

發明專利說明書 200401035

(填寫本書件時請先行詳閱申請書後之申請須知，作※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 92101760 ※IPC分類： C12Q1/68

※ 申請日期： 92 1 28

壹、發明名稱

(中文) 間白素-1(IL-1)基因簇及相關發炎反應多形性與單倍體型

(英文) THE IL-1 GENE CLUSTER AND ASSOCIATED INFLAMMATORY
POLYMORPHISMS AND HAPLOTYPES

貳、發明人(共8人)

發明人 1 (如發明人超過一人，請填說明書發明人續頁)

姓名：(中文) 馬汀·尼克林

(英文) Martin Nicklin

住居所地址：(中文) 英國南約克郡希費德·布魯克蘭德斯巷 118 號

(英文) 118 Brooklands Crescent, Sheffield, South Yorkshire, S10 4GG, UK

國籍：(中文) 英 國 (英文) UK

參、申請人(共1人)

申請人 1 (如申請人超過一人，請填說明書申請人續頁)

姓名或名稱：(中文) 美商·英特魯金遺傳股份有限公司

(英文) Interleukin Genetics, Inc.

住居所或營業所地址：(中文) 美國麻州瓦夏姆·貝維街 135 號

(英文) 135 Beaver Street, Waltham, MA 02452, USA

國籍：(中文) 美 國 (英文) USA

代表人：(中文) 菲利普·雷利

(英文) Philip Reilly

☐ 續發明人或申請人續頁 (發明人或申請人欄位不敷使用時，請註記並使用續頁)

發明人 2 姓名：(中文) 葛登 W. 道夫(英文) Gordon W. Duff住居所地址：(中文) 英國南約克郡希費德·亞希葛堤路 18 號(英文) 18 Ashgate Road, Sheffield, South Yorkshire, S10 3B2, UK國籍：(中文) 英 國 (英文) UK發明人 3 姓名：(中文) 肯尼斯 S. 柯恩曼(英文) Kenneth S. Kornman住居所地址：(中文) 美國麻州紐頓市·中心街 920 號(英文) 920 Centre Street, Newton, MA 02459-1236, USA國籍：(中文) 美 國 (英文) USA發明人 4 姓名：(中文) 克里斯·卡寧(英文) Chris Canning住居所地址：(中文) 英國希費德·瑞德麥理斯路 484 號(英文) 484 Redmires Road, Sheffield, S10 4LG, UK國籍：(中文) 美 國 (英文) USA發明人 5 姓名：(中文) 瑪耶姆 R. 柯派恩(英文) Maryam Rafie Kolpin住居所地址：(中文) 美國麻州麥佛德·伊爾姆街 69 號(英文) 69 Elm Street, Medford, MA 02155, USA國籍：(中文) 美 國 (英文) USA發明人 6 姓名：(中文) 蔡春明(英文) Chung-Ming Hsieh住居所地址：(中文) 美國麻州西洛克斯布理·拉葛蘭吉街 661 號(英文) 661 Lagrange Street, West Roxbury, MA 02132, USA國籍：(中文) 美 國 (英文) USA

發明人 7

姓名：(中文) 拉傑·柯維恩達拉傑

(英文) Raju Govindaraju

住居所地址：(中文) 美國麻州利克辛頓·瑪夏爾路 4 號

(英文) 4 Marshall Road, Lexington, MA 02421, USA

國籍：(中文) 美 國 (英文) USA

發明人 8

姓名：(中文) 納茲尼恩·亞茲

(英文) Nazneen Aziz

住居所地址：(中文) 美國麻州利克辛頓·布洛斯歐姆克利斯特路 17 號

(英文) 17 Blossomcrest Road, Lexington, MA 02421, USA

國籍：(中文) 美 國 (英文) USA

捌、聲明事項

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項第一款但書或第二款但書規定之期間，其日期為：_____

☐ 本案已向下列國家（地區）申請專利，申請日期及案號資料如下：

【格式請依：申請國家（地區）；申請日期；申請案號 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☒ 主張專利法第二十四條第一項優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；日期；案號 順序註記】

1. 美 國； 2002, 01, 25； 60/351,951
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____

☐ 主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

【格式請依：申請日；申請案號 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明

(發明說明應敘明：發明所屬之技術領域、先前技術、內容、實施方式及圖式簡單說明)

【發明所屬之技術領域】

相關聯申請案之交互引述

本申請案主張第60/351951號美國臨時申請案(於2002年1月25日提出申請)之利益，其內容在此併入本案以為參考資料。

發明領域

本發明係關於間白素-1(IL-1)基因簇及相關發炎反應多形性與單倍體型。

10 【先前技術】

發明背景

間白素-1(IL-1)係一主要的發炎性細胞激素，及涉及急性與慢性病理性發炎疾病之調節作用。功能相近的二種分子IL-1 α 與IL-1 β ，係由不同的基因(分別為*IL1A*與15 *IL1B*)編碼。該群中的第三個基因(*IL1RN*)編碼IL-1受體拮抗劑(IL-1ra)，其係與結合IL-1 α 及IL-1 β 的受體競爭之一種抗發炎性非傳訊分子。IL-1 α 、IL-1 β 與IL-1ra的配對比較，在各情況下獲致小於25%之同一性，然而IL-1 β 與IL-1ra的X光結晶圖顯示高度相似的褶疊(Priestle等人(1989年)20 於PNAS USA第86期第9667-967頁乙文及Vigers等人(1994年)於Bio Chem第269期第12874-12879頁乙文)。就結構而言，該等蛋白質包括一個由12個緊密型 β 層所組成之單一領域(稱作 β -三葉體)。因為大部分的緊密化交互作用均具有主鏈原子，曾就少數不變的胺基酸係製造IL-1褶疊所需

玖、發明說明

的殘基乙節提出爭論，因而該等基因之廣泛多樣化的編碼序列係為可能的。在大豆胰蛋白酶抑制劑中獲致非常類似的褶疊，但其不具有任一可偵測到的序列相似性。該三種蛋白質中之所有者均與IL-1之唯一的官能性傳訊受體(即第
5 I型IL-1受體(IL-1R1))結合(見Sims等人(1993年)於PNAS USA第90期第6155-6159頁乙文)。

IL-1之特徵主要在於其係為受刺激的單核白血球、巨噬細胞及角質化細胞之產物，但亦曾認為自平滑肌與內皮細胞所釋出的IL-1扮演重要角色(Ross (1993年)於Nature第
10 362期第801-9頁乙文之綜合評論)。經由IL-1R1的傳訊作用涉及該受體的細胞質托爾(Toll)-類型領域(Heguy等人(1992年)於J Biol Chem第267期第2605-2609頁乙文)。功能性IL-1受體廣泛地分布於組織中。目前認為IL-1ra與IL-1不同之處，在於其無法活化IL-1R1與第二受體組份(即IL-1受體輔助蛋白質(IL-1RacP))之間的交互作用。其係一種跨膜蛋白質及係為IL-1R1的遠房親戚，具有相似的領域結構，但並不具有對於IL-1的本質親和力(Greenfeder等人(1995年)於J
15 Biol Chem第270期第13757-13756頁乙文； Wesche等人(1997年)於J Biol Chem第272期第7727-7731頁乙文)。

20 IL-1基因簇係位於第2號染色體的長臂(2q13)上，及在430 Kb的區域內至少含有IL-1 α (IL-1A)、IL-1 β (IL-1B)及IL-1受體拮抗劑(IL-1RN)之基因(Nicklin等人(1994年)於Genomics第19期第382-4頁乙文)。藉由人類基因體DNA的限制性分解液之脈衝式電場膠體電泳，估計遠端基因IL1A

玖、發明說明

與 *IL1RN* 之間之最大間隔為 430 Kb(Nicklin 等人(1994 年)於 Genomics 第 19 期第 382-4 頁乙文)；及藉由實際的選殖作用而測定該三個基因的定向(Nothwang 等人(1997 年)於 Genomics 第 41 期第 370-378 頁乙文)。IL-18 似乎是該 IL-1 結
 5 構群的第四個成員(Bazan 等人(1996 年)於 Nature 第 379 期第 591 頁乙文)。其亦為一種趨發炎性細胞激素，但其活性與 IL-1 平行。IL-18 與一相關聯受體(IL-18R1)而非 IL-1R1 結合(Torigoe 等人(1997 年)於 J Biol Chem 第 272 期第 25737-25742
 10 頁乙文)，其接合一相關聯的輔助蛋白質 IL-18RacP 而非 IL-1RacP(Born 等人(1998 年)乙文)。IL-18 基因(*IL18*)係位於第 11 號染色體上(Nolan 等人(1998 年)於 Genomics 第 51 期第 161-3 頁乙文)。

自商業化或公用的 cDNA 資料庫中，已發現含有 IL-1 類型成份的其他一些蛋白質(Mulero 等人(1999 年)於
 15 Biochem Biophys res Commun 第 5 期第 702-6 頁乙文；Smith 等人(2000 年)於 J Biol Chem 第 275 期第 1169-1175 頁乙文；Kumar 等人(2000 年)於 J Biol Chem 第 275 期第 10308-10314 頁乙文；Busfield 等人(2000 年)於 Genomics 第 66 期第 213-216 頁乙文；Lin 等人(2001 年)於 J Biol Chem 第 276 期第
 20 20597-20602 頁乙文)。藉由與接入一 IL-1 基因簇的一 YAC 植株之雜交反應，在 cDNA 篩選之後亦發現一個 IL-1 類型基因(Barton 等人(2000 年)於 Eur J Immunol 第 30 期第 3299-3308 頁乙文)。在吾等審查中之申請案 U.S.S.N. 09/617720 中，詳述該 IL-1 基因及其產物(亦即間白素-1 類型蛋白質 1

玖、發明說明

基因/產物)，其內容在此併入本案以為參考資料。共同發現該六個新基因之研究者，最近已同意該等基因的一致性命名系統(見Smith等人(2001年)於Trends Immunol第22期第536-537頁乙文)。鑑於先前四個稱作IL-1群成員之故，新的人類基因被命名為*IL1F5*、*IL1F6*、*IL1F7*、*IL1F8*(亦即*IL-1L1*)、*IL1F9*及*IL1F10*。蛋白質產物係依該形式命名為IL-1F7b(其係意謂*IL1F7*基因之所述第二個推斷的蛋白質產物)。該等基因一般似乎保存於人類與小鼠之間。

在第6,268,142號美國專利(其內容在此完整地併入本案以為參考資料)中，吾等曾述及與IL-1發炎性單倍體型相關聯之一些多形性(包括單核苷酸多形性(SNP))，及其等於發炎疾病的診斷與療法方面之用途。在U.S.S.N. 09/617720與U.S.S.N. 09/969,215[第US 2002/0182612號公開案](其等之內容在此完整地併入本案以為參考資料)中，吾等曾述及以IL-1B對偶基因2(+6912)多形性為基礎之療法與診斷法。更進一步，在U.S.S.N. 010/300011(亦為PCT US 02/37222)(其內容在此完整地併入本案以為參考資料)中，吾等述及影響轉錄作用及對於發炎性與感染性疾病的感病性之功能多形性(包括該等位於IL-1B基因的上游區域者)及說明其特徵。此外，在U.S.S.N. 09/617720(其內容在此完整地併入本案以為參考資料)中，吾等曾述及IL-1類型基因及其產物(亦即間白素-1類型蛋白質1基因/產物(亦即IL-1F8))。鑑於IL-1基因簇係以重要方式涉及發炎性疾病，吾等在此提供更詳細的IL-1基因座多形性、連鎖、疾病相關

玖、發明說明

聯性與功能分析，以協助用於偵測人類IL-1基因座的基因同一性之組成物，及其等用於預測、診斷與治療發炎性疾病之用途。

【發明內容】

5 發明概要

整體而言，本發明提供用於偵測IL-1單倍體型(如與罹患一發炎性疾病或狀況的風險增加或降低相關聯之一IL-1單倍體型)之組成物與方法。在較佳實施例中，該IL-1單倍體型係與罹患一疾病或狀況之一增加的風險或一降低的風險相關聯者；然而，本發明必須涵蓋用於偵測與罹患一疾病或狀況之一增加的風險或一降低的風險均無關之一IL-1單倍體型(如一“正常”或“野生型(wt)”基因型)之材料與方法。

在較佳實施例中，本發明提供用於判定一個體是否罹患與一IL-1發炎性單倍體型相關聯之一疾病或狀況或具有罹患該疾病或狀況的素因性之組成物與方法，其係藉由偵測與該發炎性疾病或狀況相關聯之一IL-1對偶基因，或偵測與該一對偶基因連鎖不平衡之任一IL-1對偶基因(如第1、2A、2B、7A或7B圖中任一者所示之一或多個連鎖的IL-1對偶基因)。在較佳實施例中，該連鎖的對偶基因與發炎相關聯性對偶基因之連鎖不平衡數值(D')至少為0.5，及較佳至少為0.6、0.7、0.8或0.9。

在另一實施例中，本發明提供用於判定一個體罹患與一IL-1發炎性單倍體型相關聯之一疾病或狀況之風險是否降低之組成物與方法，其係藉由偵測與該發炎性疾病或狀

玖、發明說明

況之降低的風險相關聯之一IL-1對偶基因，或偵測與該一“保護性”對偶基因連鎖不平衡之任一IL-1對偶基因(如第1、2A、2B、7A或7B圖中任一者所示之一或多個連鎖的IL-1對偶基因)。在較佳實施例中，該連鎖的對偶基因與“保護性對偶基因”之連鎖不平衡數值(D')至少為0.5，及較佳至少為0.6、0.7、0.8或0.9。在特定的較佳實施例中，基於新發現的單核苷酸多形性(SNP)，本發明包括4個新的IL-1單倍體型(hap1-4)。在一個較佳的實施例中，本發明提供hap1(IL-1單倍體型第一模式)，其係一種IL-1趨發炎性(與前述的單倍體型：332146121一致)及包括：IL-1A(+4845)的對偶基因2(其與IL-1A(-889)的對偶基因2為100%連鎖不平衡(LD))、IL-1B(+3954)的對偶基因2及IL-1B(-551)的對偶基因1。在另一實施例中，本發明提供一hap1單倍體型，其包括多套如第3A與3B圖所示之一hap1單倍體型模式中的二或多個對偶基因。在較佳實施例中，hap1單倍體型包括如第3A與3B圖所示之IL-1 TTC/2-2-1模式。

在另一實施例中，本發明提供一IL-1單倍體型hap2(其與前述的單倍體型：4411233212一致)，其包括：IL-1A(+4845)的對偶基因1(其與IL-1A(-889)的對偶基因1為100%連鎖不平衡(LD))、IL-1B(+3954)的對偶基因1及IL-1B(-551)的對偶基因2。在另一實施例中，本發明提供一hap2單倍體型，其包括多套如第4A與4B圖所示之一hap2單倍體型模式中的二或多個對偶基因。在較佳實施例中，hap2單倍體型包括如第4A與4B圖所示之IL-1 GCT/1-1-2模

玖、發明說明

式。

在另一實施例中，本發明提供一IL-1單倍體型hap3(其與前述的“野生型”對偶基因模式**111***一致)，其包括：IL-1A(+4845)的對偶基因1(其與IL-1A(-889)的對偶基因1為
5 100%連鎖不平衡(LD))、IL-1B(+3954)的對偶基因1及IL-1B(-551)的對偶基因1。在另一實施例中，本發明提供一hap3單倍體型，其包括多套如第5A與5B圖所示之一hap3單倍體型模式中的二或多個對偶基因。在較佳實施例中，hap3單倍體型包括如第5A與5B圖所示之IL-1 hap3 GCC/1-
10 1-1模式。

在另一實施例中，本發明提供新發現的單核苷酸多形性，其係與一種新的IL-1單倍體型模式(hap4)一致，及包括：IL-1B(+3954)的對偶基因1、IL-1B(-551)的對偶基因1及IL-1B(-3737)的對偶基因1。在一個較佳的實施例中，本
15 發明提供一hap4單倍體型，其包括多套如第6A與6B圖所示之一hap4單倍體型模式中的二或多個對偶基因。在較佳實施例中，hap4單倍體型包括如第6A與6B圖所示之IL-1 hap4 CCC/1-1-1模式。

本發明之一目標係提供與IL-1基因簇(特別是IL-1基因簇之新的IL-1類型基因)的序列資訊之使用有關之方法與組成物。進一步的目標係將該序列資訊與基因數據整合。因此，本發明提供IL-1基因簇的圖譜，其可提供該等基因與相關多形性之詳細的結構與組織資訊。本發明之另一目標係提供預測與診斷與IL-1基因簇相關聯的一疾病或病症之

玖、發明說明

方法。進一步的目標係提供多套的人類IL-1基因簇辨識序列，其包括用以辨識如第4圖所示的一IL-1多形性之一或多個核酸。

圖式簡單說明

5 第1圖係以示意圖方式呈現IL-1基因簇點位中之代表性單核苷酸多形性(SNP)的連鎖不平衡。

第2圖(A與B)顯示IL-1基因簇中之代表性單核苷酸多形性之連鎖不平衡的代表性數值(D'值示於對角線下方)及其統計顯著性(1-p值示於對角線上方)。

10 第3圖(A與B)顯示IL-1單倍體型第1模式(hap 1)之單核苷酸多形性的組織(T-T-C=2_2_1)。

第4圖(A與B)顯示IL-1單倍體型第2模式(hap 2)之單核苷酸多形性的組織(G-C-T=1_1_2)。

15 第5圖(A與B)顯示IL-1單倍體型第3模式(hap 3)之單核苷酸多形性的組織(G-C-C=1_1_1)。

第6圖(A與B)顯示IL-1單倍體型第4模式(hap 4)之單核苷酸多形性的組織(C-C-C=1_1_1)。

第7圖(A與B)顯示處於強烈的連鎖不平衡及不特定地涵蓋於連鎖不平衡(LD)表中之單核苷酸多形性。

20 第8圖顯示IL-1A基因多形性之本體與位置。

第9圖顯示IL-1B基因多形性之本體與位置。

第10圖(A與B)顯示IL-1RNic基因多形性之本體與位置。

第11圖顯示IL-1RNsec基因多形性之本體與位置。

第12圖顯示對應於IL-1A+4845的對偶基因1與2之IL-1

玖、發明說明

α 變異體在藉由依鈣蛋白酶(calpain)切開方面之差異。

第13圖顯示由表現IL-1+4845的對偶基因1與2變異體之載體穩定轉移感染的纖維母細胞之增殖速率。

第14圖(A與B)顯示IL-1A單核苷酸多形性構築體(A)的基因型，及在一纖維母細胞系中之選擇性報導子活性(B)。

第15圖(A、B、C與D)顯示IL-1B單核苷酸多形性構築體(A)的基因型，及在一纖維母細胞系中之選擇性報導子活性(B)；以及在第14與15位置具有對偶基因2之另一組IL-1B構築體(C)的基因型，及在一纖維母細胞系中之選擇性報導子活性(D)。

第16圖(A與B)顯示IL-1RN單核苷酸多形性構築體(A)的基因型，及在一纖維母細胞系中之選擇性報導子活性(B)。

第17圖顯示IL-1基因簇之圖譜。在數據的上方與下方提供尺寸桿(以kb為單位)，以利於比對。

第18圖顯示IL-1群之10個已知成員的3個共通外顯子(exon)編碼序列之比對。

第19圖顯示IL-1基因簇內所挑選的多形性標記之圖譜位置。

20 【實施方式】

發明之詳細描述

整體說明

已在先前所辨識的IL-1基因簇中確定細胞激素間白素-1(IL-1)基因之數個同源體的位置，但該區域的公開定序一

玖、發明說明

直相當緩慢。吾等因此建構整個基因簇之連續片段重疊體 (contig)，及加以註解。此外，已定位及辨識出該基因簇中之新的人類多形性基因座(包括 IL-1A、IL-1B 及 IL-1RN 中之單核苷酸多形性(SNP))及相關 IL-1 單倍體型，如概述於第 1-11 圖。在本發明所附的詳細說明部份及實例中，將進一步說明本發明的特性。

定義

為方便起見，如下提供說明部份、實例及所附申請專利範圍中所用特定辭彙與片語之含意。

10 “對偶基因”一詞係指在不同的多形性區域所發現之不同的序列變異體。例如，IL-1RN(VNTR)具有至少 5 個不同的對偶基因。該序列變異體可為單一或多個鹼基改變，包括(但不限於)插入、刪除或取代，或可為不同數目的重複序列。

15 “對偶基因模式”一詞係指在一或多個多形性區域之一或多個對偶基因本體。例如，一對偶基因模式可包括在一個多形性位址之一個單一對偶基因，如 IL-1RN (VNTR) 的對偶基因 1(其係在 IL-1RN 基因座的 VNTR 具有至少一套的 IL-1RN 對偶基因 1)。任擇地，一對偶基因模式可包括在一個單一多形性位址之一同型接合或異型接合狀態。例如，
20 IL-1RN (VNTR) 的對偶基因 2,2，係其中在 IL-1RN 的 VNTR 標記具有 2 套對偶基因 2 之一對偶基因模式，其係對應同型接合的 IL-1RN (VNTR) 對偶基因 2 狀態。任擇地，一對偶基因模式包括在一個以上的多形性位址之對偶基因本體。

玖、發明說明

在此所用的“抗體”一詞係欲指一結合劑，其包括對於IL-1多肽特別具有反應性之一完整的抗體或其結合片段。可使用習知技術將抗體切割，及藉由上述用於完整抗體的相同方式而篩選適用的片段。例如，藉由以胃蛋白酶處理一抗體，可產生F(ab)₂片段。可將所得的F(ab)₂片段加以處理以還原二硫鍵，而得Fab片段。本發明的抗體進一步意欲包括雙重專一性、單鏈、嵌合與人化分子，其在抗體的至少一個CDR區域具有對於一IL-1B多肽的親和力。

“生物學活性”或“生物活性”或“活性”或“生物功能”係以可互換方式使用，及就此處之目的而言係指由一IL-1多肽(處於其原有或變性形態)或藉由其任一結果所直接或間接產生之一效應子或抗原功能。生物活性包括與一標的肽(如一IL-1受體)結合。可藉由直接影響一IL-1多肽，而調節IL-1生物活性。任擇地，可藉由調節一IL-1多肽的水平(諸如藉由調節一IL-1基因之表現作用)，而調節IL-1生物活性。

如用於此之“一IL-1多肽的生物活性片段”一詞係指全長型IL-1多肽之一片段，其中該片段精確地模擬或拮抗野生型IL-1多肽之活性。生物活性片段較佳為能與一間白素受體交互作用之一片段。

“一異常活性”一詞係用於一多肽(諸如IL-1)之一活性，其係指與野生型或原本的多肽活性不同或與一健康個體中的多肽活性不同之一活性。一多肽活性之異常，可能因為其比原本對應物的活性強。任擇地，一活性之異常，可

玖、發明說明

能因為其比原本對應物的活性弱或根本不具有活性。一異常活性亦可為活性之改變。例如，一異常多肽可與一不同的標的肽交互作用。一細胞可能因為編碼一IL-1基因座多肽的一IL-1座基因之表現作用過度或表現作用過低，而具

5 有一異常的IL-1活性。

“細胞”、“宿主細胞”或“重組型宿主細胞”等詞在此係以可互換方式使用，及不僅指特定的個體細胞，亦指該一細胞之子代或潛在子代。因為在後續世代可能因為突變作用或環境影響而發生特定的修飾，該子代可能事實上與母

10 細胞不一致，但仍涵蓋於在此所用的該辭彙之範疇內。

“嵌合型”、“鑲嵌型”、“嵌合型哺乳類動物”等係指基因轉殖型哺乳類動物，其在含有基因體的至少部份細胞中具有一基因基因剔除型(knock-out)或撞入型(knock-in)構築體。

15 “對照組”或“對照組試樣”係指適於所採用的偵測技術之任一試樣。對照組試樣可含有所採用的對偶基因偵測技術之產物，或含有待試驗物質。再者，對照組可為正對照組或負對照組。舉例而言，當對偶基因偵測技術係聚合酶鏈反應(PCR)擴增作用時，在尺寸分級作用之後，對照組

20 試樣可包括一適宜尺寸的DNA片段。同樣地，當對偶基因偵測技術涉及一突變蛋白質之偵測作用時，對照組試樣可包括一突變蛋白質試樣。然而，對照組試樣較佳包括待試驗之物質。例如，對照組可為基因體DNA之一試樣或為IL-1基因簇之一選殖部份。然而，當待試驗的試樣為基因

