



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년02월12일
(11) 등록번호 10-1947093
(24) 등록일자 2019년02월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2018.01) C12N 15/11 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6883 (2018.05)
C12N 15/11 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7009940(분할)
(22) 출원일자(국제) 2008년05월21일
심사청구일자 2017년05월12일
(85) 번역문제출일자 2017년04월12일
(65) 공개번호 10-2017-0042831
(43) 공개일자 2017년04월19일
(62) 원출원 특허 10-2015-7032728
원출원일자(국제) 2008년05월21일
심사청구일자 2015년12월16일
(86) 국제출원번호 PCT/US2008/064430
(87) 국제공개번호 WO 2008/144761
국제공개일자 2008년11월27일
(30) 우선권주장
60/939,156 2007년05월21일 미국(US)
61/013,283 2007년12월12일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20030162180 A1*
WO2006097463 A1
WO2002057414 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우스샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(72) 발명자
버렌스, 티모시, 더블유.
미국 94010 캘리포니아주 벌링게임 팜 드라이브 1133
홈, 제프리
미국 94015 캘리포니아주 달리 시티 스카이라인 드라이브 363
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 25 항

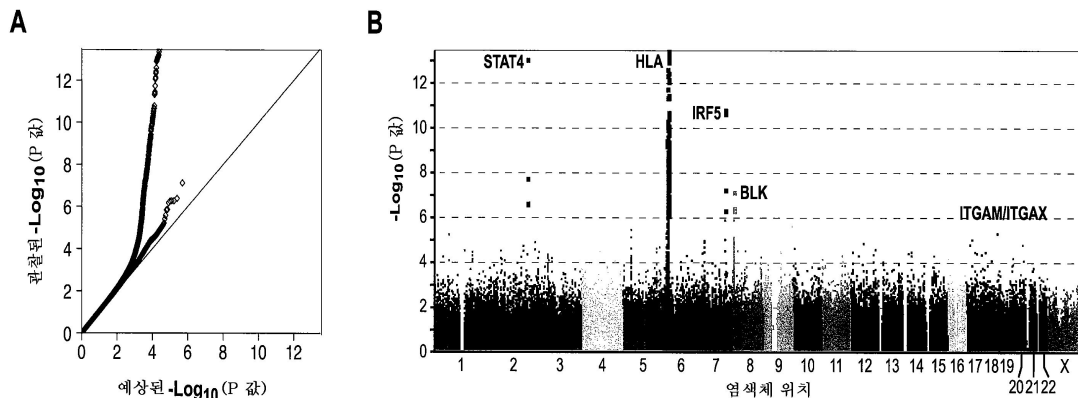
심사관 : 김정희

(54) 발명의 명칭 루푸스를 확인 및 치료하기 위한 방법 및 조성물

(57) 요약

본 발명은 루푸스와 연관된 특유한 세트의 유전자 변이를 제공한다. 그러한 유전자 변이를 검출하고, 루푸스가 발병할 위험을 평가하고, 또한 루푸스를 진단 및 치료하기 위한 방법을 또한 제공한다.

대표도



(52) CPC특허분류

C12Q 1/6858 (2018.05)
C12Q 2533/101 (2013.01)
C12Q 2600/106 (2013.01)
C12Q 2600/136 (2013.01)
C12Q 2600/156 (2013.01)
C12Q 2600/158 (2013.01)
C12Q 2600/172 (2013.01)

(72) 발명자

오토만, 워드, 에이.

미국 94598 캘리포니아주 월넛 크릭 페라다 드라이브 3418

그라함, 로버트, 로알

미국 94118 캘리포니아주 샌프란시스코 맥알리스터 스트리트 넘버씨240 2001

명세서

청구범위

청구항 1

대상으로부터 얻은 생물학적 샘플에서 루푸스의 위험 또는 루푸스가 발병할 위험을 나타내는 유전자 시그니처(signature)의 존재를 검출하는 것을 포함하고, 여기서 상기 유전자 시그니처는 하나 이상의 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)을 포함하고, 상기 SNP의 하나는 rs13277113인, 루푸스를 갖는 대상 또는 루푸스가 발병할 위험이 있는 대상을 확인하는데 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 유전자 시그니처가 rs10488631, rs4963128, rs6889239, rs5754217, rs1801274, 및 rs9888739로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 유전자 시그니처가 rs6568431, rs2187668, rs2476601, 및 rs10489265로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 유전자 시그니처가 rs2391592 및 rs2431697로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 또는 둘 모두의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 5

대상으로부터 얻은 생물학적 샘플로부터 유래된 폴리뉴클레오타이드 내 변이의 존재를 검출하는 것을 포함하고, 여기서 변이는 게놈 DNA 내에 존재하며 하나 이상의 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)을 포함하고, 상기 SNP의 하나는 rs13277113이고;

변이가 존재하면 대상은 루푸스 또는 루푸스의 병태 또는 증상을 갖는 것으로 진단되거나 또는 예측되는 것인, 루푸스를 갖는 대상을 확인하는데 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 변이가 rs1143679, rs3129860, rs10516487, 및 rs6445975로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 변이가 2개 이상의 SNP, 3개 이상의 SNP, 4개 이상의 SNP, 5개 이상의 SNP, 6개 이상의 SNP, 7개 이상의 SNP, 8개 이상의 SNP, 9개 이상의 SNP, 10개 이상의 SNP, 11개 이상의 SNP, 12개 이상의 SNP, 13개 이상의 SNP, 14개 이상의 SNP, 또는 15개 이상의 SNP를 포함하는 것인 방법.

청구항 8

제5항에 있어서, 검출이 프라이머 연장 분석; 대립유전자 특이적 프라이머 연장 분석; 대립유전자 특이적 뉴클레오타이드 도입 분석; 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 혼성화 분석; 5' 뉴클레아제 분석; 분자 비콘(beacons)을 사용하는 분석; 및 올리고뉴클레오타이드 라이게이션 분석으로부터 선택되는 과정의 수행을 포함하는 것인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 변이가 rs10488631, rs4963128, rs6889239, rs5754217, rs1801274, 및 rs9888739로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 변이가 rs6568431, rs2187668, rs2476601, 및 rs10489265로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 11

제8항에 있어서, 변이가 rs2391592 및 rs2431697로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 12

하나 이상의 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 대립유전자에 대립유전자-특이적 혼성화를 각각 수행할 수 있는 다수의 핵산 분자를 포함하고, 여기서 상기 SNP의 하나는 rs13277113인, 루푸스를 갖는 대상 또는 루푸스가 발병할 위험이 있는 대상을 확인하는데 필요한 정보를 제공하기 위한 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, rs10488631, rs4963128, rs6889239, rs5754217, rs1801274, 및 rs9888739로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP의 대립유전자에 대립유전자-특이적 혼성화를 수행할 수 있는 하나 이상의 핵산 분자를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서, rs6568431, rs2187668, rs2476601, 및 rs10489265로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP의 대립유전자에 대립유전자-특이적 혼성화를 수행할 수 있는 하나 이상의 핵산 분자를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 15

제12항에 있어서, rs2391592 및 rs2431697로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP의 대립유전자에 대립유전자-특이적 혼성화를 수행할 수 있는 하나 이상의 핵산 분자를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 유전자 시그니처가 rs10488631, rs4963128, rs6889239, rs5754217, rs1801274, 및 rs9888739의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 유전자 시그니처가 rs6568431, rs2187668, rs2476601, 및 rs10489265의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 유전자 시그니처가 rs2391592 및 rs2431697의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 19

제1항에 있어서, 유전자 시그니처가 2개 이상의 SNP, 3개 이상의 SNP, 4개 이상의 SNP, 5개 이상의 SNP, 6개 이상의 SNP, 7개 이상의 SNP, 8개 이상의 SNP, 9개 이상의 SNP, 10개 이상의 SNP, 11개 이상의 SNP, 12개 이상의 SNP, 13개 이상의 SNP, 14개 이상의 SNP, 또는 15개 이상의 SNP를 포함하는 것인 방법.

청구항 20

제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 조성물 및 하나 이상의 효소를 포함하는 키트.

청구항 21

제20항에 있어서, 효소가 중합효소인 키트.

청구항 22

제20항에 있어서, 효소가 리가제인 키트.

청구항 23

제1항에 있어서, 상기 유전자 시그너처가 rs1143679, rs3129860, rs10516487, 및 rs6445975로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제12항에 있어서, rs1143679, rs3129860, rs10516487, 및 rs6445975로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP의 대립유전자에 대립유전자-특이적 혼성화를 수행할 수 있는 하나 이상의 핵산 분자를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 25

제20항에 있어서, 조성물이 rs1143679, rs3129860, rs10516487, 및 rs6445975로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 SNP의 대립유전자에 대립유전자-특이적 혼성화를 수행할 수 있는 하나 이상의 핵산 분자를 추가로 포함하는 것인 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] <관련 출원에 대한 교차 참조>

[0002] 본원은 미국 특허 출원 60/939,156 (2007년 5월 21일 출원) 및 61/013,283 (2007년 12월 12일 출원)을 기초로 한 우선권을 주장한다. 이들 특허 출원의 내용 및 여기에 포함된 모든 참조문은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0003] 본 발명은 일반적으로 루푸스와 연관된 특유한 세트의 유전자 변이, 및 루푸스가 발병할 위험을 평가하고 또한 루푸스를 진단 및 치료하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] 루푸스는 결합 조직을 공격하는 항체가 관여되는 자가면역 질병이다. 이 질병은 거의 1백만 명의 미국인, 주로 20-40세 사이의 여성이 걸리는 것으로 추정된다. 루푸스의 주요 형태는 전신형이다 (전신 홍반 루푸스; SLE). 전신 홍반 루푸스 (SLE)는 강한 유전적 및 환경적 성분을 갖는 만성 자가면역 질병이다 (예를 들어, [Hochberg MC, Dubois' Lupus Erythematosus. 5th ed., Wallace DJ, Hahn BH, eds. Baltimore: Williams and Wilkins (1997)]; [Wakeland EK, et al., Immunity 2001;15(3):397-408]; [Nath SK, et al., Curr. Opin. Immunol. 2004; 16(6):794-800] 참조). 자가항체는 SLE의 발병기전에서 중요한 역할을 하고, 질병의 다양한 임상 소견은 용혈성 빈혈 및 저혈소판증에 기여하는 자가항체의 직접적인 병원성 효과와 함께 신장, 뇌 및 피부에 염증을 일으키는 혈관 내의 항체-항원 면역 복합체의 침착으로 인한 것이다. SLE는 일반적으로 특히 특정 민족 집단으로부터의 여성에게 주로 침범하는, 매우 다양한 임상 양상을 갖는 자가면역 결합-조직 질환으로서 특징이 설명된다 (D'Cruz et al., Lancet (2007), 369:587-596). SLE는 항핵 항체의 생산, 순환하는 면역 복합체, 및 보체계의 활성화와 연관된다. SLE는 20 내지 60세 사이의 700명의 여성 중 약 1명의 빈도로 발생한다. SLE는 임의의 장기계에 영향을 미칠 수 있고, 심각한 조직 손상을 야기할 수 있다. 상이한 특이성의 수많은 자가항체가 SLE에 존재한다. SLE 환자는 종종 항-DNA, 항-Ro 및 항-혈소판 특이성을 갖고, 질병의 임상 양상, 예를 들어 사구체신염, 관절염, 장막염, 신생아에서 완전 심장 차단, 및 혈액 이상을 개시시킬 수 있는 자가항체를 생산한다. 이들 자가항체는 또한 가능하게는 중추신경계 교란에 관련된다. 아버클 (Arbuckle) 등은 SLE의 임상 발병 전에 자가항체의 발달을 설명하였다 (Arbuckle et al. N. Engl. J. Med. 349(16): 1526-1533 (2003)). SLE를 포함한 루푸스의 최종 진단은 쉽지 않아서, 임상적은 다인성 징후 및 증상에 기반한 분류 방법에 의지하고 있다 (Gill et al., American Family Physician (2003), 68(11): 2179-2186).

[0005] 치료되지 않은 루푸스는 피부 및 관절의 공격에서부터 폐, 심장 및 신장 (신장 질병이 주요 관심사이다)을 포함한 내부 장기로 진행하여 치명적일 수 있으므로, 루푸스가 발병할 위험에 대한 정확한 조기 진단 및/또는 평가

가 특히 중요하다. 루푸스는 주로 질병 소견이 전혀 또는 거의 없는 개체가 있는 일련의 급성 악화 (flare-ups)로서 나타난다. 소변 내의 단백뇨의 양에 의해 측정되는 신장 손상이 SLE에서 병원성과 연관된 가장 급성 영역 중의 하나이고, 질병의 사망률 및 이환율의 적어도 50%를 차지한다.

[0006] 루푸스와 같은 복잡한 자가면역 질병의 임상 관리에서 가장 어려운 과제 중 하나는 환자에서 질병의 정확한 조기 확인이다. 지난 수년 동안, SLE 감수성에 기여하는 유전 인자를 확인하기 위해 많은 연결 및 후보 유전자 연구가 수행되었다. HLA 클래스 II 대립유전자 DRB1*0301 및 DRB1*1501을 보유하는 일배체형 (haplotype)이 질병뿐만 아니라 핵 자가항원에 대한 항체의 존재와 명백하게 연관된다 (예를 들어, 문헌 ([Goldberg MA, et al., Arthritis Rheum 1976; 19(2): 129-32]; [Graham RR, et al., Am J Hum Genet 2002; 71(3):543-53]; 및 [Graham RR, et al., Eur J Hum Genet 2007; 15(8):823-30]) 참조). 보다 최근에, 인터페론 조절 인자 5 (IRF5; Interferon Regulatory Factor 5) 및 전사의 신호 변환인자 및 활성인자 4 (STAT4; Signal Transducer and Activator of Transcription 4)의 변이체가 SLE에 대한 유의한 위험 인자인 것으로 밝혀졌다 (예를 들어, 문헌 ([Sigurdsson S, et al., Am J Hum Genet 2005; 76(3):528-37]; [Graham RR, et al., Nat Genet 2006; 38(5):550-55]; [Graham RR, et al., Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104(16):6758-63]; 및 [Remmers EF, et al., N Engl J Med 2007; 357(10):977-86]) 참조). SLE 위험 유전자로서 IRF5 및 STAT4의 확인은 Type-I 인터페론 경로가 질병 발병기전에 중심적이라는 개념을 지지한다 (예를 들어, 문헌 ([Ronnblom L, et al., J Exp Med 2001; 194(12):F59-63]; [Baechler EC, et al., Curr Opin Immunol 2004; 16(6):801-07]; [Banchereau J, et al., Immunity 2006; 25(3):383-92]; [Miyagi T, et al., J Exp Med 2007; Epublication; Sept 10] 참조).

[0007] 이를 위해, 환자에서 질병의 존재를 객관적으로 확인하고/하거나 분류하기 위해 사용될 수 있는 분자-기반 진단 방법을 갖는 것이 매우 유리할 것이다. 유전자 변이 또는 다형성은 유기체의 게놈 내에 존재하는 유전자 변이이다. 다형성은 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)을 포함한다 (예를 들어, 문헌 ([Carlson et al., Nature 2004; 429:446-452]; [Bell, Nature 2004; 429:453-463]; [Evans & Relling, Nature 2004; 429:464-468]) 참조). SNP는 당뇨병 ([Sladek et al., Nature 2007; 445: 881-828]; [Zeggini et al., Science 2007; Apr 26]; [Scott et al., Science 2007; Apr 26]; 및 [Saxena et al., Science 2007; Apr 26]); 크론 (Crohn) 병 (예를 들어, [Hampe et al., Nat. Genet. 2007; Feb;39(2):207-11]); 류마티스성 관절염 (예를 들어, 미국 특허 출원 공개 2007/0031848); 및 다른 염증성 자가면역 질병 (예를 들어, 미국 특허 6,900,016; 미국 특허 7,205,106)과 같은 심각한 질병의 위험 및/또는 존재와 크게 상호 관련되었다.

[0008] 최근까지, 루푸스와 같은 복잡한 질병에 대한 위험을 변형시키는 변이체에 대해 게놈을 포괄적으로 검사하는 것은 가능하지 않았다. 그러나, 수십만 개의 변이체의 비용-효과적이고 정확한 유전자형 결정을 허용하는 기술 진보와 더불어 일반적 인간 변이의 광범한 카탈로그의 생성 (예를 들어, [Nature 2005; 437(7063): 1299-320] 참조)이 인간 유전학에서 혁신을 가속시켰다. 처음으로, 일반적인 변이체가 위험에 영향을 준다는 가설을 보다 충분히 시험하기 위해 잘 지원받는 게놈-전역 연관성 (genome-wide association) 스캔을 수행하는 것이 가능하다. 지난 2년 동안, 상기 기술은 고도로 입증되었다 (예를 들어, 문헌 ([Dewan A, et al., Science 2006; 314(5801):989-92]; [Nature 2007; 447(7145):661-78], [Matarin M, et al., Lancet neurology 2007; 6(5):414-20]; [Moffatt MF, et al., Nature 2007; 448(7152):470-73]; [Plenge RM, et al., N Engl J Med 2007]; [Saxena R, et al., Science 2007; 316(5829):1331-36]; [Scott LJ, et al., Science 2007; 316(5829):1341-45]; [Scuteri A, et al., PLoS Genet 2007;3(7): e115]) 참조). 확인된 위험 로커스 (locus)는 인간 질병에서 조절이 곤란해진 분자 경로에 대한 새로운 식견을 제공하고 있다.

[0009] 그러나, 루푸스와 같은 복잡한 질병과 SNP 연관성에 대한 신뢰할 수 있는 정보가 계속하여 상당히 부족한 상황 이어서, 그러한 질병과 연관된 다형성을 확인할 필요가 있음이 명백하다. 그러한 연관성은 환자에서 루푸스 존재의 확인 또는 질병을 발병할 감수성의 결정에 크게 유익할 것이다. 또한, 루푸스와 같은 복잡한 질병과 SNP의 연관성에 관한 통계학상 및 생물학상 유의하고 재현가능한 정보는 예를 들어 치료제가 임상 연구에서 그러한 특정 루푸스 환자 하위 집단에서 치료상 이롭거나 이로운 것으로 나타난 경우에 특정 치료제를 사용하는 치료가 유의하게 이로운 것으로 예상될 환자의 특정 하위세트 (subset)를 확인하기 위한 노력에서 통합 성분 (integral component)으로서 이용될 수 있다.

[0010] 본원에 기재된 본 발명은 상기한 필요를 충족하고 다른 잇점을 제공한다.

[0011] 특허 출원 및 공개를 포함하여 본원에서 인용된 모든 참고 문헌은 그 전부가 참고로 포함된다.

발명의 내용

- [0012] <발명의 개요>
- [0013] 본 발명은 적어도 부분적으로는 루푸스의 존재, 서브타입, 및/또는 환자 하위 집단과 높은 통계학적 및 생물학적 유의성으로 상호 관련된 하나 이상의 유전자 변이, 예를 들어, SNP의 확인에 기초하는, 루푸스를 확인하기 위한 및 루푸스가 발병할 위험을 평가하기 위한 정확하고 간단하고 신속한 방법 및 조성물을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 SNP의 특유한 세트, 상기 SNP의 특유한 조합, 및 루푸스 및 그의 서브타입과 연관된 연관 불균형 (linkage disequilibrium) 구역, 및 그로 고통 받는 환자 하위 집단의 확인에 관한 것이다.
- [0014] 특히, SNP의 특유한 세트 및/또는 조합은 루푸스가 발병할 위험이 있는 대상을 나타내거나, 또는 그 질병 또는 그의 증상 또는 상태를 나타내는 유전자 프로파일 또는 시그니처 (signature)로서 사용될 수 있다. 본원에 개시된 다형성은 루푸스가 발병할 위험을 평가하기 위한, 및 진단 시약의 설계를 위한 표적에 대한 바이오마커 (biomarker)로서 유용하다. 일부 측면에서, SNP는 유전자와 연관되지 않는다. 다른 측면에서, SNP는 유전자와 연관되고, 유전자간 (intergenic) 또는 유전자내 구역에 위치할 수 있고, 보다 특히, 코딩 또는 비코딩 구역 내에 위치할 수 있다. 본 발명의 SNP와 연관된 유전자는 미지의 유전자와 연관될 수 있거나, 또는 공지의 유전자, 예를 들어, ITGAM 또는 BLK와 연관될 수 있다.
- [0015] 본원에서 확인된 SNP는 본 발명의 1개 이상의 SNP를 포함하는 특유한 유전자 시그니처를 보이는 루푸스 환자 하위 집단의 진단 및 표적화된 치료를 포함하여, 유전적으로 확인된 루푸스 환자의 진단 및 치료에 사용하기 위한 치료제의 개발을 위한 표적을 제공한다. 예를 들어, 한 측면에서, 본원에서 확인된 유전자 변이를 함유하는 유전자, 및 상기 유전자와 연관된 핵산 (예를 들어, DNA 또는 RNA), 및 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질은 치료제 (예를 들어, 소분자 화합물, 항체, 안티센스/RNAi 물질 등)의 개발을 위한 표적으로서 사용될 수 있거나 또는 루푸스의 치료를 위한 치료제 (예를 들어, 치료 단백질 등)로서 직접 사용될 수 있다.
- [0016] 따라서, 한 측면에서, 본 발명은 루푸스가 발병할 위험을 평가하기 위한 특유한 유전자 시그니처를 형성하는 1개 이상의 SNP의 세트를 제공한다. 한 측면에서, 특유한 유전자 시그니처는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 약 1-10, 10-20, 20-30, 30-40 또는 40-50개의 SNP를 포함한다.
- [0017] 한 측면에서, 특유한 유전자 시그니처는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 1개 이상의 SNP, 2개 이상의 SNP, 3개 이상의 SNP, 4개 이상의 SNP, 5개 이상의 SNP, 6개 이상의 SNP, 7개 이상의 SNP, 8개 이상의 SNP, 9개 이상의 SNP, 10개 이상의 SNP, 11개 이상의 SNP, 12개 이상의 SNP, 13개 이상의 SNP, 14개 이상의 SNP, 15개 이상의 SNP, 16개 이상의 SNP, 17개 이상의 SNP, 18개 이상의 SNP, 19개 이상의 SNP 또는 20개 이상의 SNP를 포함한다. 한 측면에서, 유전자 시그니처의 SNP는 표 6으로부터 선택된다. 다른 측면에서, SNP는 rs9888739, rs13277113, rs7574865, rs2269368, rs6889239, rs2391592 및 rs21177770으로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 다른 측면에서, SNP는 rs2187668, rs10488631, rs7574865, rs9888739, rs13277113, rs2431697, rs6568431, rs10489265, rs2476601, rs2269368, rs1801274, rs4963128, rs5754217, rs6445975, rs3129860, rs10516487, rs6889239, rs2391592 및 rs2177770으로 이루어지는 군 중에서 선택된다.
- [0018] 다른 측면에서, 본 발명은 대상으로부터 얻은 생물학적 샘플에서 루푸스가 발병할 위험을 나타내는 유전자 시그니처의 존재를 검출함으로써 대상이 루푸스가 발병할 위험이 있는지 평가하는 방법을 제공하고, 여기서 상기 유전자 시그니처는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 1개 이상의 SNP의 세트를 포함한다. 한 측면에서, SNP의 세트는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 약 1-10, 10-20, 20-30, 30-40 또는 40-50개의 SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 2개 이상의 SNP, 3개 이상의 SNP, 4개 이상의 SNP, 5개 이상의 SNP, 6개 이상의 SNP, 7개 이상의 SNP, 8개 이상의 SNP, 9개 이상의 SNP, 10개 이상의 SNP, 11개 이상의 SNP, 12개 이상의 SNP, 13개 이상의 SNP, 14개 이상의 SNP, 15개 이상의 SNP, 16개 이상의 SNP, 17개 이상의 SNP, 18개 이상의 SNP, 19개 이상의 SNP 또는 20개 이상의 SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 표 6으로부터 선택되는 1-19개의 SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 표 7-10에 제시된 임의의 BLK SNP로부터 선택되는 BLK SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 표 7-10에 제시된 임의의 ITGAM SNP로부터 선택되는 ITGAM SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 표 7-10에 제시된 임의의 BLK SNP로부터 선택되는 BLK SNP를 추가로 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 다음 SNP의 군으로부터 선택되는 1개 이상의 SNP를 포함한다: rs2187668, rs10488631, rs7574865, rs9888739, rs13277113, rs2431697, rs6568431, rs10489265, rs2476601, rs2269368, rs1801274, rs4963128, rs5754217, rs6445975, rs3129860, rs10516487, rs6889239, rs2391592 및 rs2177770.
- [0019] 다른 측면에서, 본 발명은 대상으로부터 얻은 생물학적 샘플에서 루푸스를 나타내는 유전자 시그니처의 존재를 검출함으로써 대상에서 루푸스를 진단하는 방법을 제공하고, 여기서 상기 유전자 시그니처는 도 1-17 및 표 1-

10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 1개 이상의 SNP의 세트를 포함한다.

[0020] 다른 측면에서, 본 발명은 길이가 적어도 약 10개의 뉴클레오타이드인 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편을 제공하고, 여기서 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편은 (a) 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서의 유전자 변이, 또는 (b) (a)의 상보체를 포함한다. 한 측면에서, 단리된 폴리뉴클레오타이드는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)을 포함하는 게놈 DNA이다. 다른 측면에서, 단리된 폴리뉴클레오타이드는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)을 포함하는 RNA이다.

[0021] 한 측면에서, 본 발명은 길이가 적어도 약 10개 뉴클레오타이드인 단리된 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편을 제공하고, 여기서 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편은 (a) 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서의 유전자 변이, 또는 (b) (a)의 상보체를 포함한다. 한 측면에서, 단리된 폴리뉴클레오타이드는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)을 포함하는 유전자 (및/또는 유전자의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA이다. 다른 측면에서, SNP는 유전자를 코딩하지 않는 염색체의 구역 내에 존재한다. 다른 측면에서, SNP는 염색체의 유전자간 구역 내에 존재한다. 다른 측면에서, 단리된 폴리뉴클레오타이드는 프라이머이다. 다른 측면에서, 단리된 폴리뉴클레오타이드는 올리고뉴클레오타이드이다.

[0022] 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 유전자 변이를 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 구역에 혼성화하는 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드, 또는 (b) (a)의 상보체인 올리고뉴클레오타이드를 제공한다. 한 측면에서, SNP는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)을 포함하는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 내에 존재한다. 다른 측면에서, SNP는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)을 포함하는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재한다. 다른 측면에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 다른 측면에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 다른 측면에서, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드는 대립유전자 특이적 프라이머이다.

[0023] 다른 측면에서, 본 발명은 상기 올리고뉴클레오타이드 중의 임의의 하나 및, 임의로 적어도 하나의 효소를 포함하는 키트를 제공한다. 한 측면에서, 적어도 하나의 효소는 중합효소이다. 다른 측면에서, 적어도 하나의 효소는 리가제이다.

[0024] 다른 측면에서, 본 발명은 임의의 상기 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 마이크로어레이 (microarray)를 제공한다.

[0025] 다른 측면에서, 본 발명은 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서의 폴리뉴클레오타이드의 변이의 부재 또는 존재를 검출하는 방법을 제공하고, 이 방법은 (a) 변이를 포함하는 것으로 의심되는 핵산을, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드의 핵산에 대한 혼성화에 적합한 조건 하에 변이에 특이적인 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드와 접촉시키고; (b) 대립유전자 특이적 혼성화의 부재 또는 존재를 검출하는 것을 포함한다. 한 측면에서, 변이는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 측면에서, 폴리뉴클레오타이드는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드이다.

[0026] 다른 측면에서, 본 발명은 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서 폴리뉴클레오타이드의 변이를 포함하는 핵산을 증폭하는 방법을 제공하고, 이 방법은 (a) 변이의 3'에 위치하는 서열에서 핵산에 혼성화하는 프라이머와 핵산을 접촉시키고, (b) 프라이머를 연장시켜 변이를 포함하는 증폭 산물을 생성시키는 것을 포함한다. 한 측면에서, 폴리뉴클레오타이드는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드이다.

[0027] 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물로부터의 생물학적 샘플의 유전자형을 결정하는 방법을 제공하고, 이 방법은 생물학적 샘플로부터 유래된 핵산 물질에서 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서의 폴리뉴클레오타이드 내의 변이의 부재 또는 존재를 검출하는 것을 포함한다. 한 측면에서, 폴리뉴클레오타이드는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드이다.

[0028] 다른 측면에서, 생물학적 샘플은 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되고, 여기서 폴리뉴클레오타이드는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레

오티드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 변이를 포함한다. 다른 측면에서, 생물학적 샘플은 환부 조직이다. 다른 측면에서, 검출은 프라이머 연장 분석; 대립유전자 특이적 프라이머 연장 분석; 대립유전자 특이적 뉴클레오타이드 도입 분석; 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 혼성화 분석; 5' 뉴클레아제 분석; 분자 비콘 (beacon)을 사용하는 분석; 및 올리고뉴클레오타이드 라이게이션 분석으로부터 선택되는 과정의 수행을 포함한다.

[0029] 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에서 유래한 생물학적 샘플에서 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 1개 이상의 SNP의 존재를 검출하는 것을 포함하는, 포유동물에서 루푸스를 하위분류하는 방법을 제공하고, 여기서 생물학적 샘플은 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 SNP를 포함하는 적어도 하나의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되는 것이다. 한 측면에서, 폴리뉴클레오타이드는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드이다.

[0030] 다른 측면에서, 검출은 프라이머 연장 분석; 대립유전자 특이적 프라이머 연장 분석; 대립유전자 특이적 뉴클레오타이드 도입 분석; 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 혼성화 분석; 5' 뉴클레아제 분석; 분자 비콘을 사용하는 분석; 및 올리고뉴클레오타이드 라이게이션 분석으로부터 선택되는 과정의 수행을 포함한다.

[0031] 다른 측면에서, 본 발명은 대상이 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서 폴리뉴클레오타이드 내의 변이를 포함하는지를 결정하는 것을 포함하는, 루푸스에 걸린 대상이 루푸스 치료제에 반응할 것인지를 예측하는 방법을 제공하고, 여기서 변이의 존재는 대상이 치료제에 반응할 것임을 나타낸다. 한 측면에서, 폴리뉴클레오타이드는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드이다.

[0032] 다른 측면에서, 본 발명은 대상으로부터 얻은 생물학적 샘플로부터 유래된 폴리뉴클레오타이드에서 변이의 존재를 검출하는 것을 포함하는, 대상에서 루푸스를 진단하거나 예측하는 방법을 제공하고, 여기서 (a) 생물학적 샘플은 변이를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되고; (b) 변이는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 SNP를 포함하거나 상기 SNP에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하고; (c) 변이가 존재하면 대상은 루푸스로 진단되거나 예측된다.

[0033] 다른 측면에서, 본 발명은 대상으로부터 얻은 생물학적 샘플로부터 유래된 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에서 변이의 존재를 검출하는 것을 포함하는, 대상에서 루푸스를 진단하거나 예측하는 방법을 제공하고, 여기서 (a) 생물학적 샘플은 변이를 포함하는 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되고; (b) 변이는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함하거나 상기 SNP에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하고; (c) 변이가 존재하면 대상은 루푸스로 진단되거나 예측된다.

[0034] 다른 측면에서, 본 발명은 대상으로부터 얻은 생물학적 샘플로부터 유래된 폴리뉴클레오타이드에서 변이의 존재를 검출하는 것을 포함하는, 대상에서 루푸스의 진단 또는 예측을 돕는 방법을 제공하고, 여기서 (a) 생물학적 샘플은 변이를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되고; (b) 변이는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 SNP를 포함하거나 상기 SNP에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하고; (c) 변이가 존재하면 대상은 루푸스의 병태 또는 증상을 갖는 것으로 진단되거나 예측된다.

[0035] 다른 측면에서, 본 발명은 대상으로부터 얻은 생물학적 샘플로부터 유래된 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에서 변이의 존재를 검출하는 것을 포함하는, 대상에서 루푸스의 진단 또는 예측을 돕는 방법을 제공하고, 여기서 (a) 생물학적 샘플은 변이를 포함하는 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되고; (b) 변이는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 SNP를 포함하거나 상기 SNP에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하고; (c) 변이가 존재하면 대상은 루푸스의 병태 또는 증상을 갖는 것으로 진단되거나 예측된다.

[0036] 다른 측면에서, 폴리뉴클레오타이드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)을 포함한다. 한 측면에서, 변이는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 SNP를 포함하는 게놈 DNA에 존재한다. 한 측면에서, SNP는 유전자를 코딩하지 않는 염색체 구역에 존재한다. 다른 측면에서, SNP는 유전자간 구역에 존재한다.

[0037] 다른 측면에서, PRO-연관 폴리뉴클레오타이드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 포함한다. 한 측면에서, 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선

택되는 SNP를 포함한다. 한 측면에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 다른 측면에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.

- [0038] 다른 측면에서, 본 발명은 환자 하위 집단에서 루푸스 치료에 효과적인 치료제를 확인하는 방법을 제공하고, 이 방법은 치료제의 효능을 환자 내의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 1개 이상의 SNP의 존재와 상호 관련시키고, 이에 의해 상기 치료제를 상기 환자 하위 집단에서 루푸스 치료에 효과적인 것으로 확인하는 것을 포함한다.
- [0039] 다른 측면에서, 본 발명은 환자 하위 집단에서 루푸스 치료에 효과적인 치료제를 확인하는 방법을 제공하고, 이 방법은 치료제의 효능을 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 SNP의 조합의 존재와 상호 관련시키고, 이에 의해 상기 치료제를 상기 환자 하위 집단에서 루푸스 치료에 효과적인 것으로 확인하는 것을 포함한다.
- [0040] 다른 측면에서, 본 발명은 유전자 변이가 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하는 것으로 알려진 대상에게 루푸스 병태 치료에 효과적인 치료제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 루푸스 병태를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0041] 다른 측면에서, 본 발명은 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 유전자 변이를 갖는 대상에서 루푸스 병태 치료에 효과적인 치료제를 상기 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 루푸스 병태에 걸린 대상을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0042] 다른 측면에서, 본 발명은 각각 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 유전자 변이를 갖는 적어도 5명의 인간 대상에게 루푸스 병태 치료에 효과적인 것으로 밝혀진 치료제를 투여하는 적어도 하나의 임상 연구에서 루푸스 병태에 걸린 대상에게 상기 치료제를 투여하는 것을 포함하는, 루푸스 병태에 걸린 대상을 치료하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 적어도 5명의 대상은 적어도 5명의 대상의 군에 대해 전체적으로 2개 이상의 상이한 SNP를 갖는다. 다른 측면에서, 적어도 5명의 대상은 적어도 5명의 대상의 전체 군에 대해 동일한 SNP를 갖는다.
- [0043] 다른 측면에서, 본 발명은 특정 루푸스 환자 하위 집단의 루푸스 대상을 치료하는 방법을 제공하고, 여기서 하위 집단은 적어도 부분적으로는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 SNP에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서의 유전자 변이와의 연관성을 특징으로 하고, 상기 방법은 대상에게 상기 하위 집단에 대한 치료제로서 승인된 유효량의 치료제를 투여하는 것을 포함한다. 한 측면에서, 하위 집단은 루푸스 신장염을 갖는다. 다른 측면에서, 하위 집단은 여성이다. 다른 측면에서, 하위 집단은 유럽 혈통 (European ancestry)이다.
- [0044] 다른 측면에서, 본 발명은 루푸스 치료제를 제조하고, 루푸스에 걸렸거나 걸린 것으로 생각되고 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 위치에 유전자 변이를 갖는 대상에게 치료제를 투여하기 위한 사용지시서와 함께 상기 치료제를 포장하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0045] 다른 측면에서, 본 발명은 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 위치에서의 유전자 변이를 특징으로 하는 환자 하위 집단에게 치료제를 투여하기 위한 사용지시서를 제공하는 것을 포함하는, 루푸스 환자 하위 집단에 사용하기 위한 치료제를 지정하는 방법을 제공한다.
- [0046] 다른 측면에서, 본 발명은 루푸스 환자 하위 집단의 환자에서 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 위치에서의 유전자 변이의 존재를 특징으로 하는 상기 환자 하위 집단을 치료하기 위한 치료제의 용도를 표적 청중에게 알리는 것을 포함하는, 루푸스 환자 하위 집단에서 사용하기 위해 치료제를 마케팅하기 위한 방법을 제공한다.
- [0047] 다른 측면에서, 본 발명은 B 세포 수용체를 통한 신호 전달의 조절에 효과적인 치료제를 유전자 변이가 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하는 것으로 알려진 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 B 세포 수용체를 통한 신호 전달을 조절하는 방법을 제공한다.
- [0048] 다른 측면에서, 본 발명은 Th17 세포의 분화 조절에 효과적인 치료제를 유전자 변이가 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하는 것으로 알려진 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 Th17 세포의 분화를 조절하는 방법을 제공한다.

