GPRIN1*, *CD01*, *SRC*, *SIM2*, *AGRN*, *FAIM2*, *CELF2*, *DSCR6*, *GYPC*, *CAPN2*, *BCAT1*)은 OC가 있는 91명의 여성(76개(84%) HGS)과 OC가 없는 91명의 여성의 혈장에서 테스트되었고; 교차 검증된 11-MDM 패널은 대조군으로부터 OC를 매우 구별하였다 (95% 특이도; 79% 민감성, 및 AUC 0.91 (0.86 - 0.96)). HGS 중에서, 패널은 5/6 단계 I/II를 포함하여 83%와 대부분의 다른 하위유형을 정확하게 확인하였다 (표 9).

전체 메틸롬 시퀀싱, 엄격한 필터링 기준 및 생물학적 검증을 통해 혈장에서 유망한 높은 감도와 특이도로 수행되는 OC에 대한 뛰어난 후보 MDM을 산출하였다.

표 9.

OC 조직학	장액	투명 세포	자궁내막양	점액성	혼합
샘플 크기	76	4	8	2	1
95% 특이도에서의 민감도 % (95% CI)	83% (73 - 90%)	75% (19 - 99%)	50% (16 - 84%)	50% (13 - 99%)	100% (3 - 100%)

다음의 마커 MDM은 OC가 있는 환자로부터의 66개의 혈장 샘플((예를 들어, 6개의 I기 OC, 3개의 II기 OC, 27개의 III기 OC, 12개의 IV기 OC, 18개의 ND))를 사용하여 추가로 테스트되었으며 OC가 없는 환자로부터의 237개의 대조군 혈장과 비교되었다: *ATP10A* (예를 들어, *ATP10A_A*, *ATP10A_B*, *ATP10A_C*, *ATP10A_D*, *ATP10A_E*), *EPS8L2* (예를 들어, *EPS8L2_A*, *EPS8L2_B*, *EPS8L2_C*, *EPS8L2_D*), *C1QL3* (예를 들어, *C1QL3_A*, *C1QL3_B*), *FAIM2* (예를 들어, *FAIM2_A*, *FAIM2_B*), *CAPN2_B*, *LBH*, *CMTM3* (예를 들어, *CMTM3_A*, *CMTM3_B*), *ZMIZ1* (예를 들어, *ZMIZ1_A*, *ZMIZ1_B*, *ZMIZ1_C*, *ZMIZ1_D*), *GPRIN1* (예를 들어, *GPRIN1_A*, *GPRIN1_B*), *CD01* (예를 들어, *CD01_A*, *CD01_B*), *GP5*, *DSCR6*, *SKI*, *SIM2_A*, *AGRN_8794*, *BCAT1_6015*, *KCNA3_7518*, *KCNA3_7320*, *LOC10013136*, *GYPC_C*, *SRC* (예를 들어, *SRC_A*, *SRC_B*), *NR2F6*, *TSHZ3*, *CELF2* (예를 들어, *CELF2_A*, *CELF2_B*), *TACC2* (예를 들어, *TACC2_A*, *TACC2_B*), *VIPR2* (예를 들어, *VIPR2_A*, *VIPR2_B*), 및 *SPOCK2_74333*. 표 10은 OC 검출을 위한 각 마커에 대한 민감도 및 특이도 백분율을 보여준다.

표 10.

마커	민감도	특이도
ATP10A	30	98
EP8SL2	30	100
CIQL3	30	95
FAIM2	55	99
CAPN2_B	60	96
LBH	10	100
CMTM3	10	100
ZMIZ1_A	15	100
GPRIN2	50	94
CDO1	70	95
GP5_8905	30	95
DSCR6	60	95
SKI	40	95
SIM2_A	75	95
AGRN_8794	70	90
BCAT1_6105	60	90
KCNA3_7518	10	100
KCNA3_7320	20	100
LOC10013136	40	100
GYPE_C	63	95
SRC_A	32	98
NR2F6	45	95
TSHZ3	40	90
CELF2	71	95
TACC2	40	90
VIPR	47	93
SPOCK2_7433	25	98

[0612]

[0613]

후속 실험은 1) 정상 비암성 수준과 비교하여 증가된 암 항원 125(CA-125) 수준 및 2) 다음의 마커에 대한 정상 비암성 메틸화와 비교하여 측정된 메틸화 수준 변화의 조합 검출을 통해 OC를 식별하기 위한 임상적 실현성을 입증하였다: ATP10A (예를 들어, ATP10A_A, ATP10A_B, ATP10A_C, ATP10A_D, ATP10A_E), EPS8L2 (예를 들어, EPS8L2_A, EPS8L2_B, EPS8L2_C, EPS8L2_D), C1QL3 (예를 들어, C1QL3_A, C1QL3_B), FAIM2 (예를 들어, FAIM2_A, FAIM2_B), CAPN2_B, LBH, CMTM3 (예를 들어, CMTM3_A, CMTM3_B), ZMIZ1 (예를 들어, ZMIZ1_A, ZMIZ1_B, ZMIZ1_C, ZMIZ1_D), GPRIN1 (예를 들어, GPRIN1_A, GPRIN1_B), CDO1 (예를 들어, CDO1_A, CDO1_B), GP5, DSCR6, SKI, 및 SIM2_A.

[0614]

이러한 마커 MDM은 OC가 있는 환자로부터의 66개의 혈장 샘플((예를 들어, 6개의 I기 OC, 3개의 II기 OC, 27개의 III기 OC, 12개의 IV기 OC, 18개의 ND))를 사용하여 테스트되었으며 OC가 없는 환자로부터의 237개의 대조군 혈장과 비교되었다: CA-125의 수준은 또한 66개의 혈장 샘플과 237개의 대조 혈장 샘플에서 측정되었다. 표 11은 MDM에 대한 OC 검출에 대한 90% 특이도를 보여준다. 표 12는 CA-125에 대한 OC 검출에 대한 90% 특이도를 보여준다. 표 13은 MDM 및 CA-125 모두에 대한 OC 검출에 대한 90% 특이도를 보여준다.

표 11.

표 작성

	MDM Call@90% 특이도	
	Neg	Pos
질환 유형	열 %	열 %
건강한 정상	90.06%	9.94%
난소	19.70%	80.30%
전체 단계		
I	16.67%	83.33%
II	0.00%	100.00%
III	11.11%	88.89%
IV	0.00%	100.00%
ND	50.00%	50.00%

[0615]

표 12.

표 작성

	CA-125 Call@90% 특이도	
	Neg	Pos
질환 유형	열 %	열 %
건강한 정상	89.47%	10.53%
난소	9.09%	90.91%
전체 단계		
I	0.00%	100.00%
II	0.00%	100.00%
III	3.70%	96.30%
IV	0.00%	100.00%
ND	27.78%	72.22%

[0616]

표 13.

표 작성

	MDM + CA125 Call@90% 특이도	
	Neg	Pos
질환 유형	열 %	열 %
건강한 정상	90.06%	9.94%
난소	7.58%	92.42%
전체 단계		
I	0.00%	100.00%
II	0.00%	100.00%
III	3.70%	96.30%
IV	0.00%	100.00%
ND	22.22%	77.78%

[0617]

[0618]

참조에 의한 통합

[0619]

본 명세서에 언급된 각각의 특허 문서 및 과학 기사의 전체 개시 내용은 모든 목적을 위해 참조로 포함된다.

[0620]

동등물

[0621]

본 발명은 그 정신 또는 본질적인 특성에서 벗어나지 않고 다른 특정 형태로 구체화될 수 있다. 따라서, 전술한 구현예는 여기에 설명된 발명을 제한하기보다는 예시적인 모든 측면에서 고려되어야 한다. 따라서, 본 발명의 범위는 전술한 설명보다는 첨부된 청구범위에 의해 표시되며, 청구범위와 동등한 의미 및 범위 내에 있는 모든 변경은 여기에 포함되도록 의도된다.

도면

도면1a

AGRN_8794

>hg19_dna 범위=chr1:968670-968849 5'패드=0 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

GCGCCGCACCTGGGGCCCTCCCCACCTACGCCCCGCCAGGGCGGGGCCGCGGCAGACACTCGCGGGC
ACACGCACGACGACGCGCACACGCGGTTCGACGCGGCCCGAGCCCCCTGCGGCGACTCCGATTACCCCC
CGCGGGTGCAGGGCGCGGACCCGCCGCCAGCTCC (서열번호:284)

BST

GCGTCGTATTTGGGGTTTTTTTTATTTACGTTTCGTTAGGGCGGGTTCGCGGGCGTAGATATTCGCGGGTAT
ACGTACGACGACGCGTATACGCGGTTCGACGCGGTTTTTCGAGTTTTTGCGCGGATTCGATTATTTTCG
GGGTGCGGGGCGCGGATTCTGTTCTGGTTAGTTTT (서열번호:285)

AGRN_8794_FP GCGGTTTTTCGAGTTTTTTTTCG (서열번호:137)

AGRN_8794_RP GAACGAATCCGCGCC (서열번호:138)

AGRN_8794_Pb_A5 AGGCCACGGACG GCGGATTCGATTATTTTCG/3C6/ (서열번호:235)

BCAT1_6015

>hg19_dna 범위=chr12:25055940-25056138 5'패드=0 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

GCGGGGCTGCAGAGAGCGGCAGTGGCACGGAGCGCGGGTGAAGCGAAAGCAGGCGGTGTGGCCAAGC
CCCGGCGCACGGCCATAGGGCGCTGGGTACACGACCTGGGGCCGCGCGCCAGGGCCAGGCGCAGGGTACG
ACGCAACCCCTCCAGCATCCCTTGGGGAGGAGCCTCAACCGTCTCGTCCCAGTCTG (서열번호:286)

BST

GCGGGGTTGTAGAGAGCGGTAGTGGTACGGAGCGCGGGTGAAGCGAAAGTAGGCGGTGTGGTTAAGTT
TCGGCGTACGGTTTTATAGGGGGTTGGGTATTACGATTGGGGTCGCGCGTTAGGGTTAGGCGTAGGGTACGA
CGTAATTTTTTATGATTTTTTGGGGAGGAGTTTTTAATCGTTTCGTTTTAGTTT (서열번호:287)

BCAT1_6015_FP GCGGTGTGGTTAAGTTTCGG (서열번호:139)

BCAT1_6015_RP CGCGACCCCAAATCGTA (서열번호:140)

BCAT1_6015_Pb_A1 CGCGCCGAGG GCGTACGGTTTATAGGGC/3C6/ (서열번호:236)

BHLHE23_8339

>hg19_dna 범위=chr20:61638294-61638506 5'패드=0 3'패드=0 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

GCGACGCGCAGGGGGCGGGCTCTACCTCCCCCTCGCCCCGCTTCGGTTTTAAGCCGCGGAGGCGCCCGGTG
GGACCTCGCTGCTGTCCAATCAGGGGGGACCGGGTGAGCTCCTCTTCTGGAGCCGGGCTCCACCAGCGCCG
CAGGCTCACAGGCCGGGGTGGGGGCTCTGGACCGAGGGGCGGCGCGGGGCGCGGGGCGGCGCGCG
(서열번호:288)

도면 1b

CGCAGCGTAGGGGGCGGGTTTTATTTTTTTTCGTTTTCGGTTCGGTTTTAAAGTCGCGGAAGCGTTCGGTGCG
ATTTTCGTTGTGTTTAATTAGGGGGGATCGGGTGAGTTTTTTTTTTTGAGTCGGGTTTTATTAGCGTCGTAGGT
TTATAGTTCGGGGTGCGGGTTTGGATCAGGGGCGGCGCGGGGCGGCGCGGGGCGGCGCGCG
(서열번호:289)

BHLHE23_8339_FP	CGGGTTTTATTTTTTTTCGTTTCGTTTC (서열번호:141)
BHLHE23_8339_RP	AACGAAATCCCACCGAACG (서열번호:142)
BHLHE23_8339_Pb_A1	CGCGCCGAGG CGGTTTAAAGTCGCGGA/3C6/ (서열번호:237)

ELMO1_9100
>hg19_dna 범위=chr7:37488054-37488165 5'패드=10 3'패드=2 가닥=+ 반복 마스킹=없음

WT
AACTGCAGAGGCCCGACGCGCCCGAGCCCTCACCTGCCGAGCGGGCGGCCACCCCGCCCGAGCCGC
GGCGCCCCAGGGAGGAAACAAAAGTGTCTCCGCGGCGCC (서열번호:290)

BST
AATTGTAGAGCGTTTCGACGCGTTCGTAGTTTTTATTTTGTCGAGCGCGGCGGTTATTTTCGTCGAGTCGCG
GCGTTTTTAGGGAGGAAATAAAGTGTTTTTCGCGCGCTT (서열번호:291)

ELMO1_9100_FP GTAGAGCGTTTCGACGCG (서열번호:143)
 ELMO1_9100_RP TCGAACGAAAATAACCGCCG (서열번호:144)
 ELMO1_9100_Pb_A5 AGGCCACGGACG GCGCTCGACAAAATAAAAAC/3C6/ (서열번호:238)

EPS8L2

>hg19_dna 범위=chr11:726397-726519 5'패드=10 3'패드=3 가닥=- 반복 마스크=없음

WT
GCCCCGGGCCCCAGCTCATCCCCGCCCCGCTACCGCGGGGCTGAAGGCCTTGGCTTCAGCCAGGCGCGGA
CCTCTGCTCGGACCCGACTCGTAGGTGAGCGGCTGGCTCACGGGCTGGCTGC (서열번호:292)

BST
GTTCCGGGTTTATGTTTATTTTCGTTTTCGTTTATCGCGGGTTGAAGGTTTTGGTTTTAGTTAGGCGCGGATTT
CGTTCGGATTCGATTTCGTAGGTGAGCGGTTGGTTTACGGGTTGGTTGT (서열번호:293)

도면1c

EPS8L2_FP GTTTTATAGGCGCGGATTTC (서열번호:145)
 EPS8L2_RP AACCCGTAAACCAACCGC (서열번호:146)
 EPS8L2_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGTTCGGATTTCGATTCT/3C6/ (서열번호:239)

JAM3

>hg19_dna 범위=chr11:133938908-133939011 5'패드=0 3'패드=0 가닥=- 반복 마스크=없음

WT

GAGCCGGAGTCGCGGTGGCCGCCTCAGCGCCATGTCGAGGGTTGCTGAGGGGCCAGCGGCAGCGGCGCGG
 GCTTGTAGTCCCCGCGCGCATGCGCCAGCCTG (서열번호:294)

BST

Existing 디자인

GAGTCGGAGTCGCGGTGGTCGTTTTAGCGTTATGTCGAGGGTTGTTGAGGGTTAGCGGTAGCGCGGCGCGG
 TTTGTAGTTTTTCGCGGTATGCGTTAGTTTG (서열번호:295)

JAM3_FP TGGTCGTTTTAGCGTTATGTCG (서열번호:147)
 JAM3_RP CGAAACTACAAACCGCGC (서열번호:148)
 JAM3_Pb_A5_LQ AGGCCACGGACG CCGCGCTACCGCTA/3C6/ (서열번호:240)

KCNA3_7320

>hg19_dna 범위=chr1:111217250-111217357 5'패드=10 3'패드=6 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

AGGTGGTCCCCGGGACACCGGTCATGTCGGGCGGCAGCTCGCGGCCTGCGGCGGGCTCCGCGTAGCCGTGG
 TTCACGACGTGTGGGACCGCCGCTGCTCGCTGGG (서열번호:296)

BST

AGGTGGTTTTTCGGGTATTACGGTTATGTCGGGCGGTAGTTCGCGGTTTTCGGGCGGGTTTCGCGTAGTCGTGGT
 TTATTAGCGGTGTGGGTATCGTCGTTGTTTCGTTGGG (서열번호:297)

KCNA3_7320_FP CGGTTATGTCGGGCGG (서열번호:149)
 KCNA3_7320_RP CAACGACGATACCCACACG (서열번호:150)
 KCNA3_7320_Pb_A1 CGCGCCGAGG GCTAATAAACACGACTACG/3C6/ (서열번호:241)

KCNA3_7518 Chr1:111217487-111217673

>hg19_dna 범위=chr1:111217481-111217679 5'패드=6 3'패드=6 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

CTCCCCGCCCTTCGCCGCTCCGCCCCGAGCCGAGCCACCGCCTGTTGCAGCCAAAGCCGCGATGCTCTG
 TCTGGGTCTGGCGCGGTACGCGGGCTCCCGCACGGGACGCCTCCTCCCTCCTCTCGCGCTCTCCGCCCC
 TCCCCTGCGGGGCGCGCGCCCGCCTCCGCGTCCCCTTAGGATTCCCGCCCACC (서열번호:298)

도면1d

BST

TTTTTCGTTTTTCGTCGTTTTTCGTTTTTCGAGTCGAGTTTATCGTTTCGTTGTTAGTTAAAGTCGCGATGTTTTGTT
TGGGTTTGGCGCGGTTAGTCGGGTTTTTCGTACGGGGACGTTTTTTTTTTTTTTTTTCGCGTTTTTCGTTTTTTTTTTT
TGCGGGGCGCGCGTTTCGTTTTTCGCGTTTTTTTAGGATTTTCGTTTATT (서열번호:299)

KCNA3_7518_FP TCGTTTTTCGTCGTTTTTCGTTTTC (서열번호:151)

KCNA3_7518_RP CCCGTACGAAAACCCGA (서열번호:152)

KCNA3_7518_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGAGTCGAGTTTATCGTTTG/3C6/ (서열번호:242)

MDFI_6321

>hg19_dna 범위=chr6:41606064-41606357 5'패드=10 3'패드=6 가닥=- 반복 마스크=없음

WT

GATCCCGCGCGGGGGCCGCCATGCGCGCCTGCTCCGGGCGCCCCCTGCCAGGTCCCGCTGGCTCCCGGGTG
CTCGCCTGGCGCCCCCTTCCCTCTCACTCGCTGCTTTCTCCCATTTTCGGCGCCAGCTCACGCCGTTTCGCCCCCTT
CCTTCTCCTTCTCTCCCTCCAGCCCCCTCGCTCCTCCCTACTCGCCTCTCCCTCCCTCTTCCCTGGCCCA
CCCTCTCCCCGCCCCCTCCTCGCCTTCTAGTCGCCCTCTGCGGGTCCCCCTCCCCCGCGCGGGGCTGGCCC
(서열번호:300)