玖、發明說明

體DNA時，對照組試樣較佳為經高度純化的基因體DNA。

“與IL-1多形性相關聯之及疾病與狀況”之片語係指多種疾病與狀況，能以該IL-1複合體內的一或多個對偶基因之辨識作用為基礎，而顯示一個體對於該等疾病與狀況之感病性。實例包括：發炎性或變性疾病，包括：系統性發炎反應(SIRS)；阿茲海默氏(Alzheimer)病(及相關病況與癥狀包括：慢性神經發炎、神經膠質的活化作用、小神經膠質細胞之增加、神經炎斑之形成及對於療法之反應)；肌萎縮性脊髓側索硬化(ALS)、關節炎(及相關病況與癥狀包括：急性關節發炎、由病原引發的關節炎、與慢性淋巴球性甲狀腺炎相關之關節炎、由膠原蛋白引發的關節炎、幼年型慢性關節炎、幼年型類風濕性關節炎、骨關節炎、預後症狀與鏈球菌所引發的關節炎)、氣喘(及相關病況與癥狀包括：支氣管性氣喘、慢性梗阻性呼吸道疾病、慢性梗阻性肺病、幼年型氣喘及職業性氣喘)；心血管疾病(及相關病況與癥狀包括：動脈粥樣硬化、自身免疫性心肌炎、長期心臟缺氧症、充血性心臟衰竭、冠狀動脈疾病、心病及心臟細胞機能不良(包括主動脈平滑肌細胞的活化作用)、心臟細胞凋亡及心臟細胞功能的免疫調節作用)；糖尿病及相關病況與癥狀(包括自身免疫性糖尿病、胰島素依賴型(第1型)糖尿病、糖尿病性牙周炎、糖尿病性視網膜病及糖尿病性腎病)；胃腸發炎(及相關病況與癥狀包括：腹腔疾病、相關的骨質缺乏症、慢性結腸炎、克羅恩氏(Crohn)病、發炎性腸疾病及潰瘍性結腸炎)；胃潰瘍；肝

玖、發明說明

臟發炎、膽固醇膽石及肝臟纖維變性；HIV感染(及相關疾病與狀況包括：變性反應、神經變性反應及HIV相關的何傑金氏(Hodgkin)病)；川崎氏(Hawasaki)症候群(及相關病況與癥狀包括：黏膜皮膚性淋巴結症候群、頸部淋巴結病

5、冠狀動脈損傷、水腫、發燒、白血球增加、輕度貧血、脫皮、皮疹、結膜發紅、血小板增多症)；多發性硬化；腎病(及相關疾病與狀況包括：糖尿病性腎病、末期腎臟疾病、血管球性腎炎、古德帕斯徹氏(Goodpasture)症候群、血液透析存活及腎臟缺血之再灌注損傷)；神經變性疾

10病(及相關疾病與狀況包括：急性神經變性、在老化與神經變性疾病中之IL-1誘發作用、IL-1所引發的下丘腦神經元可塑性及長期的壓力過度反應性)；眼病(及相關疾病與狀況包括：糖尿病性視網膜病、格雷夫斯氏(Graves)眼病及眼色素層炎)；骨質疏鬆症(及相關疾病與狀況包括：齒

15齦、股骨、橈骨、脊椎骨或腕骨之骨質流失或骨折發生率；停經後之骨質流失、密集的骨折發生率或骨質流失速率)；中耳炎(成人或兒童)；胰炎或胰原性腺泡炎；牙周疾病(及相關疾病與狀況包括：成人型、早發型及糖尿病性牙周疾病)；肺病(包括慢性肺病、慢性鼻竇炎、透明膜疾病

20、缺氧症及嬰兒猝死症候群(SIDS)中之肺病)；血管再狹窄化(restenosis)；風濕病(包括類風濕性關節炎、風濕性阿孝夫氏(Aschoff)小體、風濕性疾病及風濕性心肌炎)；甲狀腺炎(包括慢性淋巴球性甲狀腺炎)；尿道感染(包括慢性前列腺炎炎、慢性骨盆痛症候群及尿石病)。免疫病症包括自

玖、發明說明

身免疫疾病(諸如斑形脫髮症、自身免疫心肌炎、格雷夫斯氏(Graves)疾病、格雷夫斯氏(Graves)眼病、硬化萎縮苔蘚病、多發性硬化、牛皮癬、全身性紅斑狼瘡、全身性硬化)；甲狀腺疾病(如甲狀腺腫與淋巴瘤性甲狀腺腫(橋本氏

5 (Hashimoto)甲狀腺炎)、淋巴結樣甲狀腺腫)；睡眠障礙與長期疲勞症候群；及肥胖(非糖尿病型或與糖尿病相關者)。

對於由細菌、病毒(如細胞巨化病毒、腦炎病毒、愛普斯坦-巴爾(Epstein-Barr)病毒、人類免疫缺乏症病毒、流行性感

10 冒病毒)或原生動物(如惡性瘧原蟲、錐蟲)所引起的傳染性疾病(諸如利什曼原蟲病、癩瘋病、萊姆(Lyme)病、萊姆(Lyme)心臟炎、瘧疾、腦性瘧疾、腦脊膜炎、與瘧疾相關聯之管內性腎炎)之抵抗力。對於創傷之反應，創傷包括腦部創傷(包括中風與缺血、腦炎、腦病、癲癇、圍產期腦部損傷、長期熱性癲癇、嬰兒猝死症候群(SIDS)

15 及蛛網膜下出血)、出生體重低(如腦性麻痺)、肺部損傷(急性出血性肺部損傷、古德帕斯徹氏(Goodpasture)症候群、急性缺血再灌注)、心肌功能障礙、由職業或環境污染物所引起者(如對於毒油症候群矽肺病之感病性)、輻射創傷及傷口癒合反應之效率(如燒傷或熱傷口、長期傷口、

20 手術傷口及脊柱損傷)。對於贅生物形成之感病性，包括與溶骨性轉移相關聯之乳癌、惡病質、結腸直腸癌、過度增生性疾病、何傑金氏(Hodgkin)病、白血病、淋巴瘤、代謝疾病及腫瘤、轉移、骨髓瘤及各種癌症(包括乳癌、前列腺癌、卵巢癌、結腸癌、肺癌等)、厭食及惡病質。荷

玖、發明說明

爾蒙調節作用(包括生育力/生殖力)、懷孕之可能性、早產發生率、產前與新生期併發症(包括未足月之出生體重低、腦性癱瘓、敗血症、血中甲狀腺素過低症、氧氣依賴性、頭顱異常、早發性停經)。一個體對於植入物之反應(排斥或接受)、急性期反應(如發熱反應)、一般發炎反應、急性呼吸窘迫反應、急性全身性發炎反應、傷口癒合作用、黏合作用、免疫發炎反應、神經內分泌反應、發熱與抵抗力、急性期反應、壓力反應、對於疾病的感病性、重複性動作壓力、網球肘及疼痛處理與反應。

10 “基因之斷裂作用”及”鎖定標的之斷裂作用”或任一類似的片語，係指一原有DNA序列之特定位址的斷裂作用，藉此阻止該基因於細胞中之表現(相較於該基因之野生型而言)。該中斷作用可藉由在該基因中刪除、插入或修飾或藉由其任一組合造成。

15 如用於此之“單倍體型”一詞，係欲指以統計上顯著的程度(p 相關 <0.05)以一群(處於連鎖不平衡)形式一起遺傳之一組對偶基因。如用於此，”一IL-1單倍體型”之片語係指IL-1基因座中之一單倍體型。一IL-1發炎性或趨發炎性單倍體型，係指顯示增加的同效劑活性及/或降低的拮抗劑活性之一單倍體型。

20 如用於此之”IL-1基因簇”與”IL-1基因座”等詞，係包括位於或鄰近第2號染色體的2q13區域之所有核酸，至少包括IL-1A、IL-1B及IL-1RN基因及任一的其他連鎖序列(Nicklin等人於Genomics第19期第382-84頁(1994年)乙文)

玖、發明說明

。如用於此之”IL-1A”、”IL-1B”及”IL-1RN”等詞係指分別編碼IL-1 α 、IL-1 β 及IL-1受體拮抗劑之基因。IL-1A、IL-1B及IL-1RN之基因登錄序號分別為X03833、X04500及X64532。

5 “IL-1功能突變作用”係指在IL-1基因簇中造成表現型改變(亦即影響一IL-1基因或蛋白質之功能)之一突變作用。實例包括：IL-1A(+4845)的對偶基因2、IL-1B(+3954)的對偶基因2、IL-1B(+6912)的對偶基因2及IL-1RN(+2018)的對偶基因2。

10 “IL-1X(Z)的對偶基因Y”係指之一特定的對偶基因形式(示作Y)，其存在於基因X中之IL-1基因座多形性位址，其中X係位於或鄰近核苷酸Z之IL-1A、IL-1B或IL-1RN，其中核苷酸Z係相對於該特定的IL-1基因X之主要轉錄起始位址而加以編號(其為核苷酸+1)。如另外用於此者，“IL-1X對偶基因(Z)”一詞係指在位於或鄰近核苷酸Z之基因X中
15 的一IL-1多形性位址之所有對偶基因。例如，“IL-1RN(+2018)對偶基因”一詞係指在標記+2018之IL-1RN基因的任擇形式。“IL-1RN(+2018)對偶基因1”一詞係指IL-1RN基因之一形式，其在訊息股的+2018位置具有一胞嘧啶(C)
20 。Clay等人於Hum. Genet.第97期第723-26頁(1996年)乙文。“IL-1RN(+2018)對偶基因2”一詞係指IL-1RN基因之一形式，其在正向股的+2018位置具有一胸腺嘧啶(T)。當一個體具有2個相同的對偶基因時，該個體係稱作同型接合，或具有同型接合狀態。當一個體具有2個不同的對偶基因

玖、發明說明

時，該個體係稱作異型接合，或具有異型接合狀態。“IL-1RN(+2018)對偶基因 2,2”一詞係指同型接合的 IL-1RN(+2018)對偶基因 2 狀態。反之，“IL-1RN(+2018)對偶基因 1,1”一詞係指同型接合的 IL-1RN(+2018)對偶基因 1 狀態。5 “IL-1RN(+2018)對偶基因 1,2”一詞係指異型接合的 IL-1RN(+2018)對偶基因 1 與 2 狀態。

“IL-1表現型”一詞係指自 IL-1 基因簇基因本體所產生之任一表現型，亦即包括對於一發炎疾病或狀況之增加或降低的素因性，以及包括一發炎疾病或病症之一”正常的 10 ”(如平均或”野生型”)相關可能性。

如用於此之“IL-1相關”一詞係指與人類第 2 號染色體(2q12-14)上之人類 IL-1 基因座基因相關的所有基因。其等包括位於第 2 號染色體(2q13-14)上之人類 IL-1 基因簇的 IL-1 基因，其包括 IL-1A 基因(其編碼間白素-1 α)、IL-1B 基因(15 其編碼間白素-1 β)及 IL-1RN(或 IL-1ra)基因(其編碼間白素-1 受體拮抗劑)。更進一步，該等 IL-1 相關基因包括位於人類第 2 號染色體(2q12)上之第 I 型與第 II 型人類 IL-1 受體基因，及其等的小鼠同源基因係位於小鼠第 1 號染色體之 19.5 cM 位置。間白素-1 α 、間白素-1 β 及間白素-1 受體拮 20 抗劑的相關程度極高，藉此其等皆與 IL-1 第 I 型受體結合，然而僅間白素-1 α 與間白素-1 β 係活化 IL-1 第 I 型受體之同效劑配位子。當“IL-1”一詞係用於一基因產物或多肽時，其欲指位於人類第 2 號染色體(2q12-14)上之間白素-1 基因座及其等來自其他物種之對應同源基因或其功能變異體之

玖、發明說明

所有基因產物。因此，“IL-1”一詞包括所分泌之促進一發炎反應的多肽(諸如IL-1 α 與IL-1 β)，以及包括所分泌之拮抗一發炎反應的多肽(諸如IL-1受體拮抗劑與IL-1第II型(誘餌)受體)。

- 5 “IL-1受體”或“IL-1R”係指能與IL-1基因座所編碼之一配位子結合或與轉導其一訊息之各種細胞膜結合型蛋白質受體。該詞適用於能與間白素-1(IL-1)分子結合之任一蛋白質，及其身為哺乳類動物原生質膜蛋白質之原有構形，可能在將IL-1所提供之一訊息轉導至一細胞之作用上扮演
- 10 一角色。如用於此，該詞包括具IL-1結合活性或訊息轉導活性之原有蛋白質的類似體。實例包括第4,968,607號美國專利中所述之人類與鼠類IL-1受體。“IL-1核酸”係指編碼一IL-1蛋白質之一核酸。

- “IL-1多肽”與“IL-1蛋白質”係意欲涵蓋包括由第1、2
- 15 與3圖所示的IL-1基因體DNA序列或其片段及其同源基因所編碼的胺基酸序列之多肽，及包括同效劑與拮抗劑多肽。

- “增加的風險”係指帶有一特定的多形性對偶基因之一個體具有統計上較高的頻率罹患該疾病或狀況，其係相較於不帶有該特定的多形性對偶基因之群眾中的一成員罹患
- 20 該疾病或狀況之頻率而言。

“降低的風險”係指帶有一特定的多形性對偶基因之一個體具有統計上較低的頻率罹患該疾病或狀況，其係相較於不帶有該特定的多形性對偶基因之群眾中的一成員或群眾整體罹患該疾病或狀況之頻率而言。

玖、發明說明

如用於此之“交互作用”一詞係包括分子之間(諸如天然之蛋白質-蛋白質、蛋白質-核酸、核酸-核酸及蛋白質-小型分子或核酸-小型分子)之可偵測到的關係或關聯性(如生化交互作用)。

- 5 如用於此之有關核酸(諸如DNA或RNA)的“分離”一詞，係指分別自存在於天然巨分子來源的其他DNA或RNA所分離之分子。例如，編碼標的IL-1多肽中之一者之一分離核酸，較佳包括天然地立即毗連基因體DNA中的IL-1基因之不超過10千鹼基(kb)的核酸序列(其)，更佳該天然存在的
- 10 的側臨序列不超過1.5 kb。如用於此之“分離”一詞，亦指實質上不含細胞物質、病毒物質或培養基(當以重組型DNA技術製造之情況)或不含化學先質或其他化學物質(當以化學方式合成之情況)之一核酸或肽。更進一步，一“分離核酸”係包括並非以片段形式天然存在及在天然狀態下
- 15 不會發現之核酸片段。用於此之“分離”一詞亦指自其他細胞蛋白質所分離之多肽，及意欲涵蓋純化型與重組型多肽。

一“撞入(knock-in)型”基因轉殖動物係指已在其基因體中引入一經改造的基因之一動物，而該經修飾的基因可為外源性或內源性基因。

- 20 一“基因剔除(knock-out)型”基因轉殖動物係指部份或完全抑制一內源性基因的表現作用之一動物，如基於篩除該基因之至少一部份、以一個第二序列置換該基因之至少一部份、引入停止密碼子、編碼關鍵胺基酸之鹼基突變或者移除一內含子接合處等。

玖、發明說明

一“基因剔除(knock-out)型構築體”係指一核酸序列，其可用於減少或抑制一細胞中之內源性DNA序列所編碼的一蛋白質之表現作用。一簡單的基因剔除型構築體實例，係由已刪除基因關鍵部份之一基因(諸如IL-1RN基因)所組成，藉此無法自其表現活性蛋白質。任擇地，可在天然基因上添加數個終止密碼子，以造成蛋白質的過早終止作用或造成一內含子接合處失去活性。在一典型的的基因剔除型構築體中，係以可選擇性標記(諸如neo基因)置換該基因之一部份，藉此該基因能以如下方式示之：IL-1RN5’/neo/IL-1RN3’，其中IL-1RN5’與IL-1RN3’係指基因體或cDNA序列(其等相對於該IL-1RN基因之一部份而言分別為上游與下游)，而neo係指新黴素抗藥性基因。在另一基因剔除型構築體中，在側臨位置中加入一個第二可選擇性標記，藉此該基因能以如下方式示之：IL-1RN/neo/IL-1RN/TK，其中TK係胸腺嘧啶激酶基因，其可加至前述構築體中之IL-1RN5’或IL-1RN3’序列，及其可進一步在一適宜基質中加以負向選擇(負型可選擇性標記)。該二標記構築體使得以辨別同源性重組作用(其移除該側臨TK標記)與非同源性重組作用(其典型地保有該TK序列)。該基因刪除及/或置換作用，可在外顯子、內含子(特別是內含子接合處)及/或其他調節區域(諸如啟動子)進行。

“連鎖不平衡”係指二個對偶基因共同遺傳的頻率高於自各對偶基因在一特定對照組族群中的個別存在頻率所預期者。彼此獨立遺傳的該二個對偶基因之預期存在頻率，

玖、發明說明

係第一個對偶基因的頻率乘以第二個對偶基因的頻率。以預期頻率共同存在的對偶基因，係稱作處於“連鎖不平衡”。通常尚未清楚造成“連鎖不平衡”之原因。其可能因為特定對偶基因組合之篩選，或因為新近摻入遺傳上異質的族群。此外，在標記與一疾病基因非常緊密連鎖之情況下，若疾病突變作用才發生不久，藉此尚無足夠的時間經由特定染色體區域的重組作用而達到平衡，則可預期一對偶基因(或一群連鎖的對偶基因)與該疾病基因之相伴存在。當述及包括一個以上的對偶基因之對偶基因模式時，若包含第一個對偶基因模式的所有對偶基因與第二個對偶基因模式中的至少一個對偶基因處於連鎖不平衡，則第一個對偶基因模式與第二個對偶基因模式係處於連鎖不平衡。連鎖不平衡之一實例係發生於位於 IL-1RN(+2018) 與 IL-1RN(VNTR) 多形性位址之對偶基因之間。位於 IL-1RN(+2018) 之二個對偶基因與 IL-1RN (VNTR) 之二個最常見的對偶基因(對偶基因1與對偶基因2)，係處於100%連鎖不平衡。

“標記”一詞係指基因體中已知依個體而異之一序列。例如，IL-1RN 基因具有由不同數目的縱列重複序列(VNTR)所組成之一標記。

“突變基因”或“突變作用”或“功能性突變作用”係指一基因之一對偶基因形式，其可改變具有該突變基因之一個體的表現型(相較於不具有該突變基因之一個體而言)。由一突變作用所造成之表現型改變，可藉由特定試劑加以更

玖、發明說明

正或彌補。若在一個體必須為同型接合子之情況下，該突變作用方能造成表現型改變，則該突變作用稱作隱性。若一套的突變基因即足以改變該個體的表現型，則該突變作用稱作顯性。若一個體具有一套的突變基因及其表現型係介於一同型接合個體與一異型接合個體的表現型(就該基因言)之間，則該突變作用稱作共顯性。

本發明之“非人類的動物”一詞，係包括哺乳類動物(諸如啮齒動物、非人類的靈長類動物、綿羊、狗、牛、山羊等)；兩棲類動物(諸如爪蟾屬之成員)；及基因轉殖型鳥綱動物(諸如雞、鳥等)。如用於此之“嵌合型動物”一詞，係指在其中可發現重組型基因之動物，或者該重組型基因在該動物的部份但非全部細胞中表現。“組織專一性嵌合型動物”一詞係指重組型IL-1基因中之一者係於一些組織(而非其他組織)中存在及/或表現或中斷。“非人類的哺乳動物”一詞，係指人類以外之哺乳綱的任一成員。

如用於此之“核酸”一詞係指聚核苷酸或寡核苷酸，諸如去氧核糖核酸(DNA)及核糖核酸(RNA)(在適宜的情況)。亦應瞭解該詞同等地包括自核苷酸類似體(如肽核酸)所製得之RNA或DNA類似體，及該詞亦適用於所述的實施例、單股(訊息或反訊息股)與雙股聚核苷酸。

如用於此之“健康食品”一詞，係包括美國食品藥物管理局(FDA)所定義之食品與膳食增補劑，其可能具有治療一疾病或病症(特別是與一發炎性疾病相關聯的一疾病或病症)之價值。因此，“健康食品”包括可用以獲致健康效

玖、發明說明

益之營養成份。該等成份可位於“食品”(亦即“機能食品”)或膳食增補劑中。膳食增補劑健康與教育法(“DSHEA”)於1994年10月成為法令。“膳食增補劑健康與教育法”認知數百萬的消費者相信膳食增補劑可能有益於健康。國會通過

5 該法令之立意，係在消費者取得膳食增補劑與FDA取締存在安全問題與具有不實與誤導標示的膳食增補劑之職權之間取得平衡。“膳食增補劑健康與教育法”建立對於膳食增補劑的安全與標示之新管制架構。FDA必須以實現“膳食增補劑健康與教育”之方式施行“膳食增補劑健康與教育法

10 ”。因此，如用於此之“健康食品”包括技藝中所知的膳食增補劑(如維生素、礦物質、藥草及其他增補劑)，其係供食用與意欲補充膳食之用，及包括一“膳食成份”。膳食成份可包括維生素、礦物質、藥草或其他植物性藥材、胺基酸及膳食物質(諸如酵素)。膳食成份亦可為代謝物、組成

15 物、萃取物、濃縮物或該等成份之組合物。健康食品增補劑的形式包括錠劑、膠囊、液體與條狀物。

“多形性”一詞係指共同存在一基因或其一部份(如對偶基因變異體)之一種以上的形式。以至少二種不同的形式(亦即二種不同的核苷酸序列)存在之一基因的一部份，

20 係稱作“一基因的多形性區域”。在一基因的多形性區域之一特定的基因序列，即為一對偶基因。一多形性區域可為一個單一的核苷酸，其本體係不同於不同的對偶基因。一多形性區域亦可為數個核苷酸長。

“疾病傾向”及“對於疾病之素因”或“感病性”或任一類

玖、發明說明

似的片語，係指在此發現特定的對偶基因與一個體罹患一特定疾病(如血管疾病)之發生率相關聯或可為其前兆。因此，相較於健康個體，該等對偶基因在患病個體中以過高的頻率出現。因而，該等對偶基因可在癥狀前或疾病前的個體中，用以預測疾病。

如用於此之“小型分子”一詞，係指分子量低於約5 kD及最佳低於約4 kD之一組成物。小型分子可為核酸、肽、肽模擬物、碳水化合物、脂質或其他有機或無機分子。

如用於此之“專一地雜交”或“專一地偵測”一詞，係指一核酸分子與一試樣核酸的至少約6個連續核苷酸雜交之能力。

用於本說明部份中之遺傳學辭彙“轉錄調節序列”係指DNA序列(諸如起始訊號、增強子、啟動子)，其引發或控制在運作上與其等連結之蛋白質編碼序列的轉錄作用。

如用於此之“轉殖基因”一詞，係指被引入一細胞中之一核酸序列(例如編碼IL-1多肽中之一者或其反訊息轉錄本)。對於將其引入之基因轉殖動物或細胞而言，轉殖基因可為部份或完全地異源性(亦即外來者)；或可與將其引入之基因轉殖動物或細胞的內源性基因同源；但其設計係將其待插入或插入該動物的基因體中，藉此改變其所插入的基因體(如其插入之位置係與天然基因不同，或其插入造成基因剔除作用)。一轉殖基因亦可以一附加體(episome)形式存在於一細胞中。一轉殖基因可包括一選擇核酸的最佳表現作用所需之一或多個轉錄調節序列及任一的其他核

玖、發明說明

酸(諸如內含子)。

“基因轉殖動物”係指任一動物，較佳為一種非人類動物、鳥類或兩棲類動物，其中該動物的一或多個細胞含有藉由人為操控方式(諸如藉由技藝中所熟知的基因轉殖技術)所引入之異源性核酸。藉由精確的基因操控作用(諸如藉由微注射或藉由一重組型病毒的感染)，可將該核酸直接引入該細胞中，或藉由引入至該細胞的先質中而間接引入。“基因操控作用”一詞並不包括典型的雜交育種或試管中受精作用，而直接有關一重組型DNA分子之引入作用。

該分子可成為一染色體之一部份，或以染色體外之方式複製DNA。在此述的典型基因轉殖動物中，轉殖基因促使細胞表現一IL-1多肽的一重組型形式(如同效劑或拮抗劑形式)。然而，亦涵蓋其中的重組型基因潛伏無作用之基因轉殖動物，例如後述的FLP或CRE重組酶依賴型構築體。更進一步，“基因轉殖動物”亦可包括該等重組型動物，其中藉由人為操控(包括重組作用與反訊息技術)而造成一或多個基因之斷裂。該詞係欲包括所有的後代。因此，包括首代動物及其所有的F1、F2、F3等等的後代。