[0049] 다른 측면에서, 본 발명은 루푸스가 발병할 위험을 나타내는 유전자 시그니처를 포함하는 SNP의 세트를 제공하고, 상기 SNP의 세트는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 1개 이상의 SNP를 포함한다. 한 측면에서, SNP의 세트는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 약 1-10개, 10-20개, 20-30개, 30-40개, 또는 40-50개의 SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 rs9888739, rs13277113, rs7574865, rs2269368, rs6889239, rs2391592 및 rs21177770으로 이루어지는 군 중에서 선택되는 1개 이상의 SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 2개 이상의 SNP, 3개 이상의 SNP, 4개 이상의 SNP, 5개 이상의 SNP, 6개 이상의 SNP, 7개 이상의 SNP, 8개 이상의 SNP, 9개 이상의 SNP, 10개 이상의 SNP, 11개 이상의 SNP, 12개 이상의 SNP, 13개 이상의 SNP, 14개 이상의 SNP, 15개 이상의 SNP, 16개 이상의 SNP, 17개 이상의 SNP, 18개 이상의 SNP, 19개 이상의 SNP 또는 20개 이상의 SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 표 6으로부터 선택되는 1-19개의 SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 표 7-10에 제시된 임의의 BLK SNP로부터 선택되는 BLK SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 표 7-10에 제시된 임의의 ITGAM SNP로부터 선택되는 ITGAM SNP를 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 표 7-10에 제시된 임의의 BLK SNP로부터 선택되는 BLK SNP를 추가로 포함한다. 다른 측면에서, SNP의 세트는 rs2187668, rs10488631, rs7574865, rs9888739, rs13277113, rs2431697, rs6568431, rs10489265, rs2476601, rs2269368, rs1801274, rs4963128, rs5754217, rs6445975, rs3129860, rs10516487, rs6889239, rs2391592 및 rs21177770으로 이루어지는 군 중에서 선택되는 1개 이상의 SNP를 포함한다.

[0050] 다른 측면에서, 본 발명은 루푸스를 나타내는 유전자 시그니처를 포함하는 SNP의 세트를 제공하고, 상기 SNP의 세트는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 1개 이상의 SNP를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0051] 도 1은 SLE에서 게놈-전역 연관성 스캔으로부터의 결과가 5개의 주요 유전자를 확인한 것을 도시한 것이다. 데 이타는 총 1311 SLE 사례 및 3340 대조군에 대해 3개의 샘플 시리즈 (series)에서 분류된 502,033 SNP 변이체를 나타낸다. 패널 A는 관찰된 P 값 분포 대 예상된 귀무 (null) P 값 분포의 분위수 (quantile-quantile) 플롯을 도시한 것이다. 마름모는 모든 P 값을 나타내고, 원은 HLA, IRF5 및 STAT4 구역 변이체의 배제 후의 P 값을 나타낸다. 패널 B는 염색체에 의해 체계화된 조합된 분석으로부터 $-\log_{10} P$ 값의 그래프이다. $P < 1 \times 10^{-13}$ 을 갖는 추가의 HLA 구역 변이체 (N=34)는 패널 B에 도시되지 않는다.

도 2는 BLK/C8orf13 구역으로부터의 연관된 변이체가 형질전환된 B 세포에서 발현 수준과 상호 관련되는 것을 보여준다. A) BLK/C8orf13 구역으로부터의 $-\log_{10} P$ 값이 표시된다. 마름모의 색상은 rs13277113과의 r^2 상관 관계를 나타낸다. 구역 내의 모든 RefSeq 유전자는 대조 염색체의 분석에 의해 결정될 때 구역 내의 LD를 보여주는 플롯 위에 표시된다. 중요하게는, 염색체 8 상의 상기 연관된 구역은 일반적 다형성 4.2 Mb 염색체내 역 위 내에 놓이고 (예를 들어, [Giglio et al. Am J Hum Genet 2001;68(4):874-83] 및 [Sugawara et al. Genomics 2003;82(2):238-44] 참조), 보이는 바와 같이 구역을 가로질러 비통상적으로 낮은 수준의 연장된 LD와 연관된다. 그러나, SLE에 대한 BLK/C8orf13의 연관성은 역위에 독립적이다. 210 비관련된 건강한 CEU HapMap 기부자로부터의 형질전환된 B 세포주에서 BLK (B) 및 C8orf13 (C)의 발현은 rs13277113에서 유전자형에 의해 계층화되어 보여진다. 차별적 발현의 유의성은 독립 표본 스튜던트 T 검정 (unpaired Student's T-test)을 사용하여 결정하였다.

도 3은 ITGAM/ITGAX 로커스 내의 변이체가 SLE와 연관되는 것을 보여준다. 패널 A는 ITGAM/ITGAX 구역으로부터 $-\log_{10} P$ 값을 보여준다. 마름모의 색상은 rs11574637과의 r^2 상관 관계를 나타낸다. 구역 내의 모든 RefSeq 유전자는 연구된 대조 염색체에 의해 결정될 때 구역 내의 LD를 보여주는 플롯 위에 표시된다. 패널 B는 ITGAM의 게놈 구조, 보존된 주요 단백질 도메인, 및 rs11574637과 ITGAM의 2개의 비-동의 (nonsynonymous) 대립유전자 사이의 관계를 도시한 것이다.

도 4는 SLE 시리즈 1-3 및 스웨덴 (Swedish) 사례에서 임상 특징의 빈도를 도시한 것이다.

도 5는 1311 사례 및 3340 대조군에서 전체 게놈 스캔에서 SLE와 연관된 상위 50개 로커스를 도시한 것이다.

도 6은 HapMap 개인으로부터의 210개의 형질전환된 B 세포주에서 BLK, C8orf13 및 대조 유전자의 발현 수준을 도시한 것이다.

도 7은 HapMap 집단으로부터의 형질전환된 B 세포에서 BLK의 발현을 도시한 것이다.

도 8은 사례/대조군 시리즈에 의한 SLE와 C8orf13/BLK 및 ITGAM/ITGAX 구역 변이체의 연관성을 도시한 것이다.

도 9는 SLE 시리즈 1-3에 대한 11개 ACR 임상 기준과 C8orf13/BLK 및 ITGAM/ITGAX 변이체의 연관성을 도시한 것이다.

도 10은 521 스웨덴 SLE 사례에 대한 11개 ACR 임상 기준과 C8orf13/BLK 및 ITGAM/ITGAX 변이체의 연관성을 도시한 것이다. 스웨덴 샘플에서, 521 사례를 ACR 기준에 대한 연관성에 대해 검토하였다. 통계학적 유의성은 2x2 분할표 (contingency table) 및 카이 제곱 (chi square) 검정에 의해 평가하였다. ACR 기준은 상호 관련되는 것으로 알려져 있고 $\alpha=0.05/11=0.0045$ 의 단순 본페로니 (Bonferroni) 교정은 아마도 지나치게 보존적일 것이므로, 계산된 P-값은 다수 시험에 대해 조정되지 않았다.

도 11은 시리즈 크기에 대해 가중되고, 잔류 계통 대조군 팽창 인수 (inflation factor) (λ_{gc})에 대해 조정된 교정된 Z 스코어를 조합하기 위해 사용된 식을 도시한 것이다. 각각의 시리즈의 분산 (σ^2)을 계산하였고, 여기서 p = 사례 및 대조군에서 대립유전자 빈도이다. 3 SLE 시리즈에 대한 조합된 Z 스코어 (Z^*)를 계산하였고, 여기서 Z1, Z2, 및 Z3은 각각의 시리즈로부터 SLE에 대한 변이체의 연관성에 대한 EIGENSTRAT 교정된 카이 제곱에 기초한 Z 스코어와 동일하고, λ_1 , λ_2 , 및 λ_3 은 각각의 시리즈에 대한 EIGENSTRAT 교정 후의 잔류 계통 대조군 팽창 인수 (λ_{gc})이다.

다음 키 (key)를 도 12-17의 표제에 적용한다:

SNP #	특정 환자 하위세트/연구군에서 SNP의 자의적 넘버링
구역 #	특정 환자 하위세트에서 연관 불균형 구역의 자의적 넘버링
SNP_ID	SNP rsID 수
EIG P	EIGENSTRAT로부터 카이-제곱 통계학의 P 값
주요 군에서 P	주요 군에서 상기 SNP에 대한 P 값
여성에서 P	여성 하위세트에서 상기 SNP에 대한 P 값
좌표	그의 염색체 상의 SNP의 염기쌍

cM	염색체의 출발로부터 센티모건 (centiMorgan)
MAF_CEU	HapMap CEU 샘플로부터 SNP의 소수 대립유전자 빈도
구역 전의 SNP	SNP_ID 하에 지시된 SNP를 함유하는 연관 불균형 (LD) 구역 직전의 SNP
구역 후의 SNP	LD 구역 직후의 SNP
유전자 (구역)이 선택된 이유	상기 구역이 관련 구역으로서 선택되는 이유에 대한 원리
구역 내의 제1 유전자	좌표 (염기쌍)에 의해 순서대로 나열된 지시된 구역 내 유전자의 첫 번째 유전자
설명 (Descr.)	HUGO Gene Nomenclature Committee로부터의 유전자 설명
IRIS	최고 면역 평균/최고 비-면역 평균의 비; IRIS 연구로부터
LD 구역 SNP	(i) 좌표 A 및 좌표 B, 또는 (ii) SNP A 및 SNP B (함께 포함)에 의해 묘사되는 연관 불균형 구역 내에 위치하는 임의의 SNP

도 12 (A) 및 (B)는 함께 루푸스 신장염 하위세트의 분석을 도시한 것이고, 아마도 루푸스 신장염에 대한 적어도 하나의 위험 대립유전자를 함유하는 것으로 생각되는 20개의 후보 SNP를 함유하는 11개의 구역을 보여준다. (C) 및 (D)는 함께 연관 불균형 구역의 특징, 이들 구역 내에서 특정 유전자의 정체, 및 그러한 유전자를 확인하기 위한 기준을 추가로 제공한다.

도 13 (A)는 여성 하위세트의 분석을 도시한 것이고, 아마도 적어도 하나의 위험 대립유전자를 함유하는 것으로 생각되는 9개의 후보 SNP를 함유하는 6개의 추가의 구역을 보여준다. (B)는 연관 불균형 구역의 특징, 이들 구역 내에서 특정 유전자의 정체, 및 상기 유전자를 확인하기 위한 기준을 추가로 제공한다.

도 14 (A)는 주요 군의 분석을 도시한 것이고, 아마도 적어도 하나의 위험 대립유전자를 함유하는 것으로 생각되는 8개의 후보 SNP를 함유하는 6개의 추가의 구역을 보여준다. 도 14 (B)는 연관 불균형 구역의 특징, 이들 구역 내에서 특정 유전자의 정체, 및 상기 유전자를 확인하기 위한 기준을 추가로 제공한다.

도 15는 도 12의 특정 데이터에 기초한 연관 불균형 구역, 및 그에 함유된 SNP의 도면이다.

도 16은 도 13의 특정 데이터에 기초한 연관 불균형 구역, 및 그에 함유된 SNP의 도면이다.

도 17은 도 14의 특정 데이터에 기초한 연관 불균형 구역, 및 그에 함유된 SNP의 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0052] 본 발명은 적어도 부분적으로는 루푸스의 존재, 서브타입, 및/또는 환자 하위 집단과 높은 통계학적 및 생물학적 유의성으로 상호 관련된 하나 이상의 유전자 변이, 예를 들어 SNP의 확인에 기초하는, 루푸스를 확인하기 위한 및 루푸스가 발병할 위험을 평가하기 위한 정확하고 간단하고 신속한 방법 및 조성물을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 SNP의 특유한 세트, 상기 SNP의 특유한 조합, 및 루푸스 및 그의 서브타입과 연관된 연관 불균형 구역, 및 그로 고통 받는 환자 하위 집단의 확인에 관한 것이다.
- [0053] 특히, SNP의 특유한 세트 및/또는 조합은 루푸스가 발병할 위험이 있는 대상을 나타내거나, 또는 그 질병 또는 그의 증상 또는 상태를 나타내는 유전자 프로파일 또는 시그니처로서 사용될 수 있다. 본원에 개시된 다형성은 루푸스가 발병할 위험을 평가하기 위한, 및 진단 시약의 설계를 위한 표적에 대한 바이오마커로서 유용하다. 일부 실시태양에서, SNP는 유전자와 연관되지 않는다. 다른 실시태양에서, SNP는 유전자와 연관되고, 유전자간 또는 유전자내 구역에 위치할 수 있고, 보다 특히, 코딩 또는 비코딩 구역 내에 위치할 수 있다. 본 발명의 SNP와 연관된 유전자는 미지의 유전자와 연관될 수 있거나, 또는 공지의 유전자, 예를 들어, ITGAM 또는 BLK와 연관될 수 있다.
- [0054] 본원에서 확인된 SNP는 본 발명의 1개 이상의 SNP를 포함하는 특유한 유전자 시그니처를 보이는 루푸스 환자 하위 집단의 진단 및 표적화된 치료를 포함하여, 유전적으로 확인된 루푸스 환자의 진단 및 치료에 사용하기 위한 치료제의 개발을 위한 표적을 제공한다. 예를 들어, 한 실시태양에서, 본원에서 확인된 유전자 변이를 함유하는 유전자, 및 상기 유전자와 연관된 핵산 (예를 들어, DNA 또는 RNA), 및 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질은 치료제 (예를 들어, 소분자 화합물, 항체, 안티센스/RNAi 물질 등)의 개발을 위한 표적으로서 사용될 수 있거나 또는 루푸스의 치료를 위한 치료제 (예를 들어, 치료 단백질 등)로서 직접 사용될 수 있다.
- [0055] 일반적인 기술
- [0056] 본 발명의 실시에서는 달리 지시하지 않으면, 당업계의 기술 범위 내에 있는 분자 생물학 (재조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기술을 사용할 것이다. 그러한 기술은 문헌 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989)]; [Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984)]; [Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987)]; [Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.)]; [Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds 1987, 및 주기적인 업데이트)]; [PCR: The Polymerase Chain Reaction (Mullis et al., ed., 1994)]과 같은 문헌에 충분히 설명되어 있다.
- [0057] 본 발명에서 사용되는 프라이머, 올리고뉴클레오티드 및 폴리뉴클레오티드는 당업계에 공지된 표준 기술을 사용하여 생성될 수 있다.
- [0058] 달리 규정하지 않으면, 본원에서 사용된 기술 및 학술 용어는 본 발명이 속하는 분야의 통상의 기술자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 문헌 [Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N. Y. 1994)] 및 [March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N. Y. 1992)]은 당업자에게 본원에서 사용되는 많은 용어에 대한 일반적인 지침을 제시한다.
- [0059] I. 정의
- [0060] 본 명세서를 설명하기 위해서, 하기 정의가 사용될 것이고, 적절한 경우에, 단수로 사용되는 용어는 또한 복수형을 포함할 것이고 그 반대도 가능하다. 아래에서 제시되는 임의의 정의가 본원에 참고로 포함된 임의의 문헌과 상충될 경우에는, 아래에서 제시되는 정의가 적용된다.
- [0061] 본원에서 사용될 때, "루푸스" 또는 "루푸스 병태"는 일반적으로 결합 조직을 공격하는 항체가 관여되는 자가면역 질병 또는 질환이다. 루푸스의 주요 형태는 피부 SLE 및 아급성 피부 SLE, 및 다른 종류의 루푸스 (신장염, 신장외, 뇌염, 소아, 비-신장, 원반형, 및 탈모 포함)를 포함하는 전신형, 즉 전신 홍반 루푸스 (SLE)이다 (일반적으로, [D'Cruz et al., 상기 문헌] 참조).
- [0062] 본원에서 상호교환가능하게 사용되는 용어 "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 의미하고, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 염기, 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해 중합체 내로 도입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드, 예를 들어 메틸화된 뉴클레오티드 및

이들의 유사체를 포함할 수 있다. 존재할 경우, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 전 또는 후에 실시될 수 있다. 뉴클레오타이드의 서열에는 비-뉴클레오타이드 성분이 개재될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 표지 성분과의 컨주게이션에 의해서와 같이 중합 후에 추가로 변형될 수 있다. 다른 종류의 변형은 예를 들어 "캡 (cap)", 하나 이상의 자연 발생하는 뉴클레오타이드의 유사체로의 치환, 뉴클레오타이드간 변형, 예를 들어 비하전 연결 (예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카르바메이트 등)을 갖는 및 하전 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)을 갖는 것, 매달린 모이어티, 예를 들어, 단백질 (예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩티드, 폴리-L-라이신 등)을 함유하는 것, 개입제 (intercalator) (예를 들어, 아크리딘, 소랄렌 등)를 갖는 것, 킬레이터 (chelator) (예를 들어, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화성 금속 등)를 함유하는 것, 알킬화제를 함유하는 것, 변형된 연결을 갖는 것 (예를 들어, 알파 아노머 (anomeric) 핵산 등), 및 비변형된 형태의 폴리뉴클레오타이드(들)를 포함한다. 또한, 당에 본래 존재하는 임의의 히드록실기는 예를 들어 포스포네이트기, 포스포에이트기에 의해 치환되거나, 표준 보호기에 의해 보호되거나, 또는 추가의 뉴클레오타이드에 대한 추가의 연결을 형성하기 위해 활성화되거나, 또는 고체 지지체에 컨주게이션될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 인산화되거나 또는 아민 또는 1 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 유기 캐핑 (capping) 기 모이어티로 치환될 수 있다. 또한, 다른 히드록실도 표준 보호기로 유도체화될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한 예를 들어 2'-O-메틸-2'-O-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보스, 카르보시클릭 당 유사체, α-아노머 당, 에피머 (epimeric) 당, 예를 들어 아라비노스, 자일로스 또는 릭로스, 피라노스 당, 푸라노스 당, 세도헥톨로스, 비환식 (acyclic) 유사체 및 비염기성 (abasic) 뉴클레오타이드 유사체, 예를 들어 메틸 리보시드를 포함하여, 일반적으로 당업계에 공지되어 있는 유사한 형태의 리보스 또는 데옥시리보스 당을 함유할 수 있다. 하나 이상의 포스포디에스테르 연결은 대체 연결기에 의해 치환될 수 있다. 이들 대체 연결기는 포스포에이트가 P(O)S ("티오에이트"), P(S)S ("디티오에이트"), "(O)NR₂" ("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH₂ ("로프아세탈")로 치환된 실시태양을 포함하고, 이로 제한되지 않으며, 여기서 각각의 R 또는 R'는 독립적으로 H 또는 임의로 에테르 (-O-) 연결을 함유하는 치환 또는 비치환된 알킬 (1-20 C), 아릴, 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 아르알킬이다. 폴리뉴클레오타이드 내의 모든 연결이 동일할 필요는 없다. 상기 설명은 RNA 및 DNA를 포함하여 본원에서 언급되는 모든 폴리뉴클레오타이드에 적용된다.

[0063] 본원에서 사용되는 바와 같이, "올리고뉴클레오타이드"는 길이가 적어도 약 7개의 뉴클레오타이드 및 약 250개 미만의 뉴클레오타이드인 짧은 단일가닥 폴리뉴클레오타이드를 의미한다. 올리고뉴클레오타이드는 합성된 것일 수 있다. 용어 "올리고뉴클레오타이드" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 서로 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오타이드에 대한 상기 설명은 올리고뉴클레오타이드에 대해 동등하고 완전히 적용될 수 있다.

[0064] 용어 "프라이머"는 핵산에 혼성화하고, 일반적으로 유리 3'-OH기를 제공함으로써 상보성 핵산의 중합을 허용할 수 있는 단일가닥 폴리뉴클레오타이드를 의미한다.

[0065] 용어 "PRO"는 연관 불균형 구역 (LD 구역) 내에 위치하는 핵산 서열에 의해 코딩되는 임의의 유전자에 의해 코딩되는 폴리펩티드를 의미하고, 여기서 LD 구역은 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 정보에 따라 결정된다. 한 실시태양에서, 본 발명의 PRO는 루푸스를 유발하는 것으로 당업계에 공지된 폴리펩티드를 포함하지 않는다. 한 실시태양에서, 본 발명의 PRO는 루푸스와 연관되는 것으로 당업계에 공지된 폴리펩티드, 예를 들어 IRF5, 또는 WO2007/019219의 표 5-9에 표시된 유전자에 의해 코딩되는 임의의 폴리펩티드를 포함하지 않는다. 용어 "PRO-연관 폴리뉴클레오타이드" 또는 "PRO와 연관된 핵산"은 유전자 변이를 보이는 것으로서 본원에서 확인된 위치를 포함하는 인접하는 서열을 포함하는 핵산 분자를 의미한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이를 보이는 위치는 인접하는 서열의 5' 또는 3' 말단부에 존재한다. 한 실시태양에서, 인접하는 서열에서 유전자 변이를 보이는 위치의 5' 및/또는 3' 구역에는 그 위치의 자연 발생하는 좌우 (flanking) 서열을 구성하는 하나 이상의 뉴클레오타이드가 존재한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이를 보이는 위치는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 나타난 SNP에 대응하는 위치이다.

[0066] 용어 "유전자 변이" 또는 "뉴클레오타이드 변이"는 참조 서열 (예를 들어, 일반적으로 발견되는 및/또는 야생형 서열, 및/또는 주요 대립유전자의 서열)에 비해 뉴클레오타이드 서열의 변화 (예를 들어, 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)과 같은 하나 이상의 뉴클레오타이드의 삽입, 결실, 역위, 또는 치환)를 의미한다. 이 용어는 또한 달리 나타내지 않으면 뉴클레오타이드 서열의 상보체의 대응하는 변화도 포함한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 체세포 다형성이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 생식계열 (germline) 다형성이다.

[0067] "단일 뉴클레오타이드 다형성", 또는 "SNP"는 상이한 대립유전자, 또는 다른 뉴클레오타이드가 집단에 존재하는 RNA 또는 DNA 분자 (예를 들어, 폴리뉴클레오타이드) 내의 단일 염기 위치를 의미한다. SNP 위치 (본원에서 SNP, SNP

부위, SNP 로커스로서 상호교환가능하게 언급됨)의 앞뒤에는 대립유전자의 고도로 보존된 서열 (예를 들어, 집단의 1/100 또는 1/1000 미만의 구성원에서 상이한 서열)이 존재한다. 개인은 각각의 SNP 위치에서 대립유전자에 대해 동종접합성 또는 이종접합성일 수 있다.

[0068] 용어 "아미노산 변이"는 참조 서열에 비해 아미노산 서열의 변화 (예를 들어, 내부 결실 또는 N- 또는 C-말단 절단과 같은 하나 이상의 아미노산의 삽입, 치환, 또는 결실)를 의미한다.

[0069] 용어 "변이"는 뉴클레오티드 변이 또는 아미노산 변이를 의미한다.

[0070] 용어 "SNP에 대응하는 뉴클레오티드 위치에서의 유전자 변이", "SNP에 대응하는 뉴클레오티드 위치에서의 뉴클레오티드 변이", 및 그의 문법적 변형 표현은 게놈 내의 SNP에 의해 점유되는 상대적인 대응하는 뉴클레오티드 위치에서 폴리뉴클레오티드 서열 내의 뉴클레오티드 변이를 의미한다. 또한, 이 용어는 달리 나타내지 않으면 뉴클레오티드 서열의 상보체에서의 대응하는 변이도 포함한다. 일부 실시태양에서, 뉴클레오티드 변이는 게놈 내의 SNP에 의해 점유되는 상대적인 대응하는 뉴클레오티드 위치에서 PRO-연관 폴리뉴클레오티드 서열 내에 존재한다.

[0071] 용어 "연관 불균형 구역 SNP", 또는 "LD 구역 SNP"는 DNA의 특이적 구역 내에 존재하는 SNP를 나타내고, 상기 구역은 적절한 핵산/게놈 마커, 예를 들어 코디네이트 (coordinate) 또는 SNP에 의해 묘사된다. 한 실시태양에서, LD 구역은 제1 코디네이트 (예를 들어, 코디네이트 A) 및 제2 코디네이트 (예를 들어, 코디네이트 B)에 의해 묘사되고, 상기 두 코디네이트는 동일한 염색체를 나타낸다. 한 실시태양에서, LD 구역은 제1 SNP (예를 들어, SNP A) 및 제2 SNP (예를 들어, SNP B)에 의해 묘사된다. 따라서, 한 실시태양에서, LD 구역 SNP는 제1 코디네이트에서 제2 코디네이트까지, 또는 제1 SNP에서 제2 SNP까지의 핵산 구역 (예를 들어, 게놈 구역) 내에 위치하는 SNP를 나타낸다. 상기 LD 구역 및 LD 구역 SNP의 예는 도 1-17 및 표 1-10에 제시되어 있다.

[0072] 용어 "어레이" 또는 "마이크로어레이"는 기관 상의 혼성화 가능 어레이 요소, 바람직하게는 폴리뉴클레오티드 프로브 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드)의 정렬된 배열 (ordered arrangement)을 의미한다. 기질은 고체 기관, 예를 들어 유리 슬라이드, 또는 반-고체 기관, 예를 들어 니트로셀룰로스 막일 수 있다.

[0073] 용어 "증폭"은 하나 이상의 카피 (copy)의 참조 핵산 서열 또는 그의 상보체의 생산 과정을 의미한다. 증폭은 선형 또는 기하급수적 (예를 들어, PCR)일 수 있다. "카피"는 반드시 주형 서열에 대해 완전한 서열 상보성 또는 동일성을 의미하지는 않는다. 예를 들어, 카피는 뉴클레오티드 유사체, 예를 들어 테옥시이노신, 인위적인 서열 변경 (예를 들어, 혼성화 가능하지만 완전히 상보성이지는 않은 프라이머를 통해 주형에 도입된 서열 변경), 및/또는 증폭 동안 발생하는 서열 오류를 포함할 수 있다.

[0074] 용어 "대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드"는 뉴클레오티드 변이 (일반적으로 치환)를 포함하는 표적 핵산의 구역에 혼성화하는 올리고뉴클레오티드를 의미한다. "대립유전자 특이적 혼성화"는 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드가 그의 표적 핵산에 혼성화할 때, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드 내의 뉴클레오티드가 뉴클레오티드 변이와 특이적으로 염기쌍을 형성함을 의미한다. 특정 뉴클레오티드 변이에 대해 대립유전자 특이적 혼성화가 가능한 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드는 그 변이에 대해 "특이적"인 것으로 언급된다.

[0075] 용어 "대립유전자 특이적 프라이머"는 프라이머인 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드를 나타낸다.

[0076] 용어 "프라이머 연장 분석"은 뉴클레오티드가 핵산에 부가되어, 직접 또는 간접적으로 검출되는 보다 긴 핵산, 또는 "연장 산물"을 생성시키는 분석을 의미한다. 뉴클레오티드는 부가되어 핵산의 5' 또는 3' 말단부를 연장시킬 수 있다.

[0077] 용어 "대립유전자 특이적 뉴클레오티드 도입 분석"은 프라이머가 (a) 뉴클레오티드 변이의 3' 또는 5'인 구역에서 표적 핵산에 혼성화되고 (b) 중합효소에 의해 연장되어, 뉴클레오티드 변이에 상보성인 연장 산물 뉴클레오티드 내로 도입되는 프라이머 연장 분석을 의미한다.

[0078] 용어 "대립유전자 특이적 프라이머 연장 분석"은 대립유전자 특이적 프라이머가 표적 핵산에 혼성화되어 연장되는 프라이머 연장 분석을 의미한다.

[0079] 용어 "대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드 혼성화 분석"은 (a) 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드가 표적 핵산에 혼성화되고 (b) 혼성화가 직접 또는 간접적으로 검출되는 분석을 의미한다.

[0080] 용어 "5' 뉴클레아제 분석"은 표적 핵산에 대한 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드의 혼성화가 혼성화된 프로브의 뉴클레오티드 분해 (nucleolytic) 절단을 유발하여 검출가능한 신호를 생성시키는 분석을 의미한다.

- [0081] 용어 "분자 비콘을 사용하는 분석"은 표적 핵산에 대한 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드의 혼성화가 유리 올리고뉴클레오타이드에 의해 방출되는 검출가능한 신호 수준보다 더 높은 검출가능한 신호 수준을 생성시키는 분석을 의미한다.
- [0082] 용어 "올리고뉴클레오타이드 라이게이션 분석"은 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 및 제2 올리고뉴클레오타이드가 표적 핵산에 대해 서로 인접하여 혼성화되고 함께 라이게이션되며 (직접 또는 개재 뉴클레오타이드를 통해 간접적으로), 라이게이션 생성물이 직접 또는 간접적으로 검출되는 분석을 의미한다.
- [0083] 용어 "표적 서열", "표적 핵산", 또는 "표적 핵산 서열"은 일반적으로 증폭에 의해 생성된 상기 표적 핵산의 카피를 포함하여, 뉴클레오타이드 변이가 존재하는 것으로 의심되거나 존재하는 것으로 알려진 관심 있는 폴리뉴클레오타이드 서열을 의미한다.
- [0084] 본원에서 사용되는 바와 같이, 루푸스가 발병할 "위험이 있는" 대상은 검출가능한 질병 또는 질병의 증상을 갖거나 갖지 않을 수 있고, 본원에 기재된 치료 방법 이전에 검출가능한 질병 또는 질병의 증상을 보였거나 보이지 않았을 수 있다. "위험이 있는"은 대상이 본원에 기재되고 당업계에 공지되어 있는 바와 같은, 루푸스 발병과 상호 관련되는 측정가능한 파라미터인 하나 이상의 위험 인자를 갖는다는 것을 나타낸다. 하나 이상의 상기 위험 인자를 갖는 대상의 루푸스 발병 확률은 하나 이상의 상기 위험 인자(들)이 존재하지 않는 대상보다 더 높다. 예를 들어, 일부 실시태양에서, 루푸스가 발병할 "위험이 있는" 대상은 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 1개 이상의 SNP를 포함하는 유전자 시그니처를 갖는다. 다른 실시태양에서, 루푸스가 발병할 "위험이 있는" 대상은 표 6에 제시된 1개 이상의 SNP를 포함하는 유전자 시그니처를 갖는다.
- [0085] 용어 "검출"은 직접적인 및 간접적인 검출을 포함하는, 임의의 검출 수단을 포함한다.
- [0086] 용어 "진단"은 분자 또는 병리학적 상태, 질병 또는 병태의 확인 또는 분류를 의미하기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들어, "진단"은 특정 종류의 루푸스 병태, 예를 들어, SLE의 확인을 의미할 수 있다. 또한, "진단"은 예를 들어 조직/장기 침범 (예를 들어, 루푸스 신장염), 분자 양상 (예를 들어, 특정 유전자 또는 핵산 구역 내의 유전자 변이(들)를 특징으로 하는 환자 하위 집단)에 의한 루푸스의 특정 서브타입의 분류를 의미할 수 있다.
- [0087] 용어 "진단을 돕는 것"은 루푸스의 특정 종류의 증상 또는 병태의 존재, 정도 또는 다른 특성에 대한 임상 결정을 돕는 방법을 의미하기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들어, 루푸스의 진단을 돕는 방법은 개인으로부터의 생물학적 샘플에서 1개 이상의 SNP의 양의 측정 또는 그의 존재 또는 부재의 검출을 포함할 수 있다. 다른 예에서, 루푸스의 진단을 돕는 방법은 개인으로부터의 생물학적 샘플에서 1개 이상의 SNP의 양을 측정하거나 또는 그의 존재를 검출하는 것을 포함할 수 있다.
- [0088] 용어 "예측"은 본원에서 예를 들어 루푸스와 같은 자가면역 질병의 재발, 급성 악화 (flaring), 및 약물 내성을 포함하여 자가면역 질환에 기인하는 질병 증상이 발생할 가능성의 예측을 의미하기 위해 사용된다. 용어 "예상"은 본원에서 환자가 약물 또는 약물 세트에 대해 유리하게 또는 불리하게 반응할 가능성을 나타내기 위해 사용된다. 한 실시태양에서, 예상은 상기 반응의 정도에 관련된다. 한 실시태양에서, 예상은 환자가 치료, 예를 들어 특정 치료제를 사용한 치료 후에 질병 재발을 보이지 않으면서 일정 기간 동안 생존하거나 개선되는지의 여부 및/또는 확률에 관련된다. 본 발명의 예상 방법은 임의의 특정 환자에 대한 가장 적절한 치료 방식을 선택함으로써 치료를 결정하기 위해 임상적으로 사용될 수 있다. 본 발명의 예상 방법은 환자가 예를 들어 제시된 치료제 또는 조합제의 투여, 수술적 개입, 스테로이드 치료 등을 포함하여 치료 요법, 예를 들어 제시된 치료 요법에 유리하게 반응할 것인지, 또는 치료 요법 후에 환자가 장기간 생존할 것인지를 예측할 때 가치있는 도구이다. SLE의 진단은 현재의 ACR (American College of Rheumatology) 기준에 따를 수 있다. 활동성 질병은 하나의 BILAG (British Isles Lupus Activity Group)의 "A" 기준 또는 2개의 BILAG "B" 기준에 의해 규정될 수 있다. 문헌 [Tan et al. "The Revised Criteria for the Classification of SLE" Arth Rheum 25 (1982)] 으로부터 변경 적용된 SLE 진단에 사용되는 몇몇 징후, 증상, 또는 다른 지표는 협부 발진, 예를 들어 뺨 상의 발진, 원반형 발진, 또는 융기한 적색 반점, 광과민증, 예를 들어 피부 발진의 발생 또는 증가를 야기하는 일광에 대한 반응, 구내 궤양, 예를 들어 코 또는 입 안의 궤양, 대체로 무통의, 관절염, 예를 들어 2개 이상의 말초 관절을 포함하는 비-미관 관절염 (관절 주위의 뼈가 파괴되지 않은 관절염), 장막염, 흉막염 또는 심장막염, 신장 질환, 예를 들어 소변 내의 과도한 단백질 (0.5 g/일 또는 시험 막대에서 3+ 초과) 및/또는 세포 원주 (소변 및/또는 혈액구 및/또는 신장 세뇨관 세포로부터 유도된 비정상 성분), 신경학적 징후, 증상, 또는 다른 지표, 발작 (경련), 및/또는 그러한 효과를 야기하는 것으로 알려진 약물 또는 대사성 교란의 부재 하의 정신병, 및 혈액학적 징후, 증상, 또는 다른 지표, 예를 들어 용혈성 빈혈 또는 백혈구감소증 (4,000 세포/세제곱밀리리터

터 미만의 백혈구 수) 또는 림프구감소증 (1,500 림프구/세제곱밀리미터 미만) 또는 저혈소판증 (100,000 혈소판/세제곱밀리미터 미만)일 수 있다. 백혈구감소증 및 림프구감소증은 일반적으로 2회 이상 검출되어야 한다. 저혈소판증은 일반적으로 그를 유발하는 것으로 알려진 약물의 부재 하에 검출되어야 한다. 본 발명은 루푸스의 상기 징후, 증상, 또는 다른 지표로 제한되지 않는다.

[0089] 본원에서 사용될 때, "치료"는 치료되는 개인 또는 세포의 자연적인 과정을 변경시키기 위한 시도의 임상적 개입을 나타내고, 임상 병리학의 진행 전에 또는 진행 동안 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는 질병 또는 그의 병태 또는 증상의 발생 또는 재발의 억제, 질병의 병태 또는 증상의 완화, 질병의 임의의 직접적인 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 질병 진행 속도의 감소, 질병 상태의 개선 또는 완화, 및 경감 또는 개선된 예후의 달성을 포함한다. 일부 실시태양에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 질병 또는 질환의 발병을 지연시키기 위한 시도에서 유용하다.

[0090] "유효량"은 요구되는 치료 또는 예방 결과를 달성하기 위해, 필요한 용량에서 및 기간 동안 효과적인 양을 의미한다. 치료제의 "치료 유효량"은 개인의 질병 상태, 연령, 성별 및 중량, 개인에서 요구되는 반응을 유도하기 위한 항체의 능력과 같은 인자에 따라 상이할 수 있다. 치료 유효량은 또한 치료제의 임의의 독성 또는 유해 효과보다 치료상 유익한 효과가 더 큰 양이다. "예방 유효량"은 목적하는 예방 결과를 달성하기 위해, 필요한 용량에서 및 기간 동안 효과적인 양을 의미한다. 반드시서 아니지만, 일반적으로 예방 용량은 질병 발생 전에 또는 질병의 초기 단계에 대상에 사용되기 때문에, 예방 유효량은 치료 유효량 미만일 것이다.