BST

GATTTTCGCGCGGGGTTTCGTTATGCGCGTTTGTTCGCGCGTTTTTGTTCAGGTTTCGTTGGTTTTTCGGGTGTT
CGTTTGGCGTTTTTTTTTTTTTTTATTCGTTGTTTTTTTTATTTTCGGCGTTAGTTTACGTCGTTTCGTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTTTAGTTTTTTTCGTTTTTTTTTTTATTCGTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGTTATTTTTTTTT
CGTTTTTTTTTCGTTTTTTTAGTCGTTTTTTTTCGGGTTTTTTTTTTTCGCGTCGGGTTTGTTT (서열번호:301)

MDFI_6321_BST 플라스미드 서열

GATTTTCGCGCGGGGTTTCGTTATGCGCGTTTGTTCGCGCGTTTTTGTTCAGGTTTCGTTGGTTTTTCGGGTGTT
CGTTTGGCGTTTTTTTTTTTTTTTATTCGTTGTTTTTTTTATTTTCGGCGTTAGTTTACGTCGTTTCGTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTTTTAG (서열번호:302)

MDFI_6321_FP GTTCGTTATGCGCGTTTGTTC (서열번호:153)

MDFI_6321_RP GAACACCCGAAAACCAACGA (서열번호:154)

MDFI_6321_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGGGCGTTTTTGTTCAGG/3C6/ (서열번호:243)

RASSF1_8293 chr3:50378182-50378372

>hg19_dna 범위=chr3:50378172-50378382 5'패드=10 3'패드=10 가닥=- 반복 마스크=없음

도면1e

WT

TTTCCATTGCGCGGCTCTCCTCAGCTCCTTCCCGCCGCCAGTCTGGATCCTGGGGGAGGCGCTGAAGTCGGG
GCCC GCCCTGTGGCCCCGCCCGCCCGCGCTTGTAGCGCCCAAAGCCAGCGAAGCACGGGCCCAACCGGGC
CATGTCGGGGGAGCCTGAGCTCATTGAGCTGCGGGAGCTGGCACCCGCTGGGCGCGCTGGGAAGGG
(서열번호:303)

BST

TTTTTATTGCGCGGTTTTTTTTAGTTTTTTTTTCGTCGTTTAGTTTTGGATTTTGGGGGAGGCGTTGAAGTCGGGGT
TCGTTTTGTGGTTTCGTTTCGGTTTCGCGTTTGTAGCGTTTAAAGTTAGCGAAGTACGGGTTTAATCGGGTTATG
TCGGGGGAGTTTGTAGTTTATTGAGTTGCGGGAGTTGGTATTCGTTGGGCGCGTTGGGAAGGG (서열번호:304)

RASSF1_8293_FP GTTTTGTGGTTTCGTTTCGGTTC (서열번호:155)

RASSF1_8293_RP CCGATTAAACCCGTAATTCGC (서열번호:156)

RASSF1_8293_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGCGTTTGTAGCGTTTAA/3C6/ (서열번호:244)

SFMBT2_2363 chr10:7451790-7452428

>hg19_dna 범위=chr10:7451780-7452430 5'패드=10 3'패드=2 가닥=- 반복 마스크=없음

WT

GCCCCCACCTTCCTCGTTTCTGCACTCATTTTAGCGACGCAGCCGCCGCTGCTACCTACCCCGCGCTCCCGC
GTCTCTCCGCGCTGGGGTCTCCCTTTCTTTTGGTTTGGGTGGGAGAAAAAGATGGTGAGGACGGGGAATC
GGAGACCGGCATGGGGGTAAAAATCGTGCAGACATTCGGAATCGCTCCCTTGGAACATTTGCCTGAGCAAC
TGAAATAAAATTGGCAGTAGTAGTTTTGGAGCGTGCTCCAGCGAGGATGGTCTTTTGTTCATTATTTCTCTT
TAAAGTAATATCCTGTCACTTAGGGGCTTCCGGTTGTCTCCTCTTATTCGACCCCTTTCAAAATTGCTGACT
TGAGCTGGTTCTGGAGTTTATTTTAAATATGCGTGCGTGGGTATGTGTATGTGTGTATGTTTTGCAGAAAT
CCGCCAAAATGCAACTGTAGGAAGTGCAGAGATGATTTATTGATTTTGACCAGGGGCGGTGGGAAGGGGCTG
GAGGGAGCTGGGGGATCCTGGAGGGTGGGAAGTGGCTGATTCTCGGTGGCCGGACACTCATCCAGAGCCTG
ATCCGTAATCGTGTGTTTCTGGGAAGCGCCACAACCTGCGGGGAAGGAGTCTTTAGAAACCGTGCCAGTTT
(서열번호:305)

BST

GTCTGTTATTTTTTCGTTTTTGTATTTATTTAGCGACGTAGTCGTCGTTGTATTTATTTTCGCGTTTTTCGCGT
TTTTTCGCGTTGGGGTTTTTTTTTTTTTTTGGTTTGGGTGGGAGAAAAAGATGGTGAGGACGGGGAATCGGA
GATCGGTATGGGGGTAAAAATCGTGTAGATATTCGGAATCGTTTTTTTGGAAATATTTGTTGAGTAATTGAA
ATAAAATTGGTAGTAGTAGTTTTGGAGCGTGTTTAGCGAGGATGGTTTTTTTGTATTATTTTTTTTTTAA
GTAATATTTGTTATTTAGGGGTTTTTCGGTTGTTTTTTTATTCGATTTTTTTTAAATTTGTTGATTGAGTT
GGTTTTGGAGTTTATTTTTTAAATATGCGTGCGTGGGTATGTGTATGTGTGTATGTTTTGTAGAAATTCGTTA
AAATGTAAATTGTAGGAATTGCAGAGATGATTTATTGATTTTGATTAGGGGCGGTGGGAAGGGGTTGGAGGGA
GTTGGGGGATTTTGAGGGTGGGAAGTGGTTGATTTTCGGTGGTGGATATTTATTTAGAGTTTGATTCGTAT
TCGTGTTTTTTTTGGAAGCGTTATAATTGCGGGGAAGGAGTTTTTAGAAATCGTGTAGTTT (서열번호:306)

도면1f

SFMBT2_2363_BST 플라스미드 서열

GTCTGTTATTTTTTCGTTTTGTATTTATTTAGCGACGTAGTCGTCGTTGTTATTTATTCGCGTTTTTCGCGT
TTTTTTCGCGTTGGGGTTT (서열번호:307)

SFMBT2_1839_BST 플라스미드 서열

GAAAGTGGCTGATTCCTCGGTGGCCGGACACTCATCCAGAGCCTGATCCGTACTCGTGTCTTCTGGGAAGCGCCA
CAACTGCGGGGAAGGAGTCTTTAGAAACCGTGCCAGTTT (서열번호:308)

SFMBT2_2363_FPCTTCGTTTTGTATTTATTTAGCGACGT (서열번호:157)

SFMBT2_2363_RP ACGCGAAAAAACGCGAAAAACG (서열번호:158)

SFMBT2_2363_Pb_A1 CGCGCCGAGG GCGAAATAAATAACAACGACGA/3C6/ (서열번호:245)

SFMBT2_1839_FPCTGATTCTCGGTGGCCG (서열번호:309)

SFMBT2_1839_RP GGCGCTTCCAAGAAAACACG (서열번호:310)

SFMBT2_1839_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGAGTACGGATCAGGCT/3C6/ (서열번호:311)

SKI_2465 Chr1:2222218-2222508

>hg19_dna 범위=chr1:2222208-2222518 5'패드=10 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

CCTGTAAAGCCGGGGATGGCAGGACGCATTGTACCCCTCCTGCCGCTCTTACGAAACACTCTTAATTGAGT
CCGATTCTTGGTGAATCAGCCTTCCAAGAACCAGCGACCGCAGCATCCTGTGCCGCTTCTGTGTCCGCATTTT
TCTCTTTCTGCAGCGTTTCTCTCATTTCTGGATGGAAAGGCCTGTTTGTCTCCCTCAATCTTTGGCGAGGGTGG
CAGGCAGCCAGGCGGCCATTACGGGCGCGCTCCACAGCCAGTCGCTGGCAGGAGCGTCCGGGGAGGG
AGCAGACCCCGTTCACCTC (서열번호:312)

BST

TTTGTAAAGTCGGGGATGGTAGGACGTATTGTTATTTTTTTTGTGCTTTTACGAAATATTTTAATTGAGTT
CGATTTTTGGTGAATTAGTTTTTAAGAATCGCGATCGTAGTATTTTGTGTCGTTTTGTGTTTCGTATTTTTT
TTTTTGTAGCGTTTTTTTTATTITGGATGGAAAGGTTTGTITTTTTTTAATTTTTGCGCAGGGTGTTAGG
TAGTTAGGCGGTTATTACGGGTGCGGTTTTTATTAGTTAGTCGTTGGTAGGAGCGTTCGGGGAGGGAGTAG
ATTTCTGTTATTTTT (서열번호:313)

SKI_2465_BST 플라스미드 서열

GTAGGTAGTTAGGCGGTATTACGGGTGCGGTTTTTATTAGTTAGTCGTTGGTAGGAGCGTTCGGGGAGGG
AGTAGATTTCTGTTATTTTT (서열번호:314)

SKI_2465_FP GTTAGGCGGTATTACGGGTC (서열번호:159)

SKI_2465_RP GAAATCTACTCCCTCCCGA (서열번호:160)

SKI_2465_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGCGTTTTTATTAGTTAGTCGTT/3C6/ (서열번호:246)

도면1g

SPOCK2_7433 chr10:73847355-73847446

>hg19_dna 범위=chr10:73847345-73847456 5'패드=10 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

CCCAGAGCCCCGCTCACACTCCCGTCCCATGCTGTCCCCCTCCCGCAAAGCCACGGTGGGAACAGAGGGCA
CCGCGGAGCCGATGCCACCCTCACTGCCGCCCCACCCA (서열번호:315)

BST

TTTAGAGTTTCGGTTATATTTTCGTTTATGTTGTTTTTTTCGTAAAGTTACGGTGGGAATAGAGGGTATC
GCGCGAGTCGATGTTATTTTATTGTCGGTTTTATTTA (서열번호:316)

SPOCK2_7433_FP TATGTTGTTTTTTTCGTAAAGTTACGGT (서열번호:161)

SPOCK2_7433_RPCCGACAATAAAAAATAACATCGACTCG (서열번호:162)

SPOCK2_7433_Pb_A1 CGCGCCGAGG GCGCGATACCCTCTATTC/3C6/ (서열번호:247)

VIPR2 chr7:158937203-158937476

>hg19_dna 범위=chr7:158937193-158937479 5'패드=10 3'패드=3 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

CCTCCCAACCCGAGTCCCGCAACCCGGCGGGACCGGAGCTCAGCGCTTCACGCTCTCCGGGAGGAAGCTCCG
GACCCCGGGCGACCCCGCTCCTCTCCCGGACCCCGCCGCGCTCCAGCACCCGGGAGGAAGGCGAAGACC
GGCGGGAGGAGCGCTCTCTCGGAAGGGGAGAACCGGGTCCGAGGCGCCGTGGGGCGGGGTCGCGGGCGC
ACTCACGGGGCGAGCAGCCAGCAGGTACGAGCGCGGGAGGCAGCAGCGTCCGCATCCCGAGCTCAGCGT
GC (서열번호:317)

BST

TTTTTAATTCGAGTTTCGTAATTCGGCGGGATCGGAGTTAGCGTTTTACGTTTTTCGGGAGGAAGTTTCGGA
TTTCGGGCGATTTCGTTTTTTTTTCGGATTTCGTTCGCGTTTTAGTATTCGGGAGGAAGGCGAAGATCGGGG
GGAGGAGCGTTTTTTTCGGAAGGGGAGAATCGGGTTCGAGGCGTCGTGGGGCGGGGTCGCGGGCGTATTTA
CGGGGGCGAGTAGTTAGTAGTTAGTAGCGCGGGAGGTAGTAGCGTTCGTATTTTCGAGTTTAGCGTGT
(서열번호:318)

VIPR_FPTCGTTCGCGTTTTAGTATTCGG (서열번호:163)

VIPR_RP CGAAAAAACGCTCCTCCCG (서열번호:164)

VIPR_Pb_A5 AGGCCACGGACG GCCGATCTTCGCCTT/3C6/ (서열번호:248)

ZMIZ1 chr10:81002589-81002797

>hg19_dna 범위=chr10:81002587-81002801 5'패드=2 3'패드=4 가닥=+ 반복 마스크=없음

도면1i

BST

AGAAGTGGGCGGGTGTGTGTTTAAAAAAGGGGGTGGAAATTTATTAGTTAAGTTGTAGAAAA
AAATAAATGAAGTTTGTGTTTTCGGGTTAGAGTTTTTTTTTCGGTTCGCGCGGGAGGAGTGTGATTAGGT
GTCGTTTTTTTCGTTCGTCGAGGGTTAGGAGTTTCGGGAGCGCGATTTTTTTCGGTTCGGTTTGGTTCGGTTTG
GTTAGTTTTTCGCGGTTTTGTTCGGGTTGACGTTTAGGAATGTGGTCGACGAGAAGTTTAATAGTACGGCGT
GGTTTTTTAGTTTCGGTGAGTATT (서열번호:324)

GYPC_3753_BST 플라스미드 서열

GGAGTGTGATTAGGTGTCGTTTTTTTCGTTCGTCGAGGGTTAGGAGTTTCGGGAGCGCGATTTTTTTCGGTTC
GGT (서열번호:325)

GYPC_3753_FP TGATTAGGTGTCGTTTTTTTCGTC (서열번호:169)

GYPC_3753_RP GAAAAAAATCGCGCTCCCG (서열번호:170)

GYPC_3753_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGTCGAGGGTTAGGAGT/3C6/ (서열번호:251)

GYPC chr2:127413898-127413988

>hg19_dna 범위=chr2:127413888-127413992 5'패드=10 3'패드=4 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

GGTGAGTACCCGCCGTGGGGAAGGGTCCTGGGGACCCACTGGAGGCCGCGCCCGCAGCAGCCAGGGGCCG
AGCCACGGCCACGGACGCCCTGGTGTCCCGTCC (서열번호:326)

BST

GGTGAGTATTCGTCGTGGGGAAGGGTTTTGGGGATTATTGGAGGTCGCGGTTCTAGTAGTTAGGGTCGA
GTTACGGTTACGGACGTTTTGGTGTTCGGTTT (서열번호:327)

GYPC_3981_FP ATTTATTGGAGGTCGCGGTTTC (서열번호:171)

GYPC_3981_RP CCGAAACACCAAAACGTCCG (서열번호:172)

GYPC_3981_Pb_A1 CGCGCCGAGG GTAACCGTAACTCGACCC/3C6/ (서열번호:252)

RFTN1 chr3:16554329-16554496

>hg19_dna 범위=chr3:16554319-16554502 5'패드=10 3'패드=6 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

GGGGACTCTCGGCACCCGCGTCCCTGTGCTTCTGGTGGTTCCGGCGCTTCCTCGGAGCGCGCGGCATGTCTGC
TCCTACACGTCCAGCACCTCTGTCCCCAGAGCAAACCCACCTCCAGGGCACACGCAGAGGGGCAGTCAGGC
ACCGCCTCCACCCTGCCCCACCCAGGCCGCGCACCCC (서열번호:328)

도면1j

BST

GGGGATTTTCGGTATTCGCGTTTTTGTGTTTTGGTGGTTTCGGCGTTTTTTCGGAGCGCGCGGTATGTTTGTT
 TTTATACGTTTAGTATTTTTGTTTTTAGAGTAAATTTATTTTTTAGGGTATACGTAGAGGGGTAGTTAGGTATC
 GTTTTTATTTGTTTTATTTAGGTCGCGCGTATTTT (서열번호:329)

RFTN1_FP_V2 GTGTTTTGGTGGTTTCGGC (서열번호:173)
 RFTN1_RP ATACTAAACGTATAAAAAACAAACATACCGC (서열번호:174)
 RFTN1_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGCGCTCCGAAAAAAC/3C6/ (서열번호:253)

PARP15 chr3:122296692-122296851

>hg19_dna 범위=chr3:122296682-122296861 5'패드=10 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

CTCTTCCTCCCGAGTATGGTGAGGAGCGCGGGGACGGGTGCGGGAAGGGGACAGCAGGGCTGAGCCTGG
 GGCCCGCAAGACCCAGCAGCCGAGCGGGCGCAGAGACCCACGCCACGCACAACCCTCTCTTAGGGG
 CGCCGACTACACTGACTTCCTGTTCCGGAAGAGGGGG (서열번호:330)

BST

TTTTTTTTTCGGAGTATGGTGAGGAGCGCGGGGACGGGTGCGGGAAGGGGATAGTAGGGTTGAGTTTGGG
GTTTCGTAAGATTTAGTAGTTCGAGCGGGCGTAGAGATTTTACGTTACGTATAATTTTTTTTTTAGGGGCGT
CGATTATATGATTTTTTTGTTCGGAAGAGGGGG (서열번호:331)

PARP15_6789_FP GGTTTCGTAAGATTTAGTAGTTCGAGC (서열번호:175)
 PARP15_6789_RP CGAAACAAAAAATCAATATAATCGACGC (서열번호:176)
 PARP15_6789_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGGGCGTAGAGATTTTACG/3C6/ (서열번호:254)

GP5 chr3:194118822-194118924

>hg19_dna 범위=chr3:194118812-194118934 5'패드=10 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

CTCTGCAGGACGCCGCGGCCATTCCGAAGAGCAGGATGTGCGTGAGGTTGGTGGGCAGGCCTAGCGCGGA
 GATGCGCGCCACGTGCGCCCCGAGCACTGCGCGGCGTCCCGGAAGACACAC (서열번호:332)

BST

TTTTGTAGGACGTCGCGGTTTATTTTGAAGAGTAGGATGTGCGTGAGGTTGGTGGGTAGGTTAGCGCGGAG
ATGCGCGTTACGTCGTTTTTCGAGTATTGCGCGCGTTTCGGAAGATATAT (서열번호:333)

GP5_8905_FP TAGGACGTCGCGGTTTATTTT (서열번호:177)
 GP5_8905_RP CGCAATACTCGAAAAACGACG (서열번호:178)
 GP5_8905_Pb_A5 AGGCCACGGACG GTAACGCGCATCTCCG/3C6/ (서열번호:255)