如用於此之“治療”一詞，係欲涵蓋一狀況或疾病之治療以及減輕其至少一種癥狀。

“載體”一詞係指核酸分子，其能夠運送另一核酸至其所連結之處。一種較佳的載體類型為附加體，亦即能夠進行染色體外複製作用之一核酸。較佳的載體係該等能夠自動進行其所連結的核酸之複製及/或表現作用者。能夠引

玖、發明說明

導其等以運作方式連結之基因的表現作用之載體，在此稱作“表現載體”。一般而言，適用於重組型DNA技術中之表現載體，通常為“質體”之形式；質體一般係指環形雙股DNA環，載體形式的質體通常不與染色體結合。在本說明
5 部份中，“質體”與“載體”係以可互換方式使用，而質體係最常用的載體形式。然而，本發明意欲包括具有相同功能及日後將為技藝所知之其他的表現載體形式。

“野生型對偶基因”係指一基因之一對偶基因，當一個體中存在二套時，將產生一野生型表現型。一特定的基因
10 可具有數個不同的野生型對偶基因，因為一基因中之特定的核苷酸變化，可能不影響具有二套基因(具該核苷酸變化)之一個體的表現型。

對偶基因之偵測

可使用許多方法以偵測位於人類多形性基因座之特定
15 對偶基因。用於偵測一特定對偶基因之較佳方法，部份將依多形性的分子性質而定。例如，多形性基因座之不同的對偶基因形式，其差異可能僅在於DNA的單一鹼基對。該單核苷酸多形性(SNP)係造成基因變異之主要貢獻者，其構成所有已知多形性的80%，及其等在人類基因體中的本
20 體平均為每1,000個鹼基對中1個。單核苷酸多形性最常為僅以二種不同形式存在之雙對偶基因型(雖然就對應DNA中所存在之4種不同的核苷酸鹼基而言，單核苷酸多形性理論上可能具有最多4種不同形式)。然而，就突變而言，單核苷酸多形性比其他多形性安定，使其等適用於關聯性

玖、發明說明

研究(其中使用標記與一未知變異體之間的連鎖不平衡，以確定引發疾病的突變作用之位置)。此外，單核苷酸多形性典型地僅具有2個對偶基因，其等可藉由簡單的+/-分析(而非一長度測量)而訂定其基因型，使其等更適於自動化操作。

可使用許多方法以偵測一個體中一特定的單核苷酸多形性(SNP)對偶基因之存在。在該領域中之進展，已提供正確、簡單及不昂貴的大規模SNP基因型分析。例如，最近發表數種新技術，包括動態對偶基因專一性雜交法(DASH)、微血陣列對角式膠體電泳(MADGE)、基因變異分析法、寡核苷酸專一性連接法、TaqMan系統以及各種DNA“晶片”技術(諸如Affymetrix SNP晶片)。該等方法需要將標的基因區域擴增，典型地藉由聚合酶鏈反應(PCR)進行之。其他新近研發出之方法，係基於藉由侵入性切割作用而產生小型訊息分子，接著藉由質譜分析或固定式閉鎖探針及滾環式擴增作用為基礎，而可能終究免除對於聚合酶鏈反應(PCR)之需求。如下概述技藝中所知用於偵測特定單核苷酸多形性之數種方法。應瞭解本發明的方法係涵蓋所有的不同方法。

曾研發出有助於單核苷酸多形性分析之數種方法。在一實施例中，可藉由使用一特別的抗核酸外切酶型核苷酸，而偵測單一鹼基多形性，如Mundy, C. R.所揭露者(第4,656,127號美國專利)。依據該方法，讓與3'緊接多形性位址的對偶基因序列互補之一引子，與自一特定動物或人

玖、發明說明

類所得之一標的分子雜交。若該標的分子上的多形性位址所含之一核苷酸係與所存在之特定的抗核酸外切酶型核苷酸衍生物互補，則該衍生物被接在雜交引子的末端，該接入作用賦予引子對於核酸外切酶之抗性，及藉此得以被偵測出來。因為已知該試樣的抗核酸外切酶型衍生物之本體，若發現引子變成抗核酸外切酶型，則揭露存在於標的分子的多形性位址之核苷酸係與反應中所用的核苷酸衍生物互補。該方法的優點在於不需測定無關的大量序列數據。

在本發明的另一實施例中，使用一種以溶液為主的方
10 法，以判定一多形性位址的核苷酸本體。Chhen, D.等人之第2,650,840號法國專利及第WO91/02087號PCT申請案。如同第4,656,127號美國專利中之Mundy方法，使用與3'緊接一多形性位址的對偶基因序列互補之一引子。該方法使用經標示的二去氧核苷酸衍生物以判定該位址的核苷酸本體
15 ；若該衍生物與多形性位址的核苷酸互補，則被接在該引子的末端。

Goelet, P.等人(第92/15712號PCT申請案)述及稱作基因位元碼分析或GBA.TM之另一種方法。Goelet, P.等人之方法使用一經標示的終結子(terminator)與一引子(與3'連接一多形性位址的序列互補)之一混合物。經標示的終結子
20 被接入，及依此方式藉由存在於所評估之標的分子多形性位址中的核苷酸，而加以測定及與其互補。不同於Chhen, D.等人之方法(第2,650,840號法國專利及第WO91/02087號PCT申請案)，Goelet, P.等人之方法較佳係一種異質相分析

玖、發明說明

，其中該引子或該標的分子係固定於一固定相。

最近，曾述及用於分析DNA中的多形性位址之數種引子引導型核苷酸接入程序(Komher, J. S.等人於Nucl. Acids Res.第17期第7779-7784頁(1989年)乙文；Sokolov, B. P.等人於Nucl. Acids Res.第18期第3671頁(1990年)乙文；Syvanen, A.-C.等人於Genomics第8期第684-692頁(1990年)乙文；Kuppuswamy, M. N.等人於Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)第88期第1143-1147頁(1991年)乙文；Prezant, T. R.等人於Hum. Mutat.第1期第159-164頁(1992年)乙文；Ugozzoli, L.等人於GATA第9期第107-112頁(1992年)乙文；Nyren, P.等人於Anal. Biochem.第208期第171-175頁(1993年)乙文)。該等方法與GBA.TM不同之處，在於其等皆仰賴接入經標示的去氧核苷酸之作用，以辨識位於一多形性位址之鹼基。在該一形式中，因為訊息係與所接入的去氧核苷酸數目成比例，存在於相同核苷酸的試樣片段中之多形性，可產生與試樣片段長度成比例之訊息(Syvanen, A.-C.等人於Amer. J. Hum. Genet.第52期第46-59頁(1993年)乙文)。

就造成蛋白質轉譯的過早終結作用之突變作用而言，蛋白質截斷試驗(PTT)提供一種有效的診斷方法(Roest等人(1993年)於Hum. Mol. Genet.第2期第1719-21頁乙文；van der Luijt等人(1994年)於Genomics第20期第1-4頁乙文)。就蛋白質截斷試驗而言，首先自可取得的組織中分離RNA及加以逆轉錄，及藉由聚合酶鏈反應(PCR)將所探討的片段

玖、發明說明

擴增。然後使用逆轉錄PCR產物作為套式PCR擴增作用之一模板，其係以含有一RNA聚合酶啟動子之一引子及用於起始真核細胞轉譯作用之一序列進行之。在所探討區域的擴增作用之後，在引子中所接入的獨特要素(motif)使得以

5 在試管中後續進行PCR產物的轉錄與轉譯作用。在轉譯產物進行十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺膠體電泳之際，截斷型多肽的出現，係顯示存在一種造成轉譯作用過早終結的突變作用。在該技術之一變化形式中，當所探討的標的區域係衍生自一個單一的外顯子時，使用一DNA(而非RNA)

10 作為RCR模板。

可使用任一細胞類型或組織，以獲得用於上述診斷法中之核酸試樣。在一個較佳實施例中，自體液如血液(藉由已知技術(如靜脈穿刺術)獲得)或唾液中獲得DNA試樣。任擇地，核酸試驗可在乾燥試樣(如頭髮或皮膚)上進行。

15 當使用RNA或蛋白質時，所使用的細胞或組織必須表現一IL-1基因。

診斷程序亦可在藉由活體組織檢查或切除術所取得之病患組織的組織切片(固定及/或冷凍者)上，直接原地進行，藉此毋需進行核酸純化作用。在該等原地進行的程序中

20 可使用核酸試劑作為探針及/或引子(如見Nuovo, G. J. (1992年)之”原地進行的PCR雜交反應：方法與應用”乙書(美國紐約Raven Press公司出版))。

除了主要著重於偵測一核酸序列之方法之外，亦可在該偵測流程中進行特性分析。例如藉由使用一差示性展示

玖、發明說明

程序、北方(Northern)分析及/或RT-PCR，可得指紋特性資料。

一種較佳的偵測方法係對偶基因專一性雜交反應，其所用的探針係重疊一IL-1趨發炎性單倍體型的至少一個對偶基因之區域及在突變或多形性區域附近具有約5、10、20、25或30核苷酸。在本發明的一個較佳實施例中，以專一方式雜交的數種探針，將能與涉及血管再狹窄化的其他對偶基因變異體連接於一固相載體如一”晶片”(其可承載至多約250,000個寡核苷酸)上。可藉由多種方法(包括蝕刻方法)，將寡核苷酸與一固相載體結合。使用包含寡核苷酸的該等晶片(亦稱作“DNA探針陣列”)之突變作用偵測分析，如述於Cronin等人(1996年)於Human Mutation第7期第244頁乙文。在一實施例中，一晶片包含一基因之至少一多形性區域的所有對偶基因變異體。該固相載體然後與一試驗核酸接觸，及偵測與該專一性探針之雜交反應。因此，可在一個簡單的雜交實驗中，辨識一或多個基因之眾多對偶基因變異體的本體。

該等技術亦可包括在分析之前擴增該核酸之步驟。擴增技術係嫺熟技藝者所知者，及包括(但不限於)選殖作用、聚合酶鏈反應(PCR)、特定對偶基因的聚合酶鏈反應(ASA)、連接酶鏈反應(LCR)、套式聚合酶鏈反應、自持續式序列複製作用(Guatelli, J. C.等人(1990年)於Proc. Natl. Acad. Sci. USA第87期第1874-1878頁乙文)、轉錄擴增系統(Kwoh, D. Y.等人(1989年)於Proc. Natl. Acad. Sci. USA第

玖、發明說明

86期第1173-1177頁乙文)及Q- β 複製酶(Lizardi, P. M.等人(1988年)於Bio/Technology第6期第1197頁乙文)。

可藉由數種方法分析擴增作用產物，包括尺寸分析、限制性分解作用及接著進行尺寸分析、偵測反應產物中之
 5 特定的加標記型寡核苷酸引子、具對偶基因專一性之寡核苷酸(ASO)雜交反應、具對偶基因專一性之5'核酸外切酶偵測作用、定序作用、雜交反應等。

以PCR為基礎的偵測方式可包括多個標記同時進行的複式擴增作用。例如，技藝中熟知藉由選擇PCR引子，而
 10 產生長度不重疊及可同時分析之PCR產物。任擇地，可能以經差示性標示的引子而擴增不同的標記，及各者能以差示方式偵測之。當然，藉由以雜交反應為基礎的偵測方式，得以對試樣中的多重PCR產物進行差示性偵測作用。可進行多個標記的複式分析之其他技術，係為技藝中所知者。

15 在一個僅作為說明之用的實施例中，該方法包括下列步驟：(i)自一病患採集一細胞試樣；(ii)自細胞試樣分離核酸(如基因體、mRNA或二者)；(iii)將核酸試樣與一或多種引子接觸，該引子在條件下將5'和3'與一IL-1趨發炎性單倍體型的至少一個對偶基因專一地雜交，藉此發生該對
 20 偶基因的雜交反應與擴增作用；及(iv)偵測該擴增作用產物。該等偵測流程特別適用於偵測以非常低的數目存在之核酸分子。

在該標的分析之一個較佳實施例中，藉由改變限制酵素切割模式，而辨識一IL-1趨發炎性單倍體型的對偶基因

玖、發明說明

。例如，將試樣與對照組DNA分離，加以擴增(選擇性地)，以一或多個限制性核酸內切酶分解，及藉由膠體電泳測定片段的長度尺寸。

在另一實施例中，可使用技藝中所知之多種定序反應中之任一者，以直接進行對偶基因的定序工作。定序反應的實例包括該等以Maxim與Gilbert(Proc. Natl. Acad. Sci. USA第74期第560頁(1977年)乙文)或Sanger(Sanger等人(1977年)於Proc. Natl. Acad. Sci. USA第74期第5463頁乙文)發展出的技術為基礎者。當進行該標的分析時，亦預期可採用多種自動化定序方法(如見Biotechniques (1995年)第19期第448頁乙文)中之任一者，包括藉由質譜分析之定序方法(如見第WO 94/16101號PCT公開案；Cohen等人(1996年)於Adv Chromatogr第36期第127-162頁乙文；及Griffin等人(1993年)於Appl Biochem Biotech第38期第147-159頁乙文)。如嫻熟技藝者清楚所知地，在一些實施例中，在定序反應中僅須測定核酸鹼基中之一、二或三者。例如，可進行僅偵測一核酸之A-軌等。

在另一實施例中，可採用免受切割劑的作用(諸如一核酸酶、羥基胺或四氧化鐵及嘔啉)之保護作用，以偵測RNA/RNA或RNA/DNA或DNA/DNA異源雙螺旋鏈中之誤配鹼基(Myers等人(1985年)於Science第230期第1242頁乙文)。一般而言，“誤配切割”之技術，係始於藉由將含有野生型對偶基因之(經標示的)RNA或DNA與該試樣雜交，而提供異源雙鏈。以切割該雙螺旋鏈中的單股區域(諸如因對

玖、發明說明

照組與試樣股之間的鹼基對誤配而存在者)之一試劑，處理該雙股雙螺旋鏈。例如，能以Rnase處理RNA/DNA雙螺旋鏈及以S1核酸酶處理DNA/DNA雜化體，而以酵素方式分解該誤配區域。在另一實施例中，能以羥基胺或四氧化鐵及以嘔啉處理DNA/DNA或RNA/DNA雙螺旋鏈，以分解該誤配區域。在分解該誤配區域之後，在變性聚丙烯醯胺凝膠上依尺寸分離所得物質，以判定突變位址。Cohen等人(1988年)於Proc. Natl. Acad. Sci. USA第85期第4397頁乙文；及Saleeba等人(1992年)於Methods Enzy,ol.第217期第286-295頁乙文。在一個較佳實施例中，可將對照組DNA或RNA標示以供偵測之用。

在另一實施例中，誤配切割反應係使用辨識雙股DNA中的誤配鹼基對之一或多種蛋白質(所謂“DNA誤配修補酵素”)。例如，埃希氏大腸桿菌(*E. Coli*)的mutY酵素切割位於G/A誤配之A，而來自希拉(HeLa)細胞之胸腺嘧啶DNA糖基化酶切割位於G/T誤配之T(Hsu等人(1994年)於carcinogenesis第15期第1657-1662頁乙文)。依據所例舉之一實施例，以一IL-1基因座單倍體型之一個對偶基因為基礎之一探針，與來自一試驗細胞的cDNA或其他DNA產物雜交。以一DNA誤配修補酵素處理該雙螺旋鏈，及可藉由電泳方法等偵測切割產物(若存在之情況)。如見第5,459,039號美國專利。

在另一實施例中，使用電泳移動性之改變，以辨識一IL-1基因座對偶基因。例如，可使用單股形態多形性

玖、發明說明

(SSCP)以偵測突變體與野生型核酸之間之電泳移動性差異 (Orita等人(1989年)於Proc. Natl. Acad. Sci. USA第86期第2766頁乙文；亦見Cotton等人(1993年)於Mutat Res第285期第125-144頁乙文；及Hayashi等人(1992年)於Genet Anal Tech Appl第9期第73-79頁乙文)。將試樣與對照組IL-1基因座對偶基因之單股DNA片段變性，及讓其恢復原狀。單股核酸的二級結構依序列而異，所產生的電泳移動性變化使得以偵測甚至單一鹼基之改變。可標示DNA片段，或以經標示的探針偵測之。可藉由使用RNA(而非DNA)而增進該分析的靈敏度，其中二級結構對於序列之改變更加敏感。在一個較佳實施例中，標的方法採用異源雙螺旋鏈分析，以電泳移動性變化為基礎而分離雙股異源雙螺旋鏈分子 (Keen等人(1991年)於Trends Genet第7期第5頁乙文)。

在另一實施例中，使用變性梯度膠體電泳(DGGE)分析對偶基因在含有一變性劑梯度的聚丙烯醯胺凝膠中之移動 (Myers等人(1985年)於Nature第313期第495頁乙文)。當使用DGGE作為分析方法時，將修飾DNA(例如藉由聚合酶鏈反應(PCR)添加約40鹼基對之高熔點高GC的DNA之一GC夾體)，以確保其不會完全變性。在另一實施例中，可使用一溫度梯度以取代該變性劑梯度，以辨識對照組與試樣DNA之移動性差異 (Rosenbaum與Reissner等人(1987年)於Biophys Chem第265期第12753頁乙文)。

其他用於偵測對偶基因的技術實例，包括(但不限於)選擇性寡核苷酸雜交反應、選擇性擴增作用或選擇性引子

玖、發明說明

延伸作用。例如，可製備寡核苷酸引子，其中已知的突變或核苷酸差異(如對偶基因變異體中之情況)係置於中央，然後在發現完美配對方能進行雜交反應之條件下，與標的DNA雜交(Saiki等人(1986年)於Nature第324期第163頁乙文；Saiki等人(1989年)於Proc. Natl. Acad. Sci. USA第86期第6230頁乙文)。當寡核苷酸與經PCR擴增的標的DNA雜交或與數個不同的突變或多形區域雜交(當寡核苷酸連接至雜交膜及與經標示的標的DNA雜交之際)時，可使用該種具對偶基因專一性的寡核苷酸雜交技術，以試驗各反應之一突變或多形區域。

任擇地，仰賴選擇性PCR擴增作用之具對偶基因專一性的擴增技術，可與本發明併用。在專一性擴增作用中作為引子之寡核苷酸，可攜帶位於分子中心(Gibbs等人(1989年)於Nucleic acids Res.第17期第2437-2448頁乙文)或一引子的3'末端之所探討的突變或多形區域(藉此擴增作用仰賴差示性雜交反應)，其中在適宜條件下，誤配可阻止或降低聚合酶延伸作用(Prossner等人(1993年)於Tibtech第11期第238頁乙文)。此外，在突變區域中引入一個新的限制位址可能為所欲者，以產生以切割作用為基礎的偵測作用(Gasparini等人(1992年)於Mol. Cell Probes第6期第1頁乙文)。預期在一些實施例中，亦可使用用於擴增作用之Taq連接酶，以進行擴增作用(Barany等人(1991年)於Proc. Natl. Acad. Sci. USA第88期第189頁乙文)。在該等情況下，僅在5'序列的3'末端存在完美配對之情況下才發生連接作用

玖、發明說明

，使其可能藉由尋找擴增作用之存在與否，而偵測位於一特定位址的一已知突變之存在。

在另一實施例中，使用一種寡核苷酸連接分析(OLA)(如述於第4,998,617號美國專利及Landergren等人(1988年)於Science第241期第1077-1080頁乙文)，而進行對偶基因變異體之辨識作用。該寡核苷酸連接分析方法使用二種寡核苷酸，其等經分解而能與一標的之一單股的毗連序列雜交。其中之一寡核苷酸係與一分離標記(如生物素基化)連接，而另一寡核苷酸係以可偵測方式加比標示。若在一標的分子中發現正確的互補序列，該等寡核苷酸將雜交及其等的終端毗連，及產生一連接作用受質。該連接作用然後容許藉由抗生物素蛋白或另一種生物素配位子，而回收經標示的寡核苷酸。Nickerson, D. A.等人曾述及結合PCR與OLA特性之一種核酸偵測方法(Nickerson, D. A.等人(1990年)於Proc. Natl. Acad. Sci. USA第87期第8923-27頁乙文)。在該方法中，使用PCR以達到標的DNA之指數級擴增，然後以OLA偵測之。

已發展出以該OLA方法為基礎之數種技術，及可用以偵測一IL-1基因座單倍體型之對偶基因。例如，第5,593,826號美國專利揭露一種OLA方法，其係使用一個具有3'-胺基的寡核苷酸與一個5'-磷酸化寡核苷酸，以形成具有一胺基磷酸酯鍵結之綴合物。Tobe等人(於Nucleic Acids Res.第24期第3728頁(1996年)乙文)述及OLA方法之另一變型，OLA與PCR之結合使得以在單一的微滴定槽中

玖、發明說明

進行二個對偶基因之類型分析。藉由使對偶基因專一性引子中之各者具有一獨特的輔抗原(亦即洋地黃毒苷與氫化螢光素)，可藉由使用具輔抗原專一性的抗體(其經不同的酵素報導子、鹼性磷酸酶或辣根過氧化酶標示)，而偵測
5 各OLA反應。該系統容許藉由一種高產出形式(其產生二種不同顏色)，而偵測該二對偶基因。

本發明的另一實施例係有關用於偵測發生血管再狹窄化的素因之一套組。該套組可包含一或多個寡核苷酸(包括與一IL-1基因座單倍體型的至少一個對偶基因5'與3'雜
10 交之5'與3'寡核苷酸)。PCR擴增的寡核苷酸應在相距25至2500鹼基對之間(較佳在相距約100至500鹼基對之間)雜交，以產生具有方便後續分析用的尺寸之一PCR產物。

特佳的引子包括第8至11圖所述的核苷酸序列。藉由取得人類染色體2q13(其含有人類IL-1基因座)的最新序列
15 資訊及自該基因座所取得的最新人類多形性資訊，可促進在藉由本發明方法而進行之IL-1多形性對偶基因的擴增與偵測作用中所用之附加的寡核苷酸之設計。例如，IL-1A、IL-1B及IL-1RN的DNA序列分別示於第1圖(基因銀行(GenBank)登錄序號X03833)、第2圖(基因銀行登錄序號
20 X04500)及第3圖(基因銀行登錄序號X64532)。適用於偵測該等基因中的一人類多形性之引子，即可使用該序列資訊及技藝中所知用於設計與最佳化引子序列的標準技術而設計之。例如，可藉由使用能以商品取得的引子篩選軟體諸如引子2.1、引子3或GeneFisher，達成引子序列的最佳化

玖、發明說明

設計。(亦見Nicklin M. H. J.、Weith A.、Duff G. W.於Genomics第19期第382頁(1995年)之“涵蓋人類間白素-1 α 、間白素-1 β 及間白素-1受體拮抗劑基因之區域的實際圖譜”乙文；Nothwang H. G.等人於Genomics第41期第370頁
 5 (1997年)之“間白素-1基因簇之分子選殖作用：建構一整合型YAC/PAC染色體圖譜及染色體2q13區域之部份轉錄圖譜”乙文；Clark等人(1986年)於Nucleic Acids Res.第14期第7897-7914頁乙文[印刷勘誤表出現於Nucleic Acids Res.第15期第868頁(1987年)乙文及基因體資料庫(GDB)計畫(URL
 10 <http://www.gdb.org>))]。

就一套組之使用而言，寡核苷酸可為多種天然及/或合成組成物(諸如合成性寡核苷酸、限制性片段、cDNA、合成性肽核酸(PNA)等)中之任一者。該分析套組與方法亦使用經標示的寡核苷酸，使得以在分析中輕易地辨識。適
 15 用的標示實例包括、放射性標示、酵素、螢光化合物、抗生蛋白鏈菌素、抗生物素蛋白、生物素、磁性部份、金屬結合部份、抗原或抗體部份等。

選擇性地，該套組亦可包括DNA採樣構件。DNA採樣構件係嫺熟技藝者所熟知的，及可包括(但不限於)基質(諸
 20 如濾紙、AmpliCard™ (英國雪菲爾德(Sheffield)的雪菲爾德大學；Tarlow, J. W.等人於J of Invest. Dermatol.第103期第387-389頁(1994年)乙文)等)；DNA純化試劑(諸如Nucleon™套組、溶胞緩衝液、蛋白酶溶液等)；PCR試劑(諸如10x反應緩衝液、熱安定性聚合酶、dNTP等)；及對偶