[0091] "개인", "대상" 또는 "환자"는 척추동물이다. 특정 실시태양에서, 척추동물은 포유동물이다. 포유동물은 영장류 (인간 및 비인간 영장류 포함) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 특정 실시태양에서, 포유동물은 인간이다.

[0092] 본원에서 사용되는 바와 같이, "환자 하위 집단", 및 그의 문법적 변형 표현은 환자 하위세트를 그 하위세트가 속하는 보다 넓은 질병 카테고리에서 다른 하위세트와 구별시키는 하나 이상의 특유한 측정가능한 및/또는 확인 가능한 특성을 갖는 특징을 갖는 환자 하위 집단을 의미한다. 그러한 특징은 질병 하위 카테고리 (예를 들어, SLE, 루푸스 신장염), 성별, 생활방식, 건강력, 침범된 장기/조직, 치료력 등을 포함한다. 한 실시태양에서, 환자 하위 집단은 특정 뉴클레오타이드 위치 및/또는 구역에서의 유전자 변이 (예를 들어 SNP)를 포함하는 유전자 시그너처라는 특징을 갖는다.

[0093] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "샘플"은 예를 들어 물리적, 생화학적, 화학적 및/또는 생리학적인 특징을 기초로 하여 특성화 및/또는 확인되는 세포성 및/또는 다른 분자 엔티티를 함유하는 관심 있는 대상으로부터 얻거나 상기 대상으로부터 유도된 조성물을 의미한다. 예를 들어, 구문 "질병 샘플" 및 그의 변형 표현은 특성화되는 세포성 및/또는 분자 엔티티를 함유하는 것으로 예상되거나 알려진 관심 있는 대상으로부터 얻은 임의의 샘플을 의미한다.

[0094] "조직 또는 세포 샘플"은 대상 또는 환자의 조직으로부터 유도된 유사한 세포의 컬렉션 (collection)을 의미한다. 조직 또는 세포 샘플의 공급원은 신선한, 동결 및/또는 보존된 장기 또는 조직 샘플 또는 생검 또는 흡인물로부터의 고형 조직; 혈액 또는 임의의 혈액 구성분; 체액, 예를 들어 뇌척수액, 양수, 복수, 또는 간질액; 대상의 임신 또는 발생 중의 임의의 시간으로부터의 세포일 수 있다. 또한, 조직 샘플은 1차 또는 배양된 세포 또는 세포주일 수 있다. 임의로, 조직 또는 세포 샘플은 환부 조직/장기로부터 얻는다. 조직 샘플은 자연에서 조직과 자연히 서로 혼합되지 않는 화합물, 예를 들어 보존제, 항응고제, 버퍼, 고정제, 영양분, 항생제 등을 함유할 수 있다. "참조 샘플", "참조 세포", "참조 조직", "대조 샘플", "대조 세포", 또는 "대조 조직"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 그를 확인하기 위해 본 발명의 방법 또는 조성물이 사용되는 질병 또는 병태로 시달리지 않는 것으로 알려지거나 생각되는 공급원으로부터 얻은 샘플, 세포 또는 조직을 의미한다. 한 실시태양에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포, 또는 대조 조직은 질병 또는 병태가 본 발명의 조성물 또는 방법을 사용하여 확인되는 동일한 대상 또는 환자의 신체의 건강한 부분으로부터 얻는다. 한 실시태양에서, 참조 샘플, 참조 세포, 참조 조직, 대조 샘플, 대조 세포, 또는 대조 조직은 질병 또는 병태가 본 발명의 조성물 또는 방법을 사용하여 확인되는 대상 또는 환자가 아닌 개인의 신체의 건강한 부분으로부터 얻는다.

[0095] 본 발명의 목적을 위해, 조직 샘플의 "절편"은 조직 샘플의 하나의 일부 또는 조각 (piece), 예를 들어 조직 샘플로부터 절단된 조직 또는 세포의 얇은 슬라이스 (slice)를 의미한다. 조직 샘플의 동일한 절편이 형태 및 분자 수준 모두에서 분석되거나, 또는 단백질 및 핵산 모두에 대해 분석되는 방법을 본 발명이 포함함을 이해한다면, 조직 샘플의 다수의 절편을 채취하여 본 발명에 따른 분석에 적용될 수 있음이 이해된다.

- [0096] "상호 관련시키다" 또는 "상호 관련시키는"은 제1 분석 또는 프로토콜의 성능 및/또는 결과를 제2 분석 또는 프로토콜의 성능 및/또는 결과와 임의의 방식으로 비교하는 것을 의미한다. 예를 들어, 제2 프로토콜을 수행할 때 제1 분석 또는 프로토콜의 결과를 이용할 수 있고/있거나, 제2 분석 또는 프로토콜을 수행하여야 하는지를 결정하기 위해 제1 분석 또는 프로토콜의 결과를 이용할 수 있다. 유전자 발현 분석 또는 프로토콜의 실시태양에 대해서, 특이적 치료 요법을 수행하여야 하는지를 결정하기 위해 유전자 발현 분석 또는 프로토콜의 결과를 이용할 수 있다.
- [0097] 본원에서 사용될 때 단어 "표지"는 시약, 예를 들어 핵산 프로브 또는 항체에 직접 또는 간접적으로 컨주게이팅되거나 융합되어, 컨주게이팅되거나 또는 융합된 시약의 검출을 용이하게 하는 화합물 또는 조성물을 의미한다. 표지는 그 자체로 검출가능할 수 있거나 (예를 들어, 방사성 동위원소 표지 또는 형광 표지), 효소 표지의 경우에 기질 화합물 또는 조성물의 검출가능한 화학적 변형을 촉매할 수 있다.
- [0098] "의약"은 질병, 질환, 및/또는 병태의 치료를 위한 활성 약물이다. 한 실시태양에서, 질병, 질환, 및/또는 병태는 루푸스 또는 그의 증상 또는 부작용이다.
- [0099] 본 발명에 따라 사용될 때 특정 치료제 또는 치료 방식에 대한 "증가된 내성"이라는 용어는 약물의 표준 용량 또는 표준 치료 프로토콜에 대한 반응의 감소를 의미한다.
- [0100] 본 발명에 따라 사용될 때 특정 치료제 또는 치료 방식에 대한 "감소된 감수성"이라는 용어는 치료제의 표준 용량 또는 표준 치료 프로토콜에 대한 반응의 감소를 의미하고, 여기서 감소된 반응은 치료제의 용량, 또는 치료 강도를 증가시킴으로써 (적어도 부분적으로) 보상될 수 있다.
- [0101] "환자 반응"은 (1) 지연 및 완전한 정지를 포함하여 일정 정도의 질병 진행의 억제; (2) 질병 에피소드 및/또는 증상의 수 감소; (3) 병변 크기의 감소; (4) 인접 말초 장기 및/또는 조직 내로의 질병 세포 침윤의 억제 (즉, 감소, 지연 또는 완전한 정지); (5) 질병 전염의 억제 (즉, 감소, 지연 또는 완전한 정지); (6) 질병 병변의 퇴화 또는 제거를 야기할 수 있는 (그러나, 반드시 그럴 필요는 없음) 자가-면역 반응의 감소; (7) 질환관 연관된 하나 이상의 증상의 일정 정도의 경감; (8) 치료 후에 질병을 보이지 않는 기간의 증가; 및/또는 (9) 치료 후에 소정의 시점에서 사망률의 감소를 포함하고 이로 제한되지 않는, 환자에 대한 유익함을 나타내는 임의의 종료점 (endpoint)을 사용하여 평가될 수 있다.
- [0102] 용어 "길항제"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 폴리펩티드, 예를 들어 PRO의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전히 억제하거나 중화시키거나, 또는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산의 전사 또는 번역을 부분적으로 또는 완전히 억제하는 임의의 분자를 포함한다. 예시적인 길항제 분자는 길항제 항체, 폴리펩티드 단편, 올리고펩티드, 유기 분자 (소분자 포함), 및 안티센스 핵산을 포함하고 이로 제한되지 않는다.
- [0103] 용어 "효능제"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 폴리펩티드, 예를 들어 PRO의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전히 모방하거나, 또는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산의 전사 또는 번역을 증가시키는 임의의 분자를 포함한다. 예시적인 효능제 분자는 효능제 항체, 폴리펩티드 단편, 올리고펩티드, 유기 분자 (소분자 포함), PRO-연관 폴리뉴클레오티드, PRO 폴리펩티드, 및 PRO-Fc 융합체를 포함하고 이로 제한되지 않는다.
- [0104] "PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드를 표적으로 하는 치료제"는 본원에 기재된 임의의 PRO 효능제 또는 길항제를 포함하는, PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드의 발현 및/또는 활성에 영향을 주는 임의의 물질을 의미하고, 당업계에 공지된 상기 치료제 및 장래에 개발될 치료제를 포함한다.
- [0105] "루푸스 치료제", "루푸스를 치료하기 위해 효과적인 치료제", 및 그의 문법적 변형 표현은 본원에서 사용되는 바와 같이 유효량이 제공될 경우, 루푸스에 걸린 대상에서 치료상 이익을 제공하는 것으로 알려졌거나, 임상적으로 밝혀졌거나, 임상시에 의해 예상되는 물질을 의미한다. 한 실시태양에서, 상기 구문은 제조사에 의해 마케팅되거나 또는 유효량이 제공될 경우 루푸스에 걸린 대상에서 치료 효과를 제공하는 것으로 예상되는, 임상적으로 승인된 물질로서 임상시에 의해 사용되는 물질을 포함한다. 한 실시태양에서, 루푸스 치료제는 아세틸살리실산 (예를 들어, 아스피린), 이부프로펜 (Motrin), 나프록센 (Naprosyn), 인도메타신 (Indocin), 나부메톤 (Relafen), 톨메틴 (Tolectin), 및 치료상 동등한 활성 성분(들)을 포함하는 임의의 다른 실시태양을 포함하는 비-스테로이드성 소염 약물 (NSAID) 및 그의 제제를 포함한다. 한 실시태양에서, 루푸스 치료제는 아세트아미노펜 (예를 들어, 틸레놀), 코르티코스테로이드, 또는 항-말라리아제 (예를 들어, 클로로퀸, 히드록시클로로퀸)를 포함한다. 한 실시태양에서, 루푸스 치료제는 면역조절 약물 (예를 들어, 아자티오프린, 시클로포스파미드, 메토타렉세이트, 시클로스포린)을 포함한다. 한 실시태양에서, 루푸스 치료제는 항-B 세포제 (예를 들어, 항-CD20 (예를 들어, 리툽시맙), 항-CD22), 항-시토킨제 (예를 들어, 항-종양 괴사 인자 α , 항-인터루킨-1수

용체 (예를 들어, 아나킨라), 항-인터루킨 10, 항-인터루킨 6 수용체, 항-인터페론 알파, 항-B-림프구 자극제), 동시자극 억제제 (예를 들어, 항-CD154, CTLA4-Ig (예를 들어, 아바타셉트)), B-세포 아네르기 (anergy)의 조절제 (예를 들어, LJP 394 (예를 들어, 아베티무스))이다. 한 실시태양에서, 루푸스 치료제는 호르몬 치료제 (예를 들어, DHEA), 및 항-호르몬 요법제 (예를 들어, 항-프로락틴제 브로모크립틴)를 포함한다. 한 실시태양에서, 루푸스 치료제는 면역억제를 제공하는 물질로서, 항-보체 인자 (예를 들어, 항-C5a), T 세포 백신제, T-세포 수용체 제타 사슬을 사용한 세포 형질감염, 또는 펩티드 요법제 (예를 들어 항-DNA 개별특이형 (idiotype)을 표적으로 하는 에드라티드)이다.

[0106] "판매 승인된", 또는 "치료제로서 승인된" 치료제, 또는 이들 구문의 문법적 변형 표현은 본원에서 사용되는 바와 같이, 특정 질환 (예를 들어, 루푸스)의 치료를 위한 상업 기관 (예를 들어, 영리 조직) 또는 환자 하위 집단 (예를 들어, 루푸스 신장염 환자, 특정 민족성, 성별, 생활방식, 질병 위험 프로파일의 환자 등)에 의해 및/또는 이를 통해 및/또는 이를 위해, 관련 정부 기구 (예를 들어, 연방, 주 또는 지역 규제청, 부, 국)에 의해 판매가 승인, 인가, 등록 또는 허가된 물질 (예를 들어, 약물 제제, 의약의 형태로)을 의미한다. 관련 정부 기구는 예를 들어 Food and Drug Administration (FDA), European Medicines Evaluation Agency (EMA), 및 그의 동등한 기구를 포함한다.

[0107] "항체" (Ab) 및 "면역글로불린" (Ig)은 유사한 구조적 특징을 갖는 당단백질을 의미한다. 항체가 특정 항원에 대한 결합 특이성을 보이지만, 면역글로불린은 항체, 및 일반적으로 항원 특이성이 결여된 다른 항체 유사 분자를 모두 포함한다. 상기 유사 분자의 폴리펩티드는 예를 들어 림프계에 의해 낮은 수준으로, 골수종에 의해 증가된 수준으로 생산된다.

[0108] 용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 가장 넓은 의미로 상호교환가능하게 사용되고, 모노클로날 항체 (예를 들어, 전장 또는 무손상 모노클로날 항체), 폴리클로날 항체, 일가 항체, 다가 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 요구되는 생물학적 활성을 보이는 이중특이적 항체)를 포함하고, 특정 항체 단편 (본원에 보다 상세히 설명된 바와 같은)도 포함할 수 있다. 항체는 키메라, 인간, 인간화 및/또는 친화도 성숙 항체일 수 있다.

[0109] 용어 "항-PRO 항체" 또는 "PRO에 결합하는 항체"는 PRO를 표적화할 때 항체가 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 PRO에 결합할 수 있는 항체를 의미한다. 바람직하게는, 항-PRO 항체가 비관련된, 비-PRO 단백질에 결합하는 정도는 예를 들어 방사성 면역검정 (RIA)에 의해 측정될 때 항체의 PRO에 대한 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시태양에서, PRO에 결합하는 항체의 해리 상수 (K_d)는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, $\leq 10 nM$, $\leq 1 nM$, 또는 $\leq 0.1 nM$ 이다. 특정 실시태양에서, 항-PRO 항체는 상이한 종으로부터의 PRO 사이에서 보존된 PRO의 에피토프에 결합한다.

[0110] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 아래에서 규정되는 항체 단편이 아니라, 그의 실질적으로 무손상 형태의 항체를 나타내도록 상호 교환가능하게 사용된다. 상기 용어는 특히 Fc 구역을 포함하는 중쇄를 갖는 항체를 의미한다.

[0111] "항체 단편"은 바람직하게는 그의 항원 결합을 포함하는 무손상 항체의 일부를 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 단일쇄 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.

[0112] 항체를 파파인으로 소화시키면 각각 단일 항원 결합 부위를 갖는, "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원 결합 단편, 및 나머지 "Fc" 단편 (이 명칭은 쉽게 결정화하는 그의 능력을 반영한다)이 생성된다. 항체를 펩신으로 처리하면, 2개의 항원 결합 부위를 갖고 여전히 항원에 가교결합할 수 있는 F(ab')₂ 단편이 생성된다.

[0113] "Fv"는 완전한 항원 결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 한 실시태양에서, 두 사슬로 이루어진 Fv 중은 강한 비공유 회합 상태의 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 가변 구역 도메인의 이량체로 이루어진다. 종합적으로, Fv의 6개의 CDR은 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 3개의 CDR만을 포함하는 Fv의 절반)이라도 전체 결합 부위보다는 낮은 친화도이지만 항원을 인식하고 결합하는 능력을 갖는다.

[0114] Fab 단편은 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 함유하고, 또한 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 구역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카르복시 말단에 몇 개의 잔기가 추가되었다는 점에서 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 본원에서 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)이 유리 티올기를 보유하는 Fab'의 명칭이다. F(ab')₂ 항체 단편은 본래 그들 사이에 힌지

시스템을 갖는 한쌍의 Fab' 단편으로서 생산되었다. 항체 단편의 다른 화학 커플링도 당업계에 공지되어 있다.

[0115] "단일쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 항체 도메인을 포함하고, 이들 도메인은 단일 폴리펩티드 사슬 내에 존재한다. 일반적으로, scFv 폴리펩티드는 scFv가 항원 결합을 위한 목적하는 구조를 형성할 수 있도록 하는, VH 및 VL 도메인 사이의 폴리펩티드 링커 (linker)를 추가로 포함한다. scFv에 관해서는 문헌 [Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다.

[0116] 용어 "디아바디"는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 작은 항체 단편을 의미하고, 이 단편은 동일한 폴리펩티드 사슬 (VH-VL) 내의 경쇄 가변 도메인 (VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함한다. 동일한 사슬 상의 2개의 도메인 사이의 페어링을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인은 다른 사슬의 상보성 도메인과 페어링하여 2개의 항원 결합 부위를 생성시키게 된다. 디아바디는 이가 또는 이중특이적일 수 있다. 디아바디는 예를 들어 EP 404,097; WO 93/11161; 및 문헌 [Hudson et al. (2003) Nat. Med. 9:129-134]; 및 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)]에 상세하게 기재되어 있다. 트리아바디 및 테트라바디는 또한 문헌 [Hudson et al. (2003) Nat. Med. 9:129-134]에 기재되어 있다.

[0117] 본원에서 사용되는 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 수득된 항체를 말하는데, 즉 이러한 집단을 구성하는 개개의 항체는 소량으로 존재할 수도 있는 가능한 돌연변이, 예를 들어, 자연 발생하는 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 따라서, 변경 표현 "모노클로날"은 별개의 항체의 혼합물이 아니라, 항체의 특성을 나타낸다. 특정 실시태양에서, 상기 모노클로날 항체는 일반적으로 표적에 결합하는 폴리펩티드 서열을 포함하는 항체를 포함하고, 표적 결합 폴리펩티드 서열은 다수의 폴리펩티드 서열로부터 단일 표적 결합 폴리펩티드 서열의 선택을 포함하는 과정에 의해 얻었다. 예를 들어, 선택 과정은 하이브리도마 클론, 파지 클론, 또는 재조합 DNA 클론의 풀과 같은 다수의 클론으로부터 특유한 클론의 선택일 수 있다. 선택된 표적 결합 서열은 예를 들어 표적에 대한 친화도를 개선시키고, 표적 결합 서열을 인간화시키고, 세포 배양액에서 그의 생산을 개선시키고, 생체 내에서 그의 면역원성을 감소시키고, 다중특이적 항체를 생산하기 위해서 추가로 변경될 수 있고, 변경된 표적 결합 서열을 포함하는 항체도 본 발명의 모노클로날 항체임을 이해하여야 한다. 상이한 결정자 (에피토프)에 대해 작용하는 상이한 항체를 일반적으로 포함하는 폴리클로날 항체 제제에 비해, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정자에 대해 작용한다. 그의 특이성에 추가하여, 모노클로날 항체 제제는 일반적으로 다른 면역글로불린에 의해 오염되지 않았다는 점에서 유리하다.

[0118] 변경 표현 "모노클로날"은 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 얻은 항체의 특성을 나타내고, 임의의 특정 방법에 의한 항체 제조를 필요로 하는 것으로서 생각하지 않아야 한다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체는 예를 들어 하이브리도마 방법 (예를 들어, [Kohler et al., Nature, 256: 495 (1975)]; [Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); [Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N. Y., 1981)]), 재조합 DNA 방법 (예를 들어, 미국 특허 4,816,567 참조), 파지 디스플레이 기술 (예를 들어, [Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991)]; [Marks et al., J Mol. Biol. 222: 581-597 (1992)]; [Sidhu et al., J Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004)]; [Lee et al., J Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004)]; [Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004)]; 및 [Lee et al., J Immunol. Methods 284(1-2):119-132(2004)] 참조), 및 인간 면역글로불린 로커스 또는 인간 면역글로불린 서열을 코딩하는 유전자의 일부 또는 전부를 갖는 동물에서 인간 또는 인간-유사 항체를 생산하는 기술 (예를 들어, WO98/24893; WO96/34096; WO96/33735; WO91/10741; [Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551 (1993)]; [Jakobovits et al., Nature 362: 255-258 (1993)]; [Bruggemann et al., Year in Immunol. 7:33 (1993)]; 미국 특허 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,661,016; [Marks et al., Bio.Technology 10: 779-783 (1992)]; [Lonberg et al., Nature 368: 856-859 (1994)]; [Morrison, Nature 368: 812-813 (1994)]; [Fishwild et al., Nature Biotechnol. 14: 845-851 (1996)]; [Neuberger, Nature Biotechnol. 14: 826 (1996)] 및 [Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93 (1995)] 참조)을 포함하는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0119] 본원에서 모노클로날 항체는 구체적으로 요구되는 생물학적 활성을 보이는 한, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종에서 유래하거나 특정 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체의 대응하는 서열과 동일하거나 상동성

이고 사슬(들)의 나머지는 다른 종에서 유래하거나 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체의 대응하는 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라" 항체 및 상기 항체의 단편을 포함한다 (미국 특허 4,816,567; 및 [Morrison et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)]).

[0120] 비인간 (예, 쥐) 항체의 "인간화" 형태는 비인간 면역글로불린에서 유래한 최소 서열을 포함하는 키메라 항체이다. 한 실시태양에서, 인간화 항체는 수여자의 추가변 구역의 잔기가 요구되는 특이성, 친화도 및/또는 능력을 갖는 비인간 종 (공여 항체), 예를 들어 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류의 추가변 구역의 잔기로 치환된 인간 면역글로불린 (수여 항체)이다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 프레임워크 구역 (FR) 잔기는 대응하는 비인간 잔기로 치환된다. 또한, 인간화 항체는 수여 항체 또는 공여 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체 성능을 보다 개선하기 위한 것이다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 하나, 일반적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 추가변 루프는 비인간 면역글로불린의 추가변 루프에 대응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 면역글로불린 서열의 FR이다. 인간화 항체는 또한 임의로 적어도 일부의 면역글로불린 불변 구역 (Fc), 일반적으로 인간 면역글로불린의 불변 구역을 포함할 것이다. 보다 상세한 내용은 문헌 [Jones et al., Nature 321: 522-525 (1986)]; [Riechmann et al., Nature 332: 323-329 (1988)]; 및 [Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2: 593-596 (1992)]을 참조한다. 또한, 다음 검토 문헌 및 이 문헌에 인용된 문헌을 참조한다: [Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998)]; [Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995)]; [Hurle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994)].

[0121] "인간 항체"는 인간에 의해 생산되고/되거나 본원에 개시되는 임의의 인간 항체 제조 기술을 사용하여 제조된 항체에 대응하는 아미노산 서열을 포함하는 항체이다. 상기 기술은 인간-유래된 조합 라이브러리, 예를 들어 파지 디스플레이 라이브러리의 스크리닝 (예를 들어, [Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)] 및 [Hoogenboom et al., Nucl Acids Res., 19: 4133-4137 (1991)] 참조); 인간 모노클로날 항체를 생산을 위해 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주의 사용 (예를 들어, [Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984)]; [Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 55-93 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)]; 및 [Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)] 참조); 및 내인성 면역글로불린 생산의 부재 하에 인간 항체의 전체 레퍼토리 (repertoire)를 생산할 수 있는 트랜스제닉 동물 (예를 들어, 마우스)에서 모노클로날 항체의 생산 (예를 들어, [Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 2551 (1993)]; [Jakobovits et al., Nature, 362: 255 (1993)]; [Bruggermann et al., Year in Immunol., 7: 33 (1993)] 참조)을 포함한다. 인간 항체의 상기 정의는 비인간 동물로부터의 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 제외한다.

[0122] "친화도 성숙" 항체는 변경(들)을 갖지 않는 모 항체에 비해 항원에 대한 항체의 친화도를 개선시키는, 그의 하나 이상의 CDR에 하나 이상의 변경을 갖는 항체이다. 한 실시태양에서, 친화도 성숙 항체는 표적 항원에 대한 나노몰 또는 심지어 피코몰의 친화도를 갖는다. 친화도 성숙 항체는 당업계에 공지된 과정에 의해 제조된다. 문헌 [Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)]에서는 VH 및 VL 도메인 셔플링 (shuffling)에 의한 친화도 성숙을 설명하고 있다. HVR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이 유발은 문헌 [Barbas et al., Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994)]; [Schier et al., Gene 169:147-155 (1995)]; [Yelton et al., J. Immunol. 155:1994-2004 (1995)]; [Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995)]; 및 [Hawkins et al., J. Mol. Biol., 226:889-896 (1992)]에 기재되어 있다.

[0123] "차단 항체" 또는 "길항제 항체"는 자신이 결합하는 항원의 생물학적 활성을 억제하거나 저하시키는 항체이다. 특정 차단 항체 또는 길항제 항체는 항원의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전히 억제한다.

[0124] "소분자" 또는 "작은 유기 분자"는 본원에서 분자량이 약 500 달톤 이하인 유기 분자로서 규정된다.

[0125] "PRO-결합 올리고펩티드" 또는 "PRO에 결합하는 올리고펩티드"는 PRO를 표적화할 때 올리고펩티드가 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 PRO에 결합할 수 있는 항체를 의미한다. 특정 실시태양에서, PRO-결합 올리고펩티드가 비관련된, 비-PRO 단백질에 결합하는 정도는 예를 들어 표면 플라즈몬 공명 분석에 의해 측정될 때 PRO-결합 올리고펩티드의 PRO에 대한 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시태양에서, PRO-결합 올리고펩티드의 해리 상수 (Kd)는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 이다.

[0126] "PRO-결합 유기 분자" 또는 "PRO에 결합하는 유기 분자"는 PRO를 표적화할 때 유기 분자가 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 PRO에 결합할 수 있는, 본원에서 규정된 올리고펩티드 또는 항체 이외의 다른 유기 분자를 의미한다. 특정 실시태양에서, PRO-결합 유기 분자가 비관련된, 비-PRO 단백질에 결합하는 정

도는 예를 들어 표면 플라스몬 공명 분석에 의해 측정될 때 PRO-결합 유기 분자의 PRO에 대한 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시태양에서, PRO-결합 유기 분자의 해리 상수 (K_d)는 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, $\leq 10 nM$, $\leq 1 nM$, 또는 $\leq 0.1 nM$ 이다.

[0127] 표적 폴리펩티드에 결합하는 임의의 분자의 해리 상수 (K_d)는 표면 플라스몬 공명 분석을 사용하여 편리하게 측정될 수 있다. 상기 분석은 10 이하의 응답 단위 (RU)로 고정된 표적 폴리펩티드 CM5 칩을 사용하여 25°C에서 BIAcore™-2000 또는 BIAcore™-3000 (비아코아, 인크. (BIAcore, Inc., 미국 뉴저지주 피스카타웨이))를 사용할 수 있다. 간단히 설명하면, 카르복시메틸화 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, 비아코아, 인크.)을 제조사의 지시에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 염산염 (EDC) 및 N-히드록시숙신아미드 (NHS)로 활성화시킨다. 표적 폴리펩티드를 10 mM 아세트산나트륨 (pH 4.8)을 사용하여 5 $\mu g/ml$ (~0.2 μM)으로 희석한 후, 커플링된 단백질의 약 10 응답 단위 (RU)를 달성하도록 5 μl /분의 유속으로 주입한다. 표적 폴리펩티드의 주입 후에, 미반응기를 차단하기 위해 1M 에탄올아민을 주입한다. 운동학 측정을 위해, 결합 분자의 2배 연속 희석액 (0.78 nM 내지 500 nM)을 약 25 μl /분의 유속으로 25°C에서 0.05% Tween 20을 갖는 PBS (PBST) 내에서 주입한다. 회합율 (k_{on}) 및 해리율 (k_{off})은 회합 및 해리 센소그램을 동시 피팅함으로써 단순 일대일 랭그뮐어 (Langmuir) 결합 모델 (BIAcore 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 사용하여 계산한다. 평형 해리 상수 (K_d)는 비 k_{off}/k_{on} 으로서 계산한다 (예를 들어, 문헌 [Chen, Y., et al., (1999) J. Mol. Biol. 293: 865-881] 참조). 온-레이트 (on-rate)가 상기 표면 플라스몬 공명 분석에 의해 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 을 초과하면, 온-레이트는 분광계, 예를 들어 정지 유동 설치 분광분석기 (아비브 인스트루먼트 (Aviv Instruments)) 또는 교반 큐벳이 존재하는 8000-시리즈 SLM-Aminco 분광광도계 (써모스펙트론 (ThermoSpectronic))에서 측정할 때 증가하는 농도의 항원의 존재 하에, PBS (pH 7.2) 중 20 nM 항체 (Fab 형태)의 25°C에서의 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm; 방출 = 340 nm, 16 nm 밴드 통과)의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 켄칭 기술을 사용하여 결정할 수 있다.

[0128] "리포좀"은 물질, 예를 들어 약물의 포유동물에 대한 전달에 유용한 각종 지질, 인지질 및/또는 계면활성제로 이루어진 작은 소포 (vesicle)이다. 리포좀의 성분은 생물학적 막의 지질 배열에 유사한 2층 형태로 통상적으로 배열된다.

[0129] 본원에서 사용될 때 단어 "표지"는 검출가능한 화합물 또는 조성물을 의미한다. 표지는 그 자체로 검출가능하거나 (예를 들어, 방사성 동위원소 표지 또는 형광 표지), 효소 표지의 경우에는 기질 화합물 또는 조성물의 검출가능한 화학적 변형을 촉매하여 검출가능한 생성물을 생성시킬 수 있다. 검출가능한 표지로서 기능할 수 있는 방사성 핵종은 예를 들어, I-131, I-123, I-125, Y-90, Re-188, Re-186, At-211, Cu-67, Bi-212, 및 Pd-109를 포함한다.

[0130] "단리된" 생물학적 분자, 예를 들어 핵산, 폴리펩티드, 또는 항체는 그의 천연 환경의 적어도 하나의 성분으로부터 확인 및 분리 및/또는 회수된 것이다.

[0131] 본원에서 값 또는 파라미터에 대해 언급되는 "약"은 해당 값 또는 파라미터 자체에 대한 실시태양을 포함한다 (그리고 설명한다). 예를 들어, "약 X"를 언급하는 설명은 "X"의 설명을 포함한다.

[0132] 본원에 기재된 본 발명의 측면 및 실시태양은 기재된 측면 및 실시태양으로 "이루어지고/이루어지거나", 본질적으로 기재된 측면 및 실시태양으로 "이루어지는" 것이 이해된다.

[0133] II. 본 발명의 조성물 및 방법을 수행하기 위한 일반적인 기술

[0134] 루푸스와 연관된 뉴클레오티드 변이가 본원에서 제공된다. 이들 변이는 루푸스에 대한 바이오마커를 제공하고/하거나, 루푸스의 발병, 지속 및/또는 진행이 쉽도록 하거나 발병 등에 기여한다. 따라서, 본원에 개시된 본 발명은 다양한 상황에서, 예를 들어 루푸스 진단 및 치료에 관련된 방법 및 조성물에서 유용하다.

[0135] 유전자 변이의 검출

[0136] 임의의 상기 방법에 따라, 핵산은 게놈 DNA; 게놈 DNA로부터 전사된 RNA; 또는 RNA로부터 생성된 cDNA일 수 있다. 핵산은 척추동물, 예를 들어, 포유동물로부터 유도될 수 있다. 핵산은 특정 공급원으로부터 직접 얻거나 공급원에서 발견되는 핵산의 카피일 경우 상기 공급원으로부터 "유래된" 것으로 언급된다.

[0137] 핵산은 핵산의 카피, 예를 들어 증폭에 의해 생성된 카피를 포함한다. 증폭은 특정 환경에서, 예를 들어 변이를 검출하기 위한 물질의 요구되는 양을 얻기 위해 바람직할 수 있다. 예를 들어, PRO-연관 폴리뉴클레오티드 또는 그의 일부는 핵산 물질로부터 증폭될 수 있다. 이어서, 앰플리콘은 변이가 앰플리콘에 존재하는지를 결정

하기 위해서 아래에서 설명되는 바와 같은 변이 검출 방법에 적용될 수 있다.

- [0138] 변이는 당업자에게 공지된 특정 방법에 의해 검출될 수 있다. 그러한 방법은 DNA 서열 결정; 대립유전자 특이적 뉴클레오티드 도입 분석 및 대립유전자 특이적 프라이머 연장 분석 (예를 들어, 대립유전자 특이적 PCR, 대립유전자 특이적 라이게이션 연쇄 반응 (LCR), 및 갭 (gap)-LCR)을 포함하는 프라이머 연장 분석; 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드 혼성화 분석 (예를 들어, 올리고뉴클레오티드 라이게이션 분석); 핵산 이중체 내의 미스매치된 염기를 검출하기 위해 절단제로부터의 보호가 사용되는 절단 보호 분석; MutS 단백질 결합의 분석; 변이체 및 야생형 핵산 분자의 이동성을 비교하는 전기영동 분석; 변성-구배 겔 전기영동 (DGGE, 예를 들어 [Myers et al. (1985) Nature 313:495] 참조); 미스매치된 염기쌍에서 RNase 절단의 분석; 이중중체 DNA의 화학적 또는 효소적 절단의 분석; 질량 분광 측정 (예를 들어, MALDI-TOF); 유전자 비트 (bit) 분석 (GBA); 5' 뉴클레아제 분석 (예를 들어, TaqMan[®]); 및 분자 비콘을 사용하는 분석을 포함하고, 이로 제한되지 않는다. 상기 특정 방법은 아래에서 추가로 상세히 논의된다.
- [0139] 표적 핵산에서 변이의 검출은 당업계에 잘 공지되어 있는 기술을 사용하여 표적 핵산의 분자 클로닝 및 서열 결정에 의해 수행할 수 있다. 별법으로, 증폭 기술, 예를 들어 중합효소 연쇄 반응 (PCR)을 사용하여 종양 조직의 게놈 DNA 제제로부터 직접 표적 핵산 서열을 증폭할 수 있다. 이어서, 증폭된 서열의 핵산 서열이 결정되고, 변이가 그로부터 확인될 수 있다. 증폭 기술은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응은 문헌 [Saiki et al., Science 239:487, 1988]; 미국 특허 4,683,203 및 4,683,195에 기재되어 있다.
- [0140] 표적 핵산 서열을 증폭하기 위해서 당업계에 공지되어 있는 리가제 연쇄 반응도 사용될 수 있다. (예를 들어, [Wu et al., Genomics 4:560-569 (1989)] 참조). 또한, 대립유전자 특이적 PCR로서 공지된 기술도 변이 (예를 들어, 치환)를 검출하기 위해 사용될 수 있다 (예를 들어, [Ruano and Kidd (1989) Nucleic Acids Research 17:8392]; [McClay et al. (2002) Analytical Biochem. 301:200-206] 참조). 상기 기술의 특정 실시태양에서, 프라이머의 3' 말단 뉴클레오티드가 표적 핵산 내의 특정 변이에 상보성인 (즉, 특이적으로 염기쌍을 형성할 수 있는) 대립유전자 특이적 프라이머가 사용된다. 특정 변이가 존재하지 않으면, 증폭 산물은 관찰되지 않는다. 또한, 변이 (예를 들어, 치환)를 검출하기 위해 ARMS (Amplification Refractory Mutation System)도 사용될 수 있다. ARMS는 예를 들어 유럽 특허 출원 공개 0332435 및 문헌 [Newton et al., Nucleic Acids Research, 17:7, 1989]에 기재되어 있다.
- [0141] 변이 (예를 들어, 치환) 검출에 유용한 다른 방법은 (1) 대립유전자 특이적 뉴클레오티드 도입 분석, 예를 들어 단일 염기 연장 분석 (예를 들어, [Chen et al. (2000) Genome Res. 10:549-557]; [Fan et al. (2000) Genome Res. 10:853-860]; [Pastinen et al. (1997) Genome Res. 7:606-614]; 및 [Ye et al. (2001) Hum. Mut. 17:305-316] 참조); (2) 대립유전자 특이적 PCR을 포함하는 대립유전자 특이적 프라이머 연장 분석 (예를 들어, [Ye et al. (2001) Hum. Mut. 17:305-316]; 및 [Shen et al. Genetic Engineering News, vol. 23, Mar. 15, 2003] 참조); (3) 5' 뉴클레아제 분석 (예를 들어, [De La Vega et al. (2002) BioTechniques 32:S48-S54] (TaqMan[®] 분석); [Ranade et al. (2001) Genome Res. 11:1262-1268]; 및 [Shi (2001) Clin. Chem. 47:164-172]); (4) 분자 비콘을 사용하는 분석 (예를 들어, [Tyagi et al. (1998) Nature Biotech. 16:49-53]; 및 [Mhlanga et al. (2001) Methods 25:463-71]) 참조); 및 (5) 올리고뉴클레오티드 라이게이션 분석 (예를 들어, [Grossman et al. (1994) Nuc. Acids Res. 22:4527-4534]; 특허 출원 공개 US 2003/0119004 A1; PCT 국제 특허 출원 공개 WO 01/92579 A2; 및 미국 특허 6,027,889 참조)을 포함하고, 이로 제한되지 않는다.
- [0142] 또한, 변이는 미스매치 검출 방법에 의해 검출될 수 있다. 미스매치는 100% 상보성이 아닌, 혼성화된 핵산 이중체이다. 완전한 상보성의 결여는 결실, 삽입, 역위, 또는 치환 때문일 수 있다. 미스매치 검출 방법의 하나의 예는 예를 들어 문헌 [Faham et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 102:14717-14722 (2005)] 및 [Faham et al., Hum. Mol. Genet. 10:1657-1664 (2001)]에 기재된 MRD (Mismatch Repair Detection) 분석이다. 미스매치 절단 기술의 다른 예는 RNase 보호 방법이고, 이는 문헌 ([Winter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:7575, 1985], 및 [Myers et al., Science 230:1242, 1985])에 상세히 설명되어 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법은 인간 야생형 표적 핵산에 상보성인 표지된 리보프로브 (riboprobe)의 사용을 수반할 수 있다. 리보프로브 및 조직 샘플로부터 유래된 표적 핵산은 함께 어닐링 (annealing) (혼성화)된 후, 이중체 RNA 구조에서 일부 미스매치를 검출할 수 있는 효소 RNase A로 소화된다. 미스매치가 RNase A에 의해 검출되면, 이 효소는 미스매치 부위에서 구조를 절단한다. 따라서, 어닐링된 RNA 제제를 전기영동 겔 매트릭스 상에서 분리시킬 때, 미스매치가 RNase A에 의해 검출되어 절단되면, 리보프로브 및 mRNA 또는 DNA에 대해 전장 이중체 RNA보다 작은

RNA 생성물이 관찰될 것이다. 리보프로브는 전장 표적 핵산일 필요는 없고, 변이가 존재하는 것으로 의심되는 위치를 포함한다면 표적 핵산의 일부일 수 있다.