도면1k

GPRIN1 chr5:176023887-176023974

>hg19_dna 범위=chr5:176023884-176023984 5'패드=3 3'패드=10 가닥=- 반복 마스크=없음

WT

GCCAAAGGGGCGCCCGCGCCGCCCGCCCGCCCGTGCCTGGCCCGCCCGCTTCGGGGCTCGGTGCGCACCGCGC
CCCCAGATGGCGCCGCAAGCGTCCGCC (서열번호:334)

BST

GTTAAGGGGCGTTCGCGTCGTCGTTCTCGTTCGTCGTTTGGTTCGTTTCGGTTCGGTTCGCGTT
TTTAGATGGCGTCGTTAAGCGTTCGTTT (서열번호:335)

GPRIN1_FP TCGCGTCGTCGTTCTGT (서열번호:179)

GPRIN1_RP GACGCCATCTAAAAACGCGA (서열번호:180)

GPRIN1_Pb_A1 CGCGCCGAGG TCGTTCGTCGTTTC/3C6/ (서열번호:256)

HCG4_0331 chr6:29760284-29760410

>hg19_dna 범위=chr6:29760274-29760420 5'패드=10 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

GCTTCTCTCCGTGGGCGACGTGGACGACACGCAGTGCCTGCGGCTCGACAGCGACGCCACGAGTCCCAGGA
TGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATGGAGCAGGAGGGGCCGAATATTGGGAAGAGGAGACGGGACCGCCAA
GGCCA (서열번호:336)

BST

GTTTTTTTTTCGTGGGCGACGTGGACGATACGTAGTGCCTGCGGTTTGATAGCGACGTTCAGAGTTTAGGAT
GGAGTCGCGGGCGTCGTGGATGGAGTAGGAGGGGTCGGAATATTGGGAAGAGGAGATAGGGATCGTTAAGG
TTA (서열번호:337)

HCG4_0331_FP GGCGACGTGGACGATAC (서열번호:181)

HCG4_0331_RP CTAAAACTCGTAACGTGCTATCG (서열번호:182)

HCG4_0331_Pb_A5 AGGCCACGGACG GAACCGCACGCACTA/3C6/ (서열번호:257)

HCG4_0556 chr6:29760436-29760577

>hg19_dna 범위=chr6:29760426-29760578 5'패드=10 3'패드=1 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

CAGTTTTACCGAGTGAACCTGCGGACCCCTGAGCGGCTACTACAACCAGAGTGAGGCCTGTGAGTGACACCGG
CCGGGGGCGCAGGTCACTACCCCTCCACATCCCCACGGACCGCCCGGTCTCCCCGAGTCTCTGGGTCCGA
GATCCACGC (서열번호:338)

도면11

BST

TAGTTTTATCGAGTGAATTTGCGGATTTTGAGCGGTTATTATAATTAGAGTGAGGTTTGTGAGTGATATCGGT
CGGGGGCGTAGGTTATTATTTTITATATTTTTACGGATCGTTCGGGTTTTTTTCGAGTTTTTGGGTTTCGAGAT
TTACGT (서열번호:339)

HCG4_0556_FP GGTGTGTGAGTGATATCGGTCG (서열번호:183)

HCG4_0556_RP CGAACCCAAAACTCGAAAAACC (서열번호:184)

HCG4_0556_Pb_A1 CGCGCCGAGG CCGAACGATCCGTAAAAATATAA/3C6/ (서열번호:258)

NKX2-6_4159 chr8:23564076-23564193

>hg19_dna 범위=chr8:23564066-23564203 5'패드=10 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

TGTCCTTGACCGAGAAGGGGGTGGAGGTGACGGGGCTCAGCAGCATCCCGAAGGCGGATGGGGCGGGGCGG
AGGAGGTCCGGGTGAGGAGCGGCACCCTGAACCTCCCGTCTTGTGCTGCAGGCCCGCAGACAGAC
(서열번호:340)

BST

TGTTTTATCGAGAAGGGGGTGGAGGTGACGGGGTTAGTAGTATTTTGAAGGCGGATGGGGCGGGGTCG
AGGAGGTTCGGGTGAGGAGCGGTATTTGAATTTTCGTTTGTGCTTGTAGGTTTCGTAGATAGAT
(서열번호:341)

NKX2-6_4159_FP GGGTTTAGTAGTATTTTGAAGGCG (서열번호:185)

NKX2-6_4159_RP GAAAAATCAAAATACCGTCCTCAC (서열번호:186)

NKX2-6_4159_Pb_A5 AGGCCACGGACG CCCGAACCTCCTCGA/3C6/ (서열번호:259)

CIQL3 chr10:16562562-16562645

>hg19_dna 범위=chr10:16562552-16562655 5'패드=10 3'패드=10 가닥=- 반복 마스크=없음

WT

ATGAAGGCTACGAGGTGCTCAAGTTCGACGACGTGGTCACCAACCTCGGAAACCACTACGACCCACCACCG
GCAAGTTCACCTGCTCCATCCCGGCATCTAC (서열번호:342)

BST

ATGAAGGTTACGAGGTGTTTAAAGTTCGACGACGTGGTTATTAATTTTCGAAATTATTACGATTTTATTATCGG
TAAGTTTATTGTTTATTTTCGGGTATTTAT (서열번호:343)

CIQL3_FP GAAGGTTACGAGGTGTTTAAAGTTCG (서열번호:187)

CIQL3_RP AACAAATAAACTTACCGATAATAAAATCGTAATAATTTTC (서열번호:188)

CIQL3_Pb_A1 CGCGCCGAGG GACGACGTGGTTATTAATTTTCG/3C6/ (서열번호:260)

도면1m

FAIM2 Chr12:50297643-50297814

>hg19_dna 범위=chr12:50297633-50297817 5'패드=10 3'패드=3 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

AGCCTGCGCTGCGTCTCTTCTCTCCGCGTGGGTTCTAGCAACATCCACTGCAGCCGGGCCAGGCGAGCCGG
CGCGTACCATCGGCGCGGGGGGAGGAGAGGGCCGGGCTGGGAAGATGCTGCGGAGGACGCTGCGGATTCTG
CGAGCCCGGGTAAGGCGGCGGCGCACCGCCCCCTCCCGCC (서열번호:344)

BST

AGTTTGTTCGCTTTTTCCTTCGCGTGGGTTTATAGTAATATTTATTGTAGTCGGGTTAGGCGAGTCGGC
GCGTATTATCGGCGCGGGGGAGGAGAGGGTCGGGTTTGGGAAGATGTTGCGGAGGACGTTGCGGATTCTGC
GAGTTCGGGGTAAGGCGGCGGCGTATCGTTCCTTCGTTTTCGTT (서열번호:345)

FAIM2_FP TTGCGGAGGACGTTGC (서열번호:189)

FAIM2_RP GAAAAAAACGATACGCCGCC (서열번호:190)

FAIM2_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGGATTGCGGAGTTTCG/3C6/ (서열번호:261)

LOC100131366 chr14:10365515-103655633

>hg19_dna 범위=chr14:10365508-103655639 5'패드=7 3'패드=6 가닥=- 반복 마스크=없음

WT

GGGGGCGGGGCTGGGGAGAGGGTGCCCCGACACTAGTCCCCCTCCCTCGACCCCGAGCCCCGCGGC
GCGTTTCGTAGGCGCCCCGCCACGTCCCGCGAGTCTCTGCCAAGTTCCCGCGCGGGTGC (서열번호:346)

BST

GGGGGCGGGGTTGGGGAGAGGGTGTTTGTATATTAGTTTTCGATTTCGTAGTTTCGCGCGCGC
GTTTTTGGAGGCGTTTTCGTTACGTTTCGCGAGTTTTTGTAAAGTTTCGCGCGGGTGT (서열번호:347)

LOC100131366_FP TTTCGATTTCGTAGTTTCGCGG (서열번호:191)

LOC100131366_RP CTCGCGAAACGTAACGAAAAC (서열번호:192)

LOC100131366_Pb_A5 AGGCCACGGACG GCGCGTTTTTGGAGGC/3C6/ (서열번호:262)

NTN1 chr17:9143164-9143445

>hg19_dna 범위=chr17:9143154-9143455 5'패드=10 3'패드=10 가닥=- 반복 마스크=없음

WT

GGGGAGGGGCGCCGAGGGTCCCGCCCCCGCGCGTGCGGCCCCGCCCCCTCCCTCCCCCACCTGGGAAA
GCCCTCGCGGGGCCAAGTCCGCGGGCGGGGCCAAGGCGCCGCTCTCGCTCGGCCCCGCCCTGGCGCCCGC
CCGCCGCCCCCGCTGCTCGGCGCTAGGCCTTCTTGCACTTGCCCTTCTTCACGCTGCTGGAACCTGC
GCAGCCGCGCGCCACGTGTCCCGCCACTGGATCACCAGGCTGCTTTATCGGCCACGATGCCGCTCTGGTC
CGGAGAGTCCTC (서열번호:348)

도면1o

BST

GGGTTTTCGGGTTATTTTTATTGAAGTCGTTATGTTTTTTTTTTGTGTTTCGAGGTGGTQGTTGGGTGGTAGGG
GAGGTTCGGGTT (서열번호:354)

C17orf64_8780_FPGTTTTTCGGGTTATTTTTATTGAAGTCG (서열번호:197)

C17orf64_8780_RP TCCCTACCACCCAACG (서열번호:198)

C17orf64_8780_Pb_A1 CGCGCCGAGG GACCACCTCGAACACAAA/3C6/ (서열번호:265)

OXT Chr20:3052753-3052884

>hg19_dna 범위=chr20:3052743-3052891 5'패드=10 3'패드=7 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

GGGCAAAGGCCGCTGCTTCGGGGCCCAATATCTGCTGCGCGGAAGAGCTGGGCTGCTTCGTGGGCACCGCCGA
AGCGCTGCGCTGCCAGGAGGAGAACTACCTGCCGTCGCCCTGCCAGTCCGGCCAGAAGGCGTGCGGGAGCG
GGGGCC (서열번호:355)

BST

GGGTAAAGGTCGTTGTTTCGGGTTTAATATTTGTTGCGCGGAAGAGTTGGGTTGTTTCGTGGGTATCGTQGAA
GCGTTGCGTTGTTAGGAGGAGAAATTATTTGTCGTCGTTTGTAGTTTCGGTTAGAAGGCGTGCGGGAGCGGGG
GTT (서열번호:356)

OXT_FP GGGTTTAATATTTGTTGCGCGG (서열번호:199)

OXT_RP CGAAGCGTTGCGTTGTTAG (서열번호:200)

OXT_Pb_A5 AGGCCACGACG GACGATACCCACGAAACAA/3C6/ (서열번호:266)

PEAR1 Chr1:156863357-156863488

>hg19_dna 범위=chr1:156863347-156863492 5'패드=10 3'패드=4 가닥=+ 반복 마스크=없음

TTTCCCTCCCGGGCGCCTGGATCTCCCTCCCGGGCTCCTGTTTCCTTGTCAAAACCTTCCTGCCTTGGCGAGG
GCCCGAGTTCCACCCCTTCCTGCCCCCGCCCTCGGCGCCCTCCCGGCCCTGCGATCAGCAGCGTCCC
(서열번호:357)

BST

TTTTTTTTTCGGGCGTTTGATTTTTTTTTTTTCGGTTTTTGTTTTTTTGTTAAAAATTTTTGTTTGGCGAGGGT
TCGAGTTTTTATTTTTTTTGTGTTTCGTTTTTCGGQGTTTTTTTCGGTTTTGCGATTAGTAGCGTTTT
(서열번호:358)

PEAR1_FP TTGGCGAGGGTTCGAGT (서열번호:201)

PEAR1_RP CTAATCGCAAAACCGAAAAAACG (서열번호:202)

PEAR1_Pb_A1 CGCGCCGAGG GCCGAAAAACGAAAAACAAA/3C6/ (서열번호:267)

도면1q

TAAAGCGGAGGTATTATGAGTTGTTTTTCGGCGGCGGCGAGGTTTTATTGCGTGTGTTGTCGAGTAGAGTC
GGGGGAGTAT (서열번호:362)

CEL2_BST 플라스미드 서열

GTTTATAGTGTTCGCGACGTTTATTGGACGTTTGGCGATTTCGTTTCGCGTTTTGTATTTTATTTGCGGAG
GGTTTGTATTTCGGTTTCGGA (서열번호:363)

CEL2_FP GACGTTTATTGGACGTTTGGC (서열번호:205)
CEL2_RP ACCGAAATCAAAACCCTCCG (서열번호:206)
CEL2_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGATTTCGTTTCGCGTT/3C6/ (서열번호:269)

CEL2_FP_V2 GTTTCGCGACGTTTATTGGAC (서열번호:207)
CEL2_RP ACCGAAATCAAAACCCTCCG (서열번호:208)
CEL2_Pb_A1_V2CGCGCCGAGG CGTTTGGCGATTTCGTT/3C6/ (서열번호:270)

CAPN2

>hg19_dna 범위=chr1:223936858-223937009 5'패드=10 3'패드=5 가닥=- 반복 마스크=없음

WT

GCACCCGGCGCCCGAGCTGCGAAAGGGACGCCCTTCTCTCCCGCGCGAACTTCAGGAGTGGGGGCCCGA
GTGTAAACTGGACACCGTGGGGCCGCGCGGCCCTGGGCATCACCACAACTGTGCCTGTGGCCATCGTG
TCAGGACA (서열번호:364)

BST

GTATTCGGCGTTCGAGTTGCGAAAGGGACGTTTTTTTTTTTCGCGCGGAATTTAGGAGTGCGGGGTCGAG
TGTAATAATGGATTATCGTGGGGTCGCGCGGGTTTTGGGTATTATTATAAATTGTGTTGTGGTTATCGTGTTA
GGATA (서열번호:365)

CAPN2_Reg2_FP GCGCGGAATTTAGGAGTGC (서열번호:209)

CAPN2_Reg2_RP CGCGACCCACGATAATC (서열번호:210)

CAPN2_Reg2_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGGGGTTCGAGTGTAAT/3C6/ (서열번호:271)

DSCR6 21:38378492-38378858

>hg19_dna 범위=chr21:38378483-38378866 5'패드=9 3'패드=8 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

GGAGAAGCCGGGACTCCTCACATCCCACATCCGGCAGGGGAAGCCAGCAGGTGAGCGCAGGTCCCCCAG
TCCCCGAGGGAGTGCGCCCGACGGAACGCCCTAGCCCGCGGGCCTCGCTTTCCTCTCCCGGGTTCCTGGG
TCACTTCCCGCTGTCTCCAGCCCGAGCTCGTGGCCCCAATCCCTGGTACCTCCATCCTCTGGTCACCCCTTCTC
TGGTGCCC

도면1r

CCTCCCCGACTTTTCTTTGTCCCGTCCCCACCCCTTGCCCGGGCCTGCCGGACCCCCCTCCTTGACACCCGGCGC
CACCTCCTTGAGCTTTTCTCGTCTCTCCCCATCCCCGGCTCCCTGGTCCCCTCCCGAACTTCTCTGGTCCCC
TCCGCTCCTCC (서열번호:366)

BST

GGAGAAGTCGGGATTTTTATATTTATATTCGGTAGGGGAAGTTTAGTAGGTGAGCGTAGGTTTTTTAGTT
TTCGAGGGAGTGCCTTCGACGGAACGTTTTAGTTCGCGGGTTTCGTTTTTTTTTCGGGTTTTTGGGTTAT
TTTTCGTTGTTTTTAGTTCGAGTTCGTGGTTTTAATTTTTGGTATTTTTATTTTTGGTTATTTTTTTTTGGTGT
TTTTTTTCGATTTTTTTTGTTCGTTTTTATTTTTGTTCGGGTTTGTTCGATTTTTTTTTTTTGATATTCGGCGTT
ATTTTTTTGAGTTTTTTTCGTTTTTTTTTATTTTCGGTTTTTTGGTTTTTTTCGGAATTTTTTTGGTTTTTTTCG
TTTTTTT (서열번호:367)

DSCR6_BST 플라스미드 서열

GTTTTTTTAGTTTTTCGAGGGAGTGCCTTCGACGGAAACGTTTTTAGTTCGCGGGTTTCGTTTTTTTTTTTCGGG
T (서열번호:368)

DSCR6_FP GTTTCGAGGGAGTGCCTTC (서열번호:211)

DSCR6_RP CGAAAAAAAAAACGAAACCCGC (서열번호:212)

DSCR6_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGACGGAAACGTTTTTAGTTC/3C6/ (서열번호:272)

NR2F6 19:17346347-17346780

>hg19_dna 범위=chr19:17346337-17346783 5'패드=10 3'패드=3 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

CAGCCATACTCGGCCGAGTCGACCTGCAGGCGGCCAGCTTGTCCACCTGCTCCTGGAAGGCGCGCACCTGG
TCCATGAAAGCCACGGCGCGCTCGGCCGCCATAGGCGCGGCGTGGAGGCCGGCGGCCAGTAGCGGCGC
CGTGTGCAGGGGACGCGCCCGCTGCGCCGCGTTACGACGAAGAGCTCGCTCCAGCTCAGGCGCAGCAGCG
CCACCTGGTCCGCCACCGGCAGCTCGGGGAAGAAGGCGCGTGGCGCGCCCACTCCACGGTGCTGAAGAGC
AGCCGCGCCGCCAGCTCGCACACGTTGTCGATGCCCAGCACCGCGCCCGCCGCGCCGCCCTGCGCCGAAG
CGTCCGGCCGCCGAGGGTAGGGCTCAGCGCGCAGCAGCTGCGCGATCAGTTCGGACACCGGCTGCCCCGG
GAAGAGGTCTCCGCCGCTC (서열번호:369)

BST

TAGTTATATTCGGTCGAGTCGATTTGTAGGCGGTTAGTTTGTATTGTTTTTGAAGGCGCGTATTTGGTT
TATGAAAGTTACGGCGCGTTTCGGCGGTTATAGGCGCGGCGTGGAGGTCGGCGGCGGTTAGTAGCGCGCTCGT
GTGTAGGGGTAGCGTCGTTTTCGTCGCGTTTAGTACGAAGAGTTCGTTTTAGTTTAGGCGTAGTAGCGTTATT
TGGTCGGTTATCGGTAGTTCGGGGAAGAAGGCGCGTGGCGCGTTTATTTACGGTGTGAAGAGTAGTCGC
GTCGTTAGTTCGTATACGTTGTCGATGTTTAGTATCGCGTTCGTCGCGTTCGTTTTTTCGTCGAAGCGTTCGGT
CGTCGTAGGGTAGGGTTTAGCGCGTAGTAGTTGCGCGATTAGTTCGGATATCGGTTGTTTCGGGAAGAGGTTT
TCGTCGTTT (서열번호:370)