玖、發明說明

基因偵測構件(諸如HinfI限制酵素、具對偶基因專一性的寡核苷酸、用於乾燥血液之套式PCR的退變型寡核苷酸引子)。

藥物基因體學

5 對於與罹患一特定疾病或狀況相關聯的特定對偶基因之知識本身，或連同造成該特定疾病或狀況的其他基因缺陷之資訊，使得以依據該個體的基因特性資料而量身訂做預防或治療方法—此即為“藥物基因體學”之目標。因此，就一血管疾病比較該個體的IL-1特性資料與族群的特性資
10 料，而得以選擇或設計對該特定病患或病患族群(亦即具有相同基因改變之一群病患)而言安全與有效的藥物或其他治療方法。

此外，基於基因特性資料而鎖定預期具有最大臨床效益的族群之能力，可促成：1)已上市藥物的重新定位；2)
15 拯救因安全性或效力有限之故而停止臨床研發之對病患次族群具有專一性之候選藥物；及3)以更快及更便宜的方式開發候選療法及最佳的藥物標示(如因為測量一藥劑的各種劑量對於造成突變之效應，故有利於最佳化有效劑量)。

可藉由測定蛋白質(如IL-1 α 、IL-1 β 或IL-1Ra)、
20 mRNA及/或轉錄作用水平，而監測以一特定療法治療一個體之情形。依所偵測到的水平，然後可維持或調整(增加或減少劑量)治療方法。在一個較佳實施例中，以一藥劑治療一個體之有效性評估，包括下列步驟：(i)在投予該藥劑之前，自一個體取得一投藥前試樣；(ii)偵測該投藥前

玖、發明說明

試樣中之蛋白質、mRNA或基因體DNA的水平或量；(iii)自該個體取得一或多個投藥後試樣；(iv)偵測該投藥後試樣中之蛋白質、mRNA或基因體DNA的表現作用水平或活性；(v)分別比較該投藥前試樣中之蛋白質、mRNA或基因體DNA與該投藥後試樣中之對應的蛋白質、mRNA或基因體DNA之表現作用水平或活性；及(vi)依此改變對該個體投予該藥劑之投藥作用。

亦可在施行一療法之前與之後取得一個體之細胞，以偵測IL-1基因以外之基因的表現作用水平，以確認該療法不會增加或降低基因的表現作用水平(其可為有害的)。例如，其可藉由使用轉錄作用特性分析方法而完成之。因此，可將來自在活體內暴露於一療法的細胞之mRNA及來自未暴露於該療法的相同類型細胞之mRNA逆轉錄，及與含有來自多種基因的DNA之一晶片雜交，藉此比較經該療法處理與未經該療法處理之細胞中的基因表現作用。

與IL-1多形性相關聯的疾病或狀況之療法

與一IL-1多形性或單倍體型相關聯的疾病或狀況之療法，係指可預防或延遲一個體罹患該特定疾病或狀況或減輕其癥狀之任一藥劑或治療方法(包括藥學、健康食品及手術方式)。該治療劑可為多肽、肽模擬物、核酸或其他無機或有機分子，較佳為一“小型分子”(包括維生素、礦物質與其他營養素)。該治療劑較佳可藉由模擬或強化(同效作用)或抑制(拮抗作用)一天然存在的多肽效應，而調控一IL-1多肽之至少一種活性(如與一受體之交互作用)。一

玖、發明說明

同效劑可為具有該野生型的至少一種生物活性(如與受體結合之活性)之一野生型蛋白質或其衍生物。一同效劑亦可為一化合物，其向上調控一基因的表現作用或其增加一蛋白質的至少一種生物活性。一同效劑亦可為一化合物，其增加一多肽與另一分子(如一受體)之交互作用。一拮抗劑可為一化合物，其抑制或降低一蛋白質與另一分子(如一受體或阻斷訊息轉導作用或後轉譯處理之一劑(如IL-1轉化酵素(ICE)抑制劑))之間之交互作用。因此，較佳的拮抗劑係一化合物，其抑制或降低與一受體的結合作用，藉此阻斷後續的受體活化作用。拮抗劑亦可為一化合物，其向下調控一基因的表現作用或其減少一蛋白質的存在量。拮抗劑可為一多肽的一顯陰性形式，如可與一標的肽(如一受體)交互作用之一多肽的一形式，但其不促進受體活化作用。拮抗劑亦可為編碼一多肽的一顯陰性形式之一核酸、一反訊息核酸或可與一RNA以專一方式交互作用之一核酶。另一種拮抗劑係與一多肽結合及抑制其作用之分子。該等分子包括肽(如不具有生物活性的標的肽形式)，及其抑制與受體的結合作用。因此，該等肽將與一蛋白質的活化位址結合，及阻止該蛋白質與標的肽交互作用。另一種拮抗劑包括抗體，其係以專一方式與一分子的抗原決定位交互作用，藉此該結合作用干擾該多肽的生物功能。在另一個較佳實施例中，拮抗劑係一小型分子，諸如能抑制一多肽與一標的受體之間的交互作用之一分子。任擇地，該小型分子可藉由與受體結合位址以外的位址之交互作用，

玖、發明說明

而作用為一拮抗劑。

IL-1(IL-1 α 、IL-1 β 或 IL-1 受體拮抗劑)或由與一 IL-1 基因連鎖不平衡的一基因所編碼之一蛋白質之調控劑，可包括任一類型的化合物，包括一蛋白質、肽、肽模擬物、
 5 小型分子或核酸。較佳的同效劑包括核酸(如編碼一 IL-1 蛋白質或由一 IL-1 蛋白質向上或向下調控之一基因)、蛋白質(如 IL-1 蛋白質或藉此向上或向下調控之一蛋白質)或一小型分子(如調節一 IL-1 蛋白質的表現作用或與其結合者)。較佳的拮抗劑(例如可藉由此述分析方法加以辨識者)，包
 10 括核酸(如單股(反訊息)或雙股(三鏈螺旋)DNA 或 PNA 及核酶)、蛋白質(如抗體)及小型分子(其作用可壓抑或抑制 IL-1 轉錄作用及/或蛋白質活性)。

有效劑量與配方及用途

藉由細胞培養或實驗動物中之標準製藥程序(如測定
 15 LD₅₀(造成 50% 族群死亡之劑量)及 ED₅₀(在 50% 族群具治療有效性之劑量))，可測定該等化合物之毒性與治療效力。毒性與治療效應之間的劑量比值係為治療指數，及其能以 LD₅₀/ED₅₀ 之比值示之。具有較高的治療指數之化合物係為較佳者。雖然可使用具有毒性副作用之化合物，然而應
 20 仔細地設計一輸送系統，使得該化合物鎖定受損傷組織位址，而減少對於未受損傷細胞之潛在損傷，及藉此降低副作用。

自細胞培養分析或實驗動物中所獲得的數據，可用於配製用於人類中的劑量範圍。化合物的劑量較佳位於循環

玖、發明說明

濃度之一範圍內(包括具有極微或無毒性之ED₅₀)。在該範圍內之劑量，可依所用的劑型與所採用的投藥路徑而異。就本發明方法中所用的任一化合物而言，最初自細胞培養分析中估算治療有效劑量。可在動物模式中配製一劑量，

5 以達到如細胞培養中所測得之一循環血漿濃度範圍(包括IC₅₀(達到最大癥狀抑制作用的一半之試驗化合物濃度))。可使用該等資訊，以更精確地測定人類的適用劑量。例如，可藉由高性能液相層析法而測定血漿中的水平。

可使用一或多種生理上可接受的載劑或賦形劑，以一

10 習知方式配製如本發明所用的組成物。因此，可配製該化合物及其等生理上可接受的鹽類與溶劑化物，以供藉由注射、吸入或吹入(經由口或鼻)、口、頰、非經腸或直腸投藥之投藥作用。

就該療法而言，可配製本發明的化合物以供多種投藥

15 之用，包括系統性與表面或局部投藥作用。技術與配方通常可見雷明頓製藥學(Remington's Pharmaceutical Sciences)乙書(美國賓州伊斯頓(Easton)之Meade出版公司出版)。就系統性投藥作用而言，以注射作用為較佳者，包括肌內、靜脈內、腹膜內及皮下注射。就注射作用而言

20 可將本發明的化合物配製成液體溶液(較佳位於生理上可相容的緩衝液諸如漢克氏(Hank)溶液或林格氏(Ringer)溶液中)。此外，可將該化合物配製成固態形式，及於使用前將其重新溶解或懸浮。亦可包括冷凍乾燥形式。

就口服投藥作用而言，該組成物可為藉由習知方式與

玖、發明說明

藥學上可接受的賦形劑所製備之錠劑或膠囊形式，該賦形劑諸如黏合劑(如預膠凝玉米澱粉、聚乙烷基吡咯烷酮或羥基丙基甲基纖維素)；填料(如乳糖、微晶纖維素或磷酸氫鈣)；潤滑劑(如硬脂酸鎂、滑石或氧化矽)；崩解劑(如馬鈴薯澱粉或澱粉羥乙酸鈉)；或潤濕劑(如月桂基硫酸鈉)。

5 可藉由技藝中所熟知的方法塗覆該錠劑。用於口服投藥的液體製劑可具有例如溶液、糖漿或懸浮液之形式；或其等能以一乾燥產品形式呈現，而在使用前再與水或適宜的載劑重組之。該液體製劑可藉由習知方式以藥學上可接受的

10 的添加劑製備之，添加劑諸如懸浮劑(如山梨糖醇糖漿、甲基纖維素或氫化食用性脂肪)；乳化劑(如卵磷脂或阿拉伯膠)；非水載劑(如 ationd 油、油質酯類、乙基醇或分餾植物油)；及防腐劑(如甲基或丙基對-羥基苯甲酸酯或山梨酸)。在適宜的情況下，該製劑亦可含有緩衝鹽類、調味

15 劑、著色劑及增甜劑。

可適宜地配製用於口服投藥之製劑，以提供活性化合物之受控型釋出作用。就頰內投藥作用而言，該組成物可為藉由習知方式所配製之錠劑或糖錠形式。就吸入投藥作用而言，如本發明所用的化合物係自加壓組件或一噴霧器

20 (其使用一適宜的推進劑(如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他適宜氣體)方便地輸送之一氣霧噴霧劑形式。在一加壓氣霧劑之情況下，可藉由提供一閥以輸送經計量之一量，而測定劑量單位。可配製用於一吸氣器或吹入器中之膠囊與藥夾(如自明膠所製備者)

玖、發明說明

，以包含該化合物與一適宜的粉末基質(諸如乳糖或澱粉)之一粉末混合物。

可將該化合物配製成用於藉由注射(如藉由快速濃注或連續灌注作用)之非經腸投藥作用。注射用配方物能以
5 添加防腐劑之單位劑型呈現，如位於安瓿瓶或多劑量容器中。該組成物可具有諸如位於油質載劑或含水載劑中的懸浮液、溶液或乳化液之形式，及可含有配製劑諸如懸浮劑、安定劑及/或分散劑。任擇地，該活性成份可為粉末形式，以在使用前以一適宜的載劑(如不含致熱物質的無菌
10 水)重組之。

該化合物亦可配製成用於直腸投藥作用，諸如栓劑或保留灌腸劑(如含有習知的栓劑基質諸如可可豆脂或其他甘油酯類)。

除了前述配方之外，亦可將該化合物配製成一儲存型
15 製劑。該等長效配方可藉由植入(例如皮下或肌內植入)或肌內注射方式投藥。因而，該化合物例如可與適宜的聚合性或疏水性物質(例如位於一可接受的油中之一乳化液形式)或離子交換樹脂配製之，或配製為微溶性衍生物(例如微溶性鹽類)的形式配製之。其他適宜的輸送系統包括微
20 球體(其促使以局部非侵入方式長期地輸送藥物成為可能)。
該技術使用前微血管尺寸的微球體，其可經由冠狀導管注入至如心臟與其他器官的任一選擇部位，而不造成發炎或局部缺血。所投予的治療劑緩慢地自該等微球中釋出，及被周圍的組織細胞(如內皮細胞)吸收。

玖、發明說明

係可藉由透黏膜或透皮方式進行系統性投藥。就透黏膜或透皮投藥作用而言，在配方中使用適用於待滲透障壁之滲透劑。該滲透劑係技藝中所通知者，及例如包括用於透黏膜投藥作用的膽鹽與褐黴酸衍生物。此外，可使用洗滌劑以協助滲透作用。可經由鼻噴劑或使用栓劑而進行透黏膜投藥。就局部投藥作用而言，可將本發明的寡聚物配製成技藝中所通知之油膏、軟膏、凝膠或乳霜。可局部使用一清洗液治療一創傷或發炎，以加速治癒。

若為所欲者，該組成物能以置於包裝或分配裝置(其中包含一或多個含有活性成份的單位劑量)中之形式呈現。該包裝例如可包括金屬或塑膠薄片，諸如一種泡殼包裝。該包裝或分配裝置可附有用藥說明書。

用以辨識治療劑之分析

基於辨識造成或有助於罹患與一IL-1多形性或單倍體型相關聯的一疾病或狀況之突變作用，本發明進一步包括用以辨識治療劑之以細胞為主的分析或無細胞分析。在一實施例中，在細胞膜的外表面上表現一IL-1受體(或由與一IL-1基因連鎖不平衡的一基因所編碼之一蛋白質的一受體)之一細胞，係於一試驗化合物單獨存在下或一試驗化合物與另一蛋白質之存在下培養，及例如藉由使用一微生理測量儀(McConnell等人(1992年)於Science第257期第1906頁乙文)，而偵測該試驗化合物與該受體之間或者該蛋白質(較佳為一種加標籤的蛋白質)與該受體之間的交互作用。以基質中的酸化作用變化形式，藉由該微生理測量儀偵測該

玖、發明說明

受體與該試驗化合物或該蛋白質之間的交互作用。該分析系統藉此提供偵測分子拮抗劑(例如藉由干擾蛋白質-受體交互作用而產生功能)以及分子同效劑(例如藉由活化一受體而產生功能)之一方式。

5 亦可使用細胞或無細胞分析，以辨識調控一IL-1基因或與其連鎖不平衡的一基因的表現作用、調控一mRNA的轉譯作用或調控一mRNA或蛋白質的安定性之化合物。因此，在一實施例中，將能製造一IL-1蛋白質或其他蛋白質之一細胞與試驗化合物一起培養，測量細胞基質中所製造
10 的蛋白質量，及與未接觸該試驗化合物之一細胞中所製造者相比較。可藉由各種對照組分析，而確認該化合物相對於該蛋白質之專一性，如測量一或多個對照組基因的表現作用。更詳細地，可使用該分析以測定反訊息、核酶及三鏈螺旋化合物之效力。

15 亦可使用無細胞分析，以辨識能與一蛋白質交互作用(藉此改變該蛋白質的活性)之化合物。該一化合物例如可改變一蛋白質的結構，藉此賦予其與一受體結合的能力。在一個較佳實施例中，用於辨識該一化合物之無細胞分析實質上包括一反應混合物，其中在一結合夥伴體之存在或
20 不存在下含有一蛋白質與一試驗化合物或一庫存的試驗化合物。一試驗化合物例如可為一結合夥伴體的一衍生物，如一種不具生物活性的標的肽或一小型分子。

因此，本發明的一例示性篩檢方法之步驟包括：將一蛋白質或其功能片段與一試驗化合物或一庫存的試驗化合

玖、發明說明

物接觸，及偵測複合體的形成作用。就偵測目的而言，可在該分子上標示一特定的標記，及在該試驗化合物或一庫存的試驗化合物上標示不同的標記。然後在一培養步驟與一清洗步驟之後，藉由測量該二標記的水平，則可偵測一

5 試驗化合物與一蛋白質或其功能片段之交互作用。在清洗步驟之後，該二標記之存在係表示發生交互作用。

亦可藉由使用偵測表面胞質基因共振(SPR—一種光學現象)之即時BIA(生物分子交互作用分析，Pharmacia Biosensor AB公司)，而偵測分子間的交互作用。該偵測作

10 用係仰賴巨分子在生物專一性界面的質量濃度變化，而不需要任何交互作用物的標示作用。在一個實施例中，可將一庫存的試驗化合物固定於一感測器表面(例如在一微量流動槽的壁上形成)。然後在該感測器表面持續地流過含有一蛋白質或其功能片段之一溶液。在一訊號記錄上所示

15 的共振角度變化，係表示已發生交互作用。該技術進一步說明於Pharmacia公司的BIA技術手冊。

本發明的另一例示性篩檢方法之步驟包括：(a)形成一反應混合物，其包括：(i)一IL-1蛋白質或其他蛋白質，(ii)一適宜的受體，及(iii)一試驗化合物；及(b)偵測該蛋白質

20 與受體之交互作用。相較於在試驗化合物不存在下之交互作用，該蛋白質與受體在試驗化合物存在下之交互作用在統計上的顯著變化(增強作用或抑制作用)，係顯示一潛在的拮抗劑(抑制劑)。可同時接觸該分析方法的化合物。任擇地，一蛋白質可首先與一試驗化合物接觸一段適宜時間

玖、發明說明

，然後在反應混合物中添加該受體。藉由使用不同的試驗化合物濃度，及自所得數據繪出劑量反應曲線，而分析該化合物的效力。更進一步，亦可進行一對照組分析，以提供一比較基線。

5 可藉由多種技術偵測一蛋白質與受體之間之複合物形成作用。例如使用經可偵測性標示的蛋白質(諸如放射性標示、螢光性標示或酵素性標示的蛋白質與受體)，藉由免疫分析法或藉由層析偵測作用，可量化複合物形成作用之調控作用。

10 典型地，所欲者係將該蛋白質或該受體固定，以促進蛋白質中之一或二者的複合體與未複合形式之分離作用，以及促成該分析方法之自動化。蛋白質與受體的結合作用，可在適於容納該等反應物之任一容器中進行。實例包括微滴定平皿、試管及微離心管。在一實施例中，可提供一

15 融合蛋白質(其中使該蛋白質可與一基質結合之一領域增加)。例如，可將穀胱甘肽-S-轉移酶融合蛋白質吸附於穀胱甘肽瓊脂糖小珠(美國密蘇里州聖路易之Sigma化學公司)或穀胱甘肽衍生物微滴定平皿上，然後與受體(如經³⁵S標示的受體)及試驗化合物混合，及該混合物在有助於複合

20 體形成的條件(如生理的鹽與酸鹼值條件(雖然所欲者係略微更精確的條件))下培養。在培養之後，將小珠清洗，以除去任一未結合的標記，及直接測定固定的基質與放射性標記(如將小珠置於閃爍體中)，或在複合體後續解離之後測定上清液。任擇地，該複合體可自基質解離，藉由SDS-

玖、發明說明

PAGE分離，及使用標準電泳技術(諸如所附實例中所述者)

，自凝膠中量化在小珠部份所發現之蛋白質或受體的水平。用於將蛋白質固定於基質上之其他技術，亦可用於該標的分析方法中。例如，可使用生物素或抗生蛋白鏈菌素之綴合作用，將蛋白質或受體固定。亦可使用基因轉殖動物，以辨識同效劑與拮抗劑，或確認一候選療法之安全性與效力。本發明的基因轉殖動物可包括人類以外之動物，其具有在一適宜的內源性啟動子之控制下或在一異種移植性啟動子之控制下之血管再狹窄化病因性突變作用。

- 10 基因轉殖動物亦可為含有在一適宜的啟動子或其片段的控制下之一轉殖基因(諸如一報導基因)之動物。該等動物係適於辨識用以調控一IL-1蛋白質的製造作用之藥物，諸如藉由調控基因表現作用。獲得人類以外的基因轉殖動物之方法，係技藝中所熟知的。在較佳實施例中，血管再
- 15 狹窄化病因性突變作用之表現，係侷限於特定的細胞子集、組織或發育階段(其等例如使用順式作用序列以控制所欲模式的表現作用)。在本發明中，一蛋白質的鑲嵌型表現作用係許多形式的系屬分析中之關鍵，及可另外提供分析例如表現程度的效應之一方式(其可能大幅改變在其他
- 20 情況下為正常的一胚胎中的小片組織之發育作用)。就此而言，可使用具組織專一性的調節序列及條件性調節序列，以控制特定空間模式的突變作用之表現。更進一步，例如藉由條件性重組系統或原核生物轉錄調節序列，可提供表現作用的時程分配模式。嫻熟技藝者已知促成一突變作

玖、發明說明

用的表現之基因技術，其可經由活體內的位址專一性基因操控作用而加以調節。

本發明的基因轉殖動物，在其等的多種細胞中包括本發明的病因性突變轉殖基因，該轉殖基因改變該“宿主細胞”的表現型。在一說明性實施例中，可使用噬菌體P1的
 5 cre/loxP重組酶系統(Lakso等人(1992年)於PNAS第89期第6232-6236頁乙文；Orban等人(1992年)於PNAS第89期第6861-6865頁乙文)或釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的FLP重組酶系統(O’Gorman等人(1991年)於Science第251期
 10 第1351-1355頁乙文；第WO 92/15694號PCT公開案)，以產生活體內位址專一性基因重組系統。cre重組酶催化位於loxP序列之間之一居間的標的序列之位址專一性重組作用。loxP序列係為與cre重組酶結合之34個鹼基對核苷酸重複序列，及其係cre重組酶調節的基因重組作用所需者。當
 15 cre重組酶存在時，loxP序列的定向決定居間的標的序列是否被切除或反置(Abremski等人(1984年)於J Biol. Chem.第259期第1509-1514頁乙文)；當loxP序列的定向為正向重複時，則催化該標的序列之切除作用；當loxP序列的定向為反向重複時，則催化該標的序列之反置作用。

20 因此，標的序列的基因重組作用係仰賴cre重組酶的表現作用。可藉由啟動子元素調節重組酶的表現作用，而該啟動子元素係受到由外界所添加的藥劑所引發或抑制之調節性控制(如組織專一性、發育階段專一性)。該調節性控制造成僅在重組酶的表現作用受到啟動子元素調節之細

玖、發明說明

胞中，發生標的序列的基因重組作用。因此，可經由控制重組酶的表現作用，而調節病因性突變轉殖基因的表現作用之活化作用。

5 使用 cre/loxP 重組酶系統以調節一病因性突變轉殖基因的表現作用，需要建構含有編碼 cre 重組酶與標的蛋白質的轉殖基因之一基因轉殖動物。可經由建構“雙重”基因轉殖動物，而提供同時含有 cre 重組酶與血管再狹窄化病因性突變轉殖基因之動物。提供該等動物之一方便的方法，係將各含有一轉殖基因之二種基因轉殖動物交配。

10 可使用原核生物啟動子序列(其需要同時表現原核生物蛋白質以促進轉殖基因的表現作用)，而提供類似的條件性轉殖基因。例示性啟動子與對應的逆位活化性原核生物蛋白質，係揭露於第4,833,080號美國專利。

更進一步，可藉由基因療法類型的方法，引發條件性
15 轉殖基因的表現作用；在該方法中將編碼該逆位活化蛋白質(如一重組酶或一原核生物蛋白質)之一基因輸送至該組織中及使其表現(如以細胞類型專一性之方式)。藉由該方法，該轉殖基因一直到成年期均可維持於潛伏狀態，直至引入一逆位活化劑後才被“啟動”。

20 在一例示性實施例中，藉由將轉殖基因引入非人類的動物之生殖細胞系中，而製造出本發明的“非人類的基因轉殖動物”。可在不同發育階段的胚胎標的細胞中引入轉殖基因。依胚胎標的細胞之發育階段，而使用不同的方法。用於實施本發明之任一動物的特定品系之選擇，係基於

玖、發明說明

整體健康情況良好、胚胎產量良好、胚胎中的原核可見度良好及適生殖性良好。此外，單倍體型係一重要因素。例如，當要製造基因轉殖小鼠時，通常使用諸如C57BUJ6或FVB之品系(美國緬因州巴爾港(Bar Harbor)之Jackson Laboratory公司)。較佳的品系係該等具有H-2_b、H-2_d、H-2_q單倍體型者，諸如C57BL/6或DBA/1。用於實施本發明之品系，其本身可為基因轉殖型，及/或可為基因剔除型(亦即自具有一或多個被部份或完全抑制的基因之動物所製得者)。