[0143] 유사한 방식으로, 예를 들어 효소적 또는 화학적 절단을 통해 미스매치를 검출하기 위해 DNA 프로브가 사용될 수 있다 (예를 들어, [Cotton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:4397, 1988]; 및 [Shenk et al., Proc. Natl. Acad. Set USA, 72:989, 1975] 참조). 별법으로, 미스매치는 매치된 이중체에 비교할 때 미스매치된 이중체의 전기영동 이동성의 변화에 의해 검출될 수 있다 (예를 들어, [Cariello, Human Genetics, 42:726, 1988] 참조). 리보프로브 또는 DNA 프로브를 사용할 때, 변이를 포함하는 것으로 의심되는 표적 핵산은 혼성화 전에 증폭될 수 있다. 또한, 표적 핵산 내의 변화는 특히 변화가 전반적인 재배열, 예를 들어 결실 및 삽입일 경우에 서던 혼성화를 사용하여 검출될 수 있다.

[0144] 표적 핵산에 대한 제한 단편 길이 다형성 (RFLP) 프로브 또는 주위 마커 유전자를 사용하여 변이, 예를 들어, 삽입 또는 결실을 검출할 수 있다. 또한, 삽입 및 결실은 표적 핵산의 클로닝, 서열 결정 및 증폭에 의해 검출할 수 있다. 또한, 단일가닥 입체형태 다형성 (SSCP) 분석을 사용하여 대립유전자의 염기 변화 변이체를 검출할 수 있다 (예를 들어 [Orita et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2766-2770, 1989] 및 [Genomics, 5:874-879, 1989] 참조).

[0145] 본 발명의 조성물

[0146] 본 발명은 SNP를 포함하는 폴리뉴클레오티드 또는 그의 단편을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드의 조성물을 제공한다. 한 실시태양에서, 폴리뉴클레오티드는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드이다.

[0147] 특히, 본 발명은 루푸스가 발병할 위험이 있는 대상을 나타내거나, 또는 그 질병 또는 그의 증상 또는 상태를 나타내는 유전자 프로파일 또는 시그니처로서 사용될 수 있는 SNP의 특유한 세트 및/또는 조합을 포함하는 조성물을 제공한다. 본원에 개시된 다형성은 루푸스가 발병할 위험을 평가하기 위한, 및 진단 시약의 설계를 위한 표적에 대한 바이오마커로서 유용하다. 일부 실시태양에서, SNP는 유전자와 연관되지 않는다. 다른 실시태양에서, SNP는 유전자와 연관되고, 유전자간 또는 유전자내 구역에 위치할 수 있고, 보다 특히, 코딩 또는 비코딩 구역 내에 위치할 수 있다. 본 발명의 SNP와 연관된 유전자는 미지의 유전자와 연관될 수 있거나, 또는 공지의 유전자, 예를 들어, ITGAM 또는 BLK와 연관될 수 있다.

[0148] 본원에서 확인된 SNP는 본 발명의 1개 이상의 SNP를 포함하는 특유한 유전자 시그니처를 보이는 루푸스 환자 하위 집단의 진단 및 표적화된 치료를 포함하여, 유전적으로 확인된 루푸스 환자의 진단 및 치료에 사용하기 위한 치료제의 개발을 위한 표적을 제공한다. 예를 들어, 한 실시태양에서, 본원에서 확인된 유전자 변이를 함유하는 유전자, 및 상기 유전자와 연관된 핵산 (예를 들어, DNA 또는 RNA), 및 상기 유전자에 의해 코딩되는 단백질은 치료제 (예를 들어, 소분자 화합물, 항체, 안티센스/RNAi 물질 등)의 개발을 위한 표적으로서 사용될 수 있거나 또는 루푸스의 치료를 위한 치료제 (예를 들어, 치료 단백질 등)로서 직접 사용될 수 있다.

[0149] 따라서, 한 측면에서, 본 발명은 루푸스가 발병할 위험을 평가하기 위한 특유한 유전자 시그니처를 형성하는 1개 이상의 SNP의 세트를 제공한다. 한 측면에서, 특유한 유전자 시그니처는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 약 1-10, 10-20, 20-30, 30-40 또는 40-50개의 SNP를 포함한다.

[0150] 한 측면에서, 특유한 유전자 시그니처는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 1개 이상의 SNP, 2개 이상의 SNP, 3개 이상의 SNP, 4개 이상의 SNP, 5개 이상의 SNP, 6개 이상의 SNP, 7개 이상의 SNP, 8개 이상의 SNP, 9개 이상의 SNP, 10개 이상의 SNP, 11개 이상의 SNP, 12개 이상의 SNP, 13개 이상의 SNP, 14개 이상의 SNP, 15개 이상의 SNP, 16개 이상의 SNP, 17개 이상의 SNP, 18개 이상의 SNP, 19개 이상의 SNP 또는 20개 이상의 SNP를 포함한다. 한 측면에서, 유전자 시그니처의 SNP는 표 6으로부터 선택된다. 다른 측면에서, SNP는 rs9888739, rs13277113, rs7574865, rs2269368, rs6889239, rs2391592 및 rs21177770으로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 다른 측면에서, SNP는 rs2187668, rs10488631, rs7574865, rs9888739, rs13277113, rs2431697, rs6568431, rs10489265, rs2476601, rs2269368, rs1801274, rs4963128, rs5754217, rs6445975, rs3129860, rs10516487, rs6889239, rs2391592 및 rs2177770으로 이루어지는 군 중에서 선택된다.

[0151] 다른 실시태양에서, 본 발명은 길이가 적어도 약 10개의 뉴클레오티드인 단리된 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, DNA 또는 RNA) 또는 그의 단편을 제공하고, 여기서 폴리뉴클레오티드 또는 그의 단편은 (a) 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오티드 위치에 서의 유전자 변이, 또는 (b) (a)의 상보체를 포함한다. 한 실시태양에서, 단리된 폴리뉴클레오티드는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)을 포함하는 게놈 DNA이다.

다른 실시태양에서, 단리된 폴리뉴클레오티드는 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 임의의 SNP로부터 선택되는 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)을 포함하는 RNA이다.

[0152] 본 발명의 한 실시태양에서, B 림프구 티로신 키나제 (BLK) 및 C8orf13 (염색체 8p23.1)의 전사 개시 부위의 상류 구역 내에서의 유전자 변이는 미국 및 스웨덴 사례/대조군 시리즈 모두에서 질병 위험과 연관되고 (rs13277113, OR = 1.39, 메타 P = 1×10^{-10}), 또한 B 세포주에서 변경된 mRNA 수준과도 연관된다. 다른 실시태양에서, 인테그린 알파 M (ITGAM) 및 인테그린 알파 X (ITGAX) 구역 (염색체 16p11.2)에서의 변이체는 조합된 샘플에서 SLE와 연관된다 (rs11574637, OR = 1.33, 메타 P = 3×10^{-11}). SLE에서 포괄적인 게놈-전역 연관성 스캔에서, 본 발명자들은 복제를 통해 다음과 같은 2개의 새로운 유전자 로커스를 확인하였다: a) BLK의 감소된 발현 및 C8orf13의 증가된 발현과 상호 관련된 프로모터 구역 대립유전자 및 b) ITGAM의 2개의 일반적인 비-동의 대립유전자와 강한 연관 불균형 상태인 ITGAM/ITGAX 구역 내의 SNP (또는 변이체).

[0153] 한 실시태양에서, 폴리뉴클레오티드 또는 그의 단편의 길이는 적어도 약 10개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 15개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 20개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 30개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 40개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 50개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 60개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 70개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 80개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 90개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 100개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 110개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 120개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 130개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 140개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 150개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 160개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 170개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 180개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 190개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 200개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 250개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 300개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 350개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 400개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 450개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 500개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 600개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 700개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 800개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 900개 뉴클레오티드, 별법으로 적어도 약 1000개 뉴클레오티드, 및 별법으로 대략 전장 코딩 서열의 길이이다. 임의의 상기 실시태양에서, 단편 또는 전장 폴리뉴클레오티드는 SNP의 자연 발생하는 좌우 구역의 일부 또는 전부를 포함할 수 있다. 상기 맥락에서, 용어 "약"은 참조된 뉴클레오티드 서열 길이 \pm 참조된 길이의 10%를 의미한다.

[0154] 다른 실시태양에서, 폴리뉴클레오티드의 서열은 예를 들어 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 연관 불균형 구역 내의 유전자 변이를 포함한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 다른 실시태양에서, 임의의 상기 폴리뉴클레오티드의 상보체가 제공된다. 다른 실시태양에서, 임의의 상기 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩되는 PRO를 제공한다.

[0155] 한 실시태양에서, 본원에서 제공되는 단리된 폴리뉴클레오티드는 예를 들어 방사성 동위원소, 형광제, 또는 발색제로 검출가능하게 표지된다. 다른 실시태양에서, 단리된 폴리뉴클레오티드는 프라이머이다. 다른 실시태양에서, 단리된 폴리뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드, 예를 들어, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드이다. 다른 실시태양에서, 올리고뉴클레오티드의 길이는 예를 들어 7-60개 뉴클레오티드, 9-45개 뉴클레오티드, 15-30개 뉴클레오티드, 또는 18-25개 뉴클레오티드일 수 있다. 다른 실시태양에서, 올리고뉴클레오티드는 예를 들어 PNA, 모르폴리노-포스포라미데이트, LNA, 또는 2'-알콕시알콕시일 수 있다. 본원에서 제공되는 올리고뉴클레오티드는 예를 들어 유전자 변이의 검출을 위한 혼성화 프로브로서 유용하다.

[0156] 한 실시태양에서, 본 발명은 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 PRO-연관 폴리뉴클레오티드, 또는 상기 PRO-연관 폴리뉴클레오티드의 상보체에 특이적으로 혼성화할 수 있는 복수의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물을 제공하고, 각각의 PRO-연관 폴리뉴클레오티드는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오티드 위치에 유전자 변이를 포함한다. 한 실시태양에서, 폴리뉴클레오티드는 어레이, 유전자 칩, 또는 유전자 세트 (예를 들어, 별개로 또는 혼합물로서 제공되는 유전자 또는 그의 단편의 세트)로서 제공된다. 다른 실시태양에서, 유전자 변이 (예를 들어, 치환)를 포함하는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드의 구역에 혼성화하는 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오티드가 제공된다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오티드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. PRO-연관 폴리뉴클레오티드의 구역에 혼성화될 때 대립유전

자 특이적 올리고뉴클레오타이드는 유전자 변이와 염기쌍을 형성하는 뉴클레오타이드를 포함한다. 다른 실시태양에서, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드의 상보체가 제공된다. 다른 실시태양에서, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 상보체를 포함하는 마이크로어레이가 제공된다. 다른 실시태양에서, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 상보체는 대립유전자 특이적 프라이머이다. 한 실시태양에서, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 서열 내에 유전자 변이를 포함하고, 여기서 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 다른 실시태양에서, 임의의 상기 폴리뉴클레오타이드의 상보체가 제공된다.

[0157] 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드는 유전자 변이와 특이적으로 염기쌍을 형성하는 뉴클레오타이드가 야생형 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에 존재하는 대응하는 뉴클레오타이드와 특이적으로 염기쌍을 형성하는 뉴클레오타이드로 치환된 것을 제외하고는 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드와 동일한 대조 올리고뉴클레오타이드와 함께 사용될 수 있다. 상기 올리고뉴클레오타이드는 유전자 변이를 포함하는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 및 대응하는 야생형 뉴클레오타이드를 포함하는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드를 올리고뉴클레오타이드가 구별하도록 허용하는 혼성화 조건 하에서의 경쟁적 결합 분석에 사용될 수 있다.

[0158] 예를 들어 올리고뉴클레오타이드의 길이 및 염기 조성을 기초로 하여 통상적인 방법을 사용하여, 당업자는 (a) 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드가 야생형 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에 비해 유전자 변이를 포함하는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에 우선적으로 결합하고, (b) 대조 올리고뉴클레오타이드가 유전자 변이를 포함하는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에 비해 야생형 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에 우선적으로 결합하는 적합한 혼성화 조건을 찾을 수 있다. 예시적인 조건은 고 염격도 조건, 예를 들어 55℃의 5x 표준 염수 포스페이트 EDTA (SSPE) 및 0.5% NaDodSO₄ (SDS), 이어서 55℃ 또는 실온의 2X SSPE 및 0.1% SDS를 사용한 세척의 혼성화 조건을 포함한다. 다른 실시태양에서, 야생형 PRO에 비해 아미노산 변이를 포함하는 PRO에 우선적으로 결합하는 결합체가 제공된다. 한 실시태양에서, 아미노산 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP (예를 들어, 임의의 상기 도면 또는 표에 제시된 임의의 특정 SNP 포함)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서의 유전자 변이에 기인한 것이다. 다른 실시태양에서, 결합체는 항체이다.

[0159] 사용 방법

[0160] 본 발명은 또한 본 발명의 방법의 수행에 사용하기 적합한 다양한 조성물을 제공한다. 한 실시태양에서, 본 발명은 도 1-17 및 표 1-10에 개시된 하나 이상의 유전자 변이를 검출하기 위해 유용한 적어도 하나의 핵산 분자를 포함한다. 상기 핵산 분자는 예를 들어 루푸스의 검출, 분석 및 치료를 위해 본 발명의 방법에서 사용될 수 있다. 일부 실시태양에서, 핵산 분자는 본원에 기재된 고체 기재에 부착된다.

[0161] 다른 실시태양에서, 본 발명은 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 어레이를 제공한다. 한 실시태양에서, 본 발명의 어레이는 하나 이상의 유전자 변이를 검출하기 위해 유용한 개개의 핵산 분자 또는 핵산 분자의 컬렉션을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 어레이는 일련의 별개로 배치된 개별적인 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 또는 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드의 세트를 포함할 수 있다. 핵산을 고체 기재, 예를 들어 유리 슬라이드에 부착시키기 위한 몇몇 기술이 당업계에 잘 공지되어 있다. 한 방법은 고체 기재에 부착시킬 수 있는 반응성 모이어티, 예를 들어 아민기, 아민기의 유도체, 또는 양전하를 갖는 다른 기를 함유하는 변형된 염기 또는 유사체를 합성되는 핵산 분자 내로 도입하는 것이다. 이어서, 합성된 생성물은 알데히드 또는 다른 반응성 기로 코팅된 고체 기재, 예를 들어 유리 슬라이드와 접촉된다. 알데히드 또는 다른 반응성 기는 유리 슬라이드에 공유 부착되는 증폭 생성물 상의 반응성 모이어티와 공유 연결을 형성할 것이다. 아미노 프로필 실리칸 표면 화학을 사용하는 것과 같은 다른 방법도 당업계에 공지되어 있다.

[0162] 임의의 상기 방법에 따른 생물학적 샘플은 당업자에게 공지된 특정 방법을 이용하여 얻을 수 있다. 생물학적 샘플은 척추동물, 특히 포유동물로부터 얻을 수 있다. 조직 생검은 중앙 조직의 대표적인 조각을 얻기 위해 종종 사용된다. 별법으로, 중앙 세포는 관심 있는 중앙 세포를 함유하는 것으로 알려져 있거나 생각되는 조직 또는 체액의 형태로 간접적으로 얻을 수 있다. 예를 들어, 폐암 병변의 샘플은 절제, 기관지경 검사, 미세침 흡인, 기관지 칫과술 (bronchial brushing)에 의해, 또는 가래, 흉수 또는 혈액으로부터 얻을 수 있다. 표적 핵산 (또는 코딩되는 폴리펩티드)의 변이는 중앙 샘플로부터 또는 다른 신체 샘플, 예를 들어 소변, 가래 또는 혈청으로부터 검출될 수 있다 (암 세포는 중앙으로부터 탈락되고 상기 신체 샘플에서 볼 수 있다). 상기 샘플을

스크리닝함으로써, 간단한 조기 진단은 암과 같은 질병에 대해 수행될 수 있다. 또한, 치료의 진행은 표적 핵산 (또는 코딩되는 폴리펩티드)의 변이에 대해 상기 신체 샘플을 시험함으로써 보다 용이하게 모니터링할 수 있다. 추가로, 종양 세포에 대해 조직 제제를 농축하는 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 조직은 파라인 또는 동결 절편으로부터 분리될 수 있다. 또한, 암 세포는 유세포 분석 또는 레이저 포획 미세절제법에 의해 정상 세포로부터 분리될 수도 있다.

[0163] 대상, 또는 조직 또는 세포 샘플이 본원에 개시된 유전자 변이를 갖는지를 결정한 후에, 적절한 루푸스 치료제의 유효량이 대상에서 루푸스 병태를 치료하기 위해 대상에게 투여될 수 있음이 고려된다. 본원에 기재된 각종 병리학적 상태의 포유동물에서 진단은 숙련된 당업자에 의해 이루어질 수 있다. 예를 들어, 포유동물에서 루푸스의 진단 또는 검출을 허용하는 진단 기술은 당업계에서 이용가능하다.

[0164] 루푸스 치료제는 공지의 방법에 따라, 예를 들어 볼러스 (bolus)로서 또는 시간에 걸쳐 연속 주입에 의한 정맥 내 투여, 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 활막내, 경막내, 경구, 국소, 또는 흡입 경로에 의해 투여될 수 있다. 임의로, 투여는 각종 상업적으로 이용가능한 장치를 사용하여 미니-펌프 주입을 통해 수행될 수 있다.

[0165] 루푸스 치료제를 투여하기 위한 유효 투여량 및 스케줄은 경험적으로 결정될 수 있고, 그러한 결정을 하는 것은 당업계의 기술의 범위 내에 있다. 단일 또는 다수 용량이 사용될 수 있다. 예를 들어, 단독으로 사용되는 인터페론 억제제의 유효 용량 또는 양은 1일당 약 1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg (체중) 이상의 범위일 수 있다. 용량의 종간 스케일링 (interspecies scaling)은 당업계에 공지된 방식으로, 예를 들어, 문헌 [Mordenti et al., Pharmaceut. Res., 8:1351 (1991)]에 개시된 바와 같이 수행할 수 있다.

[0166] 루푸스 치료제의 생체내 투여가 이용될 때, 보통의 투여량은 투여 경로에 따라 1일당 약 10 ng/kg 내지 100 mg/kg (포유동물 체중) 이상, 바람직하게는 약 1 µg/kg/일 내지 10 mg/kg/일로 변할 수 있다. 특정 용량 및 전달 방법에 관한 지침은 문헌에 제공되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 4,657,760; 5,206,344; 또는 5,225,212 참조). 상이한 치료 화합물 및 상이한 질환에 대해 상이한 제형이 효과적일 것으로 예상되고, 예를 들어, 하나의 장기 또는 조직을 표적으로 하는 투여는 다른 장기 또는 조직에 대한 것과 상이한 방식의 전달을 필요로 할 수 있다.

[0167] 추가의 요법이 방법에서 사용될 수 있음이 고려된다. 하나 이상의 다른 요법은 스테로이드의 투여 및 해당 질환에 대한 다른 진료 표준 요법을 포함할 수 있지만 이로 제한되지 않는다. 그러한 다른 요법은 예를 들어, 표적화된 루푸스 치료제와 별개의 물질로서 사용될 수 있음이 고려된다.

[0168] 본 발명은 또한 생물학적 샘플로부터 유래된 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드에서 변이를 검출함으로써 루푸스의 존재를 검출하는 방법을 제공한다. 한 실시태양에서, 생물학적 샘플은 루푸스가 존재하는 것으로 의심되는 포유동물로부터 얻는다.

[0169] 본 발명은 또한 유전자 변이가 생물학적 샘플로부터 유래된 PRO-연관 폴리뉴클레오티드에 존재하는지를 검출함으로써 생물학적 샘플의 유전자형을 결정하는 방법을 제공한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오티드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 다른 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오티드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 다른 실시태양에서, 생물학적 샘플은 변이를 포함하는 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되는 것이다. 다른 실시태양에서, 생물학적 샘플은 세포주, 예를 들어 1차 또는 불멸화 세포주이다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자형 결정은 질병의 분류 또는 하위분류를 위한 기초를 제공한다.

[0170] 본 발명은 또한 생물학적 샘플의 세포로부터 유도된 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드에서 변이를 검출함으로써 변이를 포함하는 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되는 세포를 포유동물로부터의 생물학적 샘플에서 확인하는 방법을 제공한다. 한 실시태양에서, 변이는 유전자 변이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오티드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시

된 SNP를 포함한다. 다른 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오티드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP로부터 선택되는 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 다른 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.

[0171] 본 발명은 또한 포유동물로부터 얻은 생물학적 샘플로부터 유래된 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드에서 변이의 존재를 검출함으로써 포유동물에서 루푸스를 진단하는 방법을 제공하고, 여기서 생물학적 샘플은 변이를 포함하는 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되는 것이다. 본 발명은 또한 포유동물로부터 얻은 생물학적 샘플로부터 유래된 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드에서 변이의 존재를 검출함으로써 포유동물에서 루푸스의 진단을 돕는 방법을 제공하고, 여기서 생물학적 샘플은 변이를 포함하는 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되는 것이다. 한 실시태양에서, 변이는 유전자 변이이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오티드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 다른 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오티드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.

[0172] 루푸스가 발병할 위험 및 치료에 대한 반응을 평가하기 위해 당업계에 공지되어 있고 본원에 기재된 각종 알고리즘 (algorithm)을 사용할 수 있다. 표현형과 연관된 변이체는 상가적인 (additive) 대립유전자 용량 의존 방식으로 상호작용할 수 있다. 본 발명의 일부 실시태양에서, 계층화 (stratification) 방식에 기초한 알고리즘은 루푸스가 발병할 위험, 질병 중증도, 및 치료에 대한 반응을 평가하기 위해 사용될 수 있다. 루푸스 사례는 보유하는 위험 대립유전자의 수에 기초하여 여러 군으로 계층화될 수 있다. 한 실시태양에서, 위험 대립유전자는 대조군에 비해 루푸스 사례에서 풍부한, 로커스로부터의 대립유전자로서 규정된다. 예를 들어, 한 실시태양에서, 18개의 로커스로부터 총 19개의 대립유전자가 나열되면, 위험 대립유전자의 최대 가능한 수는 38이다. 본원에 기재된 바와 같이, 위험 대립유전자의 수, 및 생성되는 분포의 삼분위수 (tertile)에 의해 계층화된 루푸스 사례를 결정할 수 있다. 이어서, 루푸스 사례의 삼분위수는 질병 중증도, 위험 및 치료에 대한 반응의 차이에 대해 검토될 수 있다. 다른 실시태양에서, 대상이 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드 내의 변이를 포함하는지를 결정함으로써 루푸스에 걸린 대상이 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드를 표적으로 하는 치료제에 반응할 것인지를 예상하기 위한 방법이 제공되고, PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드 내의 변이의 존재는 대상이 치료제에 반응할 것임을 나타낸다. 한 실시태양에서, 변이는 유전자 변이이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오티드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 다른 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오티드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.

[0173] 또한, 본 발명은 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오티드 위치에서의 유전자 변이의 부재 또는 존재를 대상, 또는 대상으로부터 얻은 샘플에서 검출하는 방법을 포함하고, 이 방법은 (a) 핵산과 폴리뉴클레오티드 사이의 혼성화 복합체 형성에 적합한 조건 하에 대상 또는 샘플 내의 핵산을 상기 설명된 임의의 폴리뉴클레오티드와 함께 접촉시키고; (b) 폴리뉴클레오티드가 상기 뉴클레오티드 위치에서 핵산과 특이적으로 염기쌍을 형성하는지를 검출함으로써 수행된다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오티드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오티드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.

- [0174] 본 발명은 또한 PRO와 연관된 핵산에서 유전자 변이의 부재 또는 존재를 검출하는 방법을 제공하고, 이 방법은 (a) 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드의 핵산에 대한 혼성화에 적합한 조건 하에 핵산을 유전자 변이에 특이적인 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드와 접촉시키고; (b) 대립유전자 특이적 혼성화의 부재 또는 존재를 검출함으로써 수행된다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오타이드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 다른 실시태양에서, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드는 대립유전자 특이적 프라이머이다.
- [0175] 본 발명은 또한 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에서의 변이의 존재 또는 부재를 대상에서 검출함으로써 대상의 루푸스 발병 소인을 평가하기 위한 방법을 제공하고, 여기서 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 내의 변이의 존재는 대상이 루푸스가 발병할 소인이 있음을 나타낸다. 한 실시태양에서, 변이는 유전자 변이이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 다른 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오타이드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.
- [0176] 본 발명은 또한 포유동물에서 유래한 생물학적 샘플에서 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 내에서의 변이의 존재를 검출하는 것을 포함하는, 포유동물에서 루푸스를 하위분류하는 방법을 제공하고, 여기서 생물학적 샘플은 변이를 포함하는 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 것으로 알려져 있거나 포함하는 것으로 의심되는 것이다. 한 실시태양에서, 변이는 유전자 변이이다. 한 실시태양에서, 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오타이드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, 하위분류는 조직/장기 침범 (예를 들어, 루푸스 신장염), 성별, 및/또는 민족성을 특징으로 한다.
- [0177] 본 발명의 검출 방법의 한 실시태양에서, 검출은 프라이머 연장 분석; 대립유전자 특이적 프라이머 연장 분석; 대립유전자 특이적 뉴클레오타이드 도입 분석; 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 혼성화 분석; 5' 뉴클레아제 분석; 분자 비콘을 사용하는 분석; 및 올리고뉴클레오타이드 라이게이션 분석으로부터 선택되는 과정의 수행을 포함한다.
- [0178] 본 발명은 또한 환자 하위 집단에서 루푸스 치료에 효과적인 치료제를 확인하는 방법을 제공하고, 이 방법은 치료제의 효능을 환자 하위 집단에서 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에서의 유전자 변이의 존재와 상호 관련시키고, 이에 의해 상기 치료제를 상기 환자 하위 집단에서 루푸스 치료에 효과적인 것으로 확인하는 것을 포함하고, 여기서 SNP는 도 1-17 및 표 1-10에 나열된 것 중의 하나이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오타이드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.
- [0179] 본 발명의 방법은 해당할 경우에 적절한 임상적 개입 단계를 결정하기 위해 유용한 정보를 제공한다. 따라서, 본 발명의 한 실시태양에서, 이 방법은 본원에 개시된 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 내의 변이의 존재

또는 부재의 평가 결과를 기초로 한 임상적 개입 단계를 추가로 포함한다. 예를 들어, 적절한 개입은 예방 및 치료 단계, 또는 본 발명의 방법에 의해 얻은 유전자 정보를 기초로 한 임의의 당시 시행되는 예방 또는 치료 단계의 조정(들)을 수반할 수 있다.

- [0180] 당업자에게 자명한 바와 같이, 본 발명의 임의의 방법에서, 변이의 존재의 검출은 질병의 특징 (예를 들어, 질병의 존재 또는 서브타입)을 명확하게 나타내고, 변이의 비-검출은 질병의 상호관련되는 특징을 제공함으로써 유익할 것이다.
- [0181] 본 발명은 또한 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편을 포함하는 핵산의 증폭 방법을 제공하고, 여기서 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편은 유전자 변이를 포함한다. 한 실시태양에서, 상기 방법은 (a) 유전자 변이의 5' 또는 3'에 위치하는 서열에 혼성화하는 프라이머와 핵산을 접촉시키고, (b) 프라이머를 연장시켜 유전자 변이를 포함하는 증폭 산물을 생성시키는 것을 포함한다. 한 실시태양에서, 이 방법은 증폭 산물을 유전자 변이의 5' 또는 3'에 위치하는 서열에 혼성화하는 제2 프라이머와 핵산을 접촉시키고, 제2 프라이머를 연장시켜 제2 증폭 산물을 생성시키는 것을 추가로 포함한다. 하나의 상기 실시태양에서, 상기 방법은 증폭 산물 및 제2 증폭 산물을, 예를 들어 중합효소 연쇄 반응에 의해 증폭시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0182] 일부 실시태양에서, 유전자 변이는 본 발명의 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오타이드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.
- [0183] 본 발명의 또다른 추가의 방법은 포유동물로부터 조직 또는 세포 샘플을 얻고, 본원에 개시된 변이의 존재 또는 부재에 대해 조직 또는 세포를 검토하고, 상기 조직 또는 세포 샘플에 변이의 존재 또는 부재의 결정시에 유효량의 적절한 치료제를 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 포유동물에서 루푸스를 치료하는 방법을 포함한다. 임의로, 이 방법은 유효량의 표적화된 루푸스 치료제, 및 임의로 제2 치료제 (예를 들어, 스테로이드 등)를 상기 포유동물에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0184] 한 실시태양에서, 대상에게 유효량의 PRO의 길항제 또는 효능제를 투여하는 것을 포함하는, 루푸스를 치료하는 방법이 제공된다. 한 실시태양에서, 대상은 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드의 변이를 보인다. 한 실시태양에서, 변이는 유전자 변이이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재한다. 하나의 상기 실시태양에서, 유전자 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, PRO-연관 폴리뉴클레오타이드는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩한다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.
- [0185] 본 발명은 또한 대상에게 병태를 치료하기 위해 효과적인 치료제를 투여하는 것을 포함하는, 유전자 변이가 도 1-17 및 표 1-10에 나열된 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하는 것으로 알려진 대상에서 루푸스 병태를 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시태양에서, 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, 변이는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩하는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 내의 SNP이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.
- [0186] 본 발명은 또한 도 1-17 및 표 1-10에 나열된 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 유전자 변이를 갖는 대상에서 루푸스 병태를 치료하기 위해 효과적인 것으로 알려진 치료제를 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 루푸스 병태에 걸린 대상을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시태양에서, 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, 변이는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩하는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 내의 SNP이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자

자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.

[0187] 또한, 본 발명은 각각 도 1-17 및 표 1-10에 나열된 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오티드 위치에 유전자 변이를 갖는 적어도 5명의 인간 대상에게 루푸스 병태 치료에 효과적인 것으로 밝혀진 치료제를 투여하는 적어도 하나의 임상 연구에서 루푸스 병태에 걸린 대상에게 상기 치료제를 투여하는 것을 포함하는, 루푸스 병태에 걸린 대상을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시태양에서, 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, 변이는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩하는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드 내의 SNP이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, 적어도 5명의 대상이 적어도 5명의 대상의 군에 대해 전체적으로 2개 이상의 상이한 SNP를 갖는다. 한 실시태양에서, 적어도 5명의 대상이 적어도 5명의 대상의 전체 군에 대해 동일한 SNP를 갖는다.

[0188] 본 발명은 또한 대상에게 특정 루푸스 환자 하위 집단에 대한 치료제로서 승인된 유효량의 치료제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 특정 루푸스 환자 하위 집단의 루푸스 대상을 치료하는 방법을 제공하고, 여기서 하위 집단은 적어도 부분적으로는 도 1-17 및 표 1-10에 나열된 SNP에 대응하는 뉴클레오티드 위치에서의 유전자 변이와의 연관성을 특징으로 한다. 한 실시태양에서, 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, 변이는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩하는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드 내의 SNP이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, 하위 집단은 유럽 혈통이다. 한 실시태양에서, 본 발명은 루푸스 치료제를 제조하고, 루푸스에 걸렸거나 걸린 것으로 생각되고 도 1-17 및 표 1-10에 나열된 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)에 대응하는 위치에 유전자 변이를 갖는 대상에게 치료제를 투여하기 위한 사용지시서와 함께 상기 치료제를 포장하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 한 실시태양에서, 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, 변이는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩하는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드 내의 SNP이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다.

[0189] 본 발명은 또한 치료제를 도 5-10에 나열된 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)에 대응하는 위치에서의 유전자 변이를 특징으로 하는 환자 하위 집단에 투여하기 위한 사용지시서를 제공하는 것을 포함하는, 루푸스 환자 하위 집단에 사용하기 위한 치료제를 지정하는 방법을 제공한다. 한 실시태양에서, 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, 변이는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩하는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드 내의 SNP이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, 하위 집단은 유럽 혈통이다.

[0190] 본 발명은 또한 루푸스 환자 하위 집단의 환자에서 도 5-10에 나열된 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)에 대응하는 위치에서의 유전자 변이의 존재를 특징으로 하는 환자 하위 집단을 치료하기 위한 치료제의 용도를 표적 청중에게 알리는 것을 포함하는, 루푸스 환자 하위 집단에서 사용하기 위해 치료제를 마케팅하기 위한 방법을 제공한다. 한 실시태양에서, 변이는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, 변이는 연관 불균형 구역 내의 서열 (예를 들어, 도 1-17 및 표 1-10에 제시된)에 의해 코딩되는 PRO를 코딩하는 PRO-연관 폴리뉴클레오티드 내의 SNP이다. 한 실시태양에서, 유전자 변이는 유전자 (또는 그의 조절 구역)를 코딩하는 게놈 DNA 내에 존재하고, 여기서 유전자 (또는 그의 조절 구역)는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP를 포함한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 비-코딩 구역 내에 존재한다. 한 실시태양에서, SNP는 유전자의 코딩 구역 내에 존재한다. 치료제의 사용을 포함하는 임의의 상기 방법의 실시태양에서, 상기 치료제는 본원에 개시된 루푸스 치료제를 포함한다.