도면1s

NR2F6_BST 플라스미드 서열

GTTTATTTTACGGTGTGAAGAGTAGTCGCGTCGTTAGTTCGTATACGTTGTCGATGTTTAGTATCGCGTTCGT
CGCGTCGTTTTTTGCGTCGAAGCG (서열번호:371)

NR2F6_FP GGTGTTGAAGAGTAGTCGCGT (서열번호:213)

NR2F6_RP CGACGCAAAAAACGACGC (서열번호:214)

NR2F6_Pb_A5 AGGCCACGGACG TCGTTAGTTCGTATACGTTGTC/3C6/ (서열번호:273)

CDO1 5:115152022-115152432

>hg19_dna 범위=chr5:115152020-115152435 5'패드=2 3'패드=3 가닥=+ 반복 마스크=없음

WT

GCCGGCAAAGAGCTGGTGCAGGATGCGGATCAGATCAGCCAGGGTCCGTGGCTTCAGCACTTCGGTCTGTTC
CATCTCGTGGGGAGCTGGCTGCGCGCGCTCTACTGCTGGGTGCGGTGGAGGAGCTGAGCGAGCCAAGG
AGCTGGGGGCGAGGGAGCCTAACAGCCCGTAGACCGTAAGCAGACACACGCACAAACCCAGCATTAG
AGTGCCGAAACGTAAGGATGTCGTCGAGAGACAGCAAGAGACCCACCCCAAGGCCCTGGCAGCGCAGTG
GATCCGGGATCGCTGGAGACGCGGTGCACACAAAATCAGGTTTACAGATCTGTGGGGTTTATCCTCCCGGGCC
CCTTTAAGCGCTTGGAGTCACTAGGAATGTACCAACGGCCCTCGGAGGGAGGACGAGG (서열번호:372)

BST

GTGGTAAAGAGTTGGTGTAGGATGCGGATTAGATTAGTTAGGGTTCGTGGTTTTAGTATTTTCGGTTTGT
ATTTCTGGGGAGTTGGTTGCGCGCGCTTTATTGTTGGGTGCGGTGGAGGAGTTGAGCGAGTTAAGGAG
TTGGGGGCGAGGGAGTTTAATGTTTCGTTAGATCGTTAAGTAGATATATACGTATAAATTTAGTATTAGAGTG
TCGAAACGTAAGGATGTCGTCGTAGAGATAGTAAGAGATTTATTTTAGGTTTTTGGTAGCGTAGTGGATTCCG
GGATCGTTGGAGACGCGGTGTATATATAAATTAGGTTTAGATTGTGGGGTTTATTTTTCGGGTTTTTTTAA
GCGTTTGGAGTTATTAGGAATGTATTAACGGTTTTTCGGAGGGAGGACGAGG (서열번호:373)

CDO1_BST 플라스미드 서열

GAGTGTGCAACGTAAGGATGTCGTCGTAGAGATAGTAAGAGATTTATTTTAGGTTTTTGGTAGCGTAGTG
GATTCGGGATCGTTGGAGACGCGGTGTATATATAAATTAGGTTTAGA (서열번호:374)

CDO1_FP CGAAACGTAAGGATGTCGTCG (서열번호:215)

CDO1_RP AATTTATATACACCGCTCTCCAAC (서열번호:216)

CDO1_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGATCCCGAATCCACTAC/3C6/ (서열번호:274)

DNMT3A 2:25500046-25500305

>hg19_dna 범위=chr2:25500041-25500307 5'패드=5 3'패드=2 가닥=+ 반복 마스크=없음

도면1t

WT

GCACCTCGCCAGCGCTTTGTTCGTGACCGGCCCTTTTAAAGGCGTGTCTACCCATCTTGCTGGCTCTGCCTCCCT
GTTTCCTTTCCGTCTCTCTCCCACCAAGCCAGCTCCCCACTTTTTTCGCGGGGGGCCCTCCAGCCTGTCCG
GGGCCTCCCCGTTCCCAGGCCAGGGCTTCCCCCTCTCCCAGACCTCGTTGCTCTGCCCGGTGAGGCCCCCGG
CTCCCAGCAGGGGGCGCTGCTCGCGATCAGGTGGCGGCCTGGGGG (서열번호:375)

BST

GTATTCGTTAGCGTTTTGTCGTGATCGGTTTTTAAGGGTGTGTTATTTATTTGTTTGGTTTTGGTTTTTGT
TTTTTTTCGTTTTTTTTTTTATTATAGTTAGTTTTTATTTTTTCGCGGGGGTTTTTTTAGTTTGTCGCGGGT
TTTCGTTTTAGGTTAGGGTTTTTTTTTTTTTAGATTTCGTTGTTTTGTTCGGTGAGGTTTCGGGTTTTTAGT
AGGGGGCGTTTGTTTCGCGATTAGGTGGCGGTTTGGGGG (서열번호:376)

DNMT3A_Reg2 플라스미드 서열

GATTTCGTTGTTTTGTTCCGGTGAGGTTTCGGGTTTTTAGTAGGGGGCGTTTGTTTCGCGATTAGGTGGCGGTTTTG
GGGG (서열번호:377)

DNMT3A_Reg2_FP TGT TTT GTT CCG TGA GGT TTC G (서열번호:217)

DNMT3A_Reg2_RP CAAACCGCCACCTAATCGC (서열번호:218)

DNMT3A_Reg2_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGAACAAACGCCCCC/3C6/ (서열번호:275)

SIM2 21:38076892-38077026

WT

>hg19_dna 범위=chr21:38076882-38077036 5'패드=10 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음

GAGGGGACCTGGATCCCTGAACCCCGGGCGGAAAGGGAGCCTCCGGGCGGCTGTGGGTGCCGCGCTCCTC
GGAGCCAGCAGCTGCTGGGGCGGCTCCGAACTCCCCAGGTCTGCGCACGGCAATGGGGGCACCGGGCCTT
CTGTCTGTCCTCA (서열번호:378)

BST

GAGGGGATTGGATTTTGAATTCGGGGCGGAAAGGGAGTTTTCGGGCGGTTGTGGGTGTCGCGTTTTTCGG
AGTTAGTAGTTGTTGGGGCGGCGTTCGAATTTTTAGGTTGCGTACGGTAATGGGGGTATCGGGTTTTTTGT
TTGTTTTTA (서열번호:379)

SIM2 전립선 서열:

GAATTCGGGTTTAGCGCGGGTTTTTCGCGGTAGTGGTCGTAGTTCGGGAAGTTCGGGGGCGCGGTGTTTT
CGTGAATTC (서열번호:380)

SIM2_Reg2_FP AAAGGGAGTTTTCGGGCG (서열번호:219)

SIM2 Reg2_RP ACCCGATACCCCATACC (서열번호:220)

SIM2 Reg2 Pb A1 CGCGCCGAGG CGTACGCAAACCTAAAAAATTC/3C6/ (서열번호:276)

도면1u

CMTM3

>hg19_dna 범위=chr16:66638172-66638351 5'패드=10 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음
 CGGGGACAGGAGGGGTGGCCAAGAAAGTCGCAAGAAACTCCGGCCCCAAGAAAAAGAGAGGGCATGGG
 TTGCGGAGCCGACATCACGGCCGGGTCTTTGCTGTTTAGACGCCTGGGTTCCCGGATCCCAGACACGCGCA
 CGGGCAGGAAGTTAGACC (서열번호:381)

CGGGGATAGGAGGGGTGGTTAAGAAAGTCGTAAGAAAATTTTCGGTTTTTAAGAAAAAGAGAGGGTATGGGTT
 TGCGGAGTCGATATTACGGTCGGGGTTTTTTGTTGTAGACGTTTGGGTTTTCGGATTTTAGATACGCGTACG
 GGTAGGAAGTTAGATT (서열번호:382)

CMTM3_FP GGTGGTTAAGAAAGTCGTAAGAAAATTTTCG (서열번호:221)
 CMTM3_RP TCTAAACAACAAAAACCCCGACC (서열번호:222)
 CMTM3_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGTAATATCGACTCCGCA/3C6/ (서열번호:277)

SRC

>hg19_dna 범위=chr20:36013121-36013303 5'패드=10 3'패드=10 가닥=+ 반복 마스크=없음
 GTTGCTGGGTCCGCCAGAGATGAGTCGGGACGCGCGGCCACGTGCGGCGGAGGGGCAGCTGGGTCGCT
 CGGGGAACGGGGACCGGATGGCCCCGGTTGGGCCCGCGCCAGGATGCGCCCTGCGCCCTCTGCTGGCGCT
 CTGCGGTCACCGACGCCCG (서열번호:383)

GTTGTTTGGGTTTCGTTTAGAGATGAGTCGGGACGCGCGGTTTACGTGCGGCGGAGGGGTAGTTGGGTCGTTT
 GGGGAACGGGGTATCGGATGGTTTCGGTTGGGTTTCGCGTTAGGATGCGTTTTTTCGTTTTTTGTTGGCGTTTT
 GCGGTTATCGTAGTTTCG (서열번호:384)

SRC_FP GGATGGTTTCGGTTGGGTTTC (서열번호:223)
 SRC_RP GCAAAACGCCAACAAAAACG (서열번호:224)
 SRC_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGCGTTAGGATGCGT/3C6/ (서열번호:278)

LRRC41_9559

>hg19_dna 범위=chr1:46769340-46769650 5'패드=0 3'패드=0 가닥=- 반복 마스크=없음

CGGACGAATTCTGGGGAAGGTCGAGGGAAGTAGAGCTCCCGACTATGCAAAACCTAGAGGGTAAACTGGG
 GGCTAAGAGGGCCCCGTGCGTGTTTTGCGGGCTAGGTCCTGGGCTTCAGGGCAGAGAAGAGGGCCGAGTG
 GATCGCCTTGCCCTTACCTCCTCAGGATCTCCGGATTCCGTAAGCATCTTTGCTCGTCTCCAGTCCCATGTCT
 GGCTACGGTTCTAGATTCAACACGAGCAGCAACAGCGGCACCTAACCCAGTTCAGGATCAAGAAGGACTTGT
 AAGGGTCACTCAGCGGAAATCCG (서열번호:385)

CGGACGAATTTGGGGAAGGTCGAGGGAATTAGAGTTTTTCGATTATGTAAATTTAGAGGGTAAATTGGGG
 GTTAAGAGGGTTTCGTGCGTGTGTTTTGGCGGGTTAGGTTTTGGGTTTAGGGTAGAGAAGAGGGTCGAGTGGA
 TCGTTTTGTTTTATTTTTAGGATTTTCGGATTCGGTAAGTATTTTTGTTTCGTTTTTAGTTTTATGTTTGGTT
 ACGGT

도면1v

TTTAGATTTAATACGAGTAGTAATAGCGGTATTTAATTTAGTTTAGGATTAAGAAGGATTGTAAAGGGTTATT
TAGCGGAAATTCG (서열번호:386)

LRRC41 플라스미드 서열

CGGACGAATTTGGGGAAAGGTCGAGGGAATTAGAGTTTTCGATTATGTAAATTTAGAGGGTAAATTGGGG
GTAAAGAGGGTTTCGTGCGTIGTTTTGGCGGGTAGGTTTGGGTTTAGGGTAGAGAAGAGGGTCGAGTGGA
TCGTTTTGTT (서열번호:387)

LRRC41_9559_FP GGTTCGAGGGAATTAGAGTTTTCG (서열번호:225)

LRRC41_9559_RP AACCTAACCCGCCAAAACAC (서열번호:226)

LRRC41_9559_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGCACGAAACCCTCTTA/3C6/ (서열번호:279)

TSHZ3

>hg19_dna 범위=chr19:31839415-31840120 5'패드=0 3'패드=0 가닥=+ 반복 마스크=없음
WT

CGTCCCAGAACTAAGTGCTATGCGGAGATGAGGGTGGGAGCAGCAGTACAAGGAGGGGTGGGGGCGAGG
AAACACAAACAGGGGAGAAAGGAAACGCCAGCATCTAACATGGAAGTACAGTCATCTGACAATACCCAGAC
CCTGTGCGCTCCGGGTTCACCGCTGTGCCAGTTTGGGCCCAAGAAATGAGGAATCAATCGTGTAGTACT
AAGGTGGCCGAGGGGACCGGCTCGCTCACTCGTTCGCGCTCCCTGGCTCGGCGGACACCAGGCAGTCCCCG
GCGTTCGGCGCTCGGAGGACGCGGAAGATGTCCGGGGAAGTCAAGGTGACCCCGCCGCCACACAGAA
AGAGCCAGGCCGGGTGTCTCCATTCCCTCTGCAGCCGAGAGCTGAGGAGGTAGGGACCTGGCGCGGCT
CAGCGCGCTCCGCGAGCGGCTCCCCAAATGGGTGCGAGAGGGAAGAGGGCAGAGCGCGCGGGCGTCCGG
GGGCGCGCCGTACCCGAGGCGGGCGCACGCCAAACAGGAGAGCGGCGCCCGAGTTACTCAGTGCAGG
GCAGAAGAGCGGGGCGAGGAGCGGGGTGCGCCCGCTGGAGGCGGGGCGAGCGGAGGAAGAGGAGGAG
GAGAGCAGAAGGAAGGGGAAGCGGCTCGTACCTGCTGCGCGCGGGGCGCCTGCTGCTTCCTCCTC
(서열번호:388)

BST

CGTTTTAGAATTAAGTGTATGCGGAGATGAGGGTGGGAGTAGTAGTATAAGGAGGGGTGGGGGCGAGGA
AATATAAATAGGGGAGAAAGGAAACGTTAGTATTTAATATGGAATTGATAGTTATTTGATAATATTTAGATTTT
GTGCGTTTCGGGTTTATCGTTGTGTTTAGTTTGGGTTTAAGAAATGAGGAATTAATCGTGTAGTATTAAGG
TGGTCGAGGGATCGGTTTCGTTATTCGTTTCGCGTTTTTGGTTCGGCGGATATTAGGTAGTTTTCGCGGTC
GGTCGTTTCGGAGGACGCGGAAGATGTTTCGGGGAATTTAGGTGATTTCGTTTCGTTATTTATAGAAAGAGTTA
GGTCGGGTTGTTTTTATTTTTTGTAGTCGAGAGTTGAGGAGGTAGGGATTGGCGCGGTTAGCGCGT
TTCGCGAGCGGTTTTTAAATGGGTGCGAGAGGGAAGAGGGTAGAGCGCGCGGGGCGTTTCGGGGGCGTT
CGGTATTCGAGGCGGGCGTACGTATTTAAATAGGAGAGCGGCGTTTCGAGTTATTTAGTGCGGGTAGAAGAG
CGGGGCGAGGAGCGGGGTGCGGTTTCGTTGGAGGCGCGGGGCGAGCGGAGGAAGAGGAGGAGGAGTAGA
AGGAAGGGGAAGCGGTTTCGTATTTGTGCGCGTCGGGGCGTTTGTGTTTTTTTTTTT (서열번호:389)

도면1w

TSHZ3 플라스미드 서열

GAATTAATCGTGTAGTATTAAGGTGGTCGAGGGGATCGGTTTCGTTTATTCGTTTCGCGTTTTTTGGTTCGGCG
GATATTAGGTAGTTTTTCGGCGGTTCGGTCGTCGGAGGACCGCGAAGATGTTTCGGGGAATTTAGGTGATTC
GTTTCGTTA (서열번호:390)

TSHZ3_FP GGGATCGGTTTCGTTTATTCGTTTC (서열번호:227)

TSHZ3_RP CCCGAAACATCTTCCGCG (서열번호:228)

TSHZ3_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGCGTTTTTGGTTCGG/3C6/ (서열번호:280)

HDGFRP3

>hg19_dna 범위=chr15:83875827-83875946 5'패드=0 3'패드=0 가닥=+ 반복 마스크=없음

CGTCGGGCTGCGGGGGCCGACCCGCTTCGAAAGTGGGCGGAAGGATGGCCGCCCTGGCGGAGTGGCGG
CGAGGCCGGGAGCCCTTGCTCAGCCCCGGCCCGGTCTTCTTCGTGCCG (서열번호:391)

CGTCGGGTTTTCGGGGGTCGGATTTCGTTTTCGAAAGTGGGCGGAAGGATGGTTCGTTTGGCGGAGTGGCGG
GAGGTCGGGAGTTTTTGTGTTTATGTTTCGGTTCGGTTTTTTTCGTGTCG (서열번호:392)

HDGFRP3_FP GATTCGTTTTTCGAAAGTGGGC (서열번호:229)

HDGFRP3_RP TAAACAAAACTCCCGACCTCG (서열번호:230)

HDGFRP3_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGGAAGGATGGTTCGTTTT/3C6/ (서열번호:281)

TACC2

>hg19_dna 범위=chr10:123922953-123923142 5'패드=0 3'패드=0 가닥=- 반복 마스크=없음

CGGTGTGGTCCGAAAGGCTTCTCTTAAACCCCCGCGAGCCGGCTCCTGTGTGTGACACGATGATGTCATC
ATCGCCGAGCAGCCCCAACGCTGCATCTTCACAAAGCTCCATCGCGGGCTCCGGAACGGGCTGGGGGTG
GGGAGGCGAAGACCTCCTCTGCCCCGGCCCCCTCCCGCCTCGCC (서열번호:393)

CGGTGTGGTTCGAAAGGTTTTTTTTTAAATTTTCGGTAGTCGGTTTTTGTGTGTGATACGATGATGTTATTA
TTCGTCGAGTAGTTTAAACGTTTGATTTTTATAAAGTTTTATCGCGGGTTTCGGAACGGGGTTGGGGGTGGG
GAGGCGAAGATTTTTTTTTTGTTCGGTTTTTTTCGTTTCGTT (서열번호:394)

TACC2_FP GTTTTTGTGTGTGATACGATGATGTTATTATC (서열번호:231)

TACC2_RP GTTCCGAAACCCGCGA (서열번호:232)

TACC2_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGTCGAGTAGTTTAAACGTTTG/3C6/ (서열번호:282)