10 在一實施例中，在單一階段的胚胎中引入基因轉殖構築體。受精卵係微注射作用的最佳標的。在小鼠中，雄性原核達到直徑約20微米之尺寸時，可容許重複注射1至2微微升的DNA溶液。使用受精卵作為基因轉殖作用的一標的之最大優點，在於所注入的DNA在大部分情況下會在第一次分裂之前被接入宿主基因中(Brinster等人(1985年)於PNAS第82期第4438-4442頁乙文)。結果，基因轉殖動物的所有細胞將帶有所接入的轉殖基因。其一般將反應於該轉殖基因有效率地傳至首代動物的子代，因為50%的生殖細胞將帶有該轉殖基因。

20 受精的胚胎一般在一適宜基質中培養，直至原核出現為止。約在此時點，如後述地在雌性或雄性原核中引入包含該轉殖基因之核苷酸序列。在諸如小鼠之一些物種中，係以雄性原核為較佳者。最佳在外源性基因物質被卵核或受精卵雌性原核處理之前，將該外源性基因物質加至受精

玖、發明說明

卵的雄性DNA互補體。一般認為卵核或雌性原核釋出影響雄性DNA互補體之分子，可能藉由以組織蛋白置換雄性DNA的精蛋白，藉此促進雌性與雄性DNA互補體之結合而形成二倍體受精卵。因此，較佳在外源性基因物質受到雌性原核影響之前，將該外源性基因物質加至DNA的雄性互補體或DNA任一的其他互補體。例如，在形成雄性原核之後，其係在雄性與雌性原核清楚地分離及皆位於鄰近細胞膜處之際，即儘速將外源性基因物質添加至早期的雄性原核。任擇地，可在精子被誘發進行解集聚作用之後，將外源性基因物質加至精細胞核中。然後可將含有該外源性基因物質之精細胞添加至卵，或將解集聚的精細胞添加至卵及之後儘速添加轉殖基因構築體。

可藉由技藝所知之任一方式(諸如微注射、電穿孔作用或脂質體感染作用)，將轉殖基因核苷酸序列引入胚胎中。將轉殖基因核苷酸序列引入胚胎之後，將胚胎於試管中培養不同的時間長度，或重新植入代孕宿主中，或進行二者。在試管中培養至成熟之方式，係涵蓋於本發明的範疇之內。常用的方法之一，係將胚胎於試管中培養約1至7天(依物種而定)，然後將其等重新植入代孕宿主中。

就本發明的目的而言，一受精卵實質上係形成能夠發育成為一完整生物體之一種二倍體細胞。一般而言，受精卵包括一卵，其含有藉由融合來自一或多個配子的單被體核及以天然或人工方式所形成之一核。因此，配子核必須為天然相容者，亦即產生能夠進行分化及發育成為一功能

玖、發明說明

性生物體之一可存活的受精卵者。一般而言，係以整倍體受精卵為較佳者。若獲得異倍體受精卵，則相對於任一配子所源自之生物體的整倍體數目而言，染色體數目之差異不應超過1。

- 5 除了類似的生物考量之外，物理上的考量亦掌控可加至受精卵核或形成一部份受精卵核的基因物質之外源性基因物質的量(如體積)。若未移除基因物質，可添加的外源性基因物質的量係受限於在不造成物理上斷裂之情況下所能被吸收之一量。一般而言，所插入的外源性基因物質之
- 10 體基，將不超過約10微微升。添加作用的物理效應必須不致於大至實質損及受精卵的存活性。DNA序列的數目與種類之生物學上的限制，將依特定的受精卵與外源性基因物質的功能而異，及為嫺熟技藝者即可瞭解者；因為所得受精卵的基因物質(包括外源性基因物質)必須能夠起始與維
- 15 持受精卵分化及發育成為一功能性生物體之作用。

- 添加至受精卵之轉殖基因構築體的套體數目，係依所添加的外源性基因物質總量而定，及將為可促成基因轉形作用發生之量。理論上僅需要一個套體；然而，一般使用許多個套體(例如轉殖基因構築體的1,000至20,000個套體)
- 20 ，以確保一套體具有功能。就本發明而言，具有所插入的各個外源性DNA序列之一個以上的功能性套體，通常具有增進該外源性DNA序列的表現型表現作用之優點。

 在不會破壞該細胞、核膜或其他存在的細胞或基因構造之前提下，可使用得以在核基因物質中添加外源性基因

玖、發明說明

物質之任一技術。該外源性基因物質較佳藉由微注射作用而插入核基因物質中。細胞與細胞構造的微注射作用係技藝中所知與所用者。

可藉由標準方法進行重新植入作用。通常將代孕宿主
5 麻醉，及將胚胎植入輸卵管中。植入一特定代孕宿主中的胚胎數目將依物種而異，但一般與該物種自然生產的子代數目相當。

可使用任一適宜方法，篩檢代孕宿主的基因轉殖子代是否存在及/或表現該轉殖基因。通常使用與該轉殖基因
10 的至少一部份互補之一探針，藉由南方(Southern)墨點或北方(Northern)墨點分析，而進行該篩檢作用。可使用西方(Western)墨點分析(其使用對抗該轉殖基因所編碼的蛋白質之一抗體)，以作為用於篩檢該轉殖基因產物的存在與否之另類或附加的方法。典型地，自尾部組織製備DNA
15 ，及藉由該轉殖基因的南方分析或聚合酶鏈反應(PCR)加以分析。任擇地，將據信以最高水平表現該轉殖基因之組織或細胞，以南方分析或聚合酶鏈反應(PCR)加以試驗，雖然該分析方法可使用任一組織或細胞類型。

用於評估該轉殖基因的存在與否之另類或附加的方法
20 ，包括(但不限於)適宜的生物化學分析，諸如酵素及/或免疫分析、特定標記或酵素活性的組織檢查染色分析、流式細胞光度分析等。血液分析亦適用於偵測血液中之轉殖基因產物的存在，以及用於評估該轉殖基因對於各種類型的血細胞與其他血液組份水平之效應。

玖、發明說明

可藉由將基因轉殖動物與一適宜對象交配，或藉由在試管中將來自基因轉殖動物的卵及/或精子受精，而獲得該基因轉殖動物的後代。在必須與一對象交配之情況，該對象可為或不為基因轉殖型及/或基因剔除型；當該對象
 5 為基因轉殖型之情況，其可含有相同或不同的轉殖基因，或含有二者。任擇地，該對象可為一親代品系。當採用試管中受精作用時，可將受精的胚胎植入一代孕宿主中或於試管中培養，或二者皆進行。在使用任一方法之情況下，可藉由上述方法或其他的適宜方法，分析後代中是否存在
 10 該轉殖基因。

如本發明所產生的基因轉殖動物將包含外源性基因物質。再者，在該等實施例中，該序列將與一轉錄控制元素(如一啟動子)連接，該啟動子較佳容許該轉殖基因產物在一特定類型的細胞中表現。

15 亦可採用逆轉錄病毒感染作用，以將轉殖基因引入人類以外的一動物中。發育中之非人類胚胎可在試管中培養至囊胚期。在該期間，可鎖定囊胚細胞作為逆轉錄病毒感染之標的(Jaenich等人(1976年)於PNAS第73期第1260-1264頁乙文)。藉由酵素處理以除去透明帶，而獲致有效率的
 20 囊胚細胞感染作用(Hogan編輯之“小鼠胚胎之操控”乙書(美國冷泉港的冷泉港實驗室出版公司於1986年出版))。用於引入轉殖基因之病毒載體系統，典型地係一種帶有該轉殖基因之複製缺陷型逆轉錄病毒(Jahner等人(1985年)於PNAS第82期第6927-6931頁乙文；Van der Putten等人(1985

玖、發明說明

年)於PNAS第82期第6148-6152頁乙文)。藉由在單層的製造病毒型細胞上培養囊胚細胞，而輕易與有效率地達成感染作用(Van der Putten等人之前述乙文；Steward等人(1987年)於EMBO J第6期第383-388頁乙文)。任擇地，可在稍後
 5 之時期進行感染作用。可將病毒或製造病毒型細胞注入囊胚腔中(Jahner等人(1982年)於Nature第298期第623-628頁乙文)。就轉殖基因而言，大部分的首代將為鑲嵌型，因為接入作用僅發生於形成該基因轉殖型非人類動物之細胞的一子集中。再者，首代在基因體的不同位置可能含有各
 10 種的病毒插入體，其一般會在子代中分離。此外，亦可能藉由懷孕中期胚胎的子宮內逆轉錄病毒感染作用，而在生殖細胞中引入轉殖基因(Jahner等人(1982年)之前述乙文)。

用於轉殖基因引入作用之第三類型的標的細胞，係胚胎幹細胞(ES)。胚胎幹細胞係自培養於試管中的植入前胚
 15 胎取得，及與胚胎融合(Evans等人(1981年)於Nature第292期第154-156頁乙文；Bradley等人(1984年)於Nature第309期第255-258頁乙文；Gossler等人(1986年)於PNAS第83期第9065-9069頁乙文；及Robertson等人(1986年)於Nature第322期第445-448頁乙文)。可藉由逆轉錄病毒所調節的轉導
 20 作用，而有效率地將轉殖基因引入胚胎幹細胞中。依此方式轉形的胚胎幹細胞然後可與來自人類以外的一動物之囊胚結合。之後，該胚胎幹細胞移生該胚胎及貢獻於所產生之嵌合型動物的生殖細胞。相關綜合評論請見Jaenisch, R. (1986年)於Science第240期第1468-1474頁乙文。

玖、發明說明

以下列實例進一步說明本發明，該等實例不應視作以任一方面限制本發明。所引述文獻(包括本申請案中所引述之文獻參考資料、所授予的專利、公開的專利申請案)的內容，在此公開地併入本案以為參考資料。除非另外說明之，本發明的實施將採用技藝範圍內之習知技術。該等技術係完整地說明於文獻中。如見“分子選殖作用—實驗室手冊”(第二版，Sambrook、Fritsch及Maniatis編輯，冷泉港實驗室出版公司於1989年出版)；“DNA選殖作用第I與II冊”(D. N. Glover編輯，1985年出版)；“寡核苷酸合成作用”(M. J. Gait編輯，1984年出版)；第4,683,195號美國專利；第4,683,202號美國專利；1及“核酸雜交作用”(B. D. Hames & S. J. Higgins編輯，1984年出版)。

實例

下列實例進一步提供(但非以排外方式呈現)本發明的較佳實施例。

第1例 IL-1基因座之圖譜製作與特性分析

已辨識出編碼具有IL-1褶疊的蛋白質之6個新基因。典型的基因家族涉及發炎傳訊作用。以殖株為基礎及放射線雜交株的圖譜製作，已將6個新基因置於鄰近或位於原先3個基因家族成員(*IL1A*、*IL1B*及*IL1RN*)位於第2條染色體上約400 kb區間之相同基因簇中。吾等已結合了不完全的公開資料庫序列與本身所得的序列，而產生一參考序列與涵蓋該等新基因中的所有者之圖譜，使得以測定基因結構、精確測定外顯子的位置及測定習知的單核苷酸多形性

玖、發明說明

(SNP)與微衛星標記之間的距離。自著絲點至端粒之基因順序為 *IL1A*-*IL1B*-*IL1F7*-*IL1F9*-*IL1F6*-*IL1F8*-*IL1F5*-*IL1F10*-*IL1RN*，其中 *IL1A*、*IL1B*與*IL1F8*僅轉錄朝著絲點。該基因順序係與基因間的進化關係有關。外顯子交界的主要特性被保留。並無證據顯示在該基因簇中存在其他的IL-1家族成員。

近來，顯示與IL-1R1最密切相關的受體(稱作IL-1受體相關蛋白質2 (IL-1Rrp2，基因為*IL1RL2*))，將反應性賦予受感染細胞上的IL-1F9，及該反應非常有效地被IL-1F5(最近似於IL-1ra)抑制。與IL-1F5之交互作用似乎具有高度親和性。IL-1F5與IL-1F9均相當大量地存在於上皮中，及曾倡議其等在調節該位址的發炎作用方面扮演一角色。其他基因的功能未知，但曾報導IL-1F7與IL-1F8之間(Pan等人於2001年乙文)及IL-1F10與IL-1R1之間(Lin等人於2001年乙文)具有低親和性交互作用。目前正進行研究新的IL-1家族成員在生物學上的角色，但mRNA表現作用似乎遠比IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1ra及IL-18中所見者有限。因此，新的IL-1家族成員之功能中所涉及的細胞類型，可能遠比IL-1的情況更專一。

20 材料與方法

定序與序列組合作用

依據公開領域(Lander等人於2001年乙文)中之部份序列辨識出細菌人工染色體(BAC)含有*IL1A*、*IL1B*、*IL1RN*及*IL1F5*，先前已確定其等位於一基因簇中之位置(Nicklin

玖、發明說明

等人於1994年乙文；Notwang等人於1996年乙文；Barton等人於2000年乙文)。所選擇的9個BAC為：RP11-1I24、RP11-477F18、RP11-554I7、RP11-368A17、RP11-434I13、RP11-67L14、RP11-725J3、RP11-339F22、RP11-97J14及RP11-65I12。大部分的公開數據係尚未完成者，及未含有順序或定向資訊。個別BAC的公開序列之彼此比對，提供極少的重疊資訊。為在該區域產生最低鋪設架構，選擇7個BAC(RP11-477F18、RP11-554I7、RP11-434I13、RP11-67L14、RP11-725J3、RP11-339F22及RP11-97J14)及定序至3倍涵蓋範圍。在正向與逆向方向皆進行小型插入質體植株(約3500鹼基對)之定序，而提供整個植株的成對讀取資料。使用PHRED與PHRAP(Ewing等人於1998年乙文；Ewing與Green於1998年乙文)以進行鹼基讀取，及組合該7個BAC。使用內部連續DNA片段重疊圖譜檢視工具，以分析所得的組合物。藉由匹配經定序的連續片段重疊體(contig)的終端(其成對讀取資料係位於另一連續片段重疊體(contig)的終端)，而排定連續片段重疊體(contig)的順序。在該低的涵蓋範圍，將BAC組合成眾多的連續片段重疊體(contig)，但無法建立順序與定向。自基因銀行(GeneBank)輸入有關該7個內部定序BAC以及2個外部完成BAC(RP11-1I24與RP11-65I12)之公開數據。使用各種軟體工具，以比較與比對內部、公開與重疊序列，提供所有可取得數據之順序與定向資訊。然後自該等比對中選擇連續片段重疊體(contig)(以在該區域產生僅可能多的連續序列)

玖、發明說明

，及使用Sequencher(第4.0.5版)加以組合。

序列之比對與外顯子之指定

最初以在NCBI伺服器上運作之2-序列BLAST常式(Altschul等人於1997年乙文)，將引子與DNA序列與基因
5 體序列匹配。使用在HGMP伺服器(英國劍橋)上運作之est2genome常式(Mott等人於1997年)，進行外顯子之比對。該軟體係用以辨識共通的外顯子交界。因為太短而無法辨識之5'外顯子，係以人工方式置於以一共通的接合提供型二核苷酸(GT)終結之最接近的對應序列。未試圖製作非
10 編碼區域的3'終端之圖譜，因通常無法取得mRNA尺寸數據。

結果

IL-1基因簇之序列

結合內部與公開序列，將一個900 kb區域組合成為14
15 個依序排列的連續序列。該序列的端粒部份含有基因*PAX8*。之後，自該區域取出由7個連續片段重疊體(contig)所組成之一較短區域(總長496 kb)。公開資料庫中的最新資料，使吾等得以補上該序列中6個空白部份中之5個(見第17圖)。吾等已向公開資料庫(登錄***)提交由495475個核苷
20 酸組成之一經註解的序列(如本報導中所述者)。所剩下的單一空白部份(在第17圖中標示為“空白”)，係IL-1基因簇之著絲點。該序列並未具有完整品質，但提供完整序列的綱架，及容許吾等檢視IL-1基因簇內之基因結構。新的圖譜係與先前所發表的圖譜(Nicklin等人於1994年乙文；

玖、發明說明

Nothwang 等人於1996年乙文)相符，但與不完整的公開基因體組合計畫(Lander等人於2001年乙文)顯著地不同。

所辨識之最靠近著絲點的側臨基因係與IL-1無關。其係為漿膜磷酸鹽運載子 *SLC20A1* (先前辨識為長臂猿-猿白血病病毒受體的人類對應染色體 *GLVR1*，登錄序號為 XM_002217)，確定其位置係位於第1圖起點左側之63 kb與45 kb之間。朝向該基因簇的端粒方向存在 *TIC* (登錄序號為 NM_012455)，其最可能為位於端粒側臨區之一個ARF6-選擇性鳥嘌呤核苷酸交換因子(MN與Tomas Klenka，文件準備中)。其圖譜位置係示於第17圖。

基因結構

吾等已在基因體序列上確定IL-1家族的所有cDNA序列之位置(第17圖)，其中基因範圍係以黑色矩形示之。第17圖顯示IL-1基因簇之一圖譜。在數據的上方與下方提供尺寸桿(以kb為單位)，以利於比對。由上方的三行文字顯示所述數據之來源。“新序列”係全部由Genome Therapeutics公司所測定之序列。“公開DB”係指自基因銀行(GeneBank)所取得之序列。“組合序列”係自該二來源組合形成者。在代表連續片段重疊體(contig)之桿上方，以經標示的箭頭顯示先前所述多形性標記(概述於Cox等人於1996年乙文及di Giovine等人2000年於乙文)之位置。亦顯示單一個未填滿的空白部份。如內文中所界定之富含CpG區域，係示為“CpGr”。用於先前圖譜製作中之罕見的切割限制酵素位址簇之可能位址，亦標記為“Xrec”、“Yrec?”及

玖、發明說明

“Zrec”。在連續片段重疊體(contig)上確定第18圖的cDNA序列位置之程度，係以連續片段重疊體(contig)線下之實體黑色矩形顯示，除了非細胞激素基因 *TIC* 之外(其係標記為灰色)。CE1、CE2及CE3之編碼序列的位置，係以直條

5 示之。基因符號之後或之前具有一V形，以顯示轉錄作用之方向。第17圖進一步顯示IL-1基因簇之詳細結構。各基因係自著絲點至端粒依序排列。“基因”係指該基因之習知基因座名稱。“定向”係為“正向”(其中所放置的序列係訊息股)或“逆向”(其中的序列係反訊息股)。“位置”係對應於各

10 外顯子之所放置的序列上之核苷酸數目。

當已知cDNA序列不完整時，在可能的外顯子延伸作用上標記“<”與“>”之記號。“外顯子”係以存在於對應轉錄本中之一者的cDNA中為基礎而指派予各外顯子的名稱；因此，*IL1RN*-a4/b5/c6係cDNA a(X52015)之第4個外顯子、

15 cDNA b(M55646)之第5個外顯子、cDNA c之第6個外顯子。已在對應mRNA的本體方面取得一致性(**)。鄰近的二個體中之一星號(*)，係指因使用擇一的啟動子之故，二個外顯子共享一個接合提供位址。“外顯子交界”係外顯子內之側臨內含子的15個核苷酸序列。在任一終端之省略符號

20 (...)係指該外顯子可能不完整，因為該cDNA序列已被截斷。“外顯子類型”係指外顯子的編碼潛能：5'N係指5'-未轉譯區域；5'SO係指可能被轉譯之5'短的開放閱讀架構；Ps係指肽前序列(顯示此已被提出)；cs係指未保留的編碼序列；CE係指保留型外顯子；3'N係指3'-未轉譯區域。一省

玖、發明說明

略符號係顯示外顯子的指派可能不完整，及一些或全部的非編碼序列已被省略。“編碼”係指由各外顯子所編碼的胺基酸序列。外顯子係由其所構成的cDNA名稱與登錄序號(示於該框之上方)所辨識。各外顯子的編碼能力係以小寫字母示之。斜體殘基係部份編碼於次一外顯子上。上標的數字係指包含於密碼子內之所述外顯子的鹼基數目。省略次一外顯子之殘基。橋接密碼中之核苷酸係由“外顯子交界”框中斜體字所示。當續接的外顯子係更迭之時，該橋接殘基可能改變。其係示於圓括弧中。劃上底線的殘基係來自外顯子之末端完整密碼子，及在其等位於“外顯子交界”框中的密碼子上加劃底線。一星號係顯示轉譯作用之終結。

*IL1A*係最鄰近著絲點的基因，及與鄰近基因*IL1B*一樣係轉錄朝著絲點。除了*IL1F8*之外，剩下的基因(以該基因簇中最靠近端粒之*IL1RN*作終結)，係轉錄朝向端粒。各基因之最後三個外顯子(吾等將其稱作共同外顯子(CE)1、2與3)，係編碼IL-1同源領域(如第18圖中所示及界定於他處)，及位於該序列中之密集區域。CE1、CE2與CE3係以直條示於第1圖中，但以第17圖中的解析度則無法分辨其中之一部份。具有極少或全無編碼內容之其他外顯子，將大部分基因的範圍顯著地延伸。*IL1RN*與*IL1F8*的範圍最大。在後者的情況下，第一個非編碼外顯子係在端粒側距離其他基因20 kb。該等基因的詳細圖譜係與各外顯子所編碼的肽序列共同顯示。當存在接合變異體時，該資訊使

玖、發明說明

測讀儀得以組合可能的不同蛋白質形式。目前尚未確定是否該等形式皆可能具有生物學上的重要性(見討論部份)。

第18圖(第1至7表格)顯示IL-1家族的10個已知成員之3個共同外顯子所編碼序列之比對。在各情況下，共同的外顯子係一轉錄本之最後3個；如IL- α 的7個外顯子中之外顯子5、6及7。藉由用眼睛尋找胺基酸本體及具有類似殘基的區段，而進行比對。然後減少空白部份。將IL-1 β 與IL-1ra的晶體結構數據納入，及用於進一步改善比對作用。依序顯示該3個共同外顯子之轉譯作用。數字係顯示各外顯子所編碼之成熟產物的第一個與最後一個密碼子。基因產物係依據其等可能的種系發生而陳列之。(!)係指在一蛋白質分解位址的處理作用產生成熟的蛋白質，但部份的前序列亦編碼於第一個共同外顯子之內。至少三個序列的區段殘基係為相同的。為求簡潔，未顯示相似性。就IL-1 β 與IL-1ra而言，在編碼序列下方之第一行(標示為“晶體結構”)上，以直條顯示 β -片狀終端的約略位置，該片狀的範圍以陰影顯示及標示該片狀的數目。在下一行(標示為“接觸”)中，數字係顯示與各殘基的側鏈交互作用之IL-1R領域。標示有數字的殘基含有距離第I型IL-1受體(PDB數據)的一重型原子4埃以內之至少一個重型原子(碳、氮、氧、硫)，如藉由RasMol軟體(由Sayle與Milner-White撰寫)所觀測者。在IL-1F5下方之一行(標示為NMR)中，一(^)符號係指出在其等的 α - ^{13}C NMR訊號中顯示強烈的向上游移動(大於0.7 ppm)之IL-1F5殘基，其視為顯示其處於 β -片狀

玖、發明說明

之可能性高。該框中之最後一行(標示為“共通”)以小寫字母顯示至少 7/10 次存在於該位置之殘基。當大寫時，殘基係存在於所有情況。一省略符號(...)係指一特定序列的片狀 1 可能自前述之一外顯子開始。(*)係指轉譯作用之終結。

5 富含 CpG 區域

使用 CpGplot 軟體(Larsen 等人於 1992 年乙文)辨識 5 個可能的 CpG 島體(island)，其 C+G 含量大於或等於 60%、CpG 二核苷酸大於或等於預期頻率的 60% 及長度大於或等於 300 核苷酸。除了第一個與最後二個富含 CpG 的序列之外，該等區域係短的及可能不構成“CpG 島體”。因此在 IL-1 基因簇中並無 CpG 島體。吾等試圖確定先前用於實際製作圖譜(Nicklin 等人於 1994 年乙文)之限制位址群的位置。在第 1 圖中富含 CpG 序列係標示為 *CpGr*。二者進一步標示為 *Xrec* 與 *Zrec*。該二區域含有先前所辨識之專一性的罕見切割限制位址，及可能對應於先前所指定之該基因簇的側臨區。該序列數據所得的長度為 392 kb，相較於先前自基因體 DNA 的限制分解物的南方(Southern)雜交反應所估計之 430 kb。在標示為 *Yrec?* 之位址附近，觀察到 *Nae* I 與 *Eag* I 位址(先前用於 *IL1B* 的定位作用)之緊密配對，但並未被 CpGplot 軟體選取(即使採用較不嚴格的參數亦未選取)。僅 *Xrec* 與 *Zrec* 標記顯著的 CpG 島體。基因庫與公開的基因體註解之搜尋結果，並未揭露與該等基因座中的任一者相關聯之基因。可能性之一係 *Zrec* 標記 TIC(在所試驗的所有組織中均充分表現之一個非細胞激素基因)之一個未被辨認