- [0191] 본 발명은 또한 대상에게 B 세포 수용체를 통한 신호 전달 조절에 효과적인 치료제를 투여하는 것을 포함하는, 유전자 변이가 도 1-17 및 표 1-10에 나열된 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하는 것으로 알려진 대상에서 B 세포 수용체를 통한 신호 전달을 조절하기 위한 방법을 제공한다.
- [0192] 본 발명은 또한 대상에게 Th17 세포의 분화 조절에 효과적인 치료제를 투여하는 것을 포함하는, 유전자 변이가 도 1-17 및 표 1-10에 나열된 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 존재하는 것으로 알려진 대상에서 Th17 세포의 분화를 조절하기 위한 방법을 제공한다.
- [0193] 키트
- [0194] 본 발명의 한 실시태양에서, 키트를 제공한다. 한 실시태양에서, 키트는 본원에 기재된 임의의 폴리뉴클레오타이드를, 임의로 효소와 함께 포함한다. 한 실시태양에서, 효소는 뉴클레아제, 리가제 및 중합효소로부터 선택되는 적어도 하나의 효소이다.
- [0195] 한 실시태양에서, 본 발명은 본 발명의 조성물, 및 대상의 게놈이 본원에 개시된 유전자 변이를 포함하는지를 결정함으로써 루푸스를 검출하기 위해 조성물을 사용하기 위한 사용지시서를 포함하는 키트를 제공한다. 한 실시태양에서, 본 발명의 조성물은 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드, 또는 상기 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드의 상보체에 특이적으로 혼성화할 수 있는 복수의 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 각각의 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드는 임의의 도 1-17 및 표 1-10에 제시된 SNP의 위치에 대응하는 뉴클레오타이드 위치에 유전자 변이를 포함한다. 한 실시태양에서, 본 발명의 조성물은 PRO의 적어도 일부를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 한 실시태양에서, 본 발명의 조성물은 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드의 적어도 일부에 결합하고 그의 중합 (예를 들어, 증폭)을 수행할 수 있는 핵산 프라이머를 포함한다. 한 실시태양에서, 본 발명의 조성물은 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드 (또는 그의 상보체) (또는 대응하는 유전자 생성물)를 특이적으로 검출하는 결합제 (예를 들어, 프라이머, 프로브)를 포함한다. 한 실시태양에서, 본 발명의 조성물은 PRO의 적어도 일부에 특이적으로 결합하는 결합제를 포함한다. 한 실시태양에서, 본 발명은 본원에 개시된 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에 변이를 갖는 루푸스 환자를 치료하기 위해 치료제를 사용하기 위한 사용지시서와 함께, 치료제를 포함하는 제조품을 제공한다.
- [0196] 상기 설명되거나 제안된 용도에서 사용하기 위해, 본 발명에 의해 키트 또는 제조품이 또한 제공된다. 상기 키트는 긴밀하게 닫힌 상태로 바이알, 튜브 등과 같은 하나 이상의 용기 수단을 수용하도록 구획화되는 운반체 수단을 포함할 수 있고, 여기서 각각의 용기 수단은 방법에서 사용될 별개의 요소 중 하나를 포함한다. 예를 들어, 용기 수단 중 하나는 검출가능하게 표지되거나 표지될 수 있는 프로브를 포함할 수 있다. 그러한 프로브는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에 특이적인 폴리뉴클레오타이드일 수 있다. 키트가 표적 핵산을 검출하기 위해 핵산 혼성화를 이용하는 경우에, 키트는 또한 표적 핵산 서열의 증폭을 위한 뉴클레오타이드(들)을 함유하는 용기, 및/또는 효소, 형광 또는 방사성 동위원소 표지와 같은 리포터 분자에 결합된, 아비딘 또는 스트렙타비딘과 같은 비오틴-결합 단백질과 같은 리포터 수단을 포함하는 용기를 가질 수 있다.
- [0197] 본 발명의 키트는 전형적으로 상기 설명된 용기, 및 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 물질, 예를 들어 버퍼, 희석제, 필터, 바늘, 시린지, 및 사용지시서를 갖는 포장 삽입물 (package insert)을 포함하는 하나 이상의 다른 용기를 포함할 것이다. 조성물이 특정한 요법을 위해 또는 비-치료 용도로 사용되는지 나타내도록 라벨이 용기 상에 존재할 수 있고, 또한 상기 설명된 것과 같은 생체내 또는 시험관내 사용을 위한 지시를 나타낼 것이다.
- [0198] 본 발명의 키트는 많은 실시태양을 갖는다. 전형적인 실시태양은 용기, 상기 용기 상의 라벨, 및 상기 용기 내에 함유된 조성물, 및 적어도 하나의 종류의 포유동물 세포에서 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드의 존재를 평가하기 위해 검출제를 사용하기 위한 사용지시서를 포함하는 키트이고; 여기서 조성물은 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드에 대한 검출제를 포함하고, 상기 용기 상의 라벨은 조성물이 적어도 하나의 종류의 포유동물 세포에서 PRO 또는 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드의 존재를 평가하기 위해 사용될 수 있음을 나타낸다. 키트는 조직 샘플을 제조하고 항체 및 프로브를 조직 샘플의 동일한 절편에 적용하기 위한 사용지시서 및 물질의 세트를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 키트는 용기, 상기 용기 상의 라벨, 및 상기 용기 내에 함유된 조성물, 및 적어도 하나의 종류의 포유동물 세포에서 PRO-연관 RNA 또는 DNA의 존재를 평가하기 위해 폴리뉴클레오타이드를 사용하기 위한 사용지시서를 포함할 수 있고; 여기서 조성물은 엄격한 조건 하에 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드의 상보체에 혼성화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 상기 용기 상의 라벨은 조성물이 적어도 하나의 종류의 포유동물 세포에서 PRO-연관 폴리뉴클레오타이드의 존재를 평가하기 위해 사용될 수 있음을 나타낸다.

- [0199] 키트 내의 다른 선택적인 성분은 하나 이상의 버퍼 (예를 들어, 차단 버퍼, 세척 버퍼, 기질 버퍼 등), 다른 시약, 예를 들어 효소 표지에 의해 화학적으로 변경되는 기질 (예를 들어, 색소원), 에피토프 부활 용액, 대조 샘플 (양성 및/또는 음성 대조군), 대조 슬라이드(들) 등을 포함한다.
- [0200] 마케팅 방법
- [0201] 본 발명은 또한 본원에 개시된 유전자 변이의 존재를 보이는 샘플이 그로부터 얻어진 루푸스에 걸린 환자 또는 환자 집단을 치료하기 위한 루푸스 치료제 또는 그의 제약상 조성물의 사용을 표적 청중에게 판촉하고/하거나 지시하고/하거나 지정하는 것을 포함하는, 루푸스 치료제 또는 그의 제약상 허용되는 조성물을 마케팅하기 위한 방법을 포함한다.
- [0202] 마케팅은 일반적으로 후원자가 확인되고 메시지가 제어되는 비-개인 매체를 통한 유료 커뮤니케이션 (paid communication)이다. 본원의 목적에서 마케팅은 선전, 홍보 (PR), 제품 삽입 광고 (PPL), 후원, 인수주선 (underwriting) 및 판촉을 포함한다. 상기 용어는 또한 본 발명을 구매하거나 지지하거나 찬성하는 유리한 방식으로 설득하거나, 알리거나, 판촉하거나, 동기를 부여하거나, 달리 행동을 변형시키도록 대중 청중에게 호소하도록 설계된 임의의 인쇄 커뮤니케이션 매체에서 나타나는 후원 받은 정보 공지 (public notice)를 포함한다.
- [0203] 본원에서 진단 방법의 마케팅은 임의의 수단에 의해 달성할 수 있다. 이들 메시지를 전달하기 위해 사용되는 마케팅 매체의 예는 텔레비전, 라디오, 영화, 잡지, 신문, 인터넷, 및 전파 매체에서 나타나는 메시징인 광고방송을 포함한 광고게시판을 포함한다.
- [0204] 사용된 마케팅의 종류는 많은 인자, 예를 들어, 도달할 표적 청중의 특성, 예를 들어, 병원, 보험 회사, 클리닉, 의사, 간호사 및 환자, 및 비용 고려사항 및 의약 및 진단의 마케팅을 규제하는 관련 관할 법률 및 규정에 의해 좌우될 수 있다. 마케팅은 서비스 상호작용 및/또는 다른 데이터, 예를 들어 사용자 인구학 및 지리학적 위치에 의해 규정되는 사용자 특징에 기초하여 개별화되거나 주문제작될 수 있다.
- [0205] 다음은 본 발명의 방법 및 조성물의 예이다. 상기 제공된 일반적인 설명이 주어지면 각종 다른 실시태양이 실시될 수 있음이 이해된다.
- [0206] **[실시예]**
- [0207] 실시예 1-3에서 인용된 (및 숫자로 나타낸) 참고문에 대한 문헌 정보는 실시예 3의 끝에 제공된다. 실시예 4-6에서 인용된 (및 숫자로 나타낸) 참고문에 대한 문헌 정보는 실시예 6의 끝에 제공된다.
- [0208] 실시예 1. 전신 홍반 루푸스에서 계놈-전역 연관성 스캔을 위한 물질 및 방법
- [0209] 본 실시예는 1311 SLE 사례 및 3340 대조군을 포함하는 큰 샘플에서 SLE에 대한 계놈-전역 스캔을 수행하기 위해 취한 물질 및 방법을 설명한다. 인간 계놈의 추정된 85%를 가로질러 일반적 변이를 포획한 500,000개의 변이체 중에서, 24개에 대해 유전자형을 결정하고 SLE에 대한 연관성에 대해 시험하였다.
- [0210] 대상
- [0211] 다음 컬렉션으로부터 SLE 사례 샘플의 유전자형을 결정하였다: a) Autoimmune Biomarkers Collaborative Network (ABCn) (NIH/NIAMS 기금 지원의 기탁)²⁵로부터 338명의 대상, b) Multiple Autoimmune Disease Genetics Consortium (MADGC)으로부터 141명의 대상, c) 캘리포니아 주립대학 샌프란시스코 분교 (University of California San Francisco; UCSF) Lupus Genetics Project^{10,27}로부터 613명의 대상, 및 d) 피츠버그 대학 의료 센터 (the University of Pittsburgh Medical Center; UPMC)²⁸로부터 335명의 대상 + 파인스타인 의학 연구소 (The Feinstein Institute for Medical Research)에서 수집된 8개의 샘플. 모든 SLE 사례는 자기 설명적인 백인 (Caucasian)이었다. SLE의 진단 (American College of Rheumatology (ACR) 규정 기준²⁹ 중 4개 이상의 충족)이 의료 기록 검토에 의해 (94%) 또는 치료하는 류마티스 전문의에 의한 기준의 서면 문서화 (written documentation)를 통해 (6%) 모든 사례에서 확인되었다. 임상 데이터는 각각의 시설에서 검토되고 표로 작성되었다. 도 4는 SLE에 대한 11개 ACR 분류 기준²⁹의 각각에 대한 계수 및 백분율을 보여준다.
- [0212] 총 3583개의 대조 샘플을 연관성 분석으로 검사하였다. 상기 프로젝트의 일부로서, 1861개의 대조 샘플을 자기 설명적인 민족성, 성별 및 연령을 기준으로 New York Cancer Project (NYCP) 컬렉션³⁰으로부터 선택한 후 유전자형을 결정하였다. 또한, 1722개의 자기 설명적인 백인 대조 샘플로부터의 유전자형 데이터를 공개적으로 이

용가능한 iControlDB 데이터베이스 <www.illumina.com/pages.ilnm?ID=231>로부터 얻었다.

- [0213] 복제를 위해, 793명의 스웨덴 SLE 환자 (모두 ACR에 의해 규정되는 바와 같은 SLE에 대한 분류 기준 중 4개 이상을 충족함) 및 857명의 건강한 스웨덴 대조군 개인의 독립적인 컬렉션으로부터의 DNA 샘플에 대해 유전자형을 결정하였다. 환자는 스웨덴 룬트 옉살라 캐롤린스카 (솔나 (Solna))의 류마티스 클리닉 및 우메아 대학 병원 (Umea University Hospitals)⁷의 환자이었다. 모든 협력 시설의 임상시험 심사위원회 (The Institutional Review Boards)는 이들 연구를 승인하였고, 모든 참가자는 고지에 입각한 동의 (informed consent)를 제공하였다.
- [0214] 유전자형 결정
- [0215] NYCP로부터의 대조 샘플 (N=1861)을 파인스타인 의학 연구소에서 Illumina HumanHap550 Genotyping BeadChip31 상에서 유전자형 결정하였다. 1465개의 샘플 (464개의 사례, 1001개의 대조군)을 HumanHap550v1 칩 상에서 유전자형 결정하고, 1875개의 샘플 (1015개의 사례, 860개의 대조군)을 HumanHap550v3 칩 상에서 유전자형 결정하였다. 이들 대조 샘플 중 1452개로부터의 유전자형 데이터를 iControlDB에 제출하고, 공표에 앞서 공개적으로 이용가능하게 하였다. HumanHap550 BeadChip을 이용하여 유전자형을 결정한 추가의, 독립적인 세트의 1722개의 백인 샘플을 iControlDB <www.illumina.com/pages.ilnm?ID=231>의 연구 66 및 67로부터 얻었다. 사례 샘플을 파인스타인 의학 연구소에서 연속상으로 유전자형 결정하였다; 시리즈 1은 ABCoN 및 MADGC로부터의 479개의 사례로 이루어지고, 시리즈 2는 UCSF로부터의 613개의 사례를 포함하고, 시리즈 3은 UPMC 및 파인스타인 의학 연구소로부터의 387개의 사례로 이루어졌다. 두 HumanHap550 버전 상에 제시된 545,080개의 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)에 대한 분석을 진행시켰다. 칩을 가로질러 평균 콜율 (call rate) < 80%인 사례 및 대조 샘플에 대해 다시 유전자형을 결정하였다.
- [0216] 스웨덴 복제 컬렉션에서, 스웨덴 옉살라의 SNP 네크놀로지 플랫폼 (SNP Technology Platform) <www.genotyping.se>에서 형광 편광 검출 및 퍼킨-엘머 (Perkin-Elmer)로부터의 시약을 사용하는 균질한 단일 염기 프라이머 연장 분석을 사용하여 SNP rs11574637 및 rs13277113의 유전자형을 결정하였다. 샘플 내의 유전자형 콜율은 96%이고, 재현가능성은 유전자형의 4.6%의 이중 분석에 따라 100%이었다. 20명의 구성원이 있는 3세대 CEPH 혈통을 연구 샘플과 평행으로 유전자형 결정하였고, 각각의 SNP에 대해 멘델 (Mendelian) 유전으로부터의 편차는 관찰되지 않았다.
- [0217] 데이터 품질 필터
- [0218] 평균 콜율이 $\leq 95\%$ 인 샘플 (N=42) 또는 개인의 기록된 성별이 관찰된 성별과 일치하지 않는 경우 (N=21)를 분석으로부터 제외하였다. 계층을 가로질러 IBS (identity by state)를 각각의 샘플에 대해 추정하고, 샘플을 잠재적 (cryptic) 관계성에 대해 검토하였다. 이중 또는 1차-3차적 가족인 것으로 추정되는 각각의 쌍으로부터의 하나의 샘플은 제거되었다 ($Pi_hat > 0.10$ 및 $Z1 \geq 0.15$, N=161). 이들 쌍 중 3개는 사례 및 대조군 모두로 이루어지고; 대조군은 제거되었다. < 1%의 사례에서 빈도 (N=21,644) 또는 대조군에서 HWE $P \leq 1 \times 10^{-6}$ (N=2819)를 갖는 SNP는 분석으로부터 제거되었다. 분실도 (missingness) > 5%인 SNP (N=6074)는 제거되었다. SNP를 사례와 대조군 사이의 분실도에서 유의한 차이의 확률에 대해 시험하였고; $P \leq 1 \times 10^{-5}$ 인 SNP (N=7646)는 제거되었다. SNP를 또한 예를 들어 ABCoN 샘플과 다른 모든 사례 사이에서 배치 효과 (batch effect)에 대해 시험하였고; $P < 1 \times 10^{-9}$ 인 SNP (N=13)는 제거되었다.
- [0219] 집단 이상점 (outlier)은 EIGENSTRAT³³를 사용하여 검출하였다. 임의의 상위 10개 주성분을 따라 평균으로부터 6 초과인 표준 편차를 갖는 샘플을 분석으로부터 제외하였다 (N=141). 남아있는 3340개의 대조 샘플로부터의 데이터를 각각의 SLE 사례 시리즈에 비례적으로 무작위로 지정하여, ~2.5 대조군:사례비를 생성하였다 (표 1).
- [0220] 시리즈 1은 411개의 사례와 1047개의 대조군으로 이루어지고, 시리즈 2는 595개의 사례와 1516개의 대조군으로 이루어지고, 시리즈 3은 305개의 사례와 777개의 대조군으로 이루어졌다. 전체적으로 사례의 93%가 여성이고, 대조군의 62%가 여성이었다. 남성과 여성 사이에 대립유전자 빈도에서 유의한 차이가 인지되지 않았다.
- [0221] 적어도 하나의 시리즈에서 > 2% 분실 데이터를 갖는 SNP 및 분실 데이터가 사례와 대조군 사이에 불균등하게 분포되는 경우 (차별적 분실도, $P < 1 \times 10^{-3}$)는 제거되었다 (N=3323). 염색체 X의 의사-상동염색체 구역 내의 SNP (N=13)는 유의한 연관성을 보이지 않았고, 추가의 분석으로부터 제외하였다. 샘플 및 마커 필터링을 소프

트웨어 프로그램 PLINK³⁴ 내에서 분석 모듈을 사용하여 수행하였다. 각각의 시리즈에 대해, 총 502,033개의 SNP를 하류 분석으로 진행시켰다.

[0222] 데이터 분석

[0223] SLE 감수성에 대한 모든 SNP의 연관성은 2x2 분할표를 사용하여 계산하였다. 이어서, 각각의 샘플 시리즈에 대해 게놈 대조군 팽창 인수 (λ_{gc})를 계산하였다³⁵. 게놈 대조군 팽창 인수는 대부분의 분포가 귀무 가설에 일치하는지 ($\lambda_{gc}=1.0$) 여부를 반영하는 중앙 카이 제곱에 기반한 계량 (metric)이다. λ_{gc} 값 > 1은 전체 기술적 인공물 또는 집단 계층화의 존재로 인해 평균 카이 제곱 연관성 통계의 상승을 나타낸다. 기술적 인공물을 최소화하기 위해 저품질 데이터를 제거한 후, 팽창의 증거는 각각의 시리즈에 대해 인지되었다: 시리즈 1, 2 및 3에 대해 각각 1.14, 1.18, 및 1.11. 집단 계층화의 존재에 대해 교정하기 위해, 각각의 시리즈에 대한 주성분을 EIGENSTRAT에서 SNP의 하위세트를 사용하여 계산하였다. 사례 MAF < 2% (5011), 대조군 HWE $P \leq 1 \times 10^{-4}$ (1792), 또는 분실 데이터 > 1% (50414)인 SNP는 제거되었고, 또한 염색체 6 (24-36 Mb), 8 (8-12 Mb), 11 (42-58 Mb), 및 17 (40-43 Mb) 상의 구조적 변이로 인한 비정상 LD 패턴의 구역 내의 SNP도 제거되었다. 남아 있는 440,202개의 SNP를 주성분을 계산하기 위해 사용하였다. 각각의 시리즈에서, 처음 4개의 주성분은 모든 502,033개의 SNP에 대해 연관성 통계를 조정하기 위해 사용하였다. 집단 계층화에 대한 조정 후에, 각각의 시리즈에 대한 λ_{gc} 는 1.0에 접근하였다 (표 1 참조). 각각의 시리즈에 대한 교정된 연관성 통계를 λ_{gc} 를 포함한 Z-스코어의 가중된 병합에 의해 조합하였다 (도 12). 상위 50개 로커스를 도 5에 도시한다. 추가로, 각각의 시리즈로부터 QC 필터를 통과하는 모든 SNP에 대한 통계학 및 조합된 연관성 통계를 표 (제시하지 않음)에 요약하였다.

[0224] 가장 연관된 변이체에 대한 3개의 사례-대조군 연구 사이의 비균질성에 대해 시험하기 위해, PLINK 내에 갖추어진 Breslow-Day 시험을 각각의 이들 구역에서 최상의 연관성을 갖는 SNP에 대해 실행하였다: HLA DRB, STAT4, IRF5, BLK, 및 ITGAM/ITGAX. 유의한 비균질성은 검출되지 않았다 (각각의 $P > 0.2$).

[0225] 맨틀-헨젤 (Mantel-Haenszel) 비균질성 시험, 및 Stata 9.2 (www.stata.com/)에 갖추어진 조합된 교차비 (odds ratio)를 사용하여, 조합된 데이터세트에 대해 개별 SNP와 하위 표현형 사이의 연관성을 계산하였다 (도 9). ACR 기준은 상호 관련되는 것으로 알려져 있고 $\alpha=0.05/11=0.0045$ 의 단순 본페로니 교정은 아마도 지나치게 보존적일 것이므로, 계산된 P-값은 다수 시험에 대해 조정되지 않았다.

[0226] 유전자 발현 분석

[0227] 공개적으로 이용가능한 데이터세트 (GENEVAR 프로젝트, www.sanger.ac.uk/humgen/genevar/)로부터 210명의 비관련된, 건강한 HapMap 개인으로부터의 엡스타인-바아 (Epstein-Barr) 바이러스 형질전환된 B 세포주의 유전자 발현 측정을 SLE와 유의하게 연관된 변이체에 대한 상관관계에 대해 검토하였다³⁶. 구체적으로, 60명의 북유럽 및 서유럽 혈통의 미국 거주자 (CEU), 60명의 요루바족 (Yoruba) (YRI), 45명의 베이징의 중국 한족 (Han Chinese) 개인 (CHB) 및 45명의 도쿄의 일본인 개인 (JPT)으로부터의 BLK (GI_33469981-S), C8orf13 (GI_32698772-S), ITGAM (GI_6006013-S), ITGAX (GI_34452172-S), ACTB (베타-액틴, GI_5016088-S), 및 GAPDH (GI_7669491-S)에 대한 프로브로부터 4회 측정의 중앙 형광 강도를 검토하였다. BLK, C8orf13, GAPDH 및 ACTB에 대한 발현 데이터를 rs13277113 유전자형 (HapMap (www.hapmap.org)로부터 얻은)에 의해 계층화하였고, 차별적 발현의 유의성은 동일한 분산을 가정하는 2측 (2-tailed) t-검정에 의해 측정하였다. 유사하게, ITGAM, ITGAX, GAPDH 및 ACTB에 대한 발현 데이터는 rs11574637에서 유전자형에 의해 계층화하였고, t-검정을 이용하여 유의성에 대해 시험하였다. GENEVAR 프로젝트에 의해 설명되는 바와 같이 HapMap 집단을 가로질러 로그 스케일 상에 표준화된 발현 데이터는 중앙 형광 강도에 대해 유사한 결과를 생성하였다.

[0228] 독립적인 세트의 400개의 EBV-형질전환된 B 세포에서 시스 (cis)-유전자 변이에 대한 BLK 및 C8orf13 발현의 연관성은 최근에 공개된 연구 (www.sph.umich.edu/csg/liang/asthma/)³⁷의 검토 및 데이터-수집에 의해 얻었다. 구체적으로, BLK (프로브 206255_at) 및 C8orf13 (프로브 226614_s_at)의 발현 수준에 대한 rs13277113 (rs4840568)에 대한 프록시 (proxy)의 연관성은 문헌 [Dixon et al.³⁷]에서 설명된 바와 같이 측정되었다.

[0229] 실시예 2. 신규한 감수성 로커스로서 C8orf13/BLK 및 ITGAM/ITGAX의 확인

[0230] 게놈 전역 연관성 분석

- [0231] Illumina 칩 상의 총 502,033개의 다형성 SNP가 품질 제어 필터를 통과하였고, 3개 사례-대조군 시리즈 (표 1)를 사용하여 단계적 방식으로 SLE에 대한 연관성에 대해 시험되었다. 조합된 연관성 통계학은 시리즈 크기에 대해 가중되고 각각의 시리즈의 잔류 λ_{gc} 에 대해 조정된 EIGENSTRAT-교정된 카이 제곱 검정 통계학 (방법 참조)으로부터 전환된 Z-스코어의 첨가에 의해 계산하였다.
- [0232] 귀무 분포에 대한 P 값에 대하여 관찰된 메타-분석 (meta-analysis) P 값의 비교를 도 1에 도시한다. 귀무 분포로부터 유의한 편차가 분포의 꼬리에서 관찰되었고 (도 1A, 흑색 마름모), 이는 진양성 (true positive) 연관성의 존재를 나타낼 수 있다. SLE에 대한 강한 연관성이 3개의 확립된 위험 로커스에 대해 인지되었다. HLA 클래스 II 구역에서, rs2187668이 DRB1*0301 대립유전자의 거의 완전한 예측자이고³⁸, 조합된 분석에서 SLE와 가장 강하게 연관된 변이체였다 ($P = 3 \times 10^{-21}$). 추가의 157 HLA 구역 SNP (이들 중 많은 것은 DRB1*0301 대립유전자에 상호 관련된다)는 5×10^{-7} 미만의 관찰된 P 값을 가졌다 (도 1B). 인터페론 조절 인자 5 (IRF5)의 잘-입증된 위험 일배체형에 연결된 변이체와 강한 연관성이 관찰되었다 (예를 들어, rs10488631, $P = 2 \times 10^{-11}$)⁷⁻⁹. 또한, STAT4와의 연관성이 관찰되었다 (rs7574865, $P = 9 \times 10^{-14}$). SLE 및 류마티스성 관절염과 STAT4 연관성은 최근에 보고되었다¹⁰. 본원에서 SLE 데이터세트는 보다 초기 보고서의 것과 겹치고¹⁰, 선행 분석에서 포함되지 않은 추가의 341개의 사례 및 2905개의 대조군을 포함한다. 또한, 본원에서 보고된 상위 STAT4 SNP에 대한 P 값은 집단 계층화에 대해 교정되었다.
- [0233] 카이 예상된 대 관찰된 분석으로부터 HLA, IRF5 및 STAT4에서 변이체를 제거한 후, 귀무 분포로부터 P 값의 편차는 제거되지 않았고 (도 1A, 원), 이것은 추가의 SLE 로커스의 존재를 제안한다. 도 1B에 도시된 바와 같이, B 림프구 티로신 키나제 (BLK) 유전자 부근의, 및 인테그린 알파 M (ITGAM) 및 인테그린 알파 X (ITGAX) 유전자를 함유하는 구역 내의 다수의 SNP는 조합된 분석에서 SLE와 고도로 연관되었다. 이들 유전자 또는 구역은 이전에는 SLE 감수성에 관련되지 않았다.
- [0234] *BLK/C8orf13*
- [0235] 염색체 8의 짧은 아암 (arm) 상의 몇몇 변이체 (8p23.1)는 SLE와 연관되었다 (도 2, 표 2, 도 8). rs13277113의 "A" 대립유전자는 대조군에 비해 미국 SLE 사례에서 매우 풍부하였다 ($P = 8 \times 10^{-8}$, 조합된 OR = 1.39, 95% C.I. = 1.26-1.54). 상기 초기 관찰을 확인하기 위해, 스웨덴으로부터 793개의 SLE 사례 및 857개의 매칭된 대조군의 독립적인 선택을 rs13277113에 대해 분류하였고, SLE에 대한 소수 (minor) "A" 대립유전자의 확실한 연관성이 또한 관찰되었다 ($P = 3.6 \times 10^{-4}$, OR = 1.33, 95% C.I. = 1.13-1.55; 표 2). 미국 및 스웨덴 샘플을 모두 사용한 rs13277113의 메타-분석에서는 $P = 1.4 \times 10^{-10}$ 을 보여주었고, 이것은 연관성의 정밀한 계층-전역 유의성 역치 $P < 5 \times 10^{-8}$ 을 능가한다³⁹.
- [0236] rs13277113을 반대 방향으로 전사된 2개의 유전자 사이에 매핑한다: BLK- B 세포 수용체의 하류에 신호전달하는 src 패밀리에 티로신 키나제, 및 C8orf13 - 미지의 기능을 갖는, 세포 전역에서 (ubiquitously) 발현되는 유전자 (도 2). BLK 또는 C8orf13의 공지의 코딩 구역 변이체는 rs13277113과 연관 불균형 (LD) 상태이다.
- [0237] 일반적 유전자 변이가 시스 유전자 발현의 수준과 상호 관련되는 것으로 나타났다^{8,36,37,40}. 연관된 프로모터 SNP가 BLK 및/또는 C8orf13의 mRNA 발현에 영향을 미칠 것인지를 결정하기 위해, 210개의 비관련된 HapMap 샘플의 엡스타인-바 바이러스 형질전환된 B 림프구 세포주로부터 생성된 유전자 발현 데이터세트를 조사하였다³⁶. 놀랍게도, rs13277113의 위험 "A" 대립유전자는 BLK의 낮은 수준의 mRNA 발현과 연관되었다 (도 2B). A 대립유전자에 대한 동종접합체는 G 대립유전자에 대한 동종접합체보다 ~50% 더 낮은 수준의 발현을 보였고, A/G 이종접합체는 중간 수준을 가졌다. 흥미롭게도, C8orf13 유전자의 발현은 또한 위험 일배체형과 상호 관련되지만, 반대 방향이다. rs13277113의 A 대립유전자는 형질전환된 주에서 C8orf13의 보다 높은 발현과 연관된 반면, G 대립유전자는 보다 낮은 발현과 유의하게 연관되었다 (도 2C). 다시, A/G 이종접합체는 중간 수준의 발현을 보였다. 많은 대조군 mRNA (예를 들어 베타-액틴, GAPDH)의 발현은 rs13277113에서 유전자형에 기초하여 세포주에서 다양하지 않았고 (도 6), BLK 발현에서 일관된 대립유전자 차이가 모든 HapMap 집단에서 관찰되었다 (도 7). 이들 결과는 400개의 비-HapMap 형질전환된 B 세포주에서 유전자 발현의 독립적인 데이터세트 및 계층-전역 SNP를 분석함으로써 확인되었다³⁷. 본 데이터세트에서, rs13277113에 상호 관련된 마커 (rs4840568,

$r^2=0.77$)는 BLK의 감소된 발현 ($P = 8.9 \times 10^{-27}$, 프로브 206255_at) 및 C8orf13의 증가된 발현 ($P = 4.6 \times 10^{-35}$, 프로브 226614_s_at) 모두와 연관되었다.

[0238] IRF1, PPARG 및 인터페론-자극된 반응 요소에 대한 모티프를 포함한 다수의 보존된 전사 인자 결합 부위가 BLK 및 C8orf13의 5' 구역 내에 위치한다. 그러나, rs13277113 또는 상호 관련된 변이체 ($r^2>0.5$)는 공지의 전사 인자 결합 부위 또는 다른 공지의 기능적 핵산 모티프를 변경시키지 않았다. 본 발명자들은 rs13277113 또는 변이가 rs13277113과 강하게 연관되고, BLK 및 C8orf13의 mRNA 발현의 수준을 변경시킨다고 결론지었다.

[0239] *ITGAM/ITGAX*

[0240] 염색체 16 상의 인테그린 알파 사슬 유전자의 클러스터 (cluster) 내의 변이체가 또한 SLE와 유의하게 연관되었다 (도 3, 표 2). rs11574637의 "C" 대립유전자의 재현가능한 연관성이 3 SLE 시리즈에 걸쳐 관찰되었다 ($P = 5 \times 10^{-7}$, OR = 1.30, 95% C.I. = 1.17-1.45). 중요하게는, rs11574637의 "C" 대립유전자는 스웨덴 복제 시리즈에서 유사하게 매우 풍부하였고 ($P = 4 \times 10^{-7}$, OR = 1.59, 95% C.I. = 1.33-1.91; 표 2), 메타-분석은 조합된 $P = 3 \times 10^{-11}$ 을 보였다. 본 발명자들은 rs11574637에 연결된 변이가 확인된 SLE 위험 대립유전자를 나타내고, ITGAM/ITGAX 로커스가 SLE 발병기전에 기여하는 것으로 결론지었다.

[0241] rs11574637은 ITGAM, 및 ITGAX의 5' 부분을 포함한 몇몇 유전자를 코딩하는 ~150 kb를 포괄하는 상호 관련된 SNP의 큰 블록의 일부이다 (도 3A). ITGAM 및 ITGAX는 모두 EBV 형질전환된 B 세포에서 검출가능한 수준으로 발현되지만, rs11574637은 두 유전자의 mRNA 발현 수준과 유의하게 상호 관련되지 않았다 (데이터를 제시하지 않음). 잠재적으로 중요하게는, SNP rs11574637은 ITGAM의 2개의 비-동의 변이체와 상호 관련된다. 대조 집단에서, Pro1146Ser 변이체 (rs1143678, $P = 2.5 \times 10^{-5}$)는 질병-연관된 rs11574637 변이체와 0.85의 r^2 으로 상호 관련되었다. rs1143678의 "C" 대립유전자 및 1146Ser 대립유전자는 18.2%의 대조 염색체 상에 일배체형을 형성하고; "C" 대립유전자는 또한 1146Ser 대립유전자가 결여되는 별개의 2% 일배체형 상에 존재한다. 제2 비-동의 대립유전자 (rs1143683, Ala858Val)는 본 연구에서 직접적으로 유전자형이 결정되지 않았지만, Pro1146Ser과 고도로 상호 관련된다 (HapMap CEU에서 $r^2=0.85$). ITGAM 비-동의 변이체 또는 추가의 대립유전자(들)이 ITGAM/ITGAX 구역 내의 연관성의 근간이 되는지 결정하기 위해 추가의 연구가 요구될 것이다.

[0242] *SLE 임상 양상과의 연관성*

[0243] 마지막으로, 2개의 상위 SNP, 즉 rs11574637 (BLK) 및 rs13277113 (ITGAM)와 조합된 사례 시리즈 1-3 (도 9, 및 방법 참조)을 사용하는 개별 ACR 기준의 존재 사이의 연관성을 검토하였다. 가장 강한 연관성은 rs11574637 소수 대립유전자와 관절염의 존재 사이의 역관계이었다: OR=0.73 (95% CI = 0.59-0.91, $P = 0.0045$). 두 변이체는 혈액학적 기준과 적당하게 연관되었다: rs11574637, OR=1.21 (95% CI = 1.00-1.47, $P = 0.04$) 및 rs13277113, OR = 1.23 (95% CI = 1.03-1.46, $P = 0.02$). 다른 유의한 연관성은 관찰되지 않았다.

[0244] *논의*

[0245] 본 발명의 노력은 SLE에서 수행된 포괄적인 게놈-전역 연관성 연구의 결과를 설명한다. 매우 많은 SLE 사례 (1311)와 훨씬 더 큰 군의 대조군 (3340)을 연구함으로써, SLE에 대한 위험에 기여하는 주요 대립유전자가 검출되었다. 실험에 양성 대조군으로서 역할을 하는 HLA 구역, IRF5 및 STAT4에서 강한 신호가 관찰되었고, 이것은 이들 로커스가 상기 질병에서 가장 중요한 유전 인자 중의 하나임을 확인한다.

[0246] src 패밀리 티로신 키나제 BLK는 SLE에 대한 흥미로운 새로운 후보 유전자이다. BLK의 발현은 B 림프구 계통에 매우 한정된다⁴¹. 마우스에서 Blk 발현은 순환하는 후기 pro-B 세포에서 처음 관찰되고, B 세포 발달 내내 지속하고, 혈장 B 세포에서 후속적으로 하향조절된다⁴². Blk에 대한 녹아웃 (knockout) 마우스는 가시적인 표현형을 갖지 않고⁴³, 인간 B 세포에서 기능적 연구는 수행되지 않았다. 이론에 매이지 않으면서, BLK는 B 세포 수용체의 하류에 신호를 전달하는 티로신 키나제 중 하나이고, 아마도 마우스에서 과잉 역할을 하여 녹아웃에서 표현형의 결핍을 일으킨다. B 세포 수용체 연관된 키나제의 역할에서 주요 종 차이에 대한 선례가 있다. 예를 들어, 인간에서 브루톤 (Bruton) 티로신 키나제 (BTK) 결핍은 X-연관 무감마글로불린혈증, 및 B 세포의 완전 결여를 일으킨다⁴⁴. 그러나, 마우스에서 Btk의 결핍은 기능적으로 손상된 성숙 B 세포의 생산과 함께 훨씬 더 온화

한 표현형과 연관된다.

[0247] B 세포 수용체를 통한 신호 전달은 B 세포 발달 동안 아네르기의 유도, 결실 및 수용체 편집을 통해 B 세포 레퍼토리를 확립하기 위해 중요하다^{46,47}. 본원에서 나타난 바와 같이, BLK에서 위험 대립유전자는 형질전환된 B 세포주에서 BLK mRNA의 감소된 발현과 연관된다. 이론에 매이지 않으면서, BLK의 변경된 단백질 수준은 B 세포에서 내성 메커니즘에 영향을 미칠 수 있어서, 개인을 전신 자가면역에 소인을 갖도록 한다. Ly108 (루푸스에 대한 NZM2410 마우스 모델에서 주요 유전자 로커스 중 하나)에 대해 유사한 메커니즘이 최근에 밝혀졌다⁴⁸. 따라서, 본 발명의 한 실시태양에서, 당업자는 세포 전역에서 발현되는 유전자 C8orf13의 발현에 대한 위험 일배체형의 효과를 평가하기 위해 본원에 제공된 정보를 이용할 수 있다.