도면1x

LBH

>hg19_dna 범위=chr2:30453651-30453973 5'패드=0 3'패드=0 가닥=+ 반복 마스크=없음

CGGGCGTATGTGTCTCCAATGGAAAAATCCTACCCAGGACGACACCACATCCTTGCTCCCAAAATAAAA
CCTTCCACGGAACCTCAGGGCTGCAGACCAGCCCTTCGCAAGCCAACGCGCCCCGTGGGCACTCGGTCCCCCG
GCTCCGCGTCTTGCCACCTTCCACCGCTTCTTCTTAACCATGCTCTTGTTTCCCCTCGCTGATCGCAAGGC
TGCGGGCGAGGATTCCAGAGAGAGGCCTAGTATGGGGAACAAACGCTTCAGAGGGGTCCGAGGTGGGCTGG
GGACAGCCAGTGGATGGAAGGAGGGCGCTGGCG (서열번호:395)

CGGGCGTATGTGTGTTTTAATGGAAAAATTTATTTAGGACGATATTATATTTTTGTTTTATAAAATAAAATT
TTTTACGGAATTTAGGGTTGTAGATTAGTTTTTCGTAAGTTAACGCGTTTCGTGGGTATTCGGTTTTTCGGTTT
CGCGTTTTTGTATTTTTTTATCGTTTTTTTTTAATTATGTTTTTGTTTTTTTTCGTTGATCGTAAGGTTGCGGG
CGAGGATTTAGAGAGAGGTTTAGTATGGGGAATAAACGTTTTAGAGGGGTTCGAGGTGGGTTGGGGATAGT
TAGTGGATGGAAGGAGGGCGTTGGCG (서열번호:396)

LBH 플라스미드 서열

TACGGAATTTAGGGTTGTAGATTAGTTTTTCGTAAGTTAACGCGTTTCGTGGGTATTCGGTTTTTCGGTTTCGC
GTTTTTGTATTTTTTTATCGTTTTTTTTTAATTATGTTTTTGTTTTTTTTCGTTGATCGTAAGGTTGCGGGCGA
GGATTTTAGAGAGAGGTTTAGTATGGG (서열번호:397)

LBH_FP TAGTTTTTCGTAAGTTAACGCGTTTC (서열번호:233)

LBH_RP CCCGCAACCTTACGATCAAC (서열번호:234)

LBH_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGTGGGTATTCGGTTTTTC/3C6/ (서열번호:283)

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH
EXACT SCIENCES DEVELOPMENT COMPANY, LLC

<120> DETECTING OVARIAN CANCER

<130> EXCTM-38034.601

<150> US 62/928,888

<151> 2019-10-31

<150> US 63/065,081

<151> 2020-08-13

<160> 397

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 1

gaggagtttt aatatatttta tagcgg

<210> 2
 <211
 > 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 2
 aacaaacttc aataaacccg acgca 25
 <210> 3
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 3
 ggcgacggcg aggaggagtt ttac 24
 <210> 4
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 4
 gcaacccttc gacgctaac ccg 23

 <210> 5
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 5
 gatatgttgt cggggttcgt tacga 25
 <210> 6
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic

<400> 6	
caaaataccg gataaaacaa tcgaa	25
<210> 7	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 7	
cgtttagtcgt ttttattttt aatttatcgt	30
<210> 8	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 8	
cttcaaaaac tccaacgcgt c	21
<210> 9	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 9	
gattagatta gattcggagt ttcgt	25
<210> 10	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 10	
accaactaaa atcctcctcc cccgc	25
<210> 11	
<211> 27	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 11
 tagtttggtt aaagggtgcg aattcga 27
 <210> 12
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 12
 cgaaactctt ccgaactaaa taatacaccc gct 33
 <210> 13
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 13
 tttgttgga gttcggggtt ttatc 25
 <210> 14
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 14
 aacatatccg aaacctcccc gtt 23
 <210> 15
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 15
 ttgcgtatag gttagtttag gatcgt 26
 <210> 16
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 16
 cttacaccgc ccccgctaaa ttcg 24

<210> 17
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 17
 tcgttggtta tcgtacgttt ttcgt 25

<210> 18
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 18
 actaaaccta tcccgaatc ccgat 25

<210> 19
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 19
 ggttggtttt gtagtgttta taggacgg 28

<210> 20
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 20
 aaaacaaaat atactaccgc ccgaa 25

<210> 21	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 21	
ggggaggagt ttttaatcgt ttcgt	25
<210> 22	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 22	
aaacaaccgc ttcgatttta acgac	25
<210> 23	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 23	
cggtagggga agtttagtag gtgagcgt	28
<210> 24	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 24	
gaactaaaaa cgtttccgtc gaacgca	27
<210> 25	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 25	

ggtagttagg cggttattac gggtcgc

27

<210> 26

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 26

aaaatctact ccctccccga acgct

25

<210> 27

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 27

cgcgcgtttt attgttgggt tgc

23

<210> 28

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 28

aacgaactat taaactccct cgcc

24

<210> 29

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 29

gttagtagtt gttggggcgg cgttc

25

<210> 30

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 30

aacccgatac cccattacc gtacg 25

<210> 31

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 31

cgcgtagtag taggggtgag tagagggc 28

<210> 32

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 32

gaatctaacc caaaaattaa cacgcgt 28

<210> 33

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 33

cgggatcgga gttagaattt ttcgt 25

<210> 34

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 34

acctaaacgc ctaacgaccc ccg 23

<210> 35

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 35
 tatttcgggg gaggttaag ggcg 24
 <210> 36
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 36
 gctacgaatt cgcaaccg aa 22
 <210> 37
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 37
 gggttgttta gaaagtgatt tttcgggagc 30

 <210> 38
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 38
 aaaaccgaaa caaaacgaaa acgca 25
 <210> 39
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 39
 tgttttttta ttttatTTTT agtTTTTtcg t 31
 <210> 40

<211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 40
 aattttctcat taccgacttt ttttccaacc gaa 33

<210> 41
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 41
 ggcgcgtatt tggtttatga aagttacgg 29

<210> 42
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 42
 caaacgacgc taccctaca cacga 25

<210> 43
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 43
 ggcgttagtt tttatttat ttttaggggg cgc 33

<210> 44
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 44

ccaaccata ctctacccg ccgac 25

<210> 45

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 45

acgaaatatt ttaattgag ttcga 25

<210> 46

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 46

aaaaaatacg aaacacaaaa acgac 25

<210> 47

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 47

ttggcgtatt ataataagcg ttcga 25

<210> 48

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 48

gaaaaacaac aaacgcacga ccgtc 25

<210> 49

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 49	
acgtagttga agatTTTTtg ttagtttttc ga	32
<210> 50	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 50	
acctcatacg ccgcttaaaa tcgcc	25
<210> 51	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 51	
tagtaggggtt gagtttgggg ttcgt	25
<210> 52	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 52	
gtaaaatctc tacgcccgct cgaa	24
<210> 53	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 53	
cgttcgagtt gcgaaaggga cgt	23
<210> 54	
<211> 23	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 54
 gcactcctaa aattccgcgc gaa 23
 <210> 55
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 55
 ggtaaaattt acgttgtgta gaattaggcg g 31
 <210> 56
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 56
 acgtaaaaat ccacgccgaa aacgc 25
 <210> 57
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 57
 ttatTTTTGG attagcgatc gacga 25
 <210> 58
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 58
 gcgctaacta ttctcgatta cgcc 24
 <210> 59

<211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 59
 cgtttaggtt atcgttattt ttcgt 25
 <210> 60
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 60
 gaaccgccga acatcctacg at 22
 <210> 61
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 61
 gggggcgggga gatattcgaa gttatttattc 30

 <210> 62
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 62
 aaacgctatc gcccgaaaaa accg 24
 <210> 63
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 63
 ttttgggtag gaaggatagt agcgt 25

<210> 64
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 64
 caaaaacgaa cgacgacgac 20

<210> 65
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 65
 gcgagtcggg gttttttgga gac 23

<210> 66
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 66
 caccacacct acgtataccc gcgt 24

<210> 67
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 67
 gatttggcgc ggttttagcgc 20

<210> 68
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic

<400> 68
ccctctcgca cccatttaaa aaaccg 26
<210> 69
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 69
tgaatgttaa ttaagattgc gttcg 25
<210> 70
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 70
aacaccctca cgaaaaaccc gcg 23
<210> 71
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 71
ttgtagttgt tgttttttgg cggtcgc 27
<210> 72
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 72
aaaccgaacg aatttcgctt tcccg 25
<210> 73
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic
 <400> 73
 tggcggcgtc gtatatatttt tacgt 25

<210> 74
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 74
 accgctataa cgcccccgaa 20
 <210> 75
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 75
 tagttaaaga gtatatattgga ggcgg 25
 <210> 76
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 76
 ctctatccta aaaacgaaaa acgaa 25

<210> 77
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 77
 aggggtagcg tgtgagtagt atcga 25
 <210> 78
 <211> 25

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 78
 taccctttcc caaaataacg tcgaa 25
 <210> 79
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 79
 gttagttttc gcggtttttg ttcgg 25

 <210> 80
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 80
 cgccgtacta ttaaaacttc tcgtcgac 28
 <210> 81
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 81
 tttttggttg ggtaagttc ggcgc 25
 <210> 82
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 82
 gccttctcaa tcgcccctct acgaa 25

<210> 83
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 83
 ttagtttcgt tticggagtt cgcga 25
 <210> 84
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 84
 ctctatatata taacacgata atatcatcat cgcc 34
 <210> 85
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 85
 tttttagttt ttttcgtttt cgcg 25
 <210> 86
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 86
 acgacttcct ttatctctac tcccgcc 27
 <210> 87
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 87

cggaata gtaatatag ggcgt	25
<210> 88	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 88	
cgaacccgac tcgtaaataa acgac	25
<210> 89	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 89	
gtcgtacgta tcgggtggac ga	22
<210> 90	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 90	
ccctaactaa cggaacccg	20
<210> 91	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 91	
ggaggggcga atagagtttt tttcg	25
<210> 92	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> synthetic

<400> 92

aaaacgaccc cttcctctct cgcc 24

<210> 93

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 93

tttggttagg aagtagcgga atcgg 25

<210> 94

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 94

gcaataacct aaactccaac atcaacgta 29

<210> 95

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 95

ataattttaa gggggaaacg ttcgt 25

<210> 96

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 96

ccaatataac cgacttctta aacgct 26

<210> 97

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 97
 gattaattag gcggttcggt agcgg 25

<210> 98
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 98
 caattaaaac ctatcattaa cttcccctcg ac 32

<210> 99
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 99
 ggttgtaagg gtttttggtt ttcgacgc 28

<210> 100
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 100
 aacgaattca tacgtccccc gaa 23

<210> 101
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 101
 cgtttcgtta gtagttatcg attttcgt 28

<210> 102

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 102
 aaacgaaccc cctccttcgc gt 22
 <210> 103
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 103
 gtttacgcgc gagagcgtgt tgc 23

 <210> 104
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 104
 gcccgaaaccc gacctaatat tcgat 25
 <210> 105
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 105
 ggatgtttgt gtttttaatt taatttttga gtgc 34
 <210> 106
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 106

aaatactact accccgaacg acgct	25
<210> 107	
<211> 34	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 107	
acatatatac acatatacctt ccttccccaa cgat	34
<210> 108	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 108	
ttttgtaaag ttttcgcggt tgcga	25
<210> 109	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 109	
tcgtcgggta cgttttttac gtgac	25
<210> 110	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 110	
cgaaaccgac tccaaacgct	20
<210> 111	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> synthetic

<400> 111

gggtgtcgaa gtcggatttt acga 24

<210> 112

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 112

aaccacaaaa aaacatttcc tccccgc 27

<210> 113

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 113

gagtttcggc ggtttttcga aagtagc 27

<210> 114

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 114

ccacgaacaa cgacactacg acgct 25

<210> 115

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 115

tgttttttcg tttttggtcg tcggc 25

<210> 116

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 116
 aaccccaaat tccctccata cgaa 24
 <210> 117
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 117
 gggagcggtt taggaatcgt cgc 23
 <210> 118
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 118
 cctatatccc gaaaactcgc a 21

 <210> 119
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 119
 aggagtgttt gagtaggggt ttcgg 25
 <210> 120
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 120
 tttttcctct acaccgaatt acgaa 25
 <210> 121

<211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 121
 tagggttagt aggcggttta ggcgc 25

<210> 122
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 122
 cgaactccaa ctttaaaaaa taccgcgta 29

<210> 123
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 123
 gattttathtt cggcgagggg ttcgc 25

<210> 124
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 124
 cgctttcccg ataaaaacga cgacgta 27

<210> 125
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 125

agtagtagtt gttggagtag aatcgcg
28

<210> 126

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 126

gcccgaacg ataaaaataa tcgcgc
26

<210> 127

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 127

ttttattttc gaggtcggaa atcgg
25

<210> 128

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 128

caaatcaaaa acgcgaacgc tctcg
25

<210> 129

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 129

ttagttgcgg gaagatagtg atcgg
25

<210> 130

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 130	
aacgcctacc gaacaaatc cggaa	25
<210> 131	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 131	
tcgtgtttac gtggggacgg	20
<210> 132	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 132	
cgcgaaacaaa attaaacgaa tcgta	25
<210> 133	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 133	
tagacgttag gaggagggt cggggc	26
<210> 134	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 134	
taaaacgaat acgaaaatcg cgaaacgaa	29
<210> 135	
<211> 25	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 135
 tttaggtggg tagtcgcta ttcgg 25
 <210> 136
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 136
 ctaacgataa cccgtaatct ccgca 25
 <210> 137
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 137
 gcggtttttc gagtttttg cg 22
 <210> 138
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 138
 gaacgaatcc gcgcc 15
 <210> 139
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 139
 gcggtgtggt taagtttcgg 20
 <210> 140

<211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 140
 cgcgacccca aatcgta 17
 <210> 141
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 141
 cgggttttat ttttttttcg ttttcgtttc 30
 <210> 142
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 142
 aacgaaatcc caccgaacg 19
 <210> 143
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 143
 gtagagcggtt tcgacgcg 18
 <210> 144
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 144
 tcgaacgaaa ataaccgccg 20

<210> 145
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 145
 gtttttagtt aggcgcggat ttc 23

<210> 146
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 146
 aacccgtaaa ccaaccgc 18

<210> 147
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 147
 tggtcgtttt agcgttatgt cg 22

<210> 148
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 148
 cgaaaactac aaaccgcgc 19

<210> 149
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic

<400> 149	
cggttatgtc gggcgg	16
<210> 150	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 150	
caacgacgat acccacag	19
<210> 151	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 151	
tcgttttttc gtcgttttcg ttttc	25
<210> 152	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 152	
cccgtacgaa aacccga	17
<210> 153	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 153	
gttcgttatg cgcgtttggtt tc	22
<210> 154	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> synthetic
 <400> 154
 gaacacccga aaaccaacga 20

<210> 155
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 155
 gttttgtggt ttcgttcggt tc 22

<210> 156
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 156
 ccgattaaac ccgtacttcg c 21

<210> 157
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 157
 tttcgttttt gtatttatatt tagcgacgt 29

<210> 158
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 158
 acgcgaaaaa aacgcgaaaa cg 22

<210> 159
 <211> 21

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 159
 gttaggcggg tattacggg c 21
 <210> 160
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 160
 gaaatctact ccctccccga 20

 <210> 161
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 161
 tatgttggtt ttttttcgta aagtttacgg t 31
 <210> 162
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 162
 ccgacaataa aaataacatc gactcg 26
 <210> 163
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 163
 tcgttcgcgt tttagtattc gg 22

<210> 164
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 164
 cgaaaaaac gctcctccg 20
 <210> 165
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 165
 gttcgttcgg tagcggc 17
 <210> 166
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 166
 accacttcgc tacgaaaaa cg 22

 <210> 167
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 167
 tagtcgtaat agggcggtcg 20
 <210> 168
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 168

ccgaaacgac ccgttaatcg	20
<210> 169	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 169	
tgatttaggt gtcgtttttt ttcgtc	26
<210> 170	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 170	
gaaaaaaaaat cgcgctcccg	20
<210> 171	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 171	
atttattgga ggtcgcggtt c	21
<210> 172	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 172	
ccgaaacacc aaaacgtccg	20
<210> 173	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> synthetic

<400> 173

gtgttttttg tggtttcggc 20

<210> 174

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 174

atactaaacg tataaaaaca aacataccgc 30

<210> 175

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 175

ggttcgtaag atttagtagt tcgagc 26

<210> 176

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 176

cgaacaacaa aaatcaatat aatcgacgc 29

<210> 177

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 177

taggacgtcg cggtttatct c 21

<210> 178

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 178	
cgcaatactc gaaaaacgac g	21
<210> 179	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 179	
tcgcgtcgtc gttcgt	16
<210> 180	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 180	
gacgccatct aaaaacgca	20
<210> 181	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 181	
ggcgacgtgg acgatac	17
<210> 182	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 182	
ctaaaactcg taacgtcgct atcg	24
<210> 183	

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 183
 ggtttgtgag tgatatcggc cg 22
 <210> 184
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 184
 cgaacccaaa aactcgaaaa aacc 24

 <210> 185
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 185
 gggttttagta gtatttcgaa ggcc 24
 <210> 186
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 186
 gaaaaattca aaataccgct cctcac 26
 <210> 187
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 187

gaaggttacg aggtgtttaa gttcg	25
<210> 188	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 188	
aacaaataaa cttaccgata ataaaatcgt aataatttc	39
<210> 189	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 189	
ttgcggagga cgttgc	16
<210> 190	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 190	
gaaaaaaaaac gatacgccgc c	21
<210> 191	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 191	
tttcgatttc gtagtttcgc gg	22
<210> 192	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> synthetic

<400> 192

ctcgcgaaac gtaacgaaaa c 21

<210> 193

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 193

cgttcgtttt cgttcgtttt c 21

<210> 194

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 194

acctaagccc gaaacaacg 19

<210> 195

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 195

gttggttttt ttatcgtttc ggagtg 26

<210> 196

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 196

cctctacceca ccgtaccg 18

<210> 197

<211> 28

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 197
 gttttcgggt tatatttatt tgaagtcg 28
 <210> 198
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 198
 tccctacca cccaacg 17
 <210> 199
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 199
 gggtttaata ttgttgccg gg 22

 <210> 200
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 200
 cgaagcgttg cgttgtag 19
 <210> 201
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 201
 ttggcgaggg ttcgagt 17
 <210> 202

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 202
 ctaatcgcaa aaccgaaaaa aacg 24

<210> 203
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 203
 gagaggaaat cgcgagcg 19

<210> 204
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 204
 cccctaataaa aacgcgcga 19