玖、發明說明

的上游外顯子(Thomas Klenka與MN之未發表的數據)。

IL-1基因簇中之多形性標記

吾等已將前述之該區域中的多形性定位(在第17圖中以箭頭顯示及列於第19圖中)。藉此容許吾等重新分析前述的不平衡數據(Cox等人於1998年乙文)。吾等的分析得到圖距離與不平衡衰退之間之稍佳的相關係數(數據未顯示)。

掃描IL-1基因簇中之其他IL-1類型基因

吾等調查IL-1基因簇中是否存在其他的IL-1類型序列。因為其尺寸相當小，該基因簇的基因體序列適於以BLAST演算法(Altschul等人於1997年乙文)進行嚴格度極低之搜尋。除了將靈敏度提高至每個基因體預期找到5000筆(原設值為10筆)之外，尚採用原設值的NCBI伺服器之二序列BLAST比較。輸入個別外顯子的轉譯作用，以進行IL-1基因簇基因體序列之TBLASTN分析。該演算法就該基因體序列片段所衍生的6個可能的閱讀架構，進行編碼序列之搜尋。吾等假設外顯子結構將被保留，藉此若搜尋符合者係被停止密碼中斷，則將於稍後不予計入。

吾等首先搜尋*IL1A*之CE3(因其為相關程度較遠的序列中之一者)。其僅與本身相符。*IL1B*之CE3回覆結果為IL-1基因簇上除了*IL1A*之外之所有已知成員的CE3。搜尋到一個未被中斷者，但其僅具有6個相同的推斷殘基，比典型的CE3長及實際上位於*IL1B*內之逆向定向。因為並無一對應的可能性上游CE2之證據存在，而不計入該序列。吾等

玖、發明說明

然後搜尋 *IL1F5* 之 CE3，回覆結果亦為除了 *IL1A* 之外的所有 CE3。一個長的、可能的富含 CpG 外顯子缺乏 CE3 之保留性核心殘基。吾等使用 *IL18* 之 CE3 (登錄序號 XM_041373) 作為另一離群點。其回覆結果為來自 IL-1 基因簇之 *IL1F5*，及並無新的序列。吾等然後試驗來自 *IL1A* 與 *IL1B* 之 CE2 (外顯子 6)。前者的回覆結果僅為其本身，後者的回覆結果為 *IL1F6*、*IL1F8*、*IL1F9* 及 *IL1F10* 及並無其他序列。*IL1F5* 之 CE2 的回覆結果僅為 *IL1RN*、*IL1F6*、*IL1F9* 及 *IL1F10*，及並無新的未中斷外顯子。*IL18* 之 CE2 並無回覆結果。最後試驗 *IL1F9* 之 CE2。其回覆結果為 *IL1F6*、*IL1F8*、*IL1RN* 及 *IL1F10* 之 CE2 及並無其他序列。吾等的結論為 IL-1 基因簇內並無其他 IL-1 家族基因，除非其等具有一高度趨異性序列，或其等不同於其他所有的家族成員而具有斷裂程度較高的外顯子結構。

15 進化考量

為調查 IL-1 家族的種系發生，吾等在第 2a 圖所示之 CE2 對比上運作 Tree-Puzzle 軟體 (Strimmer 與 von Haesler 於 1996 年乙文)。IL-18 係設定為該家族的外群成員。結果顯示為第 3 圖所示之徑向樹狀圖 (Page 於 1996 年乙文)。

20 第 2 例：發炎基因與冠狀心疾病之個案-世代研究 (社群中的動脈粥樣硬化風險 (ARIC) 之子研究計畫)

社群中的動脈粥樣硬化風險 (ARIC) 計畫係一前瞻式世代研究，其設計係調查動脈粥樣硬化之病因與自然史；臨床動脈粥樣硬化之病因；及心血管風險因子、醫療照顧及

玖、發明說明

該疾病依種族、性別、地點與時間而變異之情形。

ARIC的世代包括來自美國4個社群之基線年齡45至64歲的15,792名個體。ILGN核可在適宜情況下分析所有ARIC計畫參與者的基因型，以達到二個合作性子計畫之目標。在吾等進行中的偶發性心血管疾病事件發生率之研究中，吾等目前已有來自955名曾經歷嚴重的臨床事件之ARIC參與者以及隨機取樣的世代對照組之DNA試樣。該等試樣代表在長期監測過程的前11年期間之所有偶發性心血管疾病案例。最近完成所有試樣的基因型分析，及已可取得部份結果。該等結果顯示對於總膽固醇(TC)低於200毫克/分升的個體而言，其臨床事件風險與IL-1(+4845)對偶基因2之間存在顯著關聯性。該等發現之重點如下：

- +4845基因型與臨床事件顯著地相關聯(存活分析相對風險約為4.0， $p < 0.01$)。
- 該分析包括所有年齡層。
- 在一多變數模式中，IL-1基因型的發現係獨立於年齡、性別、抽煙、種族、糖尿病、高血壓、BMI、LDL、HDL。

• 所包括之總膽固醇(TC)低於200毫克/分升的個體數目為955名。

基因座：IL1A(+4845)，總膽固醇(TC)低於200毫克/分升階層
距發生第一次急性冠狀動脈疾病事件之時間

各表內具有3個模式。第一個係僅具有基因型變數之粗略模式。在調整欄具有“第1組”之該等模式就年齡、性

玖、發明說明

別、種族/中心進行調整。在調整欄具有“第2組”之該等模式就年齡、性別、種族/中心、目前是否為吸煙者(是/否)、糖尿病(是/否)、高血壓(是/否)、LDL膽固醇及HDL膽固醇進行調整。

5 相對於'1.1'之基線而比較'1.2'與'2.2'。

調整	基因型	BETA	SE	T	P	RR	下端95	上端95
粗略	1.2	-0.27372	0.21851	-1.25269	0.21032	0.76054	0.49559	1.16714
	2.2	0.34378	0.40769	0.84324	0.39909	1.41027	0.63426	3.13573
第1組	1.2	-0.05382	0.24299	-0.22151	0.82469	0.94760	0.58856	1.52566
	2.2	0.72707	0.47274	1.53798	0.12405	2.06901	0.81913	5.22602
第2組	1.2	-0.02903	0.28294	-0.10261	0.91827	0.97139	0.55789	1.6913
	2.2	1.38022	0.49320	2.79850	0.00513	3.97577	1.51217	10.4530

相對於'1.1'與'1.2'之基線而比較'2.2'。

調整	基因型	BETA	SE	T	P	RR	下端95	上端95
粗略	2.2	0.46712	0.39696	1.17673	0.23930	1.59539	0.73277	3.47352
第1組	2.2	0.75024	0.45891	1.63485	0.10208	2.11752	0.86139	5.20541
第2組	2.2	1.39344	0.47638	2.92505	0.00344	4.02869	1.58365	10.2487

在排除具有'1.2'的個體之情況下，相對於'1.1'之基線而比較'2.2'。

調整	基因型	BETA	SE	T	P	RR	下端95	上端95
粗略	2.2	0.34181	0.40744	0.83831	0.40186	1.40750	0.63295	3.12987
第1組	2.2	0.75725	0.48656	1.55634	0.11963	2.13241	0.82168	5.53400
第2組	2.2	1.60027	0.57185	2.79840	0.00514	4.95436	1.61517	15.1970

第3例 舊金山之骨質疏鬆性骨折研究(SOF)

10 由加州大學舊金山分校的史帝夫·康明斯博士(Dr.

玖、發明說明

Steve Cummings)所指導之多重中心型骨質疏鬆性骨折研究，包括來自4個不同的臨床中心之源自歐洲/白種婦女的大型世代。自1986年以來，該等婦女就各種醫學與生活形態的相關發現進行檢查，包括髖部、手腕與脊柱骨折以及腰
5 椎與股骨頸中的骨礦物質密度變化。在基線拜訪(1986年/1987年)時，所有的參與者(n = 9,704)皆為65歲以上，可走動及未住進療養院。自約4,000名個體收集血液試樣，及儲存於-70°C以供DNA分析之用。

最近對於SOF世代的死因分析顯示，IL-1A(4845)對偶
10 基因2與因心血管疾病之早期死亡顯著相關聯。

		相對 風險	下方 CI值	上方 CI值	單位	P值
心血管疾病死亡	N=452					
IL1A_1	IL-1A1.2 相對於1.1	0.13	0.49	2.167	1	0.937
IL1A_2	IL-1A2.2 相對於1.1	3.138	1.203	8.184	1	0.0194
RAGE2	經調整的 目前年齡	2.431	1.842	3.209	5	0

第4例 +4845 IL-1單核苷酸多形性(SNP)之功能分析

+4845單核苷酸多形性(SNP)係一種非同義型SNP(亦即一天然存在的多形性，其改變胺基酸及導致IL-1a細胞激素中之胺基酸改變)。使用桿狀病毒載體，而在昆蟲細胞
15 中表現該變異體蛋白質，及分析其結構與功能差異。用於在昆蟲細胞與哺乳類動物細胞中表現該蛋白質之變異體cDNA，經序列分析確認僅含有導致一胺基酸改變之一單核苷酸多形性。在此提供有關該單核苷酸多形性之二項數

玖、發明說明

據。

在西方(Western)墨點分析(見第12圖)中，吾等所提供的數據顯示：IL-1a細胞激素的二個變異體係以不同方式進行依鈣蛋白質酵素(calpain)分解處理。已知依鈣蛋白質
5 酵素係一種切割IL-1a細胞激素的全長(31 kDa)以形成成熟蛋白質(17 kDa)之酵素。對偶基因-1(丙胺酸) IL-1a細胞激素產生單一的17 kDa分子；對偶基因-2(絲胺酸) IL-1a細胞激素產生2個帶狀，其中一者的尺寸係與在對偶基因-1的情況下所發現之帶狀相同，但亦產生分子量略大的另一帶
10 狀。該結果顯示該二變異體具有結構上的差異。吾等亦假設丙胺酸至絲胺酸之突變作用，導致該蛋白質的差示性後轉譯修飾作用，例如在磷酸化或十四烷酸化方面之差異。該胺基酸變化可導致用於後轉譯修飾作用的辨認訊息之改變(添加或移除)。

15 發現經表現載體中的ala與ser變異體cDNA穩定地轉移感染的纖維母細胞，具有不同的增生速率。對偶基因-2變異體的生長速率高於對偶基因-1變異體，此係支持吾等有關對偶基因-2可預測一趨炎性特性(見第13圖)之主張。因此，對偶基因-2變異體中經改變的胺基酸，係顯示其效力
20 強於對偶基因-1變異體之一趨炎性細胞激素之證據。

第5例 IL-1A、IL-1B及IL-1RN單核苷酸多形性(SNP)之系統性功能分析

在本實例中，所選擇的IL-1A、IL-1B及IL-1RN單核苷酸多形性(SNP)，係於在其他情況下為“野生型”IL-1序列之

玖、發明說明

一背景中建構，及測量其效應。

藉由報導子-啟動子構築體進行IL-1A、IL-1B、IL-1RN基因啟動子SNP之轉錄作用分析。各基因的數據係置於不同表(亦即分別為第14圖、第15圖及第16圖)中。第14
 5 圖、第15圖及第16圖的A部份(及第15D圖)顯示在不同的螢光素酶構築體中所產生之的單核苷酸多形性與各種對偶基因-2突變作用，及亦顯示以轉移感染分析中所研究的SNP加以註解之啟動子-螢光素酶構築體的不同長度。此外，吾等亦提供僅針對功能性SNP所進行之螢光素酶分析結果
 10 其顯示相對於野生型(所有基因座的對偶基因-1)之基因轉錄活性之改變。就B基因而言，吾等亦提供在一主鏈中的功能性SNP之數據，其中SNP#14 (-511)與SNP#2 (-31)亦為對偶基因-2。

第6例 IL-1基因簇單核苷酸多形性(SNP)之註解

15 吾等進一部註解整個IL-1基因簇的多形性(見第8至11圖)。如此處所支持者，當該等多形性發生於所建立的IL-1單倍體型之內(見第1至7圖)時，其等提供本申請案所支持的組成物與方法。

等效物及併入本案以為參考資料

20 嫻熟技藝者將瞭解(或僅使用例行實驗即可確認)，此述之特定多肽、核酸、方法、分析及試劑的多種等效物。該等效物係視作位於本發明的範疇內，及由下列申請專利範圍涵蓋之。

本申請案包括已知教材、發表文獻及專利本申請案以

玖、發明說明

及所頒證的美國與他國專利之眾多引述。所有引述的完整內容皆在此併入本案以為參考資料。

【圖式簡單說明】

第1圖係以示意圖方式呈現IL-1基因簇點位中之代表性
5 性單核苷酸多形性(SNP)的連鎖不平衡。

第2圖(A與B)顯示IL-1基因簇中之代表性單核苷酸多
形性之連鎖不平衡的代表性數值(D'值示於對角線下方)及
其統計顯著性(1-p值示於對角線上方)。

第3圖(A與B)顯示IL-1單倍體型第1模式(hap 1)之單核
10 苷酸多形性的組織(T-T-C=2_2_1)。

第4圖(A與B)顯示IL-1單倍體型第2模式(hap 2)之單核
苷酸多形性的組織(G-C-T=1_1_2)。

第5圖(A與B)顯示IL-1單倍體型第3模式(hap 3)之單核
苷酸多形性的組織(G-C-C=1_1_1)。

15 第6圖(A與B)顯示IL-1單倍體型第4模式(hap 4)之單核
苷酸多形性的組織(C-C-C=1_1_1)。

第7圖(A與B)顯示處於強烈的連鎖不平衡及不特定地
涵蓋於連鎖不平衡(LD)表中之單核苷酸多形性。

第8圖顯示IL-1A基因多形性之本體與位置。

20 第9圖顯示IL-1B基因多形性之本體與位置。

第10圖(A與B)顯示IL-1RNic基因多形性之本體與位置。

第11圖顯示IL-1RNsec基因多形性之本體與位置。

第12圖顯示對應於IL-1A+4845的對偶基因1與2之IL-1
 α 變異體在藉由依鈣蛋白酶(calpain)切開方面之差異。

玖、發明說明

第13圖顯示由表現IL-1+4845的對偶基因1與2變異體之載體穩定轉移感染的纖維母細胞之增殖速率。

第14圖(A與B)顯示IL-1A單核苷酸多形性構築體(A)的基因型，及在一纖維母細胞系中之選擇性報導子活性(B)。

5 第15圖(A、B、C與D)顯示IL-1B單核苷酸多形性構築體(A)的基因型，及在一纖維母細胞系中之選擇性報導子活性(B)；以及在第14與15位置具有對偶基因2之另一組IL-1B構築體(C)的基因型，及在一纖維母細胞系中之選擇性報導子活性(D)。

10 第16圖(A與B)顯示IL-1RN單核苷酸多形性構築體(A)的基因型，及在一纖維母細胞系中之選擇性報導子活性(B)。

第17圖顯示IL-1基因簇之圖譜。在數據的上方與下方提供尺寸桿(以kb為單位)，以利於比對。

15 第18圖顯示IL-1群之10個已知成員的3個共通外顯子(exon)編碼序列之比對。

第19圖顯示IL-1基因簇內所挑選的多形性標記之圖譜位置。

【圖式之主要元件代表符號表】

無

肆、中文發明摘要

本發明提供與來自間白素-1(IL-1)基因簇(包括在IL-1基因座內所發現的新穎IL-1類型基因以及該等基因內的多形性與相關聯的單倍體型)基因資訊的辨識與使用相關之方法與組成物。本發明藉此擴展自IL-1基因座(其包含先前辨識的IL-1 α 、IL-1 β 及IL-1RN基因)可取得之有用的基因資訊清單，以用於預測IL-1的相關聯表現型(如發炎疾病風險之增加或降低)。

伍、英文發明摘要

The invention provides methods and compositions relating to identification and use of genetic information from the IL-1 gene cluster-including the structure and organization of novel IL-1-like genes found within the IL-1 locus as well as polymorphisms and associated haplotypes within these genes. The invention thereby expands the repertoire of useful genetic information available from the IL-1 locus-which contains the previously-identified IL-1 α , IL-1 β and IL-1RN genes, for predicting IL-1 associated phenotypes (e.g. increased or decreased risks of inflammatory disease).

拾、申請專利範圍

1. 一種用於測定一個體是否已罹患或具有素因罹患與一IL-1發炎性單倍體型相關聯的一疾病或狀況之方法，其包括偵測如第1、2A、2B、7A或7B圖中任一者所示之一IL-1對偶基因。
- 5 2. 如申請專利範圍第1項之方法，其中偵測第1、2A、2B、7A或7B圖中任一者所包括之至少二個對偶基因。
3. 如申請專利範圍第2項之方法，其中該二個對偶基因之連鎖不平衡數值(D')至少為0.5。
4. 如申請專利範圍第2項之方法，其中該二個對偶基因之連鎖不平衡數值(D')至少為0.6。
- 10 5. 如申請專利範圍第2項之方法，其中該二個對偶基因之連鎖不平衡數值(D')至少為0.6。
6. 如申請專利範圍第2項之方法，其中該二個對偶基因之連鎖不平衡數值(D')至少為0.7。
- 15 7. 如申請專利範圍第2項之方法，其中該二個對偶基因之連鎖不平衡數值(D')至少為0.8。
8. 如申請專利範圍第2項之方法，其中該二個對偶基因之連鎖不平衡數值(D')至少為0.9。
9. 一種用於測定一個體是否已罹患或具有素因罹患與一IL-1發炎性單倍體型表現型相關聯的一疾病或狀況之方法，其包括偵測如第3A、3B、4A、4B、5A、5B、6A或6B圖中任一者所示之一IL-1單倍體型的一特徵性模式。
- 20 10. 如申請專利範圍第9項之方法，其中該IL-1單倍體型包

拾、申請專利範圍

含如第3A與3B圖所示之一hap 1模式。

11. 如申請專利範圍第9項之方法，其包括偵測具hap 1模式
T_T_C/2_2_1之三個對偶基因。
12. 如申請專利範圍第9項之方法，其中該IL-1單倍體型包
5 含如第4A與4B圖所示之一hap 2模式。
13. 如申請專利範圍第9項之方法，其包括偵測具hap 2模式
G_C_T/1_1_2之三個對偶基因。
14. 如申請專利範圍第9項之方法，其中該IL-1單倍體型包
含如第5A與5B圖所示之一hap 3模式。
- 10 15. 如申請專利範圍第9項之方法，其包括偵測具hap 3模式
G_C_C/1_1_1之三個對偶基因。
16. 如申請專利範圍第9項之方法，其中該IL-1單倍體型包
含如第6A與6B圖所示之一hap 4模式。
17. 如申請專利範圍第9項之方法，其包括偵測具hap 4模式
15 C_C_C/1_1_a之三個對偶基因。
18. 一種用於偵測一IL-1多形性之IL-1聚核苷酸序列，其包
括如第8、9、10A、10B或11圖中任一者所示之一單核
苷酸多形性(SNP)序列的至少12個鄰接核苷酸之一新穎
核酸或其互補體。
- 20 19. 如申請專利範圍第18項之IL-1聚核苷酸序列，其中該
新穎核酸序列包括如第8、9、10A、10B或11圖中任一
者所示之一SNP序列的至少14個鄰接核苷酸或其互補體。
20. 如申請專利範圍第18項之IL-1聚核苷酸序列，其中該
新穎核酸序列包括如第8、9、10A、10B或11圖中任一

拾、申請專利範圍

者所示之一SNP序列的至少17個鄰接核苷酸或其互補體。

21. 如申請專利範圍第18、19或20項中任一項之IL-1聚核苷酸序列，其中該SNP序列係選自下列群中之一IL-1A SNP：IL-1A SNP #1、IL-1A SNP #2、IL-1A SNP #3、
 5 IL-1A SNP #4、IL-1A SNP #9、IL-1A SNP #10、IL-1A SNP #11、IL-1A SNP #14、IL-1A SNP #15、IL-1A SNP #16、IL-1A SNP #19、IL-1A SNP #24、IL-1A SNP #25、IL-1A SNP #30、IL-1A SNP #31、IL-1A SNP #33及IL-1A SNP #34。
- 10 22. 如申請專利範圍第18、19或20項中任一項之IL-1聚核苷酸序列，其中該SNP序列係選自下列群中之一IL-1B SNP：IL-1B SNP #1、IL-1B SNP #2、IL-1B SNP #3、IL-1B SNP #4、IL-1B SNP #5、IL-1B SNP #6、IL-1B SNP #7、IL-1B SNP #8、IL-1B SNP #9、IL-1B SNP
 15 #17、IL-1B SNP #19、IL-1B SNP #35及IL-1B SNP #38。
23. 如申請專利範圍第18、19或20項中任一項之IL-1聚核苷酸序列，其中該SNP序列係選自下列群中之一IL-1RNic SNP：IL-1RNic SNP #14、IL-1RNic SNP #18、IL-1RNic SNP #21、IL-1RNic SNP #22、IL-1RNic SNP
 20 #26、IL-1RNic SNP #29、IL-1RNic SNP #30、IL-1RNic SNP #31、IL-1RNic SNP #32、IL-1RNic SNP #33、IL-1RNic SNP #34、IL-1RNic SNP #35、IL-1RNic SNP #36、IL-1RNic SNP #37、IL-1RNic SNP #38、IL-1RNic SNP #40、IL-1RNic SNP #42、IL-

拾、申請專利範圍

1RNic SNP #43、IL-1RNic SNP #65、IL-1RNic SNP #67、IL-1RNic SNP #68及IL-1RNic SNP #82。

24. 如申請專利範圍第18、19或20項中任一項之IL-1聚核苷酸序列，其中該SNP序列係選自下列群中之一IL-

5 1RNsec SNP：IL-1RNsec SNP #67、IL-1RNsec SNP #68、IL-1RNsec SNP #82及IL-1RNsec SNP #93。