[0248] 본 스캔에서 확인된 제2 로커스는 ITGAM/ITGAX이다. ITGAX는 ITGAX의 5' 부분 내로 연장하는 구역 내에서 강한 LD에 기초한 고려에서 배제되지 않지만, 데이터는 ITGAM이 구역 내에서 관련 유전자일 수 있음을 제안한다. ITGAM (CD11b, Mac-1, 및 보체 수용체 타입 3으로도 알려짐)은 수지상 세포, 대식세포, 단핵구, 및 중성구를 포함한 다양한 골수양 세포 종류에 의해 발현되는, 특징이 잘 밝혀진 인테그린 알파 사슬 분자이다⁴⁹⁻⁵¹. ITGAM은 ITGB2와 이종이량체를 형성하고 (CD18), 면역계에서 세포 종류들 사이의 부착, 및 골수 세포의 내피에의 부착을 매개한다⁵². ITGAM에 대해 결핍되는 마우스는 루푸스를 포함한 자가면역의 몇몇 모델에서 향상된 질병 진행 및 염증을 보이고⁵³⁻⁵⁵, 최근의 데이터는 ITGAM이 정상적으로 Th17 분화 (자가면역의 유도와 관련된 경로)를 억제하는 기능을 할 수 있음을 제안한다⁵⁶. 흥미롭게도, CD11b의 발현은 활성 SLE 환자의 중성구에서 상승되는 것으로 보고되었다. 그의 2개의 고도로 상호 관련된 비-동의 대립유전자를 갖는 ITGAM에 대한 위험 대립유전자는 단백질의 기능 및/또는 발현의 조절을 변경시키는 소인이 되어, 전신 자가면역에 기여할 수 있다.

[0249] 요약하면, 본 발명의 데이터는 SLE에 대한 2개의 새로운 감수성 로커스를 확인한다: 염색체 8 상의 BLK/C8orf13 및 염색체 16 상의 ITGAM/ITGAX. 이들 2개의 로커스 내에서 가장 유망한 후보 유전자는 BLK 및 ITGAM이다. 이들 유전자의 확인은 SLE의 유전학 기초에 중요한 새로운 식견을 제공하고, 또한 치료를 위한 잠재적인 새로운 표적을 제안한다.

[0250] 실시예 3. 전신 홍반 루푸스 (SLE)에서 게놈-전역 연관성 스캔, 및 SLE와 상호 관련된 신규한 로커스의 확인

[0251] 본 실시예에서, 초기 데이터 세트는 HumanHap550v1 칩 및 Illumina HumanHap550v3 칩으로부터의 유전자형을 사용하는, 실시예 1 및 2에 상기 설명된 게놈 전역 연관성 연구로부터의 사례 및 대조군으로 이루어졌다. Illumina HumanHap550v1 칩으로부터의 데이터 세트는 각각의 464개의 사례 및 1962개의 대조군에서 555352 SNP로 이루어졌다. Illumina HumanHap550v3 칩으로부터의 데이터 세트는 각각의 971개의 사례 및 1621개의 대조군에서 561466개의 SNP로 이루어졌다. 각각의 데이터 세트에 대해, 품질-제어 필터를 실시예 1 및 2에서 상기 설명된 방식과 유사하게 적용하였다. HumanHap550v1 칩으로부터의 생성되는 데이터 세트는 각각의 422개의 사례 및 1881개의 대조군에서 534523개의 SNP로 이루어졌다. HumanHap550v3 칩으로부터의 생성되는 데이터 세트는 각각의 929개의 사례 및 1558개의 대조군에서 549273개의 SNP로 이루어졌다.

[0252] Illumina HumanHap550v1 칩으로부터의 상기 데이터 세트를 Illumina HumanHap550v3 칩으로부터의 상기 데이터 세트와 병합하였다. 생성되는 데이터 세트는 각각의 1351개의 사례 및 3439개의 대조군에서 564307개의 SNP로 이루어졌다. 상기 데이터 세트를 CGEMS 유방암 및 전립선암 연구로부터 유전자형과 병합하였다: 대조군으로서 사용된 각각의 4527 샘플에서 553820 SNP. 생성되는 데이터 세트는 각각의 1351개의 사례 및 7966개의 대조군에서 570099개의 SNP로 이루어졌다. 품질-제어 필터를 실시예 1 및 2에 상기 설명된 방식과 유사하게 적용하였다. 생성되는 데이터 세트는 각각의 1351개의 사례 및 7966개의 대조군에서 446856개의 SNP로 이루어졌다.

[0253] 상기 데이터 세트를 사용하여 프로그램 IMPUTE ([www, stats.ox.ac.uk/~marchini/software/gwas/impute.html](http://www.stats.ox.ac.uk/~marchini/software/gwas/impute.html))를 통해 Phase II HapMap에서 각각의 다형성 CEU SNP에 대한 유전자형 확률을 귀속시켰다. 권장되는 유효 집단 크기 (-Ne 11418)를 사용하였다.

[0254] SLE 상태와 각각의 귀속된 SNP 사이의 연관성을 프로그램 SNPTTEST (www.stats.ox.ac.uk/~marchini/software/gwas/snptest.html)를 사용하여 계산하였다. 집단 이상점을 제외하였고; 이들은 실시예 1 및 2에 상기 설명된 것과 유사한 방식으로 프로그램 EIGENSTRAT을 사용하여 결정되었다. 추가의 및 일반적 최빈도 모델을 시험하였다.

[0255]

참조문헌

1. Hochberg MC. The epidemiology of systemic lupus erythematosus. In: Wallace DJ, Hahn BH, eds. Dubois' Lupus Erythematosus. 5th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1997.
2. Wakeland EK, Liu K, Graham RR, Behrens TW. Delineating the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Immunity* 2001;15(3):397-408.
3. Nath SK, Kilpatrick J, Harley JB. Genetics of human systemic lupus erythematosus: the emerging picture. *Curr Opin Immunol* 2004;16(6):794-800.
4. Goldberg MA, Arnett FC, Bias WB, Shulman LE. Histocompatibility antigens in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1976;19(2):129-32.
5. Graham RR, Ortmann WA, Langefeld CD, et al. Visualizing human leukocyte antigen class II risk haplotypes in human systemic lupus erythematosus. *Am J Hum Genet* 2002;71(3):543-53.
6. Graham RR, Ortmann W, Rodine P, et al. Specific combinations of HLA-DR2 and DR3 class II haplotypes contribute graded risk for disease susceptibility and autoantibodies in human SLE. *Eur J Hum Genet* 2007;15(8):823-30.
7. Sigurdsson S, Nordmark G, Goring HH, et al. Polymorphisms in the tyrosine kinase 2 and interferon regulatory factor 5 genes are associated with systemic lupus erythematosus. *Am J Hum Genet* 2005;76(3):528-37.
8. Graham RR, Kozyrev SV, Baechler EC, et al. A common haplotype of interferon regulatory factor 5 (IRF5) regulates splicing and expression and is associated with increased risk of systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* 2006;38(5):550-55.
9. Graham RR, Kyogoku C, Sigurdsson S, et al. Three functional variants of IFN regulatory factor 5 (IRF5) define risk and protective haplotypes for human lupus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(16):6758-63.
10. Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, et al. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2007;357(10):977-86.
11. Ronnblom L, Alm GV. A pivotal role for the natural interferon alpha-producing cells (plasmacytoid dendritic cells) in the pathogenesis of lupus. *J Exp Med* 2001;194(12):F59-63.
12. Baechler EC, Gregersen PK, Behrens TW. The emerging role of interferon in human systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Immunol* 2004;16(6):801-07.

[0256]

13. Banchereau J, Pascual V. Type I interferon in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. *Immunity* 2006;25(3):383-92.
14. Miyagi T, Gil MP, Wang X, Louten J, Chu WM, Biron CA. High basal STAT4 balanced by STAT1 induction to control type 1 interferon effects in natural killer cells. *J Exp Med* 2007;Epublication; Sept 10.
15. A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005;437(7063):1299-320.
16. Dewan A, Liu M, Hartman S, et al. HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science* 2006;314(5801):989-92.
17. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007;447(7145):661-78.
18. Matarin M, Brown WM, Scholz S, et al. A genome-wide genotyping study in patients with ischaemic stroke: initial analysis and data release. *Lancet neurology* 2007;6(5):414-20.
19. Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, et al. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature* 2007;448(7152):470-73.
20. Plenge RM, Seielstad M, Padyukov L, et al. TRAF1-C5 as a Risk Locus for Rheumatoid Arthritis -- A Genomewide Study. *N Engl J Med* 2007.
21. Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 2007;316(5829):1331-36.
22. Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science* 2007;316(5829):1341-45.
23. Scuteri A, Sanna S, Chen WM, et al. Genome-Wide Association Scan Shows Genetic Variants in the FTO Gene Are Associated with Obesity-Related Traits. *PLoS Genet* 2007;3(7):e115.
24. Pe'er I, de Bakker PI, Maller J, Yelensky R, Altshuler D, Daly MJ. Evaluating and improving power in whole-genome association studies using fixed marker sets. *Nat Genet* 2006;38(6):663-67.
25. Bauer JW, Baechler EC, Petri M, et al. Elevated serum levels of interferon-regulated chemokines are biomarkers for active human systemic lupus erythematosus. *PLoS medicine* 2006;3(12):e491.

[0257]

26. Criswell LA, Pfeiffer KA, Lum RF, et al. Analysis of families in the multiple autoimmune disease genetics consortium (MADGC) collection: the PTPN22 620W allele associates with multiple autoimmune phenotypes. *Am J Hum Genet* 2005;76(4):561-71.
27. Seligman VA, Suarez C, Lum R, et al. The Fcγ receptor IIIA-158F allele is a major risk factor for the development of lupus nephritis among Caucasians but not non-Caucasians. *Arthritis Rheum* 2001;44(3):618-25.
28. Demirci FY, Manzi S, Ramsey-Goldman R, et al. Association of a common interferon regulatory factor 5 (IRF5) variant with increased risk of systemic lupus erythematosus (SLE). *Ann Hum Genet* 2007;71(Pt 3):308-11.
29. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40(9):1725.
30. Mitchell MK, Gregersen PK, Johnson S, Parsons R, Vlahov D. The New York Cancer Project: rationale, organization, design, and baseline characteristics. *J Urban Health* 2004;81(2):301-10.
31. Gunderson KL, Steemers FJ, Ren H, et al. Whole-genome genotyping. *Methods Enzymol* 2006;410:359-76.
32. Hsu TM, Chen X, Duan S, Miller RD, Kwok PY. Universal SNP genotyping assay with fluorescence polarization detection. *Biotechniques* 2001;31(3):560.
33. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet* 2006;38(8):904-09.
34. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 2007;81(3):559-75.
35. Devlin B, Roeder K, Wasserman L. Genomic control for association studies: a semiparametric test to detect excess-haplotype sharing. *Biostatistics* 2000;1(4):369-87.
36. Stranger BE, Nica AC, Forrest MS, et al. Population genomics of human gene expression. *Nat Genet* 2007;39(10):1217-24.
37. Dixon AL, Liang L, Moffatt MF, et al. A genome-wide association study of global gene expression. *Nat Genet* 2007;39(10):1202-7.
38. de Bakker PI, McVean G, Sabeti PC, et al. A high-resolution HLA and SNP haplotype map for disease association studies in the extended human MHC. *Nat Genet* 2006;38(10):1166-72.

[0258]

39. Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nature reviews* 2005;6(2):95-108.
40. Cheung VG, Spielman RS, Ewens KG, Weber TM, Morley M, Burdick JT. Mapping determinants of human gene expression by regional and genome-wide association. *Nature* 2005;437(7063):1365-69.
41. Dymecki SM, Zwollo P, Zeller K, Kuhajda FP, Desiderio SV. Structure and developmental regulation of the B-lymphoid tyrosine kinase gene *blk*. *J Biol Chem* 1992;267(7):4815-23.
42. Wasserman R, Li YS, Hardy RR. Differential expression of the *blk* and *ret* tyrosine kinases during B lineage development is dependent on Ig rearrangement. *J Immunol* 1995;155(2):644-51.
43. Texido G, Su IH, Mecklenbrauker I, et al. The B-cell-specific Src-family kinase *Blk* is dispensable for B-cell development and activation. *Mol Cell Biol* 2000;20(4):1227-33.
44. Tsukada S, Saffran DC, Rawlings DJ, et al. Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell* 1993;72(2):279-90.
45. Khan WN, Alt FW, Gerstein RM, et al. Defective B cell development and function in *Btk*-deficient mice. *Immunity* 1995;3(3):283-99.
46. Cornall RJ, Goodnow CC. B cell antigen receptor signalling in the balance of tolerance and immunity. *Novartis Foundation symposium* 1998;215:21-30.
47. Nemazee D, Weigert M. Revising B cell receptors. *J Exp Med* 2000;191(11):1813-7.
48. Kumar KR, Li L, Yan M, et al. Regulation of B cell tolerance by the lupus susceptibility gene *Ly108*. *Science* 2006;312(5780):1665-9.
49. Abbas AR, Baldwin D, Ma Y, et al. Immune response in silico (IRIS): immune-specific genes identified from a compendium of microarray expression data. *Genes Immun* 2005;6(4):319-31.
50. Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992;69(1):11-25.
51. Lu H, Smith CW, Perrard J, et al. *LFA-1* is sufficient in mediating neutrophil emigration in *Mac-1*-deficient mice. *J Clin Invest* 1997;99(6):1340-50.
52. Dunne JL, Collins RG, Beaudet AL, Ballantyne CM, Ley K. *Mac-1*, but not *LFA-1*, uses intercellular adhesion molecule-1 to mediate slow leukocyte rolling in TNF- α -induced inflammation. *J Immunol* 2003;171(11):6105-10 and Tables 1-6.

[0259]

53. Hammerberg C, Katiyar SK, Carroll MC, Cooper KD. Activated complement component 3 (C3) is required for ultraviolet induction of immunosuppression and antigenic tolerance. J Exp Med 1998;187(7):1133-38.
54. Sohn JH, Bora PS, Suk HJ, Molina H, Kaplan HJ, Bora NS. Tolerance is dependent on complement C3 fragment iC3b binding to antigen-presenting cells. Nat Med 2003;9(2):206-12.
55. Watts GM, Beurskens FJ, Martin-Padura I, et al. Manifestations of inflammatory arthritis are critically dependent on LFA-1. J Immunol 2005;174(6):3668-75.
56. Ehreichiou D, Xiong Y, Xu G, Chen W, Shi Y, Zhang L. CD11b facilitates the development of peripheral tolerance by suppressing Th17 differentiation. J Exp Med 2007;204(7):1519-24.
57. Buyon JP, Shadick N, Berkman R, et al. Surface expression of Gp 165/95, the complement receptor CR3, as a marker of disease activity in systemic Lupus erythematosus. Clin Immunol Immunopathol 1988;46(1):141-49.
58. Giglio S, Broman KW, Matsumoto N, et al. Olfactory receptor-gene clusters, genomic-inversion polymorphisms, and common chromosome rearrangements. Am J Hum Genet 2001;68(4):874-83.
59. Sugawara H, Harada N, Ida T, et al. Complex low-copy repeats associated with a common polymorphic inversion at human chromosome 8p23. Genomics 2003;82(2):238-44.

[0260]

[0261] 실시예 4. 1310개의 SLE 사례 및 7859개의 대조군에서 게놈-전역 연관성 스캔

[0262] 방법: SLE 사례와 대조군의 샘플 정보 및 유전자형 결정

[0263] SLE 사례 샘플의 선택 및 유전자형 결정은 이전에 설명되었다 (1). 간단히 설명하면, a) Autoimmune Biomarkers Collaborative Network (ABCOn) (NIH/NIAMS 기금 지원의 기탁) (2)로부터 338명의 대상, b) Multiple Autoimmune Disease Genetics Consortium (MADGC) (3)으로부터 141명의 대상 (ABCOn+MADGC = 사례 시리즈 1), c) 캘리포니아 주립대학 샌프란시스코 분교 (UCSF) Lupus Genetics Project (4, 5)로부터 613명의 대상 (사례 시리즈 2), 및 d) 피츠버그 대학 의료 센터 (UPMC) (6)로부터 335명의 대상 + 파인스타인 의학 연구소에서 수집된 8개의 샘플 (사례 시리즈 3)로부터의 DNA 샘플을 550K 어레이를 사용하여 유전자형 결정하였다. 모든 SLE 사례는 자가-기록으로 결정할 때 유럽계 북아메리카인이었다. SLE의 진단 (American College of Rheumatology (ACR) 규정 기준 (7) 중 4개 이상의 충족)은 모든 사례에서 의료 기록 검토에 의해 (94%) 또는 치료하는 류마티스 전문의에 의한 기준의 서면 문서화를 통해 (6%) 확인되었다. 이들 사례 시리즈에 대한 임상 데이터는 다른 곳에서 제시되었다 (4, 3, 2, 6, 5).

[0264] Illumina 550K 어레이를 사용하여 유전자형 결정된 총 8147개의 대조 샘플을 연관성 분석으로 검사하였다. 대조군으로 3개의 출처를 사용하였다 (모두 유럽계 북아메리카인): New York Health Project (NYHP) 컬렉션 (8)으로부터 1861개의 샘플; 공개적으로 이용가능한 iControlDB 데이터베이스 (www.illumina.com/pages.ilmn?ID=231)로부터의 1722개의 샘플; 및 공개적으로 이용가능한 Cancer Genetics Markers of Susceptibility (CGEMS) 프로젝트 (<http://cgems.cancer.gov/>)로부터의 4564개의 샘플. NYHP 샘플의 유전자형 결정은 이전에 설명되었다 (1).

[0265] 유전자형 데이터 품질 필터

[0266] 샘플 및 SNP 필터링을 아래에 설명된 바와 같이 소프트웨어 프로그램 PLINK (9) 및 EIGENSTRAT (10) 내에서 분석 모듈을 사용하여 수행하였다.

[0267] a) SLE 사례, NYCP 샘플, 및 iControlDB 샘플

[0268] Illumina 550K SNP 어레이, 버전 1 (HH550v1)을 사용하여 464개의 사례 및 1962개의 대조군을 유전자형 결정하고, Illumina 550K SNP 어레이, 버전 3 (HH550v3)을 사용하여 971개의 사례 및 1621개의 대조군을 설명된 바와 같이 유전자형 결정하였다 (1). 기록된 성별이 관찰된 성별과 일치하지 않는 샘플 (HH550v1: 10, HH550v3: 11) 및 > 5% 분실 유전자형인 샘플 (HH550v1: 25, HH550v3: 21)은 분석으로부터 제외하였다. SLE 사례와 대조군 사이의 잠재적 관계성은 모든 가능한 쌍형성 (pair-wise) 샘플 조합에 대해 게놈을 가로질러 IBS (identity-by-

state)의 추정에 의해 결정하였다. 이중 또는 1차-3차적 가족인 것으로 추정되는 각각의 쌍으로부터의 샘플은 제외되었다 ($Pi_hat \geq 0.10$ 및 $Z1 \geq 0.15$; HH550v1: 88, HH550v3: 73). 대조군에서 $HWE P \leq 1 \times 10^{-6}$ 를 갖는 SNP (HH550v1: 3176, HH550v3: 2240) 및 $> 5\%$ 분실 데이터를 갖는 SNP (HH550v1: 12605, HH550v3: 7137)는 제거되었다. SNP를 사례와 대조군 사이에서 분실 데이터의 빈도에서 유의한 차이에 대해 시험하였고, PLINK 내에 갖추어진 차별적 분실도 시험에서 $P \leq 1 \times 10^{-5}$ 를 갖는 SNP는 제거되었다 (HH550v1: 5027, HH550v3: 2804). SNP를 또한 성별 사이에서 유의한 대립유전자 빈도 차이에 대해 시험하였고; 모든 SNP는 대조군에서 $P \geq 1 \times 10^{-9}$ 을 가졌다. 데이터를 배치 효과 (예를 들어, ABCoN 샘플과 다른 모든 사례 사이에서)의 존재에 대해 검토하였고, $P < 1 \times 10^{-9}$ 를 갖는 대립유전자 빈도 차이를 갖는 SNP는 제외하였다 (HH550v1: 18, HH550v3: 10). 이중 집합성 반수체 유전자형을 갖는 변이체를 분실에 착수시켰다 (HH550v1: 2305, HH550v3: 875). 또한, 소수 대립유전자 빈도 < 0.0001 인 변이체를 제거하였다 (HH550v1: 97, HH550v3: 57).

[0269] b) CGEMS 샘플

[0270] 2277개의 전립선암 샘플 및 별개로 2287개의 유방암 샘플에 대해, 이중집합성 반수체 유전자형을 분실에 착수시켰다 (전립선암: 2717, 유방암: 0). 기록된 성별이 관찰된 성별에 일치하지 않은 샘플 (전립선암: 0, 유방암: 2) 및 $> 5\%$ 분실 데이터를 갖는 샘플 (전립선암: 15, 유방암: 1)은 제외하였다. 샘플을 상기 설명된 바와 같이 잠재적 관계성에 대해 시험하였고, 이중 또는 1차-3차적 가족인 것으로 추정되는 각각의 쌍으로부터의 하나의 샘플은 제외되었다 ($Pi_hat \geq 0.10$ 및 $Z1 \geq 0.15$, 전립선암: 12, 유방암: 7). $MAF < 0.0001$ 인 SNP (전립선암: 3254, 유방암: 2166)는 제거되었다.

[0271] c) 모든 샘플

[0272] 추가의 데이터 품질 필터를 모든 SLE 사례 및 대조군으로 이루어지는 병합된 데이터세트에 적용하였다. $> 5\%$ 분실 데이터인 SNP ($N=65,421$) 및 $> 5\%$ 분실 데이터를 갖는 샘플 ($N=0$)은 제거되었다. 이중 샘플에 대한 시험은 $MAF \geq 0.45$ 를 갖는 957 독립적인 SNP를 사용하여 수행하였고, 이중 샘플은 발견되지 않았다. 대조군에서 $HWE P \leq 1 \times 10^{-6}$ 인 SNP ($N=2174$) 및 $> 2\%$ 분실 데이터를 갖는 SNP ($N=5522$)는 제거되었다. 본 발명자들은 사례와 대조군 사이에서 분실 데이터의 비율에서 유의한 차이에 대해 SNP를 시험하였고, 과도한 분실 데이터를 갖는 SNP ($P \leq 1 \times 10^{-5}$, $N=16080$)를 제거하였다. SNP를 성별 사이에서 유의한 차이에 대해 시험하였고, 모든 SNP는 대조군에서 $P \geq 1 \times 10^{-9}$ 을 가졌다. SNP를 또한 특히 CGEMS 유방암 샘플과 다른 모든 대조군 사이, 및 CGEMS 전립선암 샘플과 다른 모든 대조군 사이에서 배치 효과의 존재에 대해 검토하였고, $P < 1 \times 10^{-9}$ 를 갖는 SNP ($N=73$)를 제거하였다. 상기 품질 필터의 적용 후에, 480,831개의 SNP가 남았다.

[0273] 사례 및 대조군을 EIGENSTRAT를 사용하여 집단 이상점의 존재에 대해 시험하였다. 사례에서 $MAF < 2\%$ ($N=16068$), 대조군에서 $HWE P \leq 1 \times 10^{-4}$ ($N=977$), 또는 $> 1\%$ 분실 데이터 ($N=17029$)를 갖는 SNP; 염색체 6 (24-36 Mb), 8 (8-12 Mb), 11 (42-58 Mb), 및 17 (40-43 Mb) 상의 구조적 변이로 인한 비정상 LD 패턴의 구역 내의 SNP; 및 염색체 X의 의사 상동염색체 구역 내의 SNP ($N=12$)는 집단 이상점을 검출하기 위해 변이의 주성분 (EIGENSTRAT)을 결정하는 목적에서 제외되었다. 임의의 상위 10개의 주성분을 따라 평균으로부터 6 초과 표준 편차를 갖는 샘플을 제거하였다 ($N=148$).

[0274] 최종 데이터 세트는 1310개의 사례, 7859개의 대조군, 및 480,831개의 SNP를 가졌고, 계통 대조군 팽창 인수 (λ_{gc}) (11)는 상기 데이터 품질 필터의 적용 후에 1.06이었다.

[0275] 관찰되지 않은 유전자형의 귀속

[0276] 인간 계통 내에 존재하는 광범한 연관 불균형은 높은 신뢰도를 가지면서 특정 상황에서 분류되지 않은 변이체의 추론을 허용한다. 공지의 일배체형의 세트 (HapMap Phase II 일배체형, www.hapmap.org)에 기초한 계통-전역 사례-대조군 연구에서 IMPUTE (관찰되지 않은 유전자형을 귀속하기 위한 프로그램)를 분석에서 사용하였다 (www.stats.ox.ac.uk/~marchini/software/gwas/impute.html).

[0277] GNE 사례 및 NYCP, iDB, 및 CGEMS 대조군의 귀속

[0278] 품질 제어 필터 후에, 1310개의 GNE 사례, 3344개의 NYCP 및 iDB 대조군, 4515개의 CGEMS 대조군, 및 446,856개의 SNP가 존재하였다. 포함된 CEU 일배체형, 범례 (legend), 및 NCBI Build 35에 지정된 맵 파일을 갖는 프

로그래임 IMPUTE (v0.3.1)을 실행하였다. 유효 집단 크기는 11418의 권장된 값에 설정하였다. 스트랜드 파일은 사용되지 않았고; IMPUTE에서 스트랜드 정렬 점검을 작동시켰다. 사례, NYCP 및 iDB 대조군, 및 CGEMS 대조군을 따로 귀속시키고, 각각의 염색체를 그 전체를 따로 귀속시켰다. 2,562,708개의 SNP를 귀속시켰다.

[0279] SNPTTEST (v1.1.3)를 사용하여 실제 및 귀속된 유전자형 모두에 대해 연관성 시험을 수행하였다. 이미 유전자형 결정된 SNP에 대해서는, 실제 유전자형을 사용하였다. 연관성 시험은 유전자형의 불확정성을 완전히 고려하기 위해 "-proper" 옵션을 갖는, 상가적 유전적 효과에 대한 코크란-아미타지 (Cochran-Armitage) 검정이었다. 0.50을 넘는 정보 스코어를 갖는 SNP (즉, frequentist_add_proper_info > 0.50)만을 유지하였다 (2,481,907 SNP [97%]).

[0280] 결과. 1310개의 사례 및 7859개의 대조군의 분석에서 SLE와 연관된 SLE 로커스의 비-과잉의 목록 ($P < 1 \times 10^{-5}$)을 표 1에 제시한다. 순위 순서의 목록은 상기 설명된 바와 같이 2백3십만 SNP의 분석으로부터 +/- 100kb 간격에서 최저 P 값을 갖는 단일 변이체를 디스플레이함으로써 생성된 것으로부터 +/- 100kb 간격에서 최저 P 값을 갖는 단일 변이체를 디스플레이함으로써 생성하였다.

표 1

1310개의 사례 및 7859개의 대조군의 분석에서 SLE와 연관된 로커스 ($P \leq 1 \times 10^{-5}$). 순위 순서의 목록은 설명된 바와 같이 2백3십만 SNP의 분석으로부터 +/- 100kb 간격에서 최저 P 값을 갖는 단일 변이체를 디스플레이함으로써 생성하였다. SNP (dbSNP id), 염색체, 위치 (인간 게놈의 Build 35에서 염기쌍 위치), SLE 사례 및 대조군에서 소수 대립유전자 빈도, SNPTTEST로부터 P 값 (귀속 (imputation) 정확도에 대해 교정하는 상가적 모델 하에), 귀속 정보 스코어 (귀속 정확도의 추정치) 및 교차비 (95% 신뢰 간격을 가짐)를 보여준다.

대립유전자 빈도							
SNP	염색체	위치 (Build 35)	사례 (N=1310)	대조군 (N=7859)	P	귀속 정보 스코어	교차비 (95% c.i.)
rs2187668	6	32713862	0.190	0.117	2.49E-24	1.00	1.76 (1.58-1.97)
rs13236009	7	128257124	0.175	0.111	2.37E-20	0.96	0.59 (0.52-0.66)
rs11889341	2	191769248	0.308	0.230	1.55E-19	0.97	1.49 (1.36-1.64)
rs6565228	16	31236781	0.041	0.029	1.40E-11	0.69	0.71 (0.56-0.91)
rs2736345	8	11389894	0.335	0.278	3.80E-09	0.96	1.31 (1.2-1.44)
rs6889239	5	150437964	0.300	0.251	1.21E-07	1.00	0.78 (0.72-0.86)
rs2391592	7	27983196	0.531	0.472	2.34E-07	0.92	0.79 (0.72-0.86)
rs2177770	2	141630291	0.086	0.064	2.54E-07	0.72	1.37 (1.15-1.63)
rs12039904	1	169943930	0.283	0.238	8.66E-07	0.95	1.26 (1.15-1.39)
rs4591368	2	71637413	0.008	0.004	1.03E-06	0.57	0.5 (0.3-0.84)
rs12882608	14	82621870	0.205	0.170	1.10E-06	0.90	0.79 (0.71-0.89)
rs3024493	1	203332363	0.187	0.148	1.96E-06	0.96	0.76 (0.68-0.85)
rs11678272	2	42061217	0.313	0.270	2.38E-06	0.98	0.81 (0.74-0.89)
rs874952	2	65520176	0.121	0.157	2.77E-06	1.00	1.35 (1.19-1.53)
rs2053482	8	98289410	0.076	0.054	3.01E-06	0.93	0.7 (0.6-0.83)
rs2431697	5	159812556	0.389	0.438	3.50E-06	1.00	1.22 (1.12-1.33)
rs6679677	1	114015850	0.107	0.079	3.55E-06	0.91	0.72 (0.62-0.83)
rs12445476	16	84548770	0.158	0.196	4.11E-06	0.99	1.3 (1.16-1.46)
rs2208384	1	232216137	0.212	0.252	4.43E-06	0.99	1.26 (1.14-1.39)
rs6879995	5	158447777	0.353	0.304	4.47E-06	0.92	0.8 (0.73-0.88)
rs10502821	18	39720893	0.003	0.001	4.54E-06	0.89	0.18 (0.07-0.45)
rs3790565	1	67523377	0.225	0.187	4.84E-06	1.00	0.79 (0.71-0.87)
rs2024831	6	14822843	0.218	0.185	5.17E-06	0.92	0.81 (0.73-0.9)
rs2066943	4	85247083	0.013	0.026	5.68E-06	0.61	0.5 (0.34-0.74)
rs12986652	2	180300843	0.112	0.087	5.69E-06	0.96	0.75 (0.66-0.86)
rs1196592	18	34246756	0.356	0.312	5.77E-06	1.00	0.82 (0.75-0.89)
rs7759216	6	106695307	0.425	0.377	5.84E-06	1.00	1.22 (1.12-1.33)
rs17484292	1	180031707	0.056	0.040	5.97E-06	0.75	0.7 (0.57-0.85)
rs1579289	5	107837653	0.134	0.168	6.44E-06	0.94	1.31 (1.15-1.48)
rs11970105	6	49429182	0.149	0.117	6.65E-06	0.89	0.76 (0.67-0.86)
rs10082917	12	40285103	0.390	0.346	6.93E-06	0.94	1.21 (1.1-1.32)
rs7006016	8	29655999	0.110	0.087	8.02E-06	0.80	1.29 (1.11-1.5)
rs11757479	6	114612099	0.059	0.040	8.63E-06	0.84	0.67 (0.55-0.81)
rs4968210	17	7398076	0.414	0.368	9.64E-06	0.94	0.83 (0.76-0.9)

[0281]

[0282] 실시예 5. GNE 연관성 스캔에서 보고된 SLE 위험 로커스의 메타-분석

- [0283] 방법
- [0284] 확인된 SLE 로커스에 대한 SLE 문헌 및 기준의 검토
- [0285] 총 16 대립유전자가 확인된 SLE 위험 로커스에 대한 아래 설명된 기준 중 하나를 충족하였다 (표 2).
- [0286] 1) $P \leq 1 \times 10^{-5}$ 의 적어도 2회의 독립적인 보고를 갖는 SLE 위험 로커스.
- [0287] 문헌을 $P \leq 1 \times 10^{-5}$ 를 갖는 비-겹침 SLE 코호트 (cohort)에서 2회의 독립적인 보고가 존재하는 로커스에 대해 검토하였다. 문헌 탐색은 2008년 4월 이전의 문서를 나타낸다. 동일한 효과의 방향을 갖는 SLE에 대한 연관성을 보이는 동일한 변이체 (또는 $r^2 > 0.3$ 을 갖는 프록시)가 요구되었다. HLA-DRB1*0301 (HLA-DR3, (18, 19)), HLA-DRB1*1501 (HLA-DR2, (18, 19)), 단백질 티로신 포스파타제 비-수용체 타입 22 (PTPN22, (20, 21)), 인터페론 조절 인자 5 (IRF5, (22, 23)), 전사의 신호 변환인자 및 활성인자 4 (STAT4, (5, 21)), B 림프구 티로신 키나제 (BLK, (21, 1)) 및 인테그린 알파 M (ITGAM, (1, 24))를 포함한 총 7개의 대립유전자가 요건을 충족하였다. 본원에 기재된 1310 SLE 사례 및 7859 대조군 게놈-전역 연관성 스캔에서 동일한 대립유전자 또는 최선의 프록시 ($r^2 > 0.85$)에 대해 분석을 진행시켰다 (표 2).
- [0288] 2) $P \leq 1 \times 10^{-5}$ 의 단일 보고를 갖는 SLE 위험 로커스.
- [0289] 2008년 4월 현재 단일 문서에서 보고된 $P \leq 1 \times 10^{-5}$ 를 갖는 SLE 위험 로커스에 대한 문헌 탐색을 수행하였고, 총 18개의 로커스가 확인되었다.
- [0290] 로커스 중 13개에서, 상기 설명된 1310개의 SLE 사례 및 7859개의 대조군 게놈 스캔에서 동일한 변이체 또는 거의-완전한 프록시 ($r^2 > 0.9$)의 유전자형이 결정되었다 (표 4). 아래 설명된 방법을 이용하는 메타-분석을 13개의 로커스에 대해 수행하였고, 로커스 중 8가 $P \leq 5 \times 10^{-8}$ 를 달성하였다. 게놈-전역 유의성을 달성하는 로커스 (로커스 내에서 단일 유전자에 의해 표지된)는 뇌하수체 종양-전환 단백질 1 (PTTG1), APG5 자가탐식 (autophagy) 5-유사 (ATG5), CTD-결합 SR-유사 단백질 rA9 (KIAA1542), 유비퀴틴-컨쥬게이팅 효소 E2L3 (UBE2L3), PX 도메인 함유 세린/트레오닌 키나제 (PXK), IgG의 Fc 단편, 저친화도 IIa, 수용체 (FCGR2A), 종양 괴사 인자 (리간드) 수퍼패밀리 4 (TNFSF4), 및 안키린 반복체 1을 갖는 B-세포 스캐폴드 단백질 (BANK1)을 포함한다. 메타-분석에서 게놈 전역 유의성에 도달하는 변이체를 분석으로 진행시켰다 (표 5, 표 2). 남아있는 5개의 로커스에서, 1310개의 SLE 사례 및 7859개의 대조군 SLE 게놈-전역 연관성 스캔에서 보고된 변이체 또는 거의-완전한 프록시 ($r^2 > 0.9$)는 유전자형 결정하지 않았다 (표 2). 그러나, 인터루킨-1 수용체-연합 키나제 1 (IRAK1) 내의 변이체는 관찰된 $P \leq 1 \times 10^{-4}$ 를 가졌고, 분석으로 진행시켰다 (표 1).
- [0291] 메타-분석
- [0292] 코호트 크기에 대해 가중된 Z-스코어를 합산함으로써 각각의 시리즈에 대한 교정된 연관성 통계학을 조합하였다.

1310개의 SLE 사례 및 7859개의 대조군의 본 방법의 GWAS에서 16개의 확인된 SLE 위험 대립 유전자에 대한 연관성 통계학. 대립 유전자는 P 값 순서이다.