<210> 205
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 205
 gacgtttatt tggacgtttg gc 22

<210> 206
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 206

accgaaatca aaaccctccg	20
<210> 207	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 207	
gtttcgcgac gtttatttgg ac	22
<210> 208	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 208	
accgaaatca aaaccctccg	20
<210> 209	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 209	
gcgcggaatt ttaggagtgc	20
<210> 210	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 210	
cgcgacccca cgataatc	18
<210> 211	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	

<400> 211	
gttttcgagg gtagtgcgttc	20
<210> 212	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 212	
cgaaaaaaaa aaacgaaacc cgc	23
<210> 213	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 213	
ggtgttgaag agtagtcgcg t	21
<210> 214	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 214	
cgacgcaaaa aacgacgc	18
<210> 215	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 215	
cgaaacgtaa ggatgtcgtc g	21
<210> 216	
<211> 27	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 216
 aatttatata tacaccgcgt ctccaac 27
 <210> 217
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 217
 tgttttgttc ggtgaggttt cg 22
 <210> 218
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 218
 caaacgccca cctaatcgc 19
 <210> 219
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 219
 aaagggagtt ttcgggcg 18
 <210> 220
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 220
 acccgatacc cccattacc 19
 <210> 221

<211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 221
 ggtgggtaag aaagtcgtaa gaaaatttcg 30
 <210> 222
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 222
 tctaacaac aaaaaccccg acc 23
 <210> 223
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 223
 ggatggtttc ggttgggttc 20

 <210> 224
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 224
 gcaaacgcc aacaaaaaac g 21
 <210> 225
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 225
 ggtcgaggga attagagttt tcg 23

<210> 226
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 226
 aacctaaccg gccaaaacac 20

<210> 227
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 227
 gggatcggtt cgtttattcg ttc 23

<210> 228
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 228
 cccgaaacat cttccgcg 18

<210> 229
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 229
 gattcggttt cgaaagtggg c 21

<210> 230
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic

<400> 230	
taaaacaaaa actcccgacc tcg	23
<210> 231	
<211> 32	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 231	
gtttttgtgt gtgatacgat gatgttatta tc	32
<210> 232	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 232	
gtttccgaaa cccgcga	17
<210> 233	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 233	
tagtttttcg taagttaacg cgtttc	26
<210> 234	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 234	
cccgcaacct tacgatcaac	20
<210> 235	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> synthetic	
<400> 235	
aggccacgga cgggcgattt cgatttattt tcg	33
<210> 236	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 236	
cgcgccgagg gcgtacggtt tatagggc	28
<210> 237	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 237	
cgcgccgagg cggttttaag tcgcgga	27
<210> 238	
<211> 32	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 238	
aggccacgga cggcgctcga caaaataaaa ac	32
<210> 239	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 239	
cgcgccgagg cgttcggatt cgattcgt	28
<210> 240	
<211> 26	

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 240
 aggccacgga cgccgcgcta ccgcta 26
 <210> 241
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 241
 cgcgccgagg gctaataaac cagctacg 30

 <210> 242
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 242
 aggccacgga cgcgagtcga gtttatcggt tg 32
 <210> 243
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 243
 cgcgccgagg cgggcgtttt tgtttagg 28
 <210> 244
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 244
 aggccacgga cgcgcggttg ttagcgttta aa 32

<210> 245
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 245
 cgcgccgagg gcgaaataaa taacaacgac ga 32
 <210> 246
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 246
 aggccacgga cgcgcgTTTT ttattagtta gtcgtt 36
 <210> 247
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 247
 cgcgccgagg gcgcgatacc ctctattc 28

 <210> 248
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 248
 aggccacgga cggccgatct tgcctt 27
 <210> 249
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 249

cgcgccgagg gcgaacgaat ataaatcgaa aac	33
<210> 250	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 250	
aggccacgga cggccgcgcg atactaa	27
<210> 251	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 251	
aggccacgga cgcgtcgagg gttaggagt	29
<210> 252	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 252	
cgcgccgagg gtaaccgtaa ctcgaccc	28
<210> 253	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 253	
aggccacgga cgcgcgctcc gaaaaaac	28
<210> 254	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> synthetic

<400> 254

cgcgccgagg cgggcgtaga gattttacg 29

<210> 255

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 255

aggccacgga cggtaacgcg catctccg 28

<210> 256

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 256

cgcgccgagg tcgttcgtgt cggtttc 27

<210> 257

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 257

aggccacgga cggaaccgca cgcacta 27

<210> 258

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 258

cgcgccgagg ccgaacgacg cgtaaaaaat ataa 34

<210> 259

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 259

aggccacgga cgcccgaacc tcctcga

27

<210> 260

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 260

cgcgccgagg gacgacgtgg ttattaattt cg

32

<210> 261

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 261

cgcgccgagg cggattcgcg agttcg

26

<210> 262

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 262

aggccacgga cggcgcgttt tttagagc

28

<210> 263

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 263

cgcgccgagg cgttttggcg ttcgttc

27

<210> 264

<211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 264
 aggccacgga cggcgtctac ttcccacc 28
 <210> 265
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 265
 cgcgccgagg gaccacctcg aacacaaa 28

 <210> 266
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 266
 aggccacgga cggacgatac ccacgaaaca a 31
 <210> 267
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 267
 cgcgccgagg gccgaaaaac gaaaaacaaa aa 32
 <210> 268
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 268

aggccacgga cggcgagaaa aggcgttttc	30
<210> 269	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 269	
cgcgccgagg cgattttcgt ttcgcgtt	28
<210> 270	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 270	
cgcgccgagg cgtttggcga ttttcgtt	28
<210> 271	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 271	
aggccacgga cgcggggttc gagtgtaaat	30
<210> 272	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 272	
cgcgccgagg cgacggaac gtttttagtt c	31
<210> 273	
<211> 34	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> synthetic

<400> 273

aggccacgga cgtcgtagt tcgtatacgt tgtc 34

<210> 274

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 274

cgcgccgagg cgatcccga tccactac 28

<210> 275

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 275

aggccacgga cgcgacaaca cgcccc 27

<210> 276

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 276

cgcgccgagg cgtacgcaa ctaaaaaat tc 32

<210> 277

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 277

aggccacgga cgcgtaatat cgactccga a 31

<210> 278

<211> 27

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 278
 aggccacgga cgcgcgtag gatgcgt 27
 <210> 279
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 279
 cgcgccgagg cgcacgaaac ctcctta 27
 <210> 280
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 280
 aggccacgga cgcgcgtttt ttggttcgg 29

 <210> 281
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 281
 cgcgccgagg cggaaggatg gtcgtttt 28
 <210> 282
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 282
 aggccacgga cgcgtcgagt agttttaacg ttg 34
 <210> 283

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 283

cgcgccgagg cgtgggtatt cggtttttc 29

<210> 284

<211> 180

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 284

gcgccgcacc tggggccctc cccacctac gccccgccag ggcggggccc cgggcgcaga 60

cactcgcggg cacacgcacg acgacgcga cacgcggtcg cacgcggccc cccgagcccc 120

ctgcggcgac tccgattcac ccccgcggtt gcggggcgcg gacccgcccg gccagctcc 180

<210> 285

<211> 180

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 285

gcgtcgtatt tggggttttt tttatttac gtttcgttag ggcggggtcg cgggcgtaga 60

tattcgcggg tatagctacg acgacgcga tacgcggtcg tacgcgttt ttcgagtttt 120

ttgcggcgat ttcgatttat tttcgcggtt gcggggcgcg gattcggtcg gtttagtttt 180

<210> 286

<211> 199

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 286

gcggggctgc agagagcggc agtggcacgg agcgcgcggc tggaagcgaa agcaggcggc 60

gtggccaagc cccggcgcac ggcccatagg gcgctgggta ccacgacctg gggccgcgcg 120

ccagggccag gcgcagggta cgacgaacc cctccagcat ccttgggga ggagcctcca 180

accgtctcgt ccagtcctg 199

<210> 287

<211> 199

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 287

gcggggttgt agagagcggg agtggtacgg agcgcgcggg tggaagcgaa agtaggcggg 60
gtgggttaagt ttccggcgtac ggtttatagg gcgttgggta ttacgatttg gggtcgcgcg 120
ttagggtttag gcgtagggta cgacgtaatt tttttagtat tttttgggga ggagttttta 180
atcgtttcgt tttagtttg 199

<210> 288

<211> 213

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 288

gcgacgcgca gggggcgggc tctacctccc cctcgccccc gcttcggttt taagccgcgg 60
aggcgcccg tgggacctcg ctgctgtcca atcagggggg accgggtgag ctctcttcc 120

tggagccggg ctccaccagc gccgcaggct cacagggcgg gggtgggggc tctggaccga 180
ggggcggcgc ggggcggcgc ggggcggcgc gcg 213

<210> 289

<211> 213

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 289

gcgacgcgta gggggcgggt tttatTTTT tttcgttttc gtttcggttt taagtcgcgg 60
aggcggtcgg tgggatttcg ttgttgttta attagggggg atcgggtgag ttttttttt 120
tggagtcggg ttttattagc gtcgtaggtt tataggtcgg gggtgggggt tttggatcga 180
ggggcggcgc ggggcggcgc ggggcggcgc gcg 213

<210> 290

<211> 112

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 290
aactgcagag cgccccgacg cgccccgagc cctcacctg ccgagcgcgg cggccacccc 60
cgccccgagcc gcggcgcccc caggaggaggaa acaaaagtgt ctccgcggcg cc 112
<210> 291
<211> 112
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 291
aattgtagag cgtttcgacg cgttcgtagt tttatatttg tcgagcgcgg cggttatatt 60
cgttcgagtc gcggcgtttt tagggaggaa ataaaagtgt tttcgcggcg tt 112
<210> 292
<211> 123
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 292
gccccggccc cagctcatcc cccgcccccg ctaccgcgg gctgaaggcc ttggcttcca 60
gccaggcgcg gacctcgacc ggaccgcact cgtaggtagag cggctggctc acgggctggc 120
tgc 123
<210> 293
<211> 123
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 293
gttcgggttt tagttatatt ttcgttttcg tttatcgcgg gttgaaggtt ttggttttta 60
gttaggcgcg gatttcgttc ggattcgatt cgtaggtagag cggttggttt acgggttggt 120
tgt 123
<210> 294
<211> 104
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 294

gagccggagt cgcggtggcc gcctcagcgc catgtcgagg gttgctgagg ggccagcggc 60
agcgcggcgc ggctttagt ccccgcgcg atgcgcccag cctg 104
<210> 295
<211> 104
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 295
gagtcggagt cgcggtggc gttttagcgt tatgtcgagg gttgttgagg ggtagcgg 60
agcgcggcgc ggttttagt tttcgcgcg atgcgtttag tttg 104
<210> 296
<211> 108
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 296
aggtggctcc cgggcaccac ggtcatgtcg ggcggcagct cgcggcctgc ggcgggctcc 60
gcgtagccgt ggttcaccag cgtgtgggca cgcgcgtgc tcgttggg 108
<210> 297
<211> 108
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 297
aggtggtttt cgggtattac ggttatgtcg ggcggtagtt cgcggtttgc ggcgggtttc 60
gcgtagtcgt ggtttattag cgtgtgggta tcgtcgttgt tcgttggg 108
<210> 298
<211> 199
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 298
ctccccgcc tttcgccgc tccgccccg agccgagccc accgcctgtt gcagccaaag 60
ccgcgatgct ctgtctgggt ctggcgcggt cagccgggct cccgcacggg gacgcctcct 120
ccctccttct cgcgctctcc gccccctccc ctgcggggcg cgcgcccgc tccgcgtccc 180

cttaggattc ccgcccacc 199

<210> 299

<211> 199

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 299

tttttcgttt tttcgtcgtt ttcgttttcg agtcgagttt atcgtttgtt gtagttaag 60

tcgcgatgtt ttgtttgggt ttggcgcggt tagtcgggtt ttcgtacggg gacgtttttt 120

tttttttttt cgcgtttttc gttttttttt ttgcggggcg cgcgttcgtt ttcgcgtttt 180

tttaggattt tcgtttatt 199

<210> 300

<211> 294

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 300

gateccccgc cggggcccgc catgcgcgcc tgctccgggc gcccctgccc aggtcccgt 60

ggctccccgg tgctcgctg gcgccccttc cctctcact cgtcgtttc tcccatttcg 120

gcgccagctc acgccgttcg ccccttcctt ctctctctc tccctccagc ccccctcgt 180

ctctccctac tcgctctcc cctccctctt tccctggccc accctctccc cgcctccctc 240

tcgccttctc agtcgccct ctgcgggtcc cctcccccgc gccgggcttg gcc 294

<210> 301

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 301

gattttcgcg cggggttcgt tatgcgcgtt tgtttcgggc gtttttgttt aggtttcgtt 60

ggttttcggg tgttcgttg gcgttttttt tttttttatt cgttggtttt tttatttcg 120

gcgttagttt acgtcgttcg tttttttttt tttttttttt ttttttagt ttttttcgtt 180

ttttttttat tcgttttttt tttttttttt tttttggttt attttttttt cgtttttttt 240

tcgttttttt agtcgttttt ttgcgggttt tttttttcgc gtcgggtttg gttt 294

<210> 302
 <211> 169
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 302
 gatttttcgcg cgggggttcgt tatgcgcgtt tgtttcgggc gtttttgttt aggttttcgtt 60
 ggttttcggg tgttcgtttg gcgttttttt tttttttatt cgttggtttt ttttatttcg 120
 gcgttagttt acgtcgttcg tttttttttt tttttttttt ttttttttag 169
 <210> 303
 <211> 211
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 303
 ttccattgc gcggctctcc tcagctcctt cccgccgccc agtctggatc ctgggggagg 60
 cgctgaagtc ggggccccgc ctgtggcccc gcccgccccg cgcttgctag cgcccaaagc 120
 cagcgaagca cgggccaac cgggccatgt cgggggagcc tgagctcatt gagctgcggg 180
 agctggcacc cgctgggcgc gctgggaagg g 211
 <210> 304
 <211> 211
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 304
 tttttattgc gcggtttttt ttagtttttt ttcgtcgttt agtttggatt ttgggggagg 60
 cgttgaagtc ggggttcgtt ttgtggtttc gttcggttcg cgtttgtag cgtttaaagt 120
 tagcgaagta cgggtttaat cgggttatgt cgggggagtt tgagtttatt gagttgcggg 180
 agttggtatt cgttgggcgc gttgggaagg g 211
 <210> 305
 <211> 651
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 305

gccgcccacc ttctctgttt ctgcactcat tttagcgacg cagccgccgc tgctacctac 60
 cccgcgtcc cgcgtctcct ccgcgtggg gtctccctt tcttttggtt tgggtgggag 120
 aaaaagatgg tggagacggg gaatcggaga ccggcatggg ggtaaaaatc gtgcagacat 180
 tcggaatcgc tcccttgga acatttgcct gagcaactga aataaaattg gcagtagtag 240
 ttttgagcgc tgctccagcg aggatggtct tttgttcat tttttctct ttaaagtaat 300

atcctgtcac ttaggggctt tccggttgc tcctcttatt cgacccctt tcaaaattgc 360
 tgacttgagc tggttctgga gtttattttt taatatgcgt gcgtgggtat gtgtatgtgt 420
 gtgtatgttt tgcagaaatc cgccaaaatg caactgtagg aactgcgaga tgtatttatt 480
 gatattgacc aggggcgggtg ggaaggggct ggaggagct gggggatcct ggagggtggg 540
 aagtggctga ttctcgttgg ccggacactc atccagagcc tgatccgtac tcgtgttttc 600
 ttggaagcgc cacaactcgc gggaaggagt ctttagaaac cgtgccagtt t 651

<210> 306

<211> 651

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 306

gtcgtttatt ttttctgttt ttgtatttat tttagcgacg tagtcgtcgt tgttatttat 60
 ttcgcgtttt cgcgtttttt tcgcgttggg gttttttttt ttttttggtt tgggtgggag 120
 aaaaagatgg tggagacggg gaatcggaga tcggtatggg ggtaaaaatc gtgtagatat 180
 tcggaatcgt ttttttgga atatttgttt gagtaattga aataaaattg gtagtagtag 240
 ttttgagcgc tgttttagcg aggatggttt tttgtttat ttttttttt ttaaagtaat 300
 attttgttat ttaggggttt ttcggttgtt tttttttatt cgattttttt taaaattgt 360
 tgatttgagt tggttttgga gtttattttt taatatgcgt gcgtgggtat gtgtatgtgt 420

gtgtatgttt ttagaaaatt cgttaaaatg taatttagg aattgcgaga tgtatttatt 480
 gatattgatt aggggcgggtg ggaaggggtt ggaggagtt gggggatttt ggagggtggg 540
 aagtgttga ttttcgttgg tcggatattt atttagagtt tgattcgtat tcgtgttttt 600
 ttggaagcgt tataattcgc gggaaggagt ttttagaaat cgtgttagtt t 651

<210> 307

<211> 94

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 307

gtcgtttatt ttttcgttt ttgtatttat ttttagcgacg tagtcgctgt tgttatttat 60

ttcgcgtttt cgcgtttttt tcgcgttggg gttt 94

<210> 308

<211> 112

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 308

gaagtggctg attctcggtg gccggacact catccagagc ctgatccgta ctcggtgttt 60

cttggaagcg ccacaactgc ggggaaggag tctttagaaa ccgtgccagt tt 112

<210> 309

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 309

ctgattctcg gtggccg 17

<210> 310

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 310

ggcgcttcca agaaaacacg 20

<210> 311

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 311

aggccacgga cgcgagtacg gatcaggct 29

<210> 312

<211> 311

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 312

cctgtaaagc cggggatggc aggacgcatt gtcaccccct cctgccgctc ttacgaaaca	60
ctcttaattg agtccgattc ttggatgaatc agccttccaa gaaccgacgac cgcagcatcc	120
tgtgccgctt ctgtgttccg cttttttctc tttctgcagc gtttcctctc attctggatg	180
gaaaggcctg ttgtctccc tcaatctttg gcgagggtgg caggcagcca ggcggccatt	240
acgggcccgc cctcccacca gccagtcgct ggcaggagcg tccggggagg gagcagaccc	300
cgttcaccct c	311