25. 一種用於分析IL-1基因型之套組，其包括至少二個如申請專利範圍第18、19或20項中任一項之聚核苷酸。

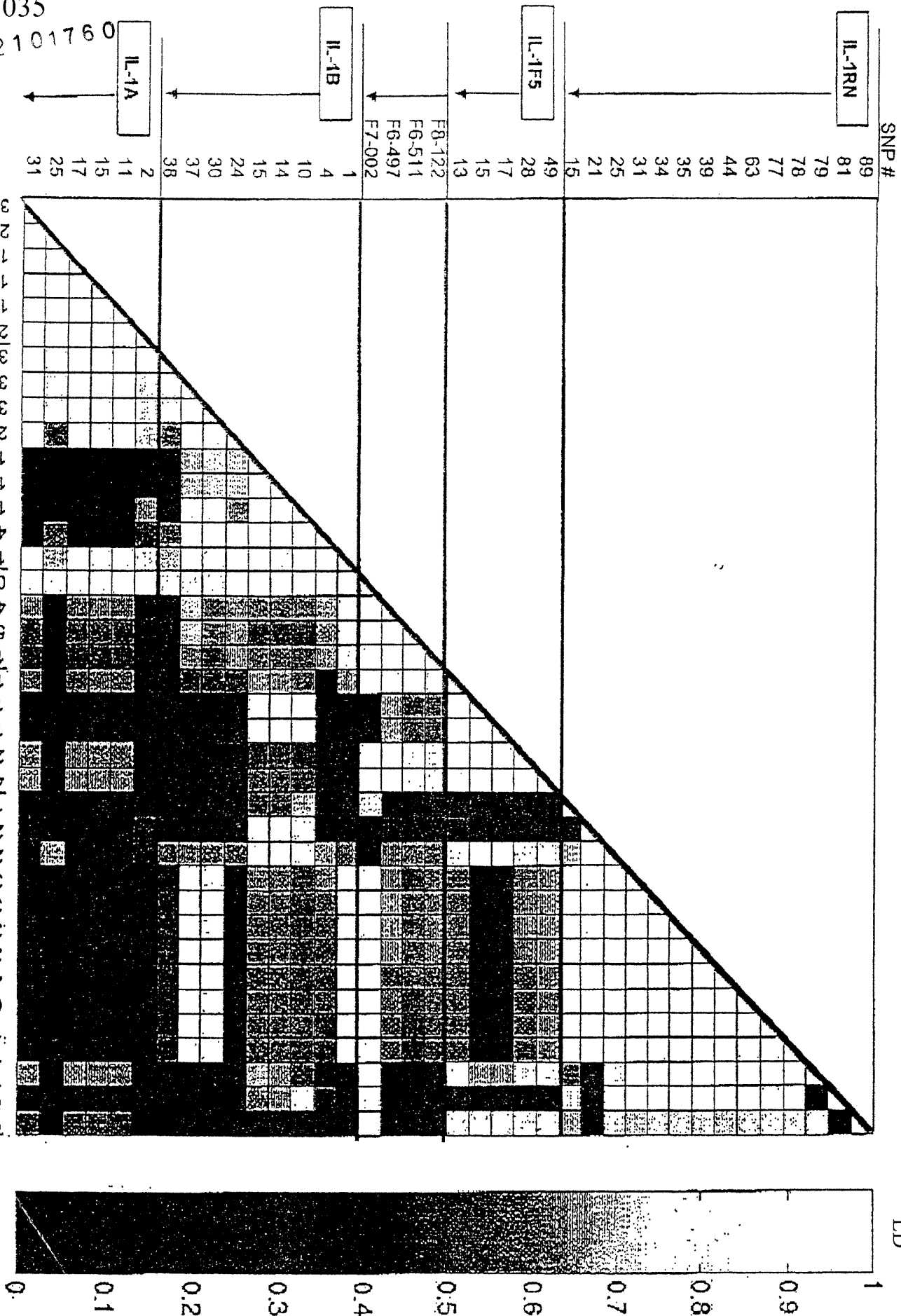
26. 一種用於分析IL-1基因型之套組，其包括由至少12個
10 選自下列群中的鄰接核苷酸所組成之至少二個聚核苷酸：IL-1A SNP #1、IL-1A SNP #2、IL-1A SNP #3、IL-1A SNP #4、IL-1A SNP #9、IL-1A SNP #10、IL-1A SNP #11、IL-1A SNP #14、IL-1A SNP #15、IL-1A SNP #16、IL-1A SNP #19、IL-1A SNP #24、IL-1A
15 SNP #25、IL-1A SNP #30、IL-1A SNP #31、IL-1A SNP #33、IL-1A SNP #34、IL-1B SNP #1、IL-1B SNP #2、IL-1B SNP #3、IL-1B SNP #4、IL-1B SNP #5、IL-1B SNP #6、IL-1B SNP #7、IL-1B SNP #8、IL-1B SNP #9、IL-1B SNP #17、IL-1B SNP #19、IL-1B SNP #35
20 、IL-1B SNP #38、IL-1RNic SNP #14、IL-1RNic SNP #18、IL-1RNic SNP #21、IL-1RNic SNP #22、IL-1RNic SNP #26、IL-1RNic SNP #29、IL-1RNic SNP #30、IL-1RNic SNP #31、IL-1RNic SNP #32、IL-1RNic SNP #33、IL-1RNic SNP #34、IL-1RNic SNP

拾、申請專利範圍

#35、IL-1RNic SNP #36、IL-1RNic SNP #37、IL-1RNic SNP #38、IL-1RNic SNP #40、IL-1RNic SNP #42、IL-1RNic SNP #43、IL-1RNic SNP #65、IL-1RNic SNP #67、IL-1RNic SNP #68、IL-1RNic SNP #82、IL-1RNsec SNP #67、IL-1RNsec SNP #68、IL-1RNsec SNP #82及IL-1RNsec SNP #93。

5

第 1 圖



第 2A 圖

SNP	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
2	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
3	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
4	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
5	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
6	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
7	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
8	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
9	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
10	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
11	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
12	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
13	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
14	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
15	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
16	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999	0.999
17	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999	0.999
18	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999	0.999
19	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1	0.999
20	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1

注：對角線上方的數值係代表 $1-p$ (其中 p 為卡方(chi-square)之顯著性)。對角線下方的數值係代表 D' 值。

第2B圖		連鎖不平衡(D')數值及其等位基因在H-1基因座的代表性SNP之間的統計顯著性																																			
SNPs		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39																	
1	0.3475	0.3584	0.6609	0.6957	0.0502	0.3759	0.2999	0.3054	0.2865	0.2829	0.2903	0.2642	0.2572	0.2592	0.2566	0.6685	0.0718	0.5657	0.5741																		
2	0.1404	0.1515	0.1861	0.2174	0.0036	0.3596	0.2762	0.3923	0.4023	0.407	0.4433	0.4148	0.3988	0.4151	0.4472	0.2321	0.1028	0.1222	0.1267																		
3	0.3619	0.3719	0.6622	0.6984	0.0197	0.3465	0.3617	0.2965	0.2767	0.2732	0.2806	0.2604	0.2509	0.2693	0.2416	0.6605	0.085	0.6043	0.5119																		
4	0.408	0.4218	0.6569	0.6861	0.0281	0.382	0.3914	0.3128	0.2914	0.2855	0.2955	0.2739	0.2636	0.2618	0.2488	0.6541	0.1069	0.5979	0.6957																		
5	0.3475	0.3584	0.6609	0.6957	0.0502	0.3759	0.2999	0.3054	0.2865	0.2829	0.2903	0.2642	0.2572	0.2592	0.2566	0.6685	0.0718	0.5657	0.5741																		
6	0.0691	0.1112	0.1442	0.1497	0.0139	0.4911	0.4367	0.2589	0.2418	0.2177	0.2436	0.2213	0.1768	0.1433	0.1038	0.0322	0.1767	0.1226	0.1324																		
7	0.1374	0.1604	0.2201	0.2481	0.0086	0.3901	0.6449	0.465	0.4734	0.4772	0.4802	0.4935	0.4695	0.4998	0.5034	0.7557	0.0879	0.1537	0.1574																		
8	0.0511	0.0695	0.3696	0.3911	0.07	0.3061	0.6449	0.465	0.4734	0.4772	0.4802	0.4935	0.4695	0.4998	0.5034	0.7557	0.0879	0.1537	0.1574																		
9	0.0314	0.075	0.356	0.4156	0.0657	0.3139	0.6442	0.8931	0.892	0.8929	0.892	0.8876	0.8873	0.8909	0.9007	0.892	0.3612	0.0597	0.2698	0.288																	
10	0.0205	0.0559	0.415	0.4338	0.0961	0.2094	0.6239	0.3856	0.379	0.3408	0.3921	0.3439	0.3439	0.8912	0.8909	0.901	0.3916	0.0693	0.2932	0.2992																	
11	1	1	0.5326	0.5824	0.5616	0.8676	0.8447	0.6411	0.6057	0.5956	0.5816	0.5655	0.5815	0.5841	0.5798	0.5901	0.6923	0.6377	0.4049	0.4459																	
12	1	1	0.5156	0.5853	0.5683	0.8669	0.8465	0.6391	0.6035	0.5934	0.5793	0.5632	0.5818	0.5775	0.5878	0.6446	0.641	0.4048	0.4601	0.4601																	
13	1	1	0.4785	0.5346	0.7152	0.769	0.8137	0.5437	0.5398	0.5398	0.5319	0.518	0.5518	0.558	0.5557	0.555	0.7765	0.2871	0.3202	0.3202																	
14	0.1933	0.17	0.0947	0.1148	0.3034	0.1834	0.6785	0.6419	0.6038	0.574	0.551	0.531	0.5651	0.5355	0.5597	0.1164	0.4983	0.0587	0.0052	0.0052																	
15	0.1901	0.2258	0.2863	0.3271	0.0244	0.3521	0.6167	0.8784	0.8818	0.8822	0.8825	0.8747	0.8757	0.8944	0.8891	0.3124	0.0318	0.3114	0.2696	0.2696																	
16	0.07	0.1141	1	1	0.8263	0.2531	0.0164	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.8726	1	1	1																	
17	0.6779	0.6775	0.8401	0.8514	0.2268	0.4928	0.6256	0.6544	0.6883	0.6924	0.6763	0.5932	0.628	0.6034	0.5978	0.3968	0.2508	0.4331	0.425	0.425																	
18	0.5665	0.5657	0.8101	0.8266	0.242	0.341	0.6167	0.5441	0.5887	0.5933	0.5729	0.5932	0.5391	0.51	0.5018	0.369	0.25	0.4156	0.4066	0.4066																	
19	0.5399	0.5354	0.801	0.8095	0.0964	0.4239	0.6028	0.6143	0.6167	0.6462	0.6318	0.5628	0.5962	0.573	0.5669	0.3527	0.2907	0.3692	0.3689	0.3689																	
20	1	1	1	1	0.1731	0.4708	0.7357	0.1186	0.1638	0.6115	0.6028	0.569	0.5868	0.5913	0.584	0.344	0.1041	0.7722	0.8022	0.8022																	
21	1	1	1	1	0.409	0.0342	1	0.1166	0.1638	0.6115	0.6028	0.569	0.5868	0.5913	0.584	0.344	0.1041	0.7722	0.8022	0.8022																	
22	1	1	1	1	0.3903	0.0305	1	0.0936	0.1111	0.6704	0.0894	0.0771	0.1224	0.1837	0.1467	0.7023	0.3066	0.8853	0.8786	0.8786																	
23	1	1	1	1	0.424	0.3081	0.8146	0.6153	0.6183	0.6432	0.6372	0.5882	0.606	0.6036	0.6026	0.8187	0.0187	0.8162	0.8358	0.8358																	
24	1	1	1	1	0.4026	0.3062	0.8302	0.6562	0.675	0.6799	0.6745	0.6227	0.6391	0.6637	0.6422	0.8338	0.0078	0.8344	0.8456	0.8456																	
25	0.078	0.092	0.999	0.984	0.841	0.972	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.5969	0.8335	0.7108	0.7028																	
26	0.227	0.166	0.958	0.984	0.841	0.972	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.4997	0.347	0.4189	0.4801																	
27	0.0984	0.093	1	1	0.997	0.972	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.8176	0.8652	0.8072	0.7888																	
28	0.237	0.202	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.7218	0.7877	0.7877																	
29	0.401	0.206	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.7422	0.8015	0.8015																	
30	0.318	0.187	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.741	0.8004	0.8004																	
31	0.356	0.211	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.741	0.8004	0.8004																	
32	0.3172	0.165	0.998	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.725	0.7872	0.7872																	
33	0.398	0.287	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.7393	0.7993	0.7993																	
34	0.552	0.414	0.992	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.7463	0.8038	0.8038																	
35	0.436	0.387	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.7456	0.8038	0.8038																	
36	0.979	0.978	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.9064	0.9064	0.9064																	
37	0.825	0.788	0.069	0.003	1	0.975	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.0737	0.0942	0.0942																	
38	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.9662	0.9662	0.9662																	
39	0.997	0.998	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.998	1	1																	
注		對角線上方的數值代表1-p(其中p為卡方(chi-square)之顯著性)。對角線下方的數值代表D'值。																																			

注 對角線上方的數值代表D' (其中D為卡方(chi-square)之顯著性)。對角線下方的數值代表D'值。

第3A圖		IL-1單倍體型上的特定核苷酸之組織 (第1) 模式TC=2, 2, 1																					
CTC Loc		15191	11079	10963	8099	6103	5342	4725	2467	14231	13921	12564	10965	10688	6970	6490	5521	3243	1824	7	7		
IL6αV SNPs		↑																					
HAP株名						A-889							B-3954		b-31	b-31111111		b-3737					
CTC SNP #																							
	IL-A31	11A26	IL-A23	IL-A17	LC615		IL-A11	IL-A2					IL-B30	IL-B25	IL-B24	IL-B15	IL-B14	IL-B10	IL-B4	IL-B1	SC02	SC97	SC11
9,25291	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
3,0708	A	C	A	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
1,81561	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
1,21456	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,63352	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,63874	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C
0,61728	A	T	C	A	T	C	C	T	C	C	A									C	G	G	C

第 3B 圖

第3B圖		IL-1單倍體型上的特定核苷酸之組織 第1) 模式TTC=2 2 1																				
GTC Loc		3872	3428	5711	8093	12412	2231	3763	4543	6493	6742	6953	7156	9239	18726	18792	20077	20311	20418	20579	21822	
H.G.N.SNPs																						
HAP株名																						
GTC SNF #																						
	9.23391	C	IL13	IL15	IL17	IL28	IL49	RA15	RA21	RA23	RA31	RA34	RA35	RA39	RA44	RA61	RA63	RA77	RA78	RA79	RA81	RA83
	3.0709	C	T	A	C	T	T	T	C	C	G	A	G	T	T	G	T	A	T	A	A	C
	1.81564	C	C	A	G	C	C	G	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	1.23436	G	C	A	C	C	T	G	C	T	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	0.63152	G	C	A	C	C	T	T	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	0.63871	C	C	T	A	C	T	G	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	0.61728	C	T	T	A	C	T	T	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	0.61728	C	T	A	C	C	T	T	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	0.30864	C	T	A	C	C	T	G	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	0.30864	C	T	C	G	C	T	G	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	0.30864	C	T	C	G	C	T	G	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	0.30864	C	T	A	C	C	G	C	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T
	19.75304	C	C	T	T	C	G	G	C	C	G	A	G	T	A	G	G	T	A	A	G	T

765

第4B圖		IL-1單倍體型上的特定核苷酸之組織 第2) 模式GCT=1_1_2																				
GTC Loc		3672	5128	5711	8093	12412	22351	3763	4543	6593	6742	6953	7156	9239	18726	18792	20097	20111	20118	20539	21822	
ILGN SVIS																						
HAP標章															RA201B							
GTC SVP	Freq	SI123	IL113	IL115	IL117	IL128	IL149	RA15	RA21	RA25	RA31	RA34	RA35	RA39	RA44	RA61	RA63	KA77	RA78	RA79	HAP標章	
	8.13959C	T	T	A	T	C	C	C	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	RA81
	2.85817C	T	T	A	T	C	C	T	C	C	G	A	G	A	T	T	G	T	A	A	A	T
	1.33693C	T	T	A	T	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	A	A	C	A	A	A	C
	1.34783C	T	T	A	T	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	A	A	C	T	A	A	C
	1.23156G	T	T	A	T	T	T	T	C	T	G	A	T	T	A	T	G	T	A	T	A	C
	1.23156C	T	T	A	T	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	A	A	C	A	A	A	T
	0.31241C	T	T	A	T	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	T
	0.61728C	T	T	A	T	C	C	T	C	C	C	A	A	T	A	T	G	T	A	A	A	T
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	T
	0.61728C	T	T	A	T	C	C	T	C	C	C	A	A	T	A	T	G	T	A	A	A	T
	0.61728C	T	T	A	T	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	A	A	T	A	T	G	T	A	A	A	T
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	C
	0.61728G	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A</	

[illegible]

[illegible]

• •

[illegible]

第 6 B 圖

[illegible]

未包括在LD表及LD及/或HAP區段圖中之SNP清單。該等SNP與LD表中
所包括的一或多個SNP係處於強烈的連鎖不平衡(LD)。

基因	STC SNP/位址#*	具有0.9 LD以上之位址組合
IL-1A	1	1與2
	3	2與3
	5	4與5
	10	9與10
	12	11與12
	14	13與14
	16	15與16
	19	18與19
	26	25與26
	32	31與32
	34	33與34
IL-1B	2	1與2
	3	3與4
	5	4與5
	6	5與6
	7	6與7
	8	7與8
	9	8與9
	17	高異型接合性及訊息性
IL-1F5	5	5與6
	7	6與7
	9	8與9
	10	9與10
	11	10與11
	14	13與14
	22	21與22
	23	22與23
	24	23與24
	27	27與28
	29	28與29
	35	高異型接合性及訊息性
	36	36與37
	38	高異型接合性及訊息性
	40	高異型接合性及訊息性
	43	高異型接合性及訊息性
	45	高異型接合性及訊息性
	48	47與48
	50	49與50
	51	高異型接合性及訊息性
	54	54與55
56	56	55與56
	57	56與57

第 7A 圖

基因	STC SNP/位址#*	具有0.9 LD以上之位址組合
IL-1RN	14	14與15
	19	高異型接合性及訊息性
	22	21與22
	30	30與31
	36	35與36
	37	高異型接合性及訊息性
	38	37與38
	40	39與40
	43	43與44
	62	62與63
	64	高異型接合性及訊息性
	76	76與77
	82	81與82

*註：在該欄中的數字代表 SNP 於 GTC 序列板(包括4個基因)中之位置。例如，在基因 IL-A 中，位址#1，3及5分別對應 GTC 圖譜中之 SNP 位址2346、2505及3116。

第 7B 圖

IL-1 α

SNP #	GTC 位置	在IL-1 α 基因 中之位置	相對於 +1	區域	CDN A	位置	AA#	突變作用	類型	%	SNP序列
1	2346	1553	-3885	343903		啟動子			C/T	C=98% T=2%	GCATGAGCCAGCGACACCCAGCCACT
2	2467	1674	-3764	343782		啟動子			C/T	C=62 T=38	TGAAGTAAAGCTCAAGAAATTA
3	2505	1712	-3726	343744		啟動子			T/C	T=98 T=2	CACAGCTCAATTAATTAATTCAT
4	2623	1830	-3608	343626		啟動子			G/A	G=62 A=38	CATATCTGGAAACCTCAATAA
5	3116	2323	-3115	343133		啟動子			C/T	C=26 T=74	AAAAGTATATTTTCTCTCATCA
6	3475	2682	-2756	342774		啟動子			C/T	C=66 T=34	TCTTATTAAGCCATCAGTTGGTG
9	3962	3169	-2269	342287		啟動子			G/A	G=70 A=30	CGAGAGGTGGTGGCTGAAGCCACC
10	4113	3320	-2118	342136		啟動子			C/T	C=98 T=2	TGTTACAGTCCAGAAAGCGGGC
11	4725	3932	-1506	341504		啟動子			C/T	C=68 T=32	TAAAGAGGA/CCAAGTTAAGCAGAA
12	5029	4236	-1202	341220		啟動子			C/T	C=78 T=22	ACACAAAGCTGCTTCTCCAGATC
13	5342	4549	-889	340907		啟動子			C/T	C=72 T=28	CCAGGCACACGATTTGAAGGCTC
14	6377	5583	+145	340907		內含子1			C/T	C=78 T=22	AAAGCTACAGCCCTCTCTTCTT
15	6483	5689	+251	339766		內含子1			T/A	T=66 A=34	CTGATTCCTTTTACTGAGGAGCG
16	6495	5701	+263	339754		內含子1			C/A	G=70 A=30	ACTGAGGGACCGCAGAACTAGTTTC
17	8099	7302	+1864	338150		內含子3			A/C	A=66 C=34	ACTGAGGGACCGCAGAACTAGTTTC
18	8127	7330	+1892	338122		內含子3			G/A	G=72 A=28	CTCAGTAGAGGTCCAGAGACCT
19	9058	8260	+2822	337191	290	外顯子4	85	R $\rightarrow$ Q	G/A	G=98 A=2	AAQAAAGAGACGGTTGAAGTTT
24	10950	10153	+4718	335286		內含子4			A/C	A=78 C=22	TCGGATTGGMAATATTCCTA
25	10963	10166	+4728	335286		內含子4			T/C	T=72 C=28	ATTCTAATAATCCCTCCAG
26	11079	10282	+4845	335170	376	外顯子5	114	A $\rightarrow$ S	G/C	G=72 T=28	GCCTAGGTCAGCAGCTTTAG
30	12864	12065	+5627	333385		內含子6			G/C	G=38 C=36 A=26	GGCCCCAGCTAGCCACCCCA
31	15191	14249	+8811	331038		內含子6			A/C	A=68 T=32	CCCTTTCTAACATCTTGTCTCTA
32	15840	14698	+9460	330409	1260	外顯子7 3'UTR			G/A	A=74 G=26	TTTGCTTCNCGCTTTAAGTT
33	15933	15051	+9613	330256	1440	外顯子7 3'UTR			C/T	T=72 C=28	AAATACTCT/CGAAGCCGAGC
34	16129	15187	+9749	330120	1549	外顯子7 3'UTR			C/G	C=96 G=4	CTGAGTGTGACGACGACCTCTC

SNP#	GTC 位置	在 IL-1 β 基因中之位置	相对于 +1	区域	cDNA	位置	AA#	突变作用	類型	%	SNP 序列
1	1824	770	-5164	397483		啟動子			C/T	C=84 T=16	GGCTGGGTCTAGACTTGACAA
2	3029	1975	-3959	396278		啟動子			T/C	T=96 C=4	AGAAAAGACATTAGAGTAGGA
3	3095	2041	-3893	396212		啟動子			G/A	G=70 A=30	TCCAAAGGAA/GGACAAAGTC
4	3243	2189	-3745 (-3737)	396063		啟動子			C/T	C=62 T=38	GGGAGGAGAA/TGGAAATGTTCCTTGACTCT
5	3302	2248	-3686	396005		啟動子			A/G	A=98 G=2	GAAGAAGGCCA/TTGAGATGATG
6	3734	2689	-3254	395573		啟動子			T/C	T=96 C=4	GATTAAGTGGCTGCGAAGCCCATGAT
7	4083	3029	-2905	395224		啟動子			A/G	A=98 G=2	GGAAAGACAGGATCTGATACATAC
8	4594	3540	-2394	394713		啟動子			G/A	G=98 A=2	CCATCAGCTG/GCTTTGATCCCTCT
9	4610	3556	-2378	394697		啟動子			G/A	G=96 A=4	ATCCCTCCTTCGTTGAGCTTGTATC
10	5521	4464	-1470 (-1464)	393786		啟動子			G/C	G=70 C=30	CACCTCCCTG/GATTAATGCAAGGCGAG
14	6490	5421	-511	392812		啟動子			T/C	T=54 C=46	AGAGAGGCTCCATGAGGCAAGAAC
15	6970	5903	-31	392337		啟動子			C/T	C=54 T=46	TTTGAAGAAGCCATTAATAAACAAGGAGGAG
17	7046	5979	+45	392261	43	外顯子1 5'UTR			T/C	T=54 C=46	GCCTGGGATTTCTCTTCAGCCCAATCTTCAT
19	7750	6680	+746	391557		內含子2			C/T	無	ACTACTTTCCACATTACAAAGTCCCTCCAG
24	10988	9810	+3876	388419		內含子4			G/A	G=64 A=36	AAATTTGGCGGCGCTGGGCTCAAGAG
25	10965	9867	3953	388342	401	外顯子5	105	F $\rightarrow$ F	T/C	C=76 T=22	CTATCTTCTTCGACACATGGGATTAAGG
30	12561	11482	+5548	386746		內含子6			G/A	G=78 A=22	CCCTCTCCCGGCCGCCCAATCCCTAGG
35	13517	12440	+6506	385790	997	外顯子7 3'UTR			C/A	C=98 A=2	ATAAGCCTGGAACTTTCCTGTGTCT
37	13921	12845	+6911	385386	1401	外顯子7 3'UTR			G/C	G=78 A=22	CTTTAATTAAAGACTGAAAATATATAAGC
38	14233	13148	+7214	385074					C/T	C=84 T=16	CAATGCACATTTGGAAACAAGATC