로커스	연세체	SNP	위치* (Mb)	대립유전자 빈도			P 값	표준비 (95% CI)
				소수	사제	대조군		
<i>HLA-DR3</i>	6p21.32	rs2187668	32.714	T	0.190	0.117	9.5 x 10 ⁻²⁵	1.76 (1.58-1.97)
		rs1048863	128.18					
<i>IRF5</i>	7q32.1	1	8	C	0.170	0.109	1.4 x 10 ⁻¹⁹	1.68 (1.50-1.89)
			191.79					
<i>STAT4</i>	2q32.2	rs7574865	0	T	0.312	0.235	2.5 x 10 ⁻¹⁴	1.48 (1.34-1.64)
<i>ITGAM</i>	16p11.2	rs9888739	31.221	T	0.175	0.127	2.3 x 10 ⁻¹¹	1.46 (1.31-1.63)
		rs1327711						
<i>BLK</i>	8p23.1	3	11.387	A	0.294	0.242	1.7 x 10 ⁻⁸	1.30 (1.19-1.43)
			159.81					
<i>PTTG1</i>	5q33.3	rs2431697	3	C	0.389	0.438	3.3 x 10 ⁻⁵	0.82 (0.75-0.89)
			106.69					
<i>ATG5</i>	6q21	rs6568431	5	A	0.423	0.376	5.5 x 10 ⁻⁶	1.22 (1.12-1.32)
		rs1048926	169.96					
<i>TNFSF4</i>	1q25.1	5	8	C	0.278	0.238	8.7 x 10 ⁻⁶	1.24 (1.09-1.30)
			114.09					
<i>PTPN22</i>	1p13.2	rs2476601	0	A	0.116	0.089	8.9 x 10 ⁻⁶	1.35 (1.18-1.54)
			152.71					
<i>IRAK1</i>	Xq28	rs2269368	1	T	0.175	0.141	1.1 x 10 ⁻⁵	1.29 (1.15-1.45)
			158.29					
<i>FCGR2A</i>	1q23.3	rs1801274	3	A	0.463	0.500	4.1 x 10 ⁻⁴	0.86 (0.79-0.94)
<i>KLAAL54</i>								
2	11p15.5	rs4963128	0.580	T	0.303	0.333	3.1 x 10 ⁻³	0.87 (0.80-0.96)
<i>UBE2L3</i>	22q11.21	rs754217	20.264	T	0.215	0.192	6.4 x 10 ⁻³	1.15 (1.04-1.27)
<i>PYK</i>	3p14.3	rs6445975	58.345	G	0.305	0.281	0.010	1.13 (1.03-1.23)
<i>HLA-DR2</i>	6p21.32	rs3129860	32.509	A	0.160	0.147	0.092	1.10 (0.98-1.24)
		rs1051648	103.10					
<i>BANK1</i>	4q24	7	8	A	0.288	0.304	0.096	0.93 (0.85-1.01)

*위치는 NCBI Build 35로부터의 것이다.

P < 1 x 10⁻⁶를 갖는 동일한 SNP(또는 r² > 0.3인 표본사)를 갖는 적어도 2회 독립적인 보고가 존재하는 SLB 위험 로커스

로커스	염색체	보고 1				보고 2				GNE GWAS	
		대립유전자	P 값	참조	대립유전자	보고 1에서 대립 r ² 에	P 값	참조	추가 참조	SNP	보고 1에서 대립 r ² 에
<i>PTPV22</i>	1p13.2	rs2476601	1.0 x 10 ⁻⁵	(20)	rs2476601	1.00	5.2 x 10 ⁻⁶	(21)	(25)	rs2476601	1.00
<i>STAT4</i>	2q32.2	rs7574865	1.9 x 10 ⁻⁹	(5)	rs7574865	1.00	2.8 x 10 ⁻⁹	(21)	(1)	rs7574865	1.00
<i>HLA-DRE2</i>	6p21.32	DRB1*1501	1.0 x 10 ⁻⁵	(18)	DRB1*1501	1.00	1.0 x 10 ⁻⁷	(19)	(26)	rs3129860	0.97
<i>HLA-DRE3</i>	6p21.32	DRB1*0301	1.0 x 10 ⁻⁶	(18)	DRB1*0301	1.00	1.0 x 10 ⁻⁵	(19)	(21), (1), (26), (27)	rs2187668	0.87
<i>JRF5</i>	7q32.1	rs2004640	5.2 x 10 ⁻⁸	(22)	rs2004640	1.00	4.4 x 10 ⁻¹⁶	(23)	(21), (1), (28)	rs10488631	--
<i>BLK</i>	8p23.1	rs13277113	1.0 x 10 ⁻¹⁰	(7)	rs6985109	0.33	2.5 x 10 ⁻¹¹	(21)		rs13277113	1.00
<i>JTC4M</i>	16p11.2	rs1143679	6.9 x 10 ⁻²²	(24)	rs11574637	--	3.0 x 10 ⁻¹¹	(1)	(21)	rs9888739	0.86

P ≤ 1 x 10⁻⁵을 갖는 1회만 보고된 SLE 위험 로커스, 여기서 메타-분석이 가능하였다. 8개의 로커스가 메타 P ≤ 5 x 10⁻⁸을 가졌다.

로커스	염색체	대립유전자	P 값	참조	PNE GWAS*		
					SNP	보고에서 대립유전자에 대한 r ²	메타 P
<i>PTTG1</i>	5q33.3	rs2431697	1.0 x 10 ⁻¹⁰	(21)	rs2431697	1.00	3.3 x 10 ⁻⁶ 5.3 x 10 ⁻¹⁴
<i>ATG5</i>	6q21	rs6568431	1.7 x 10 ⁻⁸	(21)	rs6568431	1.00	5.5 x 10 ⁻⁶ 2.7 x 10 ⁻¹²
<i>KIAA1542</i>	11p15.5	rs4963128	3.0 x 10 ⁻¹⁰	(21)	rs4963128	1.00	3.1 x 10 ⁻³ 1.0 x 10 ⁻⁹
<i>UBE2L3</i>	22q11.21	rs5754217	7.5 x 10 ⁻⁸	(21)	rs5754217	1.00	6.4 x 10 ⁻³ 7.3 x 10 ⁻⁹
<i>PXK</i>	3p14.3	rs6445975	7.1 x 10 ⁻⁹	(21)	rs6445975	1.00	0.010 1.0 x 10 ⁻⁸
<i>FCGR24</i>	1q23.3	rs1801274	6.8 x 10 ⁻⁷	(21)	rs1801274	1.00	4.1 x 10 ⁻⁴ 3.9 x 10 ⁻⁸
<i>TNFSF4</i>	1q25.1	rs12039904	1.0 x 10 ⁻⁵	(29)	rs10489265	0.91	8.7 x 10 ⁻⁶ --
<i>BANK1</i>	4q24	rs10516487	3.7 x 10 ⁻¹⁰	(30)	rs10516487	1.00	0.096 --
<i>NMNAT2</i>	1q25.3	rs2022013	1.1 x 10 ⁻⁷	(21)	rs2022013	1.00	0.15 5.1 x 10 ⁻⁶
<i>IC41</i>	7p21.3	rs10156091	1.9 x 10 ⁻⁷	(21)	rs10156091	1.00	0.095 2.0 x 10 ⁻⁵
<i>LYN</i>	8q12.1	rs7829816	5.4 x 10 ⁻⁹	(21)	rs7829816	1.00	0.48 3.6 x 10 ⁻³
<i>SCUBE1</i>	22q13.2	rs2071725	1.2 x 10 ⁻⁷	(21)	rs2071725	1.00	0.63 8.3 x 10 ⁻³
<i>JTPR3</i>	6p21.31	rs3748079	2.9 x 10 ⁻⁸	(31)	rs3748079	1.00	0.95 --

* GNE GWAS: 1310개의 SLE 사례 및 7859개의 대조군의 본-발현의 GWAS.

표 5

$P \leq 1 \times 10^{-5}$ 을 갖는 1회만 보고된 SLE 위험 로커스, 여기서 메타-분석이 가능하지 않았다.
IRAK1만이 본 발명의 GNE GWAS에서 $P \leq 1 \times 10^{-5}$ 를 갖는 SNP를 가졌다.

로커스	염색체	보고			GNE GWAS*		
		대립유전자	P 값	참조	최선의 SNP†	P 값	SNP
IRAK1	Xq28	rs10127175	9.6×10^{-6}	(32)	rs2269368	1.1×10^{-5}	rs2269368
CRP	1q23.2	rs3093061	6.4×10^{-7}	(33)	rs3820099	3.0×10^{-3}	--
SELP	1q24.2	rs3917815	5.7×10^{-6}	(32)	rs9332628	8.8×10^{-3}	--
PDCD1	2q37.3	rs11568821	1.0×10^{-5}	(34)	rs3892357	0.84	--
TYK2	19p13.2	rs2304256	2.2×10^{-8}	(22)	rs12720356	2.7×10^{-3}	--

*GNE GWAS:1310개의 SLE 사례 및 7859개의 대조군의 대조군의 본 발명의 GWAS.
†최선의 SNP: 그 로커스에서 최저 P를 갖는 SNP

[0296]

[0297] 실시예 6. 요약

[0298] SLE 위험 로커스의 요약

[0299] SLE 위험 로커스는 2가지 1차적인 방법을 이용하여 확인하였다: a) 1310개의 SLE 사례 및 7859개의 대조군의 분석, 및 b) 이전에 보고된 SLE 위험 로커스의 메타-분석.

[0300] SLE 위험에 강한 연관성을 갖는 변이체의 비-과잉의 목록 ($P < 1 \times 10^{-6}$)을 표 6에 제공한다.

[0301] SLE 위험 및 치료에 대한 반응을 평가하기 위한 알고리즘

[0302] 표현형과 연관된 변이체는 상가적인 대립유전자 용량 의존 방식으로 상호작용하는 것으로 알려져 있다 (38, 39). 하나의 예시적인 실시태양에서, 다음 알고리즘을 사용하여 루푸스에 대한 위험, 질병 중증도, 및 치료에 대한 반응을 평가할 수 있다. 루푸스 사례는 보유된 위험 대립유전자의 수에 기초하여 군으로 계층화될 수 있다. 상기 예시적인 실시태양에서, 위험 대립유전자는 로커스로부터 대조군에 비해 루푸스 사례에서 풍부한 대립유전자로서 규정된다. 예를 들어 표 6에서, 18개의 로커스로부터 총 19개의 대립유전자가 존재하여, 위험 대립유전자의 최대 가능한 수는 38이 된다. 위험 대립유전자의 수, 및 생성되는 분포의 삼분위수에 의해 계층화된 루푸스 사례는 결정될 수 있다. 이어서, 루푸스 사례의 삼분위수는 질병 중증도, 위험 및 치료에 대한 반응에서의 차이에 대해 검토될 수 있다.

표 6

루푸스 위험 로커스

로커스	염색체	SNP	위치* (Mb)	P 값	출처
<i>HLA-DR3</i>	6p21.32	rs2187668	32.714	9.5×10^{-25}	표 2
<i>IRF5</i>	7q32.1	rs10488631	128.188	1.4×10^{-19}	표 2
<i>STAT4</i>	2q32.2	rs7574865	191.790	2.5×10^{-14}	표 2
<i>ITGAM</i>	16p11.2	rs9888739	31.221	2.3×10^{-11}	표 2
<i>BLK</i>	8p23.1	rs13277113	11.387	1.7×10^{-8}	표 2
<i>PTTG1</i>	5q33.3	rs2431697	159.813	3.3×10^{-6}	표 2
<i>ATG5</i>	6q21	rs6568431	106.695	5.5×10^{-6}	표 2
<i>TNFSF4</i>	1q25.1	rs10489265	169.968	8.7×10^{-6}	표 2
<i>PTPN22</i>	1p13.2	rs2476601	114.090	8.9×10^{-6}	표 2
<i>IRAK1</i>	Xq28	rs2269368	152.711	1.1×10^{-5}	표 2
<i>FCGR2A</i>	1q23.3	rs1801274	158.293	4.1×10^{-4}	표 2
<i>KIAA1542</i>	11p15.5	rs4963128	0.580	3.1×10^{-3}	표 2
<i>UBE2L3</i>	22q11.21	rs5754217	20.264	6.4×10^{-3}	표 2
<i>PXK</i>	3p14.3	rs6445975	58.345	0.01	표 2
<i>HLA-DR2</i>	6p21.32	rs3129860	32.509	0.092	표 2
<i>BANK1</i>	4q24	rs10516487	103.108	0.096	표 2
<i>TNIP1</i>	5	rs6889239	150.438	2.2×10^{-8}	표 1
<i>JAZF1</i>	7	rs2391592	27.983	2.3×10^{-7}	표 1
<i>LRP1B</i>	2	rs2177770	141.630	2.5×10^{-7}	표 1

* 인간 게놈의 NCBI Build 35 (Hg17, May 2004)

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/human/release_notes.html#b35) 에서 염기쌍내의 변이체의 염색체 위치

[0303]

[0304] 참조 문헌

1. G. Hom *et al.*, *N Engl J Med* **358**, 900 (2008).
2. J. W. Bauer *et al.*, *PLoS Med* **3**, e491 (2006).
3. L. A. Criswell *et al.*, *Am J Hum Genet* **76**, 561 (2005).
4. V. A. Seligman *et al.*, *Arthritis Rheum* **44**, 618 (2001).
5. E. F. Remmers *et al.*, *N Engl J Med* **357**, 977 (2007).
6. F. Y. Demirci *et al.*, *Ann Hum Genet* **71**, 308 (2007).
7. M. C. Hochberg, *Arthritis Rheum* **40**, 1725 (1997).
8. M. K. Mitchell, P. K. Gregersen, S. Johnson, R. Parsons, D. Vlahov, *J Urban Health* **81**, 301 (2004).
9. S. Purcell *et al.*, *Am J Hum Genet* **81**, 559 (2007).
10. A. L. Price *et al.*, *Nat Genet* **38**, 904 (2006).
11. B. Devlin, K. Roeder, L. Wasserman, *Biostatistics* **1**, 369 (2000).
12. R. R. Graham *et al.*, *Arthritis research* **3**, 299 (2001).
13. M. C. Hochberg, *Arthritis and Rheumatism* **40**, 1725 (1997).
14. C. Wellcome Trust Case Control, *Nature* **447**, 661 (2007).
15. S. Purcell.
16. S. Purcell *et al.*, *American Journal of Human Genetics* **81**, 559 (2007).
17. A. L. Price *et al.*, *Nat Genet* **38**, 904 (2006).
18. K. Hartung, Baur, M.P., Coldewey, R., Fricke, M., Kalden, J.R., Lakomek, H.J., Peter, H.H., Schendel, D., Schneider, P.M., Seuchter, S.A., Stangel, W., Deicher, H.R.G., *J. Clin. Invest.* **90**, 1346 (1992).
19. Z. Yao *et al.*, *Eur J Immunogenet* **20**, 259 (1993).
20. Y. H. Lee *et al.*, *Rheumatology (Oxford)* **46**, 49 (2007).
21. J. B. Harley *et al.*, *Nat Genet* **40**, 204 (2008).
22. S. Sigurdsson *et al.*, *Am J Hum Genet* **76**, 528 (2005).
23. R. R. Graham *et al.*, *Nat Genet* **38**, 550 (2006).
24. S. K. Nath *et al.*, *Nat Genet* **40**, 152 (2008).
25. C. Kyogoku *et al.*, *Am J Hum Genet* **75**, 504 (2004).
26. J. B. Harley, K. L. Moser, P. M. Gaffney, T. W. Behrens, *Curr Opin Immunol* **10**, 690 (1998).
27. M. M. Fernando *et al.*, *PLoS Genet* **3**, e192 (2007).
28. R. R. Graham *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 6758 (2007).
29. D. S. Cunningham-Graham *et al.*, *Nature Genetics* **40**, 83 (2008).
30. S. V. Kozyrev *et al.*, *Nat Genet* **40**, 211 (2008).
31. T. Oishi *et al.*, *J Hum Genet* **53**, 151 (2008).
32. C. O. Jacob *et al.*, *Arthritis Rheum* **56**, 4164 (2007).
33. J. C. Edberg *et al.*, *Hum Mol Genet* **17**, 1147 (2008).
34. L. Prokunina *et al.*, *Nat Genet* **32**, 666 (2002).
35. S. Paabo, *Nature* **421**, 409 (2003).
36. K. A. Frazer *et al.*, *Nature* **449**, 851 (2007).
37. P. I. de Bakker *et al.*, *Nat Genet* **37**, 1217 (2005).
38. J. Maller *et al.*, *Nat Genet* **38**, 1055 (2006).
39. G. Lettre *et al.*, *Nat Genet* **40**, 584 (2008).

[0305]

[0306] 실시예 7. 서열결정 요약

[0307] 방법

[0308] 192명의 SLE 환자 및 96명의 건강한 대조군으로부터의 게놈 DNA를 전체 게놈 증폭한 후 다시 서열 결정하였다. B-림프구 키나제 (BLK), 인테그린 알파 M (ITGAM), 및 인테그린 알파 X (ITGAX) 내의 모든 엑손 및 선택된 비코딩 구역 (프로모터 구역의 2.5 kb-엑손 1의 상류)의 게놈 DNA의 서열을 다시 결정하였다.

[0309] 초기 대립유전자 콜링 (calling)은 "폴리몰픽 (Polymorphic)"에서 제공된 소프트웨어에 의해 수행하였다. 대립유전자 콜을 확인하고 연관성 및 일배체형 분석을 위해 사용되는 유전자형 결정 파일을 생성하기 위해 모든 코딩 다형성 및 일반적인 비코딩 대립유전자를 수동으로 입증하였다.

[0310] ITGAM/ITGAX의 변이체를 표 7 및 9와 표 8 및 10에 제공한다. 표 7 및 9의 변이체는 데이터베이스 dbSNP build129에 존재하지 않는다. 표 8 및 10의 변이체는 ITGAM/ITGAX 및 BLK의 서열결정에 의해 밝혀졌다.

표 7

ITGAM 및 ITGAX 엑손 및 프로모터 구역의 변이체.

ID	소수 대립유전자	염색체	위치	대립유전자 빈도		
				대립유전자 사례	대조군	
exon8_Gln246Arg	A	16	31192218	A	0.0026	0.005
exon8_Glu247Lys	G	16	31192220	G	0.0026	0.005
237T>C_ex17	C	16	31243375	C	0.175	0.174
186G>A_ex20	A	16	31244226	G	0.652	0.62
exon26_Gly1003Glu	G	16	31248726	G	0.0026	0.005
3' UTR; 10 bp	삽입					
삽입	[GAGTGTGTGC]	16	31250691	G	0.434	NaN
비코딩 1a_329T>						
C	C	16	31250736	C	0.201	NaN

[0311]

표 8

ITGAM 및 ITGAX 엑손 및 프로모터 구역의 변이체.

ID	소수 대립유전자	염색체	위치	대립유전자 빈도		
				대립유전자 사례	대조군	
rs3764327	T	16	31180630	C	0.736	0.677
rs1143679	A	16	31184312	A	0.144	0.109
rs35314490	A	16	31190665	A	0.155	0.078
rs9939679	C	16	31195622	C	0.16	0.109
rs11861251	C	16	31196897	C	0.17	0.115
rs1143683	T	16	31244389	C	0.827	0.823
rs41321249	A	16	31248925	A	0	0.021
rs7188189	T	16	31250109	C	0.914	0.844
rs1143678	T	16	31250506	C	0.825	0.823
rs4594268	T	16	31250744	T	0.246	NaN
rs9933520	G	16	31250887	G	0.178	0.172
rs3087796	G	16	31251154	A	0.738	0.635
rs41523147	C	16	31251171	C	0.026	0.005
rs4597342	T	16	31251270	C	0.729	0.661
rs11574633	C	16	31274819	C	0.16	0.115
rs2230429	G	16	31282036	G	0.348	0.271
rs12448775	T	16	31292149	T	0.042	0.031
			31251462-			
rs41419150	삽입 [CTTTA]	16	31251462		0.176	0.102

[0312]

표 9

BLK 엑손 및 프로모터 구역의 변이체.

ID	소수		위치	대립유전자 빈도		
	대립유전자	염색체		대립유전자	사례	대조군
1120_C>T	T	8	11387925	T	0.021	0.005
434_C>T	T	8	11404452	T	0.144	0.12
ex5_112T>C	T	8	11443842	T	0.516	0.417
ex9_121T>C	T	8	11451476	C	0.829	0.798
ex11_6G>A	G	8	11456175	A	0.882	0.818
975_G>A	A	8	11456175	G	0.89	0.818
exon6_Trp131Arg	T	8	11445099	T	0.0034	0
exon8_Pro237Pro	T	8	11450340	T	0.0026	0.005
exon10_Thr325Lys	C	8	11452900	C	0.0034	0
exon13_Arg474Arg	T	8	11458929	T	0.0034	0

[0313]

표 10

BLK 엑손 및 프로모터 구역의 변이체.

ID	소수		위치	대립유전자 빈도		
	대립유전자	염색체		대립유전자	사례	대조군
rs10097015	T	8	11458793	T	0.419	0.358
rs1042689	T	8	11459203	T	0.377	0.323
rs1042701	A	8	11459455	G	0.558	0.51
rs11784016	T	8	11404079	C	0.717	0.667
rs1382567	C	8	11388309	T	0.521	0.484
rs1382568	C	8	11388630	C	0.317	0.198
rs1382568	G	8	11388631	A	0.524	0.49
rs2250788	A	8	11389466	G	0.838	0.771
rs2251056	C	8	11386986	A	0.84	0.781
rs2409782	C	8	11404502	C	0.238	0.234
rs2736344	T	8	11388088	C	0.861	0.776
rs2898289	A	8	11455795	A	0.38	0.307
rs4629826	C	8	11404447	G	0.937	0.917
rs4840568	A	8	11388429	A	0.327	0.214
rs4841557	A	8	11452981	A	0.416	0.328
rs4841558	C	8	11453006	C	0.413	0.328
rs4841561	T	8	11456182	T	0.384	0.307
rs4841561	T	8	11456183	T	0.369	0.307
rs55758736	A	8	11442984	A	0.016	0.021
rs56185487	A	8	11443008	A	0.005	0
rs7843987	C	8	11459540	T	0.555	0.521
rs922483	T	8	11389322	T	0.359	0.224
rs9694294	C	8	11388131	G	0.846	0.776

[0314]

[0315] 실시예 8

[0316] 대상 및 연구 설계

[0317] SLE에 대한 계층-전역 연관성 연구를 수행하였다. 1079개의 SLE 사례 및 1411개의 대조군의 유전자형을 Illumina HumanHap550 Genotyping BeadChip (555,352개의 SNP)을 사용하여 결정하였다. SLE 사례는 3개의 특유한 코호트의 것이었다. 대조 샘플은 이용가능한 HLA 분류 (typing), 민족성, 성별 및 연령에 기반하여 선택하였다. 대부분의 대조군 (277개를 제외한 모두)은 HLA DR2 및 DR3 일배체형의 빈도가 SLE에서 발견되는 것에 일치하도록 선택하였다.

[0318] 3개의 버전의 Illumina HumanHap550이 존재한다. 버전 1과 버전 3 사이에 공유된 SNP의 수는 545,080개이고;

이들 SNP만이 분석되었다. 버전 1은 모든 코호트 1 및 코호트 2 샘플과 1001개의 대조 샘플에 대해 사용되었다. 버전 3은 모든 코호트 3 샘플과 410개의 대조 샘플에 대해 사용되었다.

[0319] 평균 콜을 < 80%인 칩을 제시행하였다. 모든 제시행이 완료된 후, < 90% 콜율인 샘플은 제거되었다.

[0320] 샘플을 처음에 분석을 위해 2개 군으로 나누었다. 제1 군 (군 1)은 모든 코호트 1 및 코호트 2 샘플 (466개의 사례)과 724개의 대조 샘플로 이루어졌다. 제2 군 (군 2)은 모든 코호트 3 샘플 (613개의 사례)과 남아있는 687개의 대조 샘플로 이루어졌다.

[0321] 군 1에서 필터링

[0322] 샘플을 유전자형-결정된 성별과 임상 기록 사이의 일치에 대해 검토하였고; 10개의 샘플 (3개의 사례, 7개의 대조군)에서 불일치가 발견되었고, 이는 추가의 분석으로부터 제거되었다.

[0323] 이어서, 샘플을 프로그램 STRUCTURE (온라인 링크는 첨부자 ".html"을 갖는 "pritch.bsd.uchicago.edu/structure"를 타이핑함으로써 접근할 수 있다) (본질적으로 문헌 ([Pritchard et al., Genetics (2000), 155:945-959]; [Falush et al., Genetics (2003), 164:1567-1587]; [Falush et al., Molecular Ecology Notes (2007), doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x])에 설명된 바와 같이)를 사용하여 대륙간 혼합에 대해 시험하였다. HumanHap550은 HapMap 프로젝트의 CEU, YRI 및 CHB+JPT 집단에 대해 %-혈통을 결정하기 위해 이상적인 276개의 SNP의 "DNA 시험 패널 (Test Panel)"을 포함한다 (CHB 및 JPT는 이들 SNP를 사용하여 구별될 수 없었다). 모든 HapMap 집단에서 DNA 시험 패널에서 276개의 SNP 중 274개의 유전자형을 결정하였다; STRUCTURE는 남아있는 군-1 샘플 (463개의 사례, 717개의 대조군) + HapMap 프로젝트에서 각각의 혈통 (즉, 유태로부터 20개의 CEPH 샘플 (CEU), 30개의 요루바족 샘플 (YRI), 45개의 중국 한족 샘플 (CHB), 및 44개의 일본인 샘플 (JPT))으로부터의 1개의 샘플로 이루어지는 세트에서 이들 274개의 SNP에 대한 유전자형을 사용하여 실행하였다. HapMap 샘플은 양성 대조군으로서 및 클러스터링 (clustering) 알고리즘을 돕기 위해 포함되었다. STRUCTURE는 3개의 집단을 가정하여, 30,000회의 번-인 (burn-in) 단계에 이어 100,000회의 Markov-Chain Monte Carlo 단계를 통해, 사전 집단 정보 없이 혼합 혈통 모델 및 상호 관련된 대립유전자-빈도 모델을 사용하여 동일한 파라미터로 3회 독립적으로 실행되었다. 3회 실행은 각각의 샘플에 대해 매우 유사한 혈통의 계수를 가졌고, 각각의 HapMap 샘플은 그의 지리적 기원에 대해 > 93.0% 혈통을 가졌고; 각각의 CEU 샘플은 > 97.0% CEU 혈통을 가졌다. 임의의 3회 실행에서 < 90.0% CEU 혈통을 갖는 샘플 (28개의 사례, 24개의 대조군)은 추가의 분석으로부터 제거되었다.

[0324] 남아있는 샘플 (435개의 사례, 693개의 대조군)에 대해, 콜율 < 95%인 SNP (23,275 SNP (4%))는 추가의 분석으로부터 제거되었다. 이어서, 대조군에서 하디-바인베르크 (Hardy-Weinberg) 확률 ≤ 0.001 인 SNP (15,622개의 SNP (3%))는 추가의 분석으로부터 제거되었다.

[0325] 군 2에서 필터링

[0326] 샘플은 유전자형-결정된 성별과 임상 기록 사이의 일치에 대해 명백하게 검토되지 않았다.

[0327] 콜율 < 95%인 SNP (34,998 SNP (6%))는 추가의 분석으로부터 제거되었다.

[0328] 이어서, 샘플을 상기 설명된 바와 같이 STRUCTURE를 사용하여 대륙간 혼합에 대해 시험하였다. 임의의 3회 실행에서 < 90.0% CEU 혈통을 갖는 샘플 (21개의 사례, 24개의 대조군)은 추가의 분석으로부터 제거되었다.

[0329] 남아있는 샘플 (592개의 사례, 663개의 대조군)에 대해, 대조군에서 하디-바인베르크 확률 ≤ 0.001 인 SNP (22,202개의 SNP (4%))는 추가의 분석으로부터 제거되었다.

[0330] 군 1 및 2의 조합

[0331] 군 1 및 2를 최종 분석을 위해 조합하였다.

[0332] 군 1 내의 남아있는 샘플 (435개의 사례, 693개의 대조군)을 군 2 내의 남아있는 샘플 (592개의 사례, 663개의 대조군)과 조합하여 최종 군 (1027개의 사례, 1356개의 대조군)을 얻었다. 군 1 및 군 2 모두에 남아있는 SNP (496,458개의 SNP)만을 추가로 분석하였다.

[0333] 성별 불일치가 없는 모든 샘플 (1076개의 사례, 1404개의 대조군)을 이들이 이중인지 또는 관련될 수 있는지를 살펴보기 위해 검토하였다. 처음에, 게놈을 가로질러 펼쳐진 800개의 SNP에 걸쳐 모든 쌍의 샘플을 비교하였다. 540,000+ SNP에 걸쳐 이중 및 관련 후보를 검토하였다. 3개 군의 이상점이 검출되었다. 제1 군

(20개의 쌍)은 각각의 쌍 사이에 > 95% 동일성을 가졌고, 이중인 것으로 생각되었다. 제2 군 (17개의 쌍)은 각각의 쌍 사이에 67-77% 동일성을 가졌고, 관련된 것으로 생각되었다. 제3 군 (5개의 쌍)은 각각의 쌍 사이에 58-63% 동일성을 가졌고, 관련된 것으로 생각되었다 (샘플들 사이의 평균 동일성은 51-55%이었다). 종합적으로, 39개의 샘플 (29개의 사례, 10개의 대조군)이 최종 군으로부터 제거되었다.

[0334] 미토콘드리아 DNA 내의 SNP (19개의 SNP)는 추가의 분석으로부터 제거되었다.

[0335] 생성되는 주요 군 (998개의 사례, 1346개의 대조군, 496,439개의 SNP)을 아래의 분석에서 사용하였다.

[0336] 동일한 분석을 또한 주요 군의 특정한 하위세트에 대해 수행하였다:

[0337] 하위세트 1: 여성으로만 구성됨 (907개의 사례, 967개의 대조군) 및 하위세트 2: 루푸스 신장염의 사례 및 모든 대조군 (286개의 사례, 1346개의 대조군)

[0338] 분석 및 결과

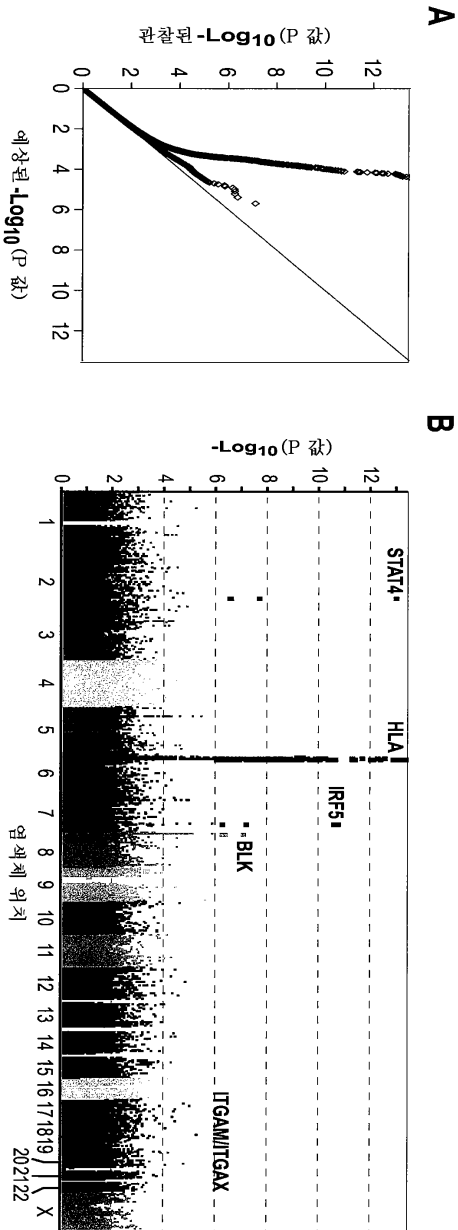
[0339] 주요 군 내의 모든 SNP를 본질적으로 문헌 [Price et al., Nature Genetics (2006), 38:904-909 (온라인 링크는 첨자 ".htm"을 갖는 "genepath.med.harvard.edu/~reich/EIGENSTRAT"를 타이핑함으로써 접근할 수 있다)에 설명되어 있고 또한 집단 계층화에 대해 교정하는 프로그램인 EIGENSTRAT를 이용하여 분석하였다. 상위 10개의 주성분을 사용하여 5 라운드에 대한 이상점을 제거한 후 계층화에 대해 교정하였다. 이어서, EIGENSTRAT 카이 제곱 통계학을 계산하고, 카이 제곱된 분포의 단측 (one-tailed) 확률을 1 자유도 (degree of freedom)를 갖는 Microsoft Excel의 CHIDIST 함수를 사용하여 계산하였다.

[0340] 상위 후보 구역을 결정하기 위해, 먼저 P-값 역치를 사용함으로써 후보 SNP의 수를 감소시켰다: 하위세트 1 (여성) 및 하위세트 2 (신장염)에 대해 $P > 2.0 \times 10^{-5}$ 인 SNP가 추가의 분석으로부터 제거되었고, 주요 군 (998개의 사례, 1346개의 대조군)에 대해, $P > 7.0 \times 10^{-5}$ 인 SNP가 추가의 분석으로부터 제거되었다. 여성 하위세트에서, 19개의 SNP가 남았다. 신장염 하위세트에서, 35개의 SNP가 남았다. 주요 군에서, 47개의 SNP가 남았다. 이어서, 각각의 SNP를 함유하는 연관-불균형 (LD) 구역은 HelixTree 프로그램 (온라인 링크는 첨자 ".html"을 갖는 "www.goldenhelix.com/pharmhelixtreefeatures"를 타이핑함으로써 접근할 수 있다) (골든 헬릭스 (Golden Helix, 미국 몬타나주))을 사용하여 LD 플롯을 검토함으로써 결정하였다. 사례 및 대조군의 유전자형만을 사용하는 EM 알고리즘을 사용하여 D' 및 r^2 를 계산하였다. 구역은 경계 (bound)로서 $D' \geq -0.9$ 를 사용하여 눈으로 묘사되었다.

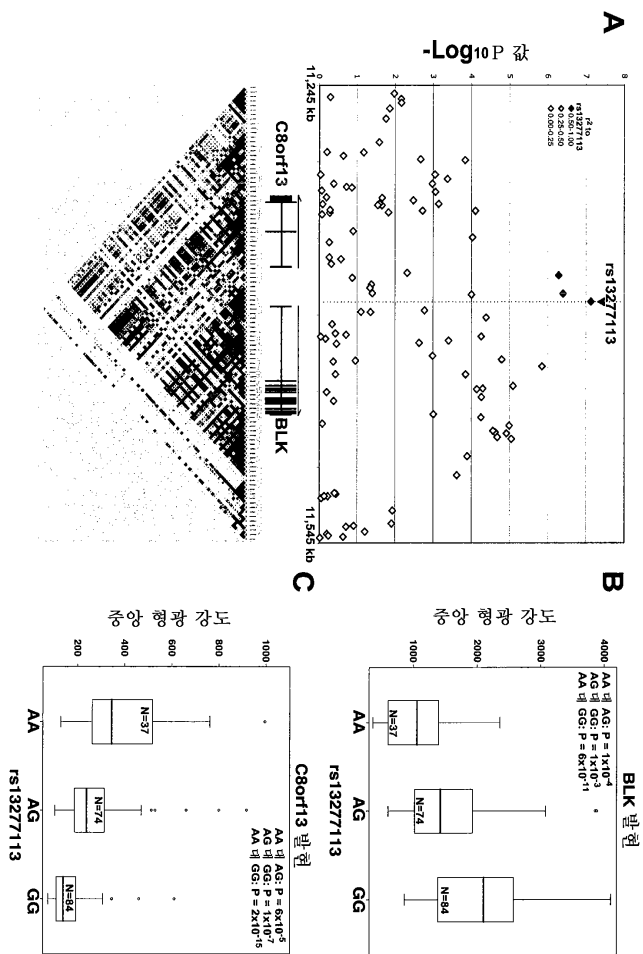
[0341] 일단 각각의 구역이 묘사된 후, 각각의 구역 내의 유전자는 당업계에 확립된 게놈 브라우저 (예를 들어, 본질적으로 문헌 [Kuhn et al., Nucleic Acids Res. (2007), 35(database issue):D668-73; 온라인 링크는 첨자 ".edu"를 갖는 "genome.ucsc"를 타이핑함으로써 접근할 수 있다, March 2006 assembly]에서 설명된 UCSC Genome Browser)를 사용하여 조사되었다. IRIS 연구 (Abbas et al., Genes and Immunity (2005), 6:319-331, 그의 온라인 보충 자료 포함)에서 결정된 바와 같은 면역-특이적 유전자 발현을 검토하였다. Top 후보 구역은 예를 들어 구역 내에 면역-특이적 유전자의 존재에 의해 확인하였다. 신장염 하위세트에서, 20개의 후보 SNP를 함유하는 11개의 구역이 SLE에 대한 적어도 하나의 위험 대립유전자를 함유할 것 가능성이 있는 것으로서 선택되었다 (도 12). 여성 하위세트에서, 9개의 후보 SNP를 함유하는 6개의 추가의 구역이 선택되었다 (도 13). 주요 군에서, 8개의 후보 SNP를 함유하는 6개의 추가의 구역이 선택되었다 (도 14). 37개의 후보 SNP를 함유하는 총 23개의 구역이 선택되었다. SNP는 SNP에 대한 가장 강한 결과를 갖는 연구군 아래에 나열되고, 따라서 연구군 사이의 이중 히트 (hit)는 제시되지 않음을 알아야 한다. 또한, MHC 구역에서 히트는 포함되지 않았다. 도 12-14 내의 데이터에 기반하여 묘사된 LD 구역이 결정되었고, 각각 도 15-17에 요약한다.