<210> 313

<211> 311

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 313

tttgtaaagt cggggatggg aggacgtatt gttatTTTT tttgtcgttt ttacgaaata	60
tttttaattg agttcgattt ttggatgaatt agttttttaa gaatcgcgat cgtagtattt	120
tgtgtcgttt ttgtgttccg tttttttttt tttttgtagc gttttttttt attttggatg	180
gaaaggtttg ttgtttttt ttaatTTTT gcgagggtgg taggtagtta ggcggttatt	240
acgggtcgcg ttttttatta gttagtcgtt ggtaggagcg ttcggggagg gagtagattt	300
cgtttatttt t	311

<210> 314

<211> 92

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 314

gtaggtagtt aggcggttat tacgggtcgc gttttttatt agttagtcgt tggtaggagc	60
gttcggggag ggagtagatt tcgtttattt tt	92

<210> 315

<211> 112

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 315

cccagagccc cggtcacact cccgtcccat gctgtccccc tcccgcaaag cccacggtgg 60

gaacagaggg caccgcgcga gccgatgccca cctcactgc cggccccacc ca 112

<210> 316

<211> 112

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 316

tttagagttt cggttatatt ttcgttttat gttgtttttt tttcgtaaag tttacggtgg 60

gaatagaggg tatcgcgcga gtcgatgtta tttttattgt cggttttatt ta 112

<210> 317

<211> 287

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 317

cctcccaacc cgagtccegc aaccggcgcg gaccggagct cagcgcttca cgctctccgg 60

gaggaagctc cggaccccg ggcacccgc tcctctccc ggaccccgcc cgcgctccag 120

caccgggag gaaggcgaag accggcggga ggagcgctct tctcggaagg ggagaaccgg 180

gtccgaggcg ccgtggggcg ggggtcgcg gcgcactcac gggggcgagc agccagcagg 240

tcagcagcgc gggaggcagc agcgtccgca tcccgagctc agcgtgc 287

<210> 318

<211> 287

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 318

ttttttaatt cgagtttcgt aattcggcgg gatcggagtt tagcgtttta cgtttttcgg 60

gaggaagttt cggatttcgg gcgatttcgt ttttttttc ggatttcgtt cgcgttttag 120

tattcgggag gaaggcgaag atcggcggga ggagcgtttt tttcggaagg ggagaatcgg 180

gttcgaggcg tcgtggggcg ggggtcgcgg gcgtatttac gggggcgagt agttagtagg 240
 ttagtagcgc gggaggtagt agcgttcgta tttcgagttt agcgtgt 287
 <210> 319
 <211> 215
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 319
 gtcgggtcgt gcgttcgctc ggcagcggcg tgcaccagca ccaccctgc gtgcaagttt 60
 gaaatgtgag ctgcctccga ttcatactcg ctgcgcctcc ctgcgagcga agtggctggg 120
 ctgacggtct gcgcgcgcga gtgagtgcgg gcggcgggct ggggggcggg gtgcggacgg 180
 cgaggctcgc ggggcgggga gggcgcgcgc gagcc 215
 <210> 320
 <211> 215
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 320
 gtcgggtcgt gcgttcgttc ggtagcggcg tgtattagta ttatTTTTgc gtgtaagttt 60
 gaaatgtgag ttgttttcga tttatattcg ttcgcgtttt ttcgtagcga agtggttggg 120
 ttgacggttt gcgcgcgcga gtgagtgcgg gcggcggggt ggggggcggg gtgcggacgg 180
 cgaggttcgc ggggcgggga gggcgcgcgc gagtt 215
 <210> 321
 <211> 140
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 321
 tggcagaagc gtagtgccag ccgcaatagg gcggccgtgg gtgcaaacgg aggggagcgc 60
 cggcagctag caccgcgcgg cgactaacgg gccgccccgg agaactcctgg gagctcaggc 120
 ccacgcgcga gtgcgcaggc 140
 <210> 322
 <211> 140
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 322

tggtagaagc gtagtgtag tcgtaatagg gcggtcgtgg gtgtaaacgg aggggagcgt 60

cggtagtttag tatcgcgagg cgattaacgg gtcgtttcgg agatttttgg gagtttaggt 120

ttacgcgcga gtgcgtaggt 140

<210> 323

<211> 316

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 323

agaagtgggc ggggtgtgtgt ttaaaaaaaaa aaaaggggggt ggaaaccca ccagccaagt 60

ctgcagaaaa aaaataaatg aagtctgcct atctccgggc cagagcccct cccctcggcc 120

cgcgcgaggag gagtgtgacc cagggtgccgc ttctctcgc cgccgagggt caggagcccg 180

ggagcgcgac cctccccggg cccggcctgg cccggcctgg ccagtcctcg cgggtctctgc 240

ccgggctgac gccaggaat gtggtcgacg agaagcccca acagcacggc gtggcctctc 300

agcctcggtg agtacc 316

<210> 324

<211> 316

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 324

agaagtgggc ggggtgtgtgt ttaaaaaaaaa aaaaggggggt ggaaatttta ttagttaagt 60

ttgtagaaaa aaaataaatg aagtttgttt attttcgggt tagagttttt tttttcggtt 120

cgcgcgaggag gagtgtgatt taggtgtcgt tttttttcgt cgtcgagggt taggagttcg 180

ggagcgcgat tttttttcgg ttcggtttgg ttcggtttgg ttagttttcg cggtttttgt 240

tcgggttgac gtttaggaat gtggtcgacg agaagtttta atagtacggc gtggtttttt 300

agtttcggtg agtatt 316

<210> 325

<211> 77

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 325

ggagtgtgat ttaggtgtcg ttttttttcg tcgtcgaggg ttaggagttc gggagcgca 60

ttttttttcg gticggt 77

<210> 326

<211> 105

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 326

ggtgagtacc cgccgtgggg aagggtcctg gggaccact ggaggccgcg gcccgagca 60

gccaggggcc gagccacggc cacggacgcc ctggtgtccc ggtcc 105

<210> 327

<211> 105

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 327

ggtgagtatt cgtcgtgggg aagggttttg gggatttatt ggaggtcgcg gticgtagta 60

gttaggggtc gagttacggt tacggacgtt ttggtgttc ggttt 105

<210> 328

<211> 184

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 328

ggggactctc ggcacccgcg tccctgtgct tctggtggtt ccggcgttc ctcgagcgc 60

gcggcatgtc tgctcctaca cgtccagcac ctctgtcccc agagcaaacc cacctcccag 120

ggcacacgca gaggggcagt caggcaccgc ctccacctg cccacccag gccgcgcgca 180

cccc 184

<210> 329

<211> 184

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 329
 ggggattttc ggtattcgcg tttttgtgtt tttggtggtt tcggcgtttt ttcggagcgc 60
 gcggtatgtt tgtttttata cgttttagtat ttttgttttt agagtaaatt tatttttttag 120
 ggtatacgtg gaggggtagt taggtatcgt ttttattttg ttttatttag gtcgcgcgta 180
 tttt 184

<210> 330
 <211> 180
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 330
 ctcttcctcc cggagtatgg tgaggagcgc gggggacggg tgcgggaagg ggacagcagg 60
 gctgagcctg gggcccgcaa gacccagcag cccgagcggg cgagagacc ccacgccacg 120
 cacaaccctc tcttctaggg ggcgccgact aactgactt ccctgttccg gaagaggggg 180

<210> 331
 <211> 180
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 331
 tttttttttt cggagtatgg tgaggagcgc gggggacggg tgcgggaagg ggatagtagg 60
 gttgagtttg gggttcgtaa gatttagtag ttcgagcggg cgtagagatt ttacgttacg 120

tataattttt ttttttaggg ggcgtcgatt atattgattt ttttgtttcg gaagaggggg 180
 <210> 332
 <211> 123
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 332
 ctctgcagga cgccgcggcc cattccgaag agcaggatgt gcgtgaggtt ggtgggcagg 60
 cctagcgcgg agatgcgcgc cacgtcgccc cccgagcact gcgcggcgtc ccggaagaca 120
 cac 123

<210> 333
 <211> 123
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 333

ttttgttagga cgtcgcggtt tatttcgaag agtaggatgt gcgtgaggtt ggtgggtagg 60

tttagcgcg agatgcgcgt tacgtcggtt ttcgagtatt gcgcggcggt tcggaagata 120

tat 123

<210> 334

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 334

gccaaaggggc gcccgcgccg ccgcccgcgc cccgtgccgg ccccggccgt tcgggctcgg 60

tgcgcaccgc gccccagat ggccgcgcca agcgtccgcc c 101

<210> 335

<211> 101

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 335

gttaaggggc gttcgcgtcg tcgttcgtcg ttcgtgtcgg tttcggtcgt tcgggttcgg 60

tgcgtatcg gtttttagat ggcgtcgta agcgttcgtt t 101

<210> 336

<211> 147

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 336

gcttcctctc cgtgggcgac gtggacgaca cgcagtgcgt gcggctcgac agcgacgcca 60

cgagtcccag gatggagccg cgggcgcggt ggatggagca ggaggggccc gaatattggg 120

aagaggagac agggaccgcc aaggcca 147

<210> 337

<211> 147

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 337

gtttttttt cgtgggcgac gtggacgata cgtagtgcgt gcggttcgat agcgacgtta 60

cgagtttttag gatggagtcg cgggcgtcgt ggatggagta ggaggggtcg gaatatggg 120

aagaggagat agggatcggt aaggtta 147

<210> 338

<211> 153

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 338

cagttttacc gagtgaacct gcggacctg agcggctact acaaccagag tgaggcctgt 60

gagtgcacac gcccgggggc gcaggtcact acccctccac atccccacg gaccgcccgg 120

gtctccccga gtctctgggt ccgagatcca cgc 153

<210> 339

<211> 153

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 339

tagttttatc gagtgaattt gcggattttg agcggttatt ataattagag tgaggtttgt 60

gagtgatatc ggtcgggggc gtaggttatt atttttttat attttttacg gatcgttcgg 120

gttttttcga gtttttgggt tcgagattta cgt 153

<210> 340

<211> 138

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 340

tgctctgac cgagaagggg gtggaggtga cggggctcag cagcatcccg aaggcggatg 60

gggcggggcc gaggaggtcc gggtaggag cggcacctg aacttcccgt cttgtcgctg 120

caggccccgc agacagac 138

<210> 341

<211> 138

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 341
 tgtttttgat cgagaagggg gtggaggtga cggggtttag tagtatttcg aaggcggatg 60
 gggcggggtc gaggaggttc gggtaggag cggtattttg aatttttcgt ttgtcgttg 120
 taggtttcgt agatagat 138
 <210> 342
 <211> 104
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 342
 atgaaggcta cgaggtgctc aagttcgacg acgtggtcac caacctcgga aaccactacg 60
 accccaccac cggcaagttc acctgctcca tcccgggcat ctac 104
 <210> 343
 <211> 104
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 343
 atgaaggtta cgaggtgttt aagttcgacg acgtggttat taatttcgga aattattacg 60
 attttattat cggtaagttt atttgtttta tttcgggtat ttat 104
 <210> 344
 <211> 185
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 344
 agcctgcctg cgtctcttcc ttctccgcg tgggttctag caacatccac tgcagccggg 60
 ccaggcgagc cggcgcgtac catcggcgcg gggggaggag agggccgggc ctgggaagat 120
 gctgcggagg acgtgcgga ttgcgcgagc cggggtaagg cggcggcgca cgcgccctc 180
 ccgcc 185
 <210> 345
 <211> 185

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 345

agtttgtttg cgtttttttt ttttttcgcg tgggttttag taatatttat tgtagtcggg	60
ttaggcgagt cggcgcgtat tatcggcgcg gggggaggag agggtcgggt ttgggaagat	120
gttgcggagg acgttgcgga ttgcgcgagt cggggttaagg cggcggcgta tcgttttttt	180
tcgtt	185

<210> 346

<211> 132

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 346

ggggggcggg gctggggaga ggggtggccc tgcacactag tcccctcccc tcgaccccg	60
agccccgcgg cgcgtttcct gaggcgcccc cgccacgtcc cgcgagtctc tgccaagtcc	120
ccgcgcgggt gc	132

<210> 347

<211> 132

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 347

ggggggcggg gttggggaga ggggtggtttt tgtatattag tttttttttt tcgatttcgt	60
agtttcgcgg cgcgtttttt gaggcgtttt cgttacgttt cgcgagtttt tgtaagttt	120

tcgcgcgggt gt	132
---------------	-----

<210> 348

<211> 302

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 348

ggggaggggc cgccgagggt cccgcccc gcgcctgcg gcccgcgcc ctcccctccc	60
ccacctggga aagccctcgc gggccaagtc cgcggcggcc gggccaaggc gcccgtctc	120
gctcgcccc gccctggcgc ccgccccccc gccgccccgc tgcctcggcg ctaggccttc	180

ttgcacttgc ccttcttctc acgctgctgg aacttgcgca gccgccgcgc ccacgtgtcc	240
cgccactgga tcaccaggct gcttttatcg gccacgatgc cgctctggtc cggagagtcc	300
tc	302
<210> 349	
<211> 302	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 349	
ggggaggggt cgtcaggggt ttcgtttttc gcgtcgtgcg gtttcgtttt tttttttttt	60
ttatttggga aagtttttcgc gggttaagt cgcggcggtc gggtaaggc gttcgttttc	120
gttcggtttc gttttggcgt tcgttcgttc gttcgttcgt tgtttcggcg ttaggttttt	180
ttgtatttgt tttttttttt acgttggttg aatttgcgta gtcgtcgcgt ttacgtgttt	240
cgttattgga ttattaggtt gtttttatcg gttacgatgt cgttttggtt cggagagttt	300
tt	302
<210> 350	
<211> 82	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 350	
gttaaggcgt tcgttttcgt tcggtttcgt tttggcggtc gttcgttcgt tcgttcgttg	60
tttcggcggtt aggttttttt gt	82
<210> 351	
<211> 158	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 351	
gccccgggcc tticagacac ttttctggaa tgtgaaggga ggtgggggct cagctgtctt	60
ttccaccgtc ccggagtggg gcaggtgtcg gagctgggtg ggaagcagac gcggtacggt	120
gggcagaggt cccagcctg cggggagcgc tatctcct	158
<210> 352	

<211> 158
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 352
 gtttcgggtt ttttagatat ttttttggaa tgtgaaggga ggtgggggtt tagttgttt 60
 ttttatcggt tcggagtggg gtaggtgtcg gagttgggtg ggaagtagac gcggtacggt 120
 gggtagaggt ttttagtttg cggggagcgt tatTTTT 158
 <210> 353
 <211> 86
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 353
 gggcctccgg gctacccta cttgaagcgc ctatgccct ctctgtgcc cgaggtggcc 60
 gctgggtggc aggggaggcc cgggcc 86
 <210> 354
 <211> 86
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 354
 gggTTTTcgg gttattttta ttgaagtcg ttatgtttt ttttTgtt cgaggtggtc 60
 gttgggtggt aggggaggtt cgggtt 86
 <210> 355
 <211> 149
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 355
 ggcaaaaggc cgctgcttcg ggccaatat ctgctgcgcg gaagagctgg gctgcttcgt 60
 ggccaccgcc gaagcgtcgc gctgccagga ggagaactac ctgccgtcgc cctgccagtc 120
 cgccagaag gcgtgcggga gcgggggcc 149
 <210> 356
 <211> 149

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 356
 gggtaaaggt cgttgtttcg ggtttaatat ttgttgcgcg gaagagttgg gttgtttcgt 60
 gggatatcgtc gaagcgttgc gttgttagga ggagaattat ttgtcgtcgt ttgttagtt 120
 cggttagaag gcgtgcggga gcgggggtt 149
 <210> 357
 <211> 146
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 357
 ttccctccc gggcgcttgg atctccctc ccccggtcc tgttccctg tcaaaacttc 60
 ctgccttggc gagggccga gttccaccc cttctctgcc ccccgccct cggcgccct 120
 cccggccctg cgatcagcag cgtccc 146
 <210> 358
 <211> 146
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 358
 ttttttttc gggcgtttgg atttttttt ttccggtttt tgttttttg ttaaaat 60
 ttgttttggc gagggttcga gttttat 120
 ttccggtttg cgattagtag cgtttt 146
 <210> 359
 <211> 289
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 359
 cgggtggccac ggccccgcc tegtccgcg cccggactgg gccacgccg atagcgggaa 60
 acaaaaaag cccgagctgg aaacttcaga gaggtttagt ttctttccc agaagcatca 120
 gtccgtccc aaacgctgc aaacgcgcg tgctgcagt aggagagagg aaaccgcgaa 180
 gcgcgagaaa aggcgcccc gtcccaagc agcccgcg ccctccagg ggccagacct 240

gtccatcct ggacggcgaa acgacctcgg gagaccccg ttaggacct 289

<210> 360

<211> 289

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 360

cgggtggttac ggtttcgttt tcgtttcgcg ttcggattgg gttacgtcgg atagcgggaa 60

ataaaaaaag ttcgagttgg aaattttaga gaggtttagt ttcgtttttt agaagtatta 120

gttcggtttt aaaacgttgt aaacgcgcgt tgtttgtagt aggagagagg aaatcgcgaa 180

gcgcgagaaa aggcgttttc gtttttaagt agttcgcgcg tttttttagg ggtagattt 240

gttttatttt ggacggcgaa acgatttcgg gagatttcgg ttaggattt 289

<210> 361

<211> 608

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 361

gggggtgcgg ggaggagtcg ggagcagccc ctggagcaca ggggccgcca gcaccggctg 60

cttcagccc tctgcctac ccgcccttc tctgcagge tgggggctcg gacagcccca 120

gtgccccgcg acgccacct ggacgcctgg cgacccccgc cccgcgtct gtacctttac 180

tctgcggagg gttctgactc cgggtccgga ggacgttgat ctggtagacg gctccgtaag 240

gctcaaaaag ttctttcagc tctttttccg accatgaccg ggggatctgt ccgacaaaca 300

tcttaatggc atctgggtct gggttggtctg agtgatccaa agctccgttc atcttgttgg 360

ctgtgccgtt actgtcaaaa acggaaccgg gagccagagt tagggcgca cgatgaggga 420

caggaagaaa aaatagtggg ggtgggggag cggggaggcg gaaggaggag gaagaagagc 480

agtggcaaag tgcctaata gtcgtagaaa ttgatgaac taaaacaaag cggaggcacc 540

atgagttgct cctcggcggc ggcgaggctc tactgcgtg ctgctgtcga gcagagccgg 600

gggagcac 608

<210> 362

<211> 608

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 362

gggggtgcgg ggaggagtcg ggagtagttt ttggagtata ggggtcgtta gtatcggttg 60

tttttagttt ttttgtttat tcgttttttt tttttaggt tgggggttcg gatagtttta 120

gtgtttcgcg acgtttattt ggacgtttgg cgattttcgt ttcgcgtttt gtatttttat 180

tttgcggagg gttttgattt cggtttcgga ggacgttgat ttggtagacg gtttcgtaag 240

gtttaaaaag tttttttagt ttttttttcg attatgatcg ggggatttgt tcgataaata 300

ttttaatggt atttgggttt ggttgggttt agtgatttaa agtttcgttt attttgttgg 360

ttgtgtcgtt attgttaaaa acggaatcgg gagttagagt tagggcggta cgatgaggga 420

taggaagaaa aaatagtggg ggtgggggag cggggaggcg gaaggaggag gaagaagagt 480

agtggtaaag tgtttaatga gtcgtagaaa ttgatgaat taaaataaag cggaggtatt 540

atgagttgtt tttcggcggc ggcgagggtt ttattgcgtg ttgttgtcga gtagagtcgg 600

gggagtat 608

<210> 363

<211> 96

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 363

gttttagtgt ttcgcgacgt ttatttggac gtttggcgat tttcgtttcg cgttttgtat 60

ttttattttg cggagggttt tgatttcggt ttcgga 96

<210> 364

<211> 152

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 364

gcacccggcg cccgagctgc gaaaggacg cccttctcct cccgcgcgga acttcaggag 60

tgccggggccc gagtgtaac tggaccaccg tggggccgcg cgggcccctg ggcataacca 120

caaactgtgc ctgtggccat cgtgtcagga ca 152

<210> 365

<211> 152

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 365

gtattcggcg ttcgagttgc gaaaggacg tttttttttt ttcgcgcgga attttaggag	60
tgcggggttc gagtgtaaat tggattatcg tggggtcgcg cgggtttttg ggtattatta	120
taaattgtgt ttgtggttat cgtgttagga ta	152