도면

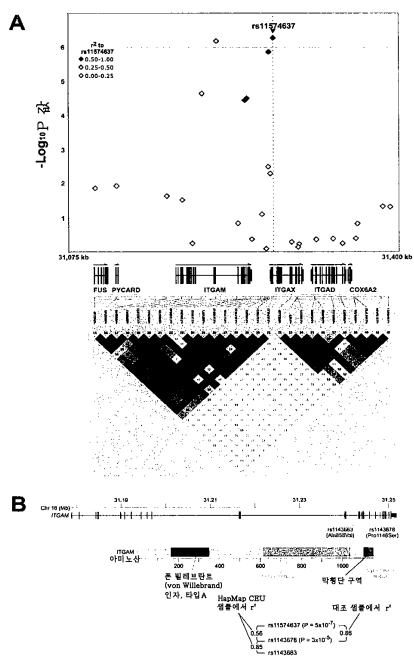
도면1



도면2



도면3



SLE 시리즈 1-3 및 스웨덴 사례에서 임상 특징의 빈도

표현형 *		모든 GWAS 대상		시리즈 1		시리즈 2		시리즈 3		스웨덴 사례	
항-에 자가항체		1193/1301 (91.7%)	385/409 (94.1%)	541/595 (90.9%)	292/297 (98.3%)					758/781 (97.1%)	
관절염		1023/1303 (78.5%)	310/411 (75.4%)	444/595 (74.6%)	269/297 (90.6%)					594/781 (76.1%)	
광과민성		928/1301 (71.3%)	288/411 (70.1%)	469/595 (78.8%)	171/295 (58.0%)					528/781 (67.6%)	
면역학적 질환		867/1303 (66.5%)	313/411 (76.2%)	336/595 (56.5%)	218/297 (73.4%)					511/781 (65.4%)	
혈액학적 질환		795/1301 (61.1%)	274/411 (66.7%)	368/595 (61.9%)	153/295 (51.9%)					450/781 (57.6%)	
혈부 발진 (Malar rash)		635/1270 (50.0%)	235/411 (57.2%)	274/595 (46.1%)	126/264 (47.7%)					452/781 (57.9%)	
구강 궤양		564/1302 (43.3%)	222/411 (54.0%)	183/595 (30.8%)	159/296 (53.7%)					180/781 (23.0%)	
장막염		499/1299 (38.4%)	195/410 (47.6%)	175/595 (29.4%)	129/294 (43.9%)					345/781 (44.2%)	
신진환		365/1302 (28.0%)	137/411 (33.3%)	139/595 (23.4%)	89/296 (30.1%)					239/781 (30.6%)	
신경학적 질환		125/1301 (9.6%)	38/411 (9.3%)	59/595 (9.9%)	28/295 (9.5%)					88/781 (11.3%)	
원판상 발진		120/1270 (9.5%)	67/411 (16.3%)	39/595 (6.6%)	14/264 (5.3%)					196/781 (25.1%)	

* 표현형 정의에 대해서는 <http://www.rheumatology.org/publications/classification/SLE/sle.asp> 참조

도면5

311 시멘트 및 3390 대조구에서 전체 가능한 스캔에서 50개의 임의된 상위 50개 포커스																
C/NR	번호	SNP *	위치 (mm:3D)	포커스	시멘트 1:			50% 시멘트			30% 시멘트			조립된:		
					대입유원재	시멘트	대조구	대입유원재	시멘트	대조구	대입유원재	시멘트	대조구	대입유원재	시멘트	대조구
6	5921.32	162187698	32.713.833	HLA10A1	A	0.18	0.11	A	0.19	0.12	A	0.21	0.1	A	0.19	0.11
2	2632.2	181574805	191.750.140	SL1A14	T	0.31	0.22	T	0.30	0.24	T	0.33	0.24	T	0.31	0.23
7	7932.1	181048631	128.188.135	REF7NPO3	C	0.17	0.12	C	0.17	0.11	C	0.17	0.11	C	0.17	0.11
8	5923.1	181327113	11.385.595	BLWC0M13	A	0.29	0.24	A	0.28	0.22	A	0.31	0.22	A	0.28	0.23
16	1801.12	181574837	31.215.915	TLWC0M13	C	0.20	0.19	C	0.26	0.19	C	0.23	0.20	C	0.23	0.19
8	5911.2	181327113	11.385.595	BLWC0M13	A	0.29	0.24	A	0.28	0.22	A	0.31	0.22	A	0.28	0.23
8	5912	181702333	42.411.001	GHK	T	0.50	0.46	T	0.47	0.43	T	0.49	0.44	T	0.48	0.45
18	1802.3	181708344	66.583.224	SOC58	A	0.04	0.03	A	0.04	0.03	A	0.06	0.03	A	0.05	0.03
1	1831.1	181714351	71.985.095	NEGR1	A	0.04	0.02	A	0.04	0.02	A	0.04	0.02	A	0.04	0.02
17	1701.2	181018412	28.512.857	PCC1C	T	0.25	0.23	T	0.26	0.22	T	0.31	0.23	T	0.27	0.23
7	7913.3	18128567	33.172.225	PCC1C	C	0.51	0.47	C	0.48	0.42	C	0.53	0.42	C	0.51	0.47
4	4621.23	181821880	85.314.378	MGC1324	A	0.08	0.14	A	0.11	0.13	A	0.09	0.13	A	0.09	0.13
12	12041.2	181565933	45.387.700	APR1A1	G	0.01	0.02	G	0.01	0.02	G	0.01	0.02	G	0.01	0.02
20	20041.12	181609461	45.387.700	PRK0F138	T	0.13	0.10	T	0.10	0.08	T	0.12	0.08	T	0.12	0.09
17	1701.12	1810404112	16.789.445	TNR0F138	G	0.18	0.17	G	0.20	0.18	G	0.23	0.15	G	0.20	0.17
2	7932.1	181327113	11.385.595	BLWC0M13	A	0.29	0.24	A	0.28	0.22	A	0.31	0.22	A	0.28	0.23
2	4613.3	181327113	11.385.595	BLWC0M13	A	0.29	0.24	A	0.28	0.22	A	0.31	0.22	A	0.28	0.23
10	1001.4	181255111	7.473.732	SLM012	A	0.02	0.04	A	0.02	0.03	A	0.01	0.04	A	0.02	0.03
5	5913.1	181802054	42.153.692	FBX04	C	0.29	0.29	C	0.30	0.30	C	0.34	0.28	C	0.31	0.29
12	12041.23	181961707	117.843.445	KMA1853	T	0.29	0.24	T	0.29	0.24	T	0.31	0.24	T	0.29	0.24
8	8023.1	181565933	9.881.822	MSR4	T	0.45	0.44	T	0.47	0.43	T	0.48	0.40	T	0.47	0.42
8	8023.1	181565933	9.881.822	MSR4	T	0.45	0.44	T	0.47	0.43	T	0.48	0.40	T	0.47	0.42
2	2614	18174562	65.520.177	SPR02	A	0.13	0.15	A	0.12	0.14	A	0.12	0.15	A	0.12	0.14
8	8023.1	181565933	9.881.822	MSR4	T	0.45	0.44	T	0.47	0.43	T	0.48	0.40	T	0.47	0.42
3	3023.3	181703421	1.489.455	GN16	A	0.07	0.06	A	0.07	0.07	A	0.11	0.06	A	0.08	0.06
14	14041.1	18160933	40.448.844	LIREN6	A	0.35	0.39	A	0.35	0.39	A	0.35	0.41	A	0.35	0.40
9	9021.33	1815297855	84.194.130	SILC2843	T	0.19	0.12	T	0.13	0.13	T	0.18	0.11	T	0.15	0.12
18	1801.1.21	1817065283	14.538.205	ANKR0308	G	0.22	0.20	G	0.20	0.25	A	0.20	0.25	A	0.21	0.25
17	17021.31	18183211	42.143.494	NSF	A	0.23	0.26	A	0.20	0.25	A	0.20	0.25	A	0.21	0.25
12	12041.32	181809053	21.525.005	BLCL14	A	0.21	0.19	A	0.19	0.18	A	0.24	0.16	A	0.21	0.18
12	12041.32	181809053	21.525.005	BLCL14	A	0.21	0.19	A	0.19	0.18	A	0.24	0.16	A	0.21	0.18
7	7015.3	181025597	21.535.366	DMAH17	A	0.16	0.19	A	0.15	0.17	A	0.13	0.19	A	0.15	0.18
17	17022	181609456	50.635.553	STYB14	C	0.17	0.16	C	0.19	0.15	C	0.19	0.13	C	0.18	0.16
8	8023.1	1816278938	10.054.380	MSR4	T	0.42	0.42	T	0.41	0.44	T	0.38	0.47	T	0.40	0.44
12	12023.3	181565933	107.065.287	KMA079	A	0.10	0.08	A	0.12	0.09	A	0.12	0.09	A	0.11	0.09
4	4621.23	18174562	42.855.334	OPR05	A	0.06	0.05	A	0.06	0.04	A	0.06	0.04	A	0.06	0.04
3	3022.1	1815010732	41.862.344	OPR05	A	0.17	0.17	A	0.13	0.18	A	0.12	0.17	A	0.13	0.17
17	17045.2	181245153	72.778.745	SEF79	T	0.09	0.09	T	0.10	0.08	T	0.13	0.08	T	0.11	0.08
8	8023.1	18174795	10.556.596	PR11.1	C	0.29	0.24	C	0.27	0.23	C	0.31	0.27	C	0.28	0.23
12	12041.2	1810506202	40.307.616	PR11.1	C	0.29	0.24	C	0.27	0.23	C	0.31	0.27	C	0.28	0.23
1	1803.3	181727637	180.049.092	RC11	G	0.51	0.48	G	0.51	0.48	G	0.53	0.46	G	0.52	0.47
13	1302.3	181809053	21.525.005	NSF	A	0.23	0.26	A	0.20	0.25	A	0.20	0.25	A	0.21	0.25
11	1102.1	181020273	98.135.370	CNN6	G	0.29	0.34	G	0.28	0.32	G	0.28	0.34	G	0.28	0.33
6	6022.31	181691941	121.905.805	C60170	G	0.09	0.11	G	0.06	0.10	G	0.07	0.13	G	0.09	0.11
1	1803.1	181628091	44.515.586	C10184	G	0.37	0.31	G	0.36	0.32	G	0.34	0.31	G	0.36	0.31
8	8022.32	181606702	138.502.322	LOC51059	G	0.10	0.07	G	0.08	0.08	G	0.11	0.07	G	0.09	0.07
2	2624.2	181302390	152.079.871	PH1	G	0.45	0.50	G	0.44	0.49	G	0.44	0.52	G	0.45	0.50
*상위 50개 포커스로부터 가장 연한 SNP - 구간 내에서 1000bp 가장 연한 SNP 내의 SNP는 제외되고, 상위 10A 구간 SNP만 포함된다. 모든 완전한 결핵성 상제한 내용에 대해서는, 모든 SNP에 대한 요약 통계학을 참조한다																
(도 8)																
*각각의 시멘트 스캔에 대한 EIGENSTRAT 결과표 키에 대한 것																
*대입에서 결핵성 비와 같은 조합 P 값																

도면6

HapMap 개인으로부터의 210개의 형질 전환된 B 세포주에서 BLK, C8orf13 및 GAPDH 유전자의 발현 수준												
			중앙 형질 강도*						P ⁺			
	유전자형 ^a	N	BLK	C8orf13	ACTB	GAPDH		BLK	C8orf13	ACTB	GAPDH	
	rs13277113	AA	37	1038.8	400.5	50972.2	27367.8	AAVAG	0.00011	6.1461E-05	0.691	0.746
	rs13277113	AG	74	1574.0	275.7	51272.0	27656.2	AGVGG	0.00163	1.01146E-07	0.259	0.835
	rs13277113	GG	87	2057.3	165.0	51823.1	27266.8	AAVGG	6.46678E-11	2.33428E-15	0.161	0.894
* BLK (GI_33469981-S), C8orf13 (GI_32698772-S), ITGAM (GI_6006013-S), ITGAX (GI_34452172-S), ACTB (예타-엑틴, GI_5016088-S), 및 GAPDH (GI_7069491-S)에 대한 프로브에 대한 4개 측정의 중앙 형질 강도; 모든 발현 데이터는 GENEVAR 프로젝트 (www.sanger.ac.uk/human/genevar/)로부터의 데이터이다.												
^a T-결정에 의해 결정된 매체 발현의 유의성												
인터네셔널 HapMap 프로젝트 (www.hapmap.org)로부터의 유전자형												

도면7

HapMap 집단으로부터의 형질전환된 B 세포에서 BLK의 발현													
		CEU		CHB+JPT		YRI		모든집단					
	유전자형 A	N	BLK 발현*	N	BLK 발현	N	BLK 발현	N	BLK 발현	유전자형	P+		
rs13277113	AA	2	10.17	33	9.84	2	10.56	37	9.89	AA vs AG	1.9x10-5		
rs13277113	AG	26	10.52	41	10.41	7	10.64	74	10.47	AG vs GG	4.5x10-5		
rs13277113	GG	31	11.06	9	10.63	47	10.77	87	10.86	AA vs GG	1.1x10-12		
* BLK (GI:33469981-S)에 대한 프로브에 대한 표준화된 발현 값. 모든 발현 데이터는 GENEVAR 프로젝트 (www.sanger.ac.uk/hunguen/genevar/)로부터의 데이터이다.													
+ T-검정에 의해 결정할 때 차별적 발현의 유의성													
+ 인터넷서털 HapMap 프로젝트 (www.hapmap.org)로부터의 유전자형													

도면8

시리즈에 의한 SLE와 C8orf13/BLK 및 ITGAM/ITGAX 구역 별이체의 연관성

시리즈 1:									
411 사례, 1047 대조군									
포커스	Chr	SNP	위치	사체	대조군	OR*	사체	대조군	OR
C8orf13/BLK	8	rs2736340	11,381,383	0.289	0.242	1.27	0.283	0.226	1.35
C8orf13/BLK	8	rs13277113	11,386,596	0.292	0.240	1.30	0.284	0.224	1.37
ITGAM/ITGAX	16	rs9937837	31,206,441	0.187	0.127	1.59	0.179	0.135	1.39
ITGAM/ITGAX	16	rs11574637	31,276,576	0.202	0.182	1.14	0.244	0.190	1.38
시리즈 2:									
595 사례, 1516 대조군									
포커스	Chr	SNP	위치	사체	대조군	OR	사체	대조군	OR
C8orf13/BLK	8	rs2736340	11,381,383	0.289	0.242	1.27	0.283	0.226	1.35
C8orf13/BLK	8	rs13277113	11,386,596	0.292	0.240	1.30	0.284	0.224	1.37
ITGAM/ITGAX	16	rs9937837	31,206,441	0.187	0.127	1.59	0.179	0.135	1.39
ITGAM/ITGAX	16	rs11574637	31,276,576	0.202	0.182	1.14	0.244	0.190	1.38
시리즈 3:									
306 사례, 777 대조군									
포커스	Chr	SNP	위치	사체	대조군	OR	사체	대조군	OR
C8orf13/BLK	8	rs2736340	11,381,383	0.289	0.242	1.27	0.283	0.226	1.35
C8orf13/BLK	8	rs13277113	11,386,596	0.292	0.240	1.30	0.284	0.224	1.37
ITGAM/ITGAX	16	rs9937837	31,206,441	0.187	0.127	1.59	0.179	0.135	1.39
ITGAM/ITGAX	16	rs11574637	31,276,576	0.202	0.182	1.14	0.244	0.190	1.38
조합된:									
1311 사례, 3340 대조군									
포커스	Chr	SNP	위치	사체	대조군	OR (95% CI)	χ²		
C8orf13/BLK	8	rs2736340	11,381,383	0.289	0.242	1.54 (1.24-1.91)	25.7		
C8orf13/BLK	8	rs13277113	11,386,596	0.292	0.240	1.55 (1.26-1.94)	28.9		
ITGAM/ITGAX	16	rs9937837	31,206,441	0.187	0.127	1.44 (1.16-1.81)	24.7		
ITGAM/ITGAX	16	rs11574637	31,276,576	0.202	0.182	1.37 (1.17-1.60)	25.1		

* 표차비
^ 각각의 시리즈로부터 관측 λgc에 대해 조정된 EIGENSTRAT 교정된 Z 스코어의 첨가에 의해 계산된 p-값

도면9

시리즈 1-3에 대한 SLIDE에 대한 11개 ACR 임상 기준과 C8orf13/BLK 및 ITGAM/ITGAX 변이체의 연관성									

521 스캐펜 사례에서 SLE에 대한 11개 ACR 임상 기준과 C8orf13/BLK 및 ITGAM/ITGAX
변이체의 연관성

표현형	C8orf13/BLK: rs13277113		ITGAM/ITGAX: rs11574637	
	P*	교차비 [^] (95% c.i.)	P	교차비 [^] (95% c.i.)
면역학적 질환	0.740	0.94 (0.66-1.34)	0.626	0.91 (0.64-1.31)
항-핵 자가항체	0.609	0.90 (0.60-1.35)	0.254	1.28 (0.84-1.94)
신질환	0.098	0.73 (0.50-1.06)	0.460	0.87 (0.59-1.27)
관절염	0.378	0.88 (0.59-1.32)	0.938	1.02 (0.68-1.53)
혈액학적 질환	0.460	0.86 (0.57-1.29)	0.532	1.14 (0.75-1.74)
혈부 발진	0.313	1.20 (0.84-1.70)	0.616	0.91 (0.64-1.31)
장막염	0.056	1.45 (0.99-2.13)	0.073	1.43 (0.97-2.10)
평과민성	0.975	1.01 (0.57-1.80)	0.363	1.31 (0.73-2.34)
신경학적 질환	0.269	1.22 (0.86-1.74)	0.068	1.41 (0.97-2.03)
원판상 발진	0.526	0.89 (0.62-1.27)	0.053	1.44 (0.99-2.09)
구강 궤양	0.500	0.71 (0.27-1.91)	0.318	1.70 (0.59-4.91)

* 11개 ACR 임상 기준에 대한 표시된 SNP의 연관성에 대한 P 값
[^] 각각의 표현형에 대한 교차비 및 95% 신뢰 간격.

도면11

$$Z^* = -\frac{\sqrt{\frac{\sigma_{Z1}^2}{\lambda_1}}}{\sqrt{\frac{\sigma_{Z1}^2}{\lambda_1} + \frac{\sigma_{Z2}^2}{\lambda_2} + \frac{\sigma_{Z3}^2}{\lambda_3}}} Z_1 + \frac{\sqrt{\frac{\sigma_{Z2}^2}{\lambda_2}}}{\sqrt{\frac{\sigma_{Z1}^2}{\lambda_1} + \frac{\sigma_{Z2}^2}{\lambda_2} + \frac{\sigma_{Z3}^2}{\lambda_3}}} Z_2 + \frac{\sqrt{\frac{\sigma_{Z3}^2}{\lambda_3}}}{\sqrt{\frac{\sigma_{Z1}^2}{\lambda_1} + \frac{\sigma_{Z2}^2}{\lambda_2} + \frac{\sigma_{Z3}^2}{\lambda_3}}} Z_3$$
$$\sigma_Z^2 = \left(\frac{1}{n_{\text{사례}}} + \frac{1}{n_{\text{테조군}}} \right) * p(1-p)$$

도면12a

아래의 모든 SNP는 EIG P ≤ 2.0E-05를 갖는다													
SNP #	SNP_ID	EIG P	주요군 예상P	역성 예상P	염색체	좌표	Cytoband	cM	MAF-CE U	구역 # (구역 전의 SNP)	좌표	구역 후의 SNP	좌표
1	rs1338078	9.E-06	N/A	#N/A	1	111,936,717	1p13.2	132.7	0.492	1 (rs2800880)	111,932,147	rs2076590	112,065,205
2	rs10489265	3.E-06	5.E-04	7.E-03	1	171,502,688	1q25.1	175.3	0.208	2 (rs3861950)	171,422,915	rs10798267	171,533,067
3	rs10497184	2.E-05	8.E-03	#N/A	2	157,992,794	2q24.1	166.9	0.058	3 (rs16841719)	157,986,114	rs10804386	158,075,558
4	rs10497185	4.E-06	4.E-03	#N/A	2	157,992,785	2q24.1	166.9	0.067	3 (rs16841719)	157,986,114	rs10804386	158,075,558
5	rs10165908	3.E-06	N/A	#N/A	2	158,023,875	2q24.1	166.9	0.125	3 (rs16841719)	157,986,114	rs10804386	158,075,558
6	rs6738654	8.E-06	N/A	#N/A	2	158,041,569	2q24.1	166.9	0.067	3 (rs16841719)	157,986,114	rs10804386	158,075,558
7	rs1869554	4.E-06	N/A	#N/A	2	158,062,960	2q24.1	166.9	0.058	3 (rs16841719)	157,986,114	rs10804386	158,075,558
8	rs4530624	9.E-06	7.E-03	#N/A	2	158,072,052	2q24.1	166.9	0.061	3 (rs16841719)	157,986,114	rs10804386	158,075,558
9	rs3821236	7.E-06	8.E-05	9.E-05	2	191,611,003	2q32.2	191.7	0.242	4 (rs925847)	191,605,785	rs6752770	191,681,808
10	rs10168266	3.E-06	1.E-04	2.E-04	2	191,644,049	2q32.2	191.7	0.225	4 (rs925847)	191,605,785	rs6752770	191,681,808
11	rs7574865	1.E-06	2.E-06	2.E-06	2	191,672,878	2q32.2	191.8	0.208	4 (rs925847)	191,605,785	rs6752770	191,681,808
12	rs978766	2.E-05	5.E-03	1.E-02	6	72,118,181	6q13	85.7	0.392	5 (rs9453395)	72,022,392	rs9283839	72,149,401
13	rs1174146	1.E-05	N/A	#N/A	8	26,536,278	8p21.2	45.8	0.059	6 (rs701131)	26,526,139	rs327225	26,539,107
14	rs17111504	2.E-05	N/A	#N/A	10	97,988,574	10q24.1	116.2	0	7 (rs1007764)	97,974,301	rs7905645	98,003,004

도면12b

15	rs8007536	2.E-06	1.E-03	#N/A	14	52,449,592	14q22.1	50.0	0.117	8 (rs2025631)	52,353,315	rs2210319	52,509,576
16	rs6572871	1.E-06	1.E-04	4.E-03	14	52,453,660	14q22.1	50.0	0.117	8 (rs2025631)	52,353,315	rs2210319	52,509,576
SNP #	SNP_ID	E/G P	주요군 예시 P	역상 예시 P	염색체	좌표	Cytoband	cM	MAF_CE U	구역 # (구역 전의 SNP)	좌표	구역 후의 SNP	좌표
17	rs9937837	1.E-05	7.E-04	6.E-03	16	31,206,440	16p11.2	56.8	0.246	9 (rs889548)	31,045,213	rs8052139	31,294,363
18	rs1368779	2.E-06	2.E-05	4.E-05	18	36,315,699	18q12.3	60.8	0.085	10 (rs1697345)	36,269,528	rs9944655	36,431,363
19	rs1554945	2.E-06	1.E-05	6.E-05	18	36,318,725	18q12.3	60.8	0.083	10 (rs1697345)	36,269,528	rs9944655	36,431,363
20	rs4816519	1.E-05	4.E-04	8.E-04	21	36,416,848	21q22.12	42.6	0.119	11 (rs735142)	36,382,034	rs2252991	36,478,878

LD 구역에 대해 고려하는 위치 않고 음영되지 않은/높고 음영진 끝자세

도면12c

SVP#	SVP_ID	구역 크기 (kb)	유전자/구역이 선택된 이유	구역 #	구역 내의 제1 유전자	설명	R/S
1	rs1338078	133	단역-특이적 발현	1	RAP1A	RAP1A, RAS 종양유전자 패밀리의 구성원	3.61
2	rs10469265	110	수용체가 단역-특이적임	2	TNFRSF4	종양 억제 인자 (리간드) 수퍼패밀리	N/A
3	rs10497184	89	단역-특이적 발현	3	PSCDBP	플렉스트린 상동성	11.88
4	rs10497185	89	"	3	PSCDBP	플렉스트린 상동성	11.88
5	rs10165908	89	"	3	PSCDBP	플렉스트린 상동성	11.88
6	rs6738654	89	"	3	PSCDBP	플렉스트린 상동성	11.88
7	rs1869554	89	"	3	PSCDBP	플렉스트린 상동성	11.88
8	rs1550624	89	"	3	PSCDBP	플렉스트린 상동성	11.88
9	rs3821236	76	단역-특이적 발현	4	STAT4	전사의 신호 변환인자 및 활성인자 4	5.5
10	rs10168266	76	"	4	STAT4	전사의 신호 변환인자 및 활성인자 4	5.5
11	rs7574865	76	"	4	STAT4	전사의 신호 변환인자 및 활성인자 4	5.5
12	rs978766	127	단역-특이적 발현	5	OGR1	아편 수용체 인자 수용체-유사 1	7.61
13	rs11774146	13	AKA CRMP2: 단역-발현; 신경염증성 질병에 관여함	6	DPYSL2	다히드포라리미다제-유사 2	N/A
14	rs17111504	29	단역-특이적 발현	7	BLNK	B-세포 림프	4.43
15	rs8097536	156	플렉스트린에 상동성을 가짐 (단역-특이적); 신경염 하위세트에서 상위 순위	8	PLEKHC1	플렉스트린 상동성 도메인 함유	N/A
16	rs6572871	156	"	8	PLEKHC1	플렉스트린 상동성 도메인 함유	N/A
17	rs9937837	249	단역-특이적 발현	9	MYST1	MYST 하스톤 아세틸트랜스퍼라제1	N/A
18	rs1368779	162	주요 및 신경염 하위세트에서 고순위	10	.	.	N/A

도면12d

SNP#	SNP_ID	구역 크기 (kb)	유전자/구역이 선택된 이유	구역 #	구역 내의 제1 유전자	설명	IRIS
19	rs1554945	162		10			N/A
20	rs4816519	97	번역-특이적 발현	11	CBR3	카르보닐 환원효소 3	3.54

LD 구역에 대해 고려하는 유전자 쌍은 유전자 쌍이 동일/동일 유전자 쌍이 아닌 유전자 쌍에 의해 확인될 수 있다. 특정 구역 내의 유전자는 인간 게놈 레퍼터베이스로부터 정보에 기초한 일차적인 방법에 의해 확인될 수 있다. 예를 들어, 구역 9에 대해, 다음 유전자가 SNP # 18에 관하여 동일한 구역 내에 존재하는 것으로 결정되었다. - 유전자 1로서 MYST1에 관하여, 상기 구역 내의 유전자 2-7은 순서대로 PRSS8, PRSS96, FUS (IRIS=3.46); PYCARD; ITGAM (IRIS=5.91); 및 ITGAX (IRIS=9.84)인 것으로 결정되었다. 유사하게, 구역 11에 대해, 유전자 1로서 CBR3에 관하여, 유전자 2는 DOPY2인 것으로 결정되었다.

도면13a

아래의 모든 SNP는 EIG P ≤ 2.0E-05를 갖는다													
SNP P #	SNP_ID	EIG P	주요군 에서 P	염색체	좌표	Cytoband	cM	MAF_CIE U	구역 # (구역 전의 SNP)	좌표	구역 후의 SNP	좌표	구역 크기 (kb)
1	rs7593100	6.E-06	3.E-04	2	183,402,744	2q32.1	188.2	0.042	1 (rs10931041)	183,393,807	rs288324	183,409,833	16
2	rs6848139	9.E-06	2.E-05	4	123,614,491	4q27	124.0	0.092	2 (rs3108396)	123,241,010	rs2137497	123,777,704	53 7
3	rs10488631	5.E-08	4.E-07	7	128,381,419	7q32.1	130.1	0.167	3 (rs960633)	128,347,997	rs17340646	128,509,750	16 2
4	rs12531711	2.E-07	1.E-06	7	128,404,702	7q32.1	130.1	0.167	3 (rs960633)	128,347,997	rs17340646	128,509,750	16 2
5	rs12537284	2.E-05	8.E-05	7	128,505,142	7q32.1	130.2	0.161	3 (rs960633)	128,347,997	rs17340646	128,509,750	16 2
6	rs1961707	1.E-05	3.E-05	12	117,865,107	12q24.23	138.2	0.317	4 (rs10851051)	117,820,021	rs11069197	117,873,739	54
7	rs4238058	1.E-05	3.E-05	12	117,869,643	12q24.23	138.2	0.317	4 (rs10851051)	117,820,021	rs11069197	117,873,739	54
8	rs12964454	5.E-06	1.E-05	18	70,389,710	18q22.3	108.4	0.364	5 (rs12326826)	70,387,463	rs12957330	70,402,360	15
9	rs5943524	2.E-05	1.E-04	X	28,281,558	Xp21.3	43.5	0	6 (unknown)				

DU 구역에 대해 표제하는 굵기 양고 음영지 않은/굵고 음영진 글자체.

LD 구역에 대해 표시하는 값이 없고 음영이 없는/값이 음영된 글자.

도면13b

LD 구역에 대해 표제하는 표지 않고 음영지치 않은/음고 음영진 글자제.

SN P #	SNP_ID	유전자 (블록)이 선택된 이유	구역 #	블록 내의 제1 유전자	설명	LD S	블록 내의 제2 유전자	설명	IRS	블록 내의 제3 유전자	설명	IRS
1	rs7593100	공관질염과 연관된 PRZB	1	PRZB	프리즐드 (fizzled) -관련 단백질	N/ A	-	-	#N/A	-	-	#N/A
2	rs6846139	IL21과 LD에서: IL2 및 IL21 수용체는 면역-특이적인	2	IL21	인터루킨 21	N/ A	IL2 2	인터루킨 21	#N/A	-	-	#N/A
3	rs10488631	IRF5와 LD에서 (면역-특이적; 선행 연관성)	3	IRF5	인터페론 조절 인자 5	6,9 5	TNPO 3	트랜스포린	#N/A	LOC28 6016	-	#N/A
4	rs12531711	-	3	IRF5	인터페론 조절 인자 5	6,9 5	TNPO 3	트랜스포린	#N/A	LOC28 6016	-	#N/A
5	rs12537284	-	3	IRF5	인터페론 조절 인자 5	6,9 5	TNPO 3	트랜스포린	#N/A	LOC28 6016	-	#N/A
6	rs1961707	선행 연관: 고도로 보존된 구역 내의 SNP	4	-	-	N/ A	-	-	#N/A	-	-	#N/A
7	rs4238058	-	4	-	-	N/ A	-	-	#N/A	-	-	#N/A
8	rs12964454	당뇨 신장병증과 연관된	5	CNDP1	카르노신 디펩티다제 1 (에발로펩티다제 M20 패밀리)	N/ A	-	-	#N/A	-	-	#N/A
9	rs5043524	X chr: 최기 대형유전자: 높은 조절 가능성의 구역 내의 SNP	6	-	-	N/ A	-	-	#N/A	-	-	#N/A

도면14a

아래의 모든 SNP는 EIG P ≤ 7.0E-05를 갖는다														
SV P #	SNP_ID	EIG P	역상에서 P	산염염에서 P	염색체	좌표	CytoBan d	cM	MAF_C/E U	구역 # (클러스터의 SNP)	좌표	클러스터 후의 SNP	좌표	클러스터 크기 (kb)
1	rs1079826 9	2.E- 05	2.E-04	5.E-03	1	171,576,336	1425.1	175. 4	0.375	1 (rs2096147)	171,568,92 9	rs491621 9	171,639,80 6	71
2	rs2422341	4.E- 05	3.E-04	7.E-03	1	171,590,919	1425.1	175. 4	0.367	1 (rs2096147)	171,568,92 9	rs491621 9	171,639,80 6	71
3	rs4916334	3.E- 05	3.E-04	6.E-03	1	171,600,452	1425.1	175. 4	0.361	1 (rs2096147)	171,568,92 9	rs491621 9	171,639,80 6	71
4	rs2894600	3.E- 05	4.E-05	4.E-05	2	226,955,846	2436.3	229. 3	0.192	2 (rs10195178)	226,907,50 7	rs239634 0	226,961,61 7	54
5	rs3734227	6.E- 05	6.E-04	1.E-03	6	144,552,619	6424.2	146. 8	0.342	3 (rs7452080)	144,515,35 9	rs690372 6	144,562,18 7	47
6	rs1077200 1	7.E- 05	6.E-04	7.E-03	12	9,702,918	12013.31	24.2	0.317	4 (rs2241005)	9,639,839	rs156001 1	9,714,219	74
7	rs1053605	3.E- 05	6.E-03	3.E-04	16	54,077,108	16412.2	70.7	0.075	5 (rs243866)	54,069,038	rs243834	54,094,188	25
8	rs4815763	7.E- 06	2.E-05	2.E-04	20	4,994,930	20413	15.1	0.417	6 (rs404678)	4,972,237	rs242308 9	5,064,199	92

도면14b

<i>S</i> <i>N</i> <i>P</i> #	<i>SNP_ID</i>	유전자 (블록)이 선택된 이유	구역 #	블록 내의 제1 유전자	설명	<i>IRS</i>	블록 내의 제2 유전자	<i>IRS</i>	블록 내의 제3 유전자	<i>IRS</i>
1	rs10798269	선택 연관	1	.	.	N/A				
2	rs2422341		1	.		N/A				
3	rs4916334		1	.		N/A				
4	rs2894600	선택 연관	2	.		N/A				
5	rs3734227	면역-특이적 발현	3	STX11	선택된 II	5.4				
6	rs10772001	CLBC2D와의 LD에서 (LIT1, 면역-특이적)	4	KLRB1	킬리 세포-특정-유사 수용체 서브유닛 B	10.68	CLR	#N/A	CLBC2D	#N/A
7	rs1053605	선택 연관; 포말 SNP (중의)	5	MMP2	메트릭스-메탈로프로테아제 2 (젤라티나제 A)	N/A				
8	rs4815763	PCNA와의 LD에서 (면역-특이적)	6	C20orf30	염색체 20 개방-관동-프로테인 30	N/A	PCNA	5.82	CDS2	#N/A

LD 구역에 대해 고려하는 유전자 않고 음영되지 않은/음고 음영된 글자체.

도면15

LD 구역 SNP	염색체	좌표 A	좌표 B	SNP A	SNP B
1	1	111,932,147	112,065,205	rs2800880	rs2076590
2	1	171,422,915	171,533,067	rs3861950	rs10798267
3	2	157,986,114	158,075,558	rs16841719	rs10804386
4	2	191,605,785	191,681,808	rs925847	rs6752770
5	6	72,022,392	72,149,401	rs9455395	rs9283839
6	8	26,526,139	26,539,107	rs7011131	rs327225
7	10	97,974,301	98,003,004	rs1007764	rs7905645
8	14	52,353,315	52,509,576	rs2025631	rs2210319
9	16	31,045,213	31,294,363	rs889548	rs8052139
10	18	36,269,528	36,431,363	rs16973345	rs9944655
11	21	36,382,034	36,478,878	rs735142	rs2252991

루푸스 신장염 하위 세트

도면16

LD 구역 SNP	염색체	좌표 A	좌표 B	SNP A	SNP B
1	2	183,393,807	183,409,833	rs10931041	rs288324
2	4	123,241,010	123,777,704	rs3108396	rs2137497
3	7	128,347,997	128,509,750	rs960633	rs17340646
4	12	117,820,021	117,873,739	rs10851051	rs11069197
5	18	70,387,463	70,402,360	rs12326826	rs12957330

여성 하위 세트

도면17

LD 구역 SNP	염색체	좌표 A	좌표 B	SNP A	SNP B
1	1	171,568,929	171,639,806	rs2096147	rs4916219
2	2	226,907,507	226,961,617	rs10195178	rs2396340
3	6	144,515,359	144,562,187	rs7452080	rs6903726
4	12	9,639,839	9,714,219	rs2241005	rs1560011
5	16	54,069,038	54,094,188	rs243866	rs243834
6	20	4,972,237	5,064,199	rs404678	rs2423089

주요 군