<210> 366

<211> 384

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 366

ggagaagccg ggactcctca catccacat ccggcagggg aagcccagca ggtgagcgca	60
gtcccccca gtccccgagg gagtgcgcc gacggaaacg cccctagccc gcgggcctcg	120
ctttctcttc ccgggttctt gggtcacttc ccgtgtctc cagcccagc tcgtggcccc	180
aatccctggt acctccatcc tctggtcacc ctttctctgg tgccccctcc ccgacttttc	240
tttgtccgt cccaccctt gcccgggcct gccggacccc cctccttgac acccgcgccc	300
acctccttga gttttctcg tctctctccc atccccggct ccttggtccc ctcccgaac	360
ttctctggtc cctccgctc ctcc	384

<210> 367

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 367

ggagaagtcg ggatttttta tattttatat tcggtagggg aagtttagta ggtgagcgta	60
ggttttttta gttttcgagg gagtgcgttc gacggaaacg tttttagttc gcgggtttcg	120
tttttttttt tcgggttttt gggttatttt tcgttgtttt tagttcgagt tcgtggtttt	180
aatttttggg atttttatit ttgtgttatt ttttttttgg tgtttttttt tcgatttttt	240
tttgtttcgt tttttttttt gttcgggttt gtcggatttt tttttttgat attcggcggt	300
atttttttga gtttttttcg tttttttttt attttcgggt ttttggtttt ttttcggaat	360
tttttttggt tttttcggtt tttt	384

<210> 368

<211> 75
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 368
 gtttttttag ttttcgaggg agtgcgttcg acggaaacgt ttttagttcg cgggtttcgt 60
 tttttttttt cgggt 75
 <210> 369
 <211> 447
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 369
 cagccatact cggccgagtc gacctgcagg cggcccagct tgtccacctg ctcttgaag 60
 gcgcgcacct ggtccatgaa agccacggcg cgctcggcgg ccataggcgc ggcgtggagg 120
 ccggcggcgg ccagtagcgg cgccgtgtgc aggggcagcg ccgcctgcgc cgcgttcagc 180
 acgaagagct cgctccagct caggcgcagc agcggcacct ggtcggccac cggcagctcg 240
 gggaagaagg gcgcgtggcg cgccactcc acggtgctga agagcagcgc cgccgccagc 300
 tcgcacacgt tgcgatgcc cagcaccgcg cccgccgcgc cgccccctgc gccgaagcgt 360
 ccggccgccg cagggtaggg ctacgcgcgc agcagctgcg cgatcagttc ggacaccggc 420
 tgccccggga agaggtctcc gccctc 447
 <210> 370
 <211> 447
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 370
 tagttatatt cggtcagtc gattttagg cggtttagtt tgtttattg tttttggaag 60
 gcgcgtatatt ggtttatgaa agttacggcg cgttcggcgg ttataggcgc ggcgtggagg 120
 tcggcggcgg ttagtagcgg cgctcgtgtgt aggggtagcg tcgtttgcgt cgcgttagt 180
 acgaagagtt cgttttagtt taggcgtagt agcgttatatt ggtcggttat cggtagttcg 240
 gggaagaagg gcgcgtggcg cgtttatatt acggtgttga agagtagtcg cgtcgttagt 300
 tcgtatacgt tgcgatgtt tagtatcgcg ttcgtcgcgt cgttttttgc gtcgaagcgt 360
 tcggtcgtcg tagggtaggg tttagcgcgt agtagttgcg cgattagttc ggatatcgg 420

tgtttcggga agaggttttc gtcgttt	447
<210> 371	
<211> 98	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 371	
gtttatttta cgggtgtgaa gagtagtcgc gtcgttagtt cgtatacgtt gtcgatgttt	60
agtatcgcgt tcgtcgcgtc gttttttgcg tcgaagcg	98
<210> 372	
<211> 416	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 372	
gccggcaaag agctggtgca ggatgcggat cagatcagcc agggtccttg gcttcagcac	60
ttcggtctgt tccatctcgt ggggagctgg ctgcgcgcgc gtctcactgc tgggctgcgg	120
tggaggagct gagcgagcca aggagctggg ggcgagggag cctaacagcc cgctagaccg	180
ctaagcagac acacacgcac aaaccagca ttagagtgcc gaaacgtaag gatgtcgtcg	240
cagagacagc aagagaccca cccccaggcc cctggcagcg cagtggatcc gggatcgtg	300
gagacgcggt gcacacacaa atcaggttca gatctgtggg gttcactctc ccggggccct	360
tttaagcgt tggagtcact aggaatgtac caacggccct cggagggagg acgagg	416
<210> 373	
<211> 416	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 373	
gtcggtaaag agttggtgta ggatgcggat tagattagtt agggttcgtg gttttagtat	60
ttcggtttgt tttatttcgt ggggagttgg ttgcgcgcgc gttttattgt tgggttcg	120
tggaggagtt gagcgagtta aggagttggg ggcgagggag tttaatagtt cgttagatcg	180
ttaagtagat atatacgtat aaatttagta ttagagtgtc gaaacgtaag gatgtcgtcg	240
tagagatagt aagagattta tttttagggt tttgtagcg tagtggattc gggatcgttg	300

gagacgcggt gtatatataa attaggttta gatttgtggg gtttattttt tcgggttttt 360
 ttttaagcgtt tggagttatt aggaatgtat taacggtttt cggagggagg acgagg 416
 <210> 374
 <211> 119
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 374
 gagtgtcgaa acgtaaggat gtcgtcgtag agatagtaag agatttattt ttaggttttt 60
 ggtagcgtag tggattcggg atcgttggag acgcggtgta tatataaatt aggtttaga 119
 <210> 375
 <211> 267
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 375
 gcactcgcca gcgctttgtt cgtgaccggc cttttaaggg ctgtctcacc catcttgtct 60
 ggctctgctt cctgttttcc ttctcgtcct ctctccacc acagccagct cccactttt 120
 ttcgcggggg cccctccag cctgtccggg gcctccccgt tcccaggcca gggttcccc 180
 ctctccag acctcgttgc tctgcccgtt gaggccccgg gctcccagca gggggcgcct 240
 gctcgcgatac aggtggcggc ctggggg 267
 <210> 376
 <211> 267
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 376
 gtattcgtaa gcgttttgtt cgtgatcggg tttttaaggg ttgttttatt tattttgttt 60
 ggttttgttt ttttgttttt ttttcgtttt tttttttatt atagttagtt ttttattttt 120
 ttcgcggggg ttttttttag tttgttcggg gttttttcgt ttttaggtta gggttttttt 180
 ttttttttag atttcgttgt tttgttcggg gaggtttcgg gtttttagta gggggcgttt 240
 gttcgcgatt aggtggcggg ttggggg 267
 <210> 377

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 377

gatttcgttg ttttgttcgg tgaggtttcg ggtttttagt agggggcggtt tgttcgcgat 60
taggtggcgg tttggggg 78

<210> 378

<211> 155

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 378

gaggggacct ggatccctga accccggggc ggaaaggag cctccggcg gctgtgggtg 60
ccgcgtcct cggagccagc agctgctggg gcggcgctcg aactccccag gtctgcgcac 120
ggcaatgggg gcaccgggcc ttctgtctgt cctca 155

<210> 379

<211> 155

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 379

gaggggattt ggatttttga atttcggggc ggaaaggag ttttcggcg gttgtgggtg 60
tcgcgttttt cggagttagt agttgttggg gcggcgctcg aatttttttag gtttgcgtac 120
ggtaatgggg gtatcgggtt ttttgtttgt tttta 155

<210> 380

<211> 79

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 380

gaattcgggt ttagcgcggg ttttcgcgg tagtggtcgt agttcgggaa gttcgggggc 60
gcggtgtttt cgtaattc 79

<210> 381

<211> 160

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 381

cggggacagg aggggtggcc aagaaagtcg caagaaaact ccggcccca agaaaaagag 60

agggcacatggg ttgcggagcc gacatcacgg ccgggtctt tgctgttttag acgcctgggt 120

tcccggatcc cagacacgcg cacgggcagg aagtttagacc 160

<210> 382

<211> 160

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 382

cggggatagg aggggtggtt aagaaagtcg taagaaaatt tcggttttta agaaaaagag 60

agggtatggg ttgcggagtc gatattacgg tcgggtttt tgttgttttag acgtttgggt 120

tttcgattt tagatacgcg tacgggtagg aagtttagatt 160

<210> 383

<211> 163

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 383

gttgcctggg tccgccaga gatgagtcgg gacgcgcggc ccacgtgcgg cggaggggca 60

gctgggtcgc tcggggaacg gggcaccgga tggccccggt tgggcccgcg ccaggatgcg 120

ccctgcgcc ctctgctggc gctctgcggt caccgcagcc ccg 163

<210> 384

<211> 163

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 384

gttgtttggg ttcttttaga gatgagtcgg gacgcgcggt ttacgtgcgg cggaggggta 60

gttgggtcgt tcggggaacg gggatatcga tggtttcggt tgggttcgcg ttaggatgcg 120

tttttcggtt ttttgttggc gttttgcggt tatcgtagtt tcg 163

<210> 385

<211> 311

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 385

cggacgaatt ctggggaaag gtcgaggga ctagagctcc cgactatgca aaccctagag 60

ggtaaactgg gggttaagag ggccccgtgc gtgttttggc gggctaggtc ctgggcttca 120

gggcagagaa gagggccgag tggatcgctt tgccttacct cctcaggatc tccggattcg 180

gtaagcatct ttgtctgtc ctccagtcct atgtctggct acggttctag attcaacacg 240

agcagcaaca gcggcaccta acccagttca ggatcaagaa ggacttgtaa gggtcactca 300

gcggaaatcc g 311

<210> 386

<211> 311

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 386

cggacgaatt ttggggaaag gtcgaggga ttagagtttt cgattatgta aatttttagag 60

ggtaaattgg gggtaagag ggtttcgtgc gtgttttggc gggttagggt ttgggtttta 120

gggtagagaa gagggtcgag tggatcgttt tgttttattt ttttaggatt ttcggattcg 180

gtaagtattt ttgttcgtt ttttagtttt atgtttgggt acggttttag atttaatacg 240

agtagtaata gcggtattta atttagttta ggattaagaa ggatttgtaa gggttattta 300

gcggaaattc g 311

<210> 387

<211> 154

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 387

cggacgaatt ttggggaaag gtcgaggga ttagagtttt cgattatgta aatttttagag 60

ggtaaattgg gggtaagag ggtttcgtgc gtgttttggc gggttagggt ttgggtttta 120

gggtagagaa gaggtcgag tggatcggtt tggt 154

<210> 388

<211> 706

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 388

cgtcccagaa ctaagtgcta tgcggagatg aggggtgggag cagcagtaca aggagggggt 60

gggggagcagg aaacacaaac aggggagaag gaaacgccag catctaacaat ggacttgaca 120

gtcatctgac aataccaga ccctgtgcgc tccgggttcc accgtgtgc ccagtttggg 180

cccaagaaat gaggaatcaa tcgtgttagt actaaggtgg ccgaggggac cggctcgtc 240

actcgttcgc gtcctctggc tcggcggaca ccaggcagtc ccccgccggt cggccgtcgc 300

gaggacgcgg aagatgtccc ggggaactca ggtgaccccg cccgccaccc acagaaagag 360

ccaggccggg gttgcttccc attccctctg cagccggaga gctgaggagg tagggacctg 420

gcgcggctca gcgcgtccg cgagcggctc cccaaatggg tgcgagaggg aagagggcag 480

agcgcggcgg ggcgtccggg gggcgcccgg tacccgaggc gggcgcacgc acccaaacag 540

gagagcggcg cccggagtta ctcatgtcgg gcagaagagc ggggagagga gcgggggtcgc 600

gcccgttga ggcgcggggc gagcggagga agaggaggag gagagcagaa ggaaggggaa 660

gcggctcgta cctgtcgcgc gccggggcgc ctgctgcttc ctcctc 706

<210> 389

<211> 706

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 389

cgttttagaa ttaagtgtta tgcggagatg aggggtgggag tagtagtata aggagggggt 60

gggggagcagg aaatataaat aggggagaag gaaacgttag tatttaatat ggatttgata 120

gttatttgat aatatttaga ttttgtcgt ttcgggtttt atcgttgtgt ttagtttggg 180

tttaagaaat gaggaattaa tcgtgttagt attaaggtgg tcgaggggat cggttcgttt 240

attcgttcgc gtttttggg tcggcggata ttaggtagtt tttcggcggg cggtcgttcg 300

gaggacgcgg aagatgttcc ggggaattta ggtgatttcg ttcgttattt atagaaagag 360

ttaggtcggg gttgtttttt attttttttg tagtcggaga gttgaggagg tagggatttg 420

gcgcggttta gcgcgtttcg cgagcggttt tttaaattggg tgcgagaggg aagagggtag 480
 agcgcggcgg ggcggttcgg gggcggttcgg tattcgaggc gggcgtagct atttaaatag 540
 gagagcggcg ttcgagatta tttagtgcgg gtagaagagc ggggagagga gcgggggtcgc 600
 gtctgttggg ggcgcggggc gagcggagga agaggaggag gagagtagaa ggaaggggaa 660
 gcggttcgta ttgtttgcgc gtcggggcgt ttgtttttt tttttt 706
 <210> 390
 <211> 154
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 390
 gaattaatcg tgtagtatt aagggtgctg aggggatcgg ttcttttatt cgttcgcgtt 60
 ttttggttcg gcgatatta gtagttttt cgccggtcgg tcgttcggag gacgcggaag 120
 atgtttcggg gaatttaggt gatttcgttc gttt 154
 <210> 391
 <211> 120
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 391
 cgtcgggcct gcgggggccc gaccgcctt cgaaagtggg cggaaggatg gccgccctgg 60
 cggagtgcgg gcgaggccgg gagcccttgc ctacgcccc gcccgggtctt ctctgtgccg 120
 <210> 392
 <211> 120
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic
 <400> 392
 cgtcgggttt gcgggggtcg gattcgtttt cgaaagtggg cggaaggatg gtcgttttgg 60
 cggagtgcgg gcgaggtcgg gattttttgt tttagtttcg gttcggtttt tttcgtgtcg 120
 <210> 393
 <211> 190
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 393

cggtgtggtc cgaaaggctc ttctcttaaa cccccggca gccggctcct gtgtgtgaca 60

cgatgatgtc atcatcgccg agcagcccca acgcctgcat cttcaciaag ctccatcgcg 120

ggctccgga acgggggtgg ggggtggggag gcgaagaccc tccctctgcc ccggccctc 180

ccgcctcgcc 190

<210> 394

<211> 190

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 394

cggtgtggtt cgaaaggttt ttttttaaa tttttcggta gtcggttttt gtgtgtgata 60

cgatgatgtt attatcgctg agtagtttta acgtttgtat tttataaag ttttatcgcg 120

ggtttcgga acgggggtgg ggggtggggag gcgaagattt ttttttgtt tcggtttttt 180

tcgtttcggt 190

<210> 395

<211> 323

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 395

cgggcgtatg tgtgtctcca atggaaaaat cctaccagg acgacaccac atccttgctc 60

ccacaaataa aaccttcac ggaactcagg gctgcagacc agcccttcgc aagccaacgc 120

gccccgtggg cactcgggcc cccggctccg cgtctctgcc accttccac cgcttcttct 180

ttaaccatgc tctgtttcc cctcgtgat cgcaaggctg cgggcgagga ttccagagag 240

aggcctagta tggggaacaa acgcttcaga ggggtccgag gtgggctggg gacagccagt 300

ggatgggaag gagggcgctg gcg 323

<210> 396

<211> 323

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 396

cgggcgtatg tgtgttttta atggaaaaat tttatttagg acgatattat atttttgttt 60

ttataaataa aatTTTTTtac ggaatttagg gttgtagatt agtttttcgt aagttaacgc	120
gtttcgtggg tttcggttt ttcggtttcg cgtttttgtt atttttttat cgtttttttt	180
ttaattatgt ttttgttttt tttcgttgat cgttaaggttg cgggcgagga ttttagagag	240
aggtttagta tggggaataa acgttttaga ggggttcgag gtgggttggg gatagttagt	300
ggatgggaag gagggcgttg gcg	323
<210> 397	
<211> 177	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> synthetic	
<400> 397	
tacggaattt agggttgtag attagttttt cgtaagttaa cgcgtttcgt gggatttcgg	60
tttttcggtt tcgcgttttt gttatttttt tatcgttttt tttttaatta tgtttttggt	120
ttttttcggt gatcgtaagg ttgcgggcga ggatttttaga gagaggttta gtatggg	177