SNP#	GTC 位置	在IL-1RN 基因中之 位置#	相对于 +1	区域	CDNA	位置	AAF	突变作用	類型	%	SNP序列
14	2189	11268	-4864	669240					G/A	G=86 A=14	GTTGGGTCAC/GTACCCGACGTGCTA
15	2251	11330	-4744	669277					T/G	T=76 G=24	ACTGTTACAC/GAGCCAGATATGGA
18	3332	12412	-3662	670358					T/G	T=56 G=44	TGTTTGGCTTGTCTTCTCTCTCAGC
19	3576	12657	-3417	670662					A/G	G=80 A=20	AACCTGGGTC/ATGAGTTGTGTGGC
21	3763	12844	-3210	670789					C/T	C=82 T=18	GTTGTGTGT/CTGTGTTTGTGTGTG
22	3803	12896	-3188	670829					G/A	G=98 A=2	GAGAGAAATG/GAATATGAGTGGTGTG
25	4343	13626	-2448	671580					T/C	C=78 T=22	TATCTTCTCTTCCATTTCTGATGC
26	4640	13731	-2343	671634					T/C	T=98 C=2	GTCCACATC/TTGGGGTTGTGATC
29	5534	14616		672560					C/T	C=98 T=2	TGAGGCCAAGG/CGGAAGAAGAACAGGA
30	5992	15073	-1002	673020					T/C	T=74 C=26	CCAGATTAAGC/TCAGGTCCATTTTGC
31	6493	15573	-501	673519					G/C	G=70 C=30	CTCTGAGAG/AGGGCTTCCCTGGCCAC
32	6494	15574	-500	673520					G/A	G=98 A=2	TCTCAGAGAG/GGCTTCCCTGGCCAC
33	6606	15686	-388	673632					C/T	C=70 T=30	TATTTTATTTG/CTAAGTTTGTCTTG
34	6742	15822	-252	673768					A/C	A=70 C=30	GCACACATG/CATGAGCTGGGGCCAG
35	6953	16033	-41	673979					G/A	G=70 A=30	GGGAGGGGAG/GCTGGGCTCTCTCTT
36	7034	16114	+40	674060	36	外編子1 5'UTR			G/A	G=70 A=30	CCGAGGTACT/GCCCGGGGTGCTACTT
37	7090	16170	+96	674116	92	外編子1 5'UTR			G/A	G=74 A=26	GGAAAGACCT/CAGAAAGACCTCTGTC
38	7109	16189	+115	674135	111	外編子1 5'UTR			G/C	G=70 C=30	CCGTGCTAT/GAGGCCCTCCCATG
39	7156	16235	+162	674182		內含子1			T/C	T=70 C=30	TCCTATTTT/TCACCTGAGAAATGA
40	7298	16378	+304	674324		內含子1			A/G	A=70 G=30	GGAGGCATC/CATGGGAGACCATGCA
42	9021	18100	+2027	676047		內含子1			G/T	G=80 T=20	GTGCATACCT/CTGACTGGAAACTGGA
43	9064	18143	+2060	676090		內含子1			G/C	G=70 C=30	AAAGGATAG/AGATGGAAACCATGTGC
44	9239	18316	+2245	676265		內含子1			A/C	A=70 C=30	AGGTTAAATT/ATTTTAAAGATCCAA

IL-1 RNic (續)

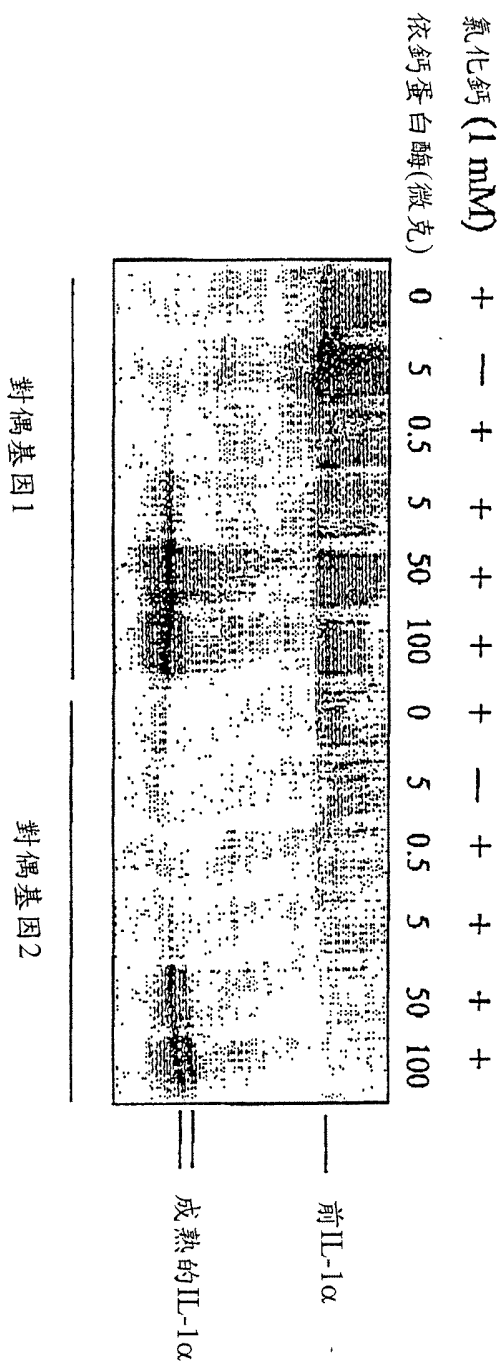
SNP#	GTC 位置	在IL-1RN 基圖中之 位置#	相對於 +1	區域	cDNA	位置	AA#	突變作用	類型	%	SNP序列
61	18726	27810	11732	685752	239	外顯子3	39	A至A	T/C	T=71 C=28	AACTAGTTCCTGATGACTGCAAGG
62	18781	27865	11787	685807		內含子3			T/C	T=74 C=26	GCCAGGAAAGCCAAATGATATGAGGC
63	18792	27876	11797	685818		內含子3			G/A	G=72 A=28	CAATGTATGTGGGCAATCAAGTCACT
64	18813	27897	11819	685839		內含子3			G/C	G=72 C=28	CACCTTGGCCGCTGTCTGTGAGCAAG
65	18841	27938	11860	685860		內含子3			T/G	T=68 G=32	TGCACAAACCCCTAGGTCATGTCTAATC
66	18857	27941	11855	685860		內含子3			A/C	A=72 C=28	AAAOCCTAGGTGCAATGTCTAATC
67	18892	27975	11890	685918		內含子3			T/C	T=96 C=4	TGTATTCAGTTTGAAGCTGGAGG
68	18893	27979	11892	685921		內含子3			G/A	G=98 C=2	ATTCAAGTTTGAAGCTGGAGGAGG
76	20075	28987	13070	687101		內含子3			G/A	G=74 A=26	AAAAATACCCGCGGCTCTTCAATTA
77	20097	29010	13092	687123		內含子3			T/C	T=70 C=30	TTATTGCTGCTTCGCTCTTATTA
78	20314	29124	13307	687337		內含子3			A/T	A=78 T=22	AAACAACCAAAATTTTCTATGA
79	20418	29331	13414	687444		內含子4			T/A	T=58 A=42	GCAAGATGCCCTGGCTTGGCTGGGC
80	20524	29436	13520	687550		內含子4			T/G	T=76 G=24	GCAATGGCGGCTGACTTCCAAAAGGG
81	20579	29491	13575	687605		內含子4			G/A	G=50 A=50	CGCTTATTTGACTTCTGCTTGCAT
82	20618	29531	13614	687644		內含子4			C/T	C=70 T=30	AAAGCAGTCAACGTGGCTAAGTCTAG
89	21822	30735	14618	688848	458	外顯子4	112	S至S	T/C	T=60 C=40	GCTCAGACAG/CGGCCCCACACACAG

第 10 B 圖

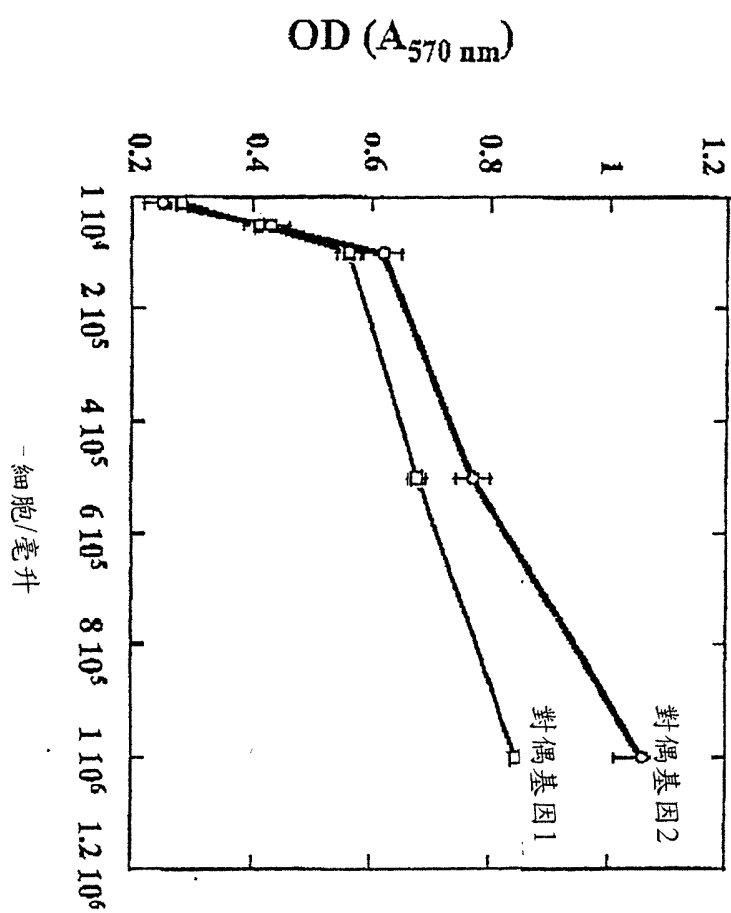
IL-1 RNsec

SNP#	GTC 位置	在IL-1RN 基因中之 檢基序	相對於 +1	區域	cDNA	位置	AA#	突變作用	類型	%	SNP序列
61	18726	27810	2014	685752	194	外編子2	57	A至A	T/C	T=72 C=28	AACTAGTTCCTGGATACCTGCAAGG
62	18781	27865	2069	685807		內含子2			T/C	T=74 C=26	GCCAGGAAAG/CCAATGTAATGTGGGC
63	18792	27876	2080	685818		內含子2			G/A	G=72 A=28	CAATGTAATGTGGGCATCAGCCTACT
64	18813	27897	2101	685839		內含子2			G/C	G=72 C=28	CACCTTCCCG/GTCTGTCTGCAGCCAG
66	18837	27938	2142	685880		內含子2			A/C	A=72 C=28	AAACCTTAGG/TGCCAATGTTCTAATC
67	18892	27976	2180	685918		內含子2			T/C	T=96 C=4	TGTATTCAG/TTTGAAGCTGGGAGG
68	18895	27979	2183	685921		內含子2			G/A	G=98 C=2	ATTCAGTTT/GAAGCTGGGAGGGCC
76	20075	28088	3192	687101		內含子2			G/A	G=74 A=26	AAAAAATACCC/GGGGTCTCTTCAATTA
77	20097	29010	3244	687123		內含子2			T/C	T=70 C=30	TTATGTGCTGCTTCTCTCTATTA
78	20111	29224	3428	687337		內含子2			A/T	A=78 T=22	AAACAACCC/MAATTTTCTTATGA
79	20418	29331	3535	687444		內含子3			T/A	T=58 A=42	GCAAGGTGCG/TGGCTTGGCTGGGC
80	20524	29437	3641	687550		內含子3			T/G	T=76 G=24	GCATGGGCG/CTGACCTCCAAAGGG
81	20579	29492	3696	687605		內含子3			G/A	G=50 A=50	CGCTTATTA/TGACTTCTGCTTGCAT
82	20618	29531	3735	687644		內含子3			C/T	C=70 T=30	AAGCCAGTCA/CGTGGCTAAGTCTAG
89	21822	30735	4939	688848	413	外編子4	130	S至S	T/C	T=60 C=40	GCTCAGACAG/CGGGCCACACCAACAG
90	22104	31017	5221	689130		外編子4			C/G	C=60 G=40	GGCGTCACAA/CAACCTGGTCAACAGG
91	22930	31843	6047	689356		外編子4				插入	CTCCCCACCA/AGGCTGGGAGCTCTG
93	23062	32206	6410	690319		3'UTR			T/C	T=68 C=32	GCAAAAAAGATATGGGGCAGCAGCTG
94	23193	32236	6440	690349					A/G	A=98 G=2	AACAGCCTCT/ACTGGAACCAACCCA
95	23323	31975	6179	690088					A/G	A=96 G=4	AAAGTTCCT/ACTTCTCTGTGACTTC

IL-1 α 變異體藉由依鈣蛋白酶(calpain)之切開作用



以IL-1 α 的對偶基因1與對偶基因2安定地轉移感染之
纖維母細胞的增生速率



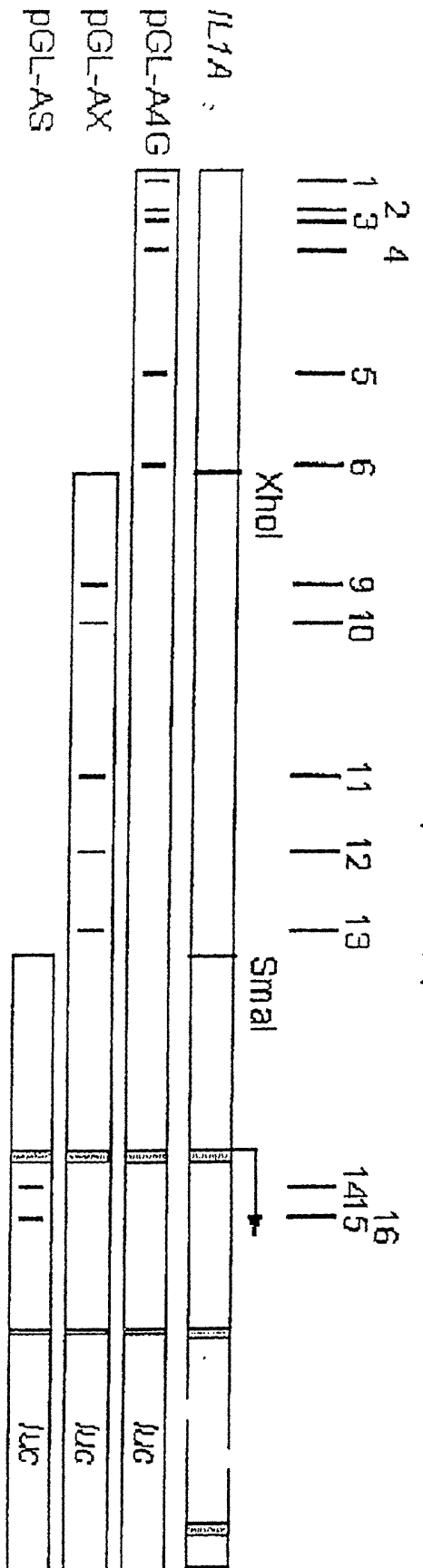
第 13 圖

第 14A 圖

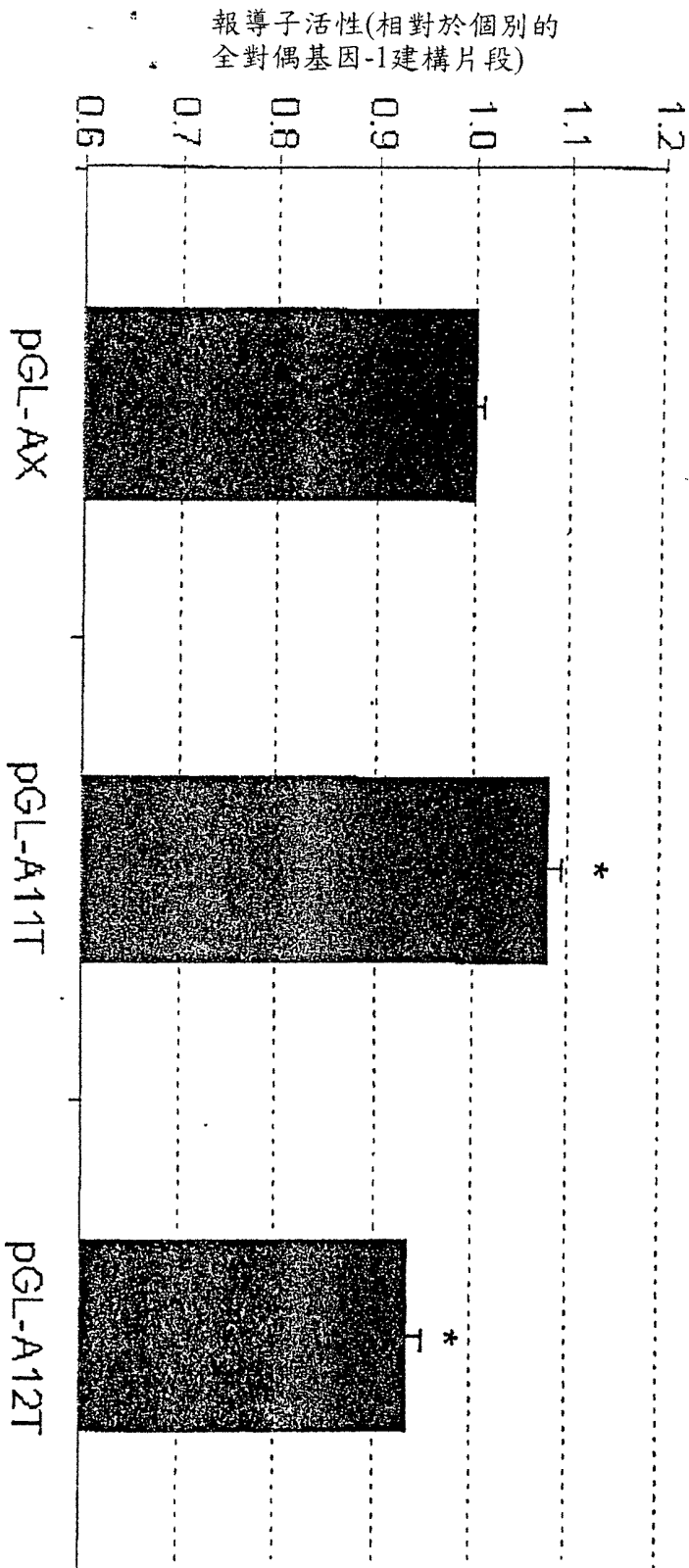
IL1A SNP 建構片段基因型

建構片段/SNP#	1	2	3	4	5	6	9	10	11	12	13	14	15	16
pGL-AL4G	C	C	T	G	T	C	G	C	C	C	C	C	T	G
pGL-A1T	T	C	T	G	T	C	G	C	C	C	C	C	T	G
pGL-A2T	C	T	T	G	T	C	G	C	C	C	C	C	T	G
pGL-A3C	C	C	G	G	T	C	G	C	C	C	C	C	T	G
pGL-A4T	C	C	T	T	T	C	G	C	C	C	C	C	T	G
pGL-A5C	C	C	T	G	G	C	G	C	C	C	C	C	T	G
pGL-A6T	C	C	T	G	T	T	G	C	C	C	C	C	T	G
pGL3-IL1AL3X							G	C	C	C	C	C	T	G
pGL-A9A						A	A	C	C	C	C	C	T	G
pGL-A10T						G	G	T	C	C	C	C	T	G
pGL-A11T						G	C	T	C	C	C	C	T	G
pGL-A12T						G	C	C	T	C	C	C	T	G
pGL-A13T						G	C	C	T	T	C	C	T	G
pGL3-IL1AL3SX												C	T	G
pGL-A14T											T	T	G	G
pGL-A15A											A	A	G	G
pGL-A16A											C	T	A	A

A



B

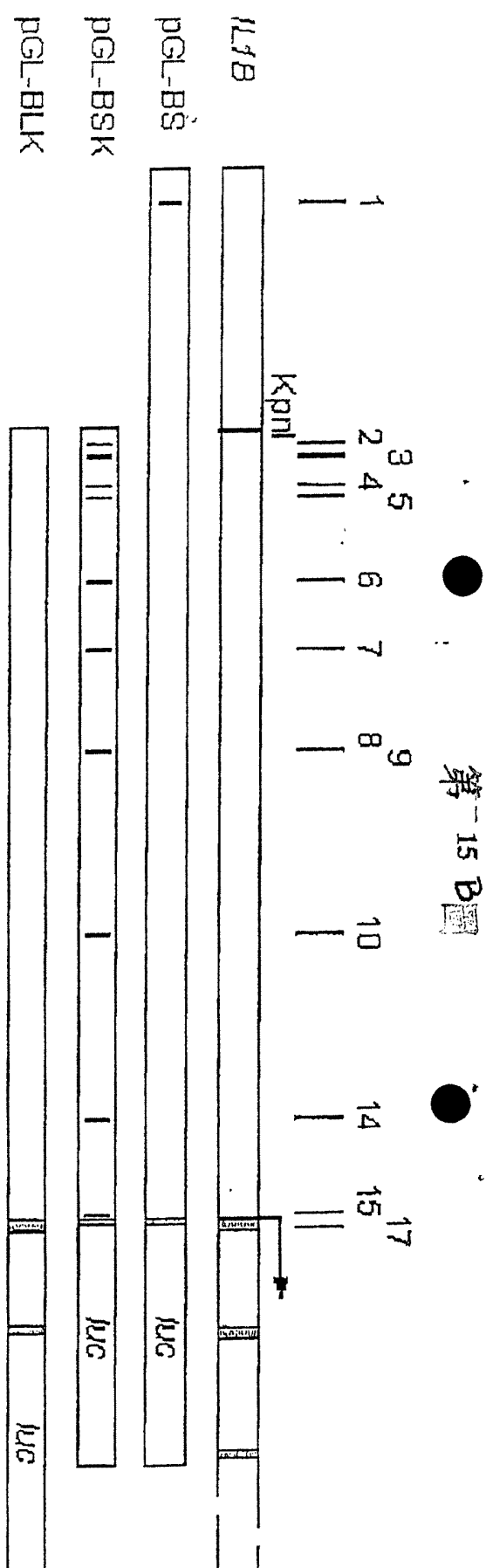


第 15 A 圖

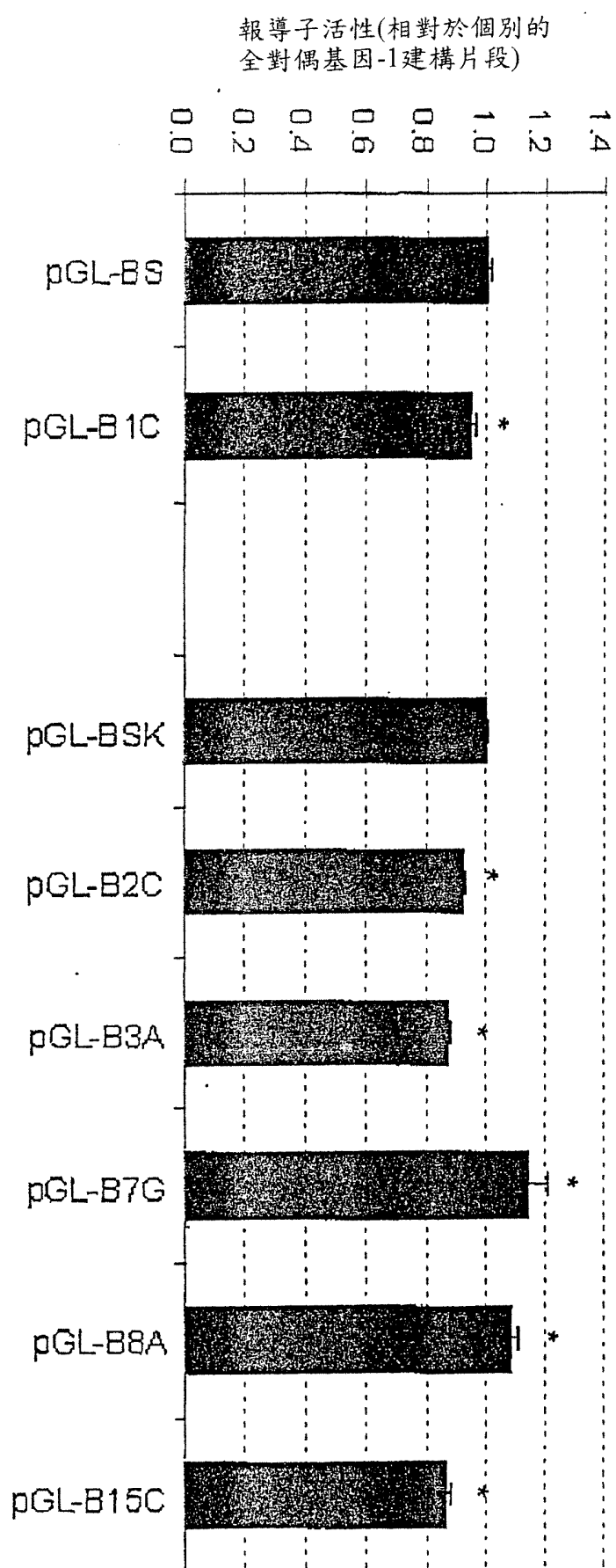
IL1B SNP建構片段基因型

建構片段/SNP#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	15	17
pGL3-IL1BS	T	T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B1C	G	T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL3-IL1BS3KM		C	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B2C		T	A	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B3A		T	G	T	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B4T		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B5G		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B6C		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B7G		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B8A		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B9A		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B10C		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B14T		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL-B15C		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	
pGL3-IL1BL3KM		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	C
pGL-B17T		T	G	C	A	T	A	G	G	G	C	T	T

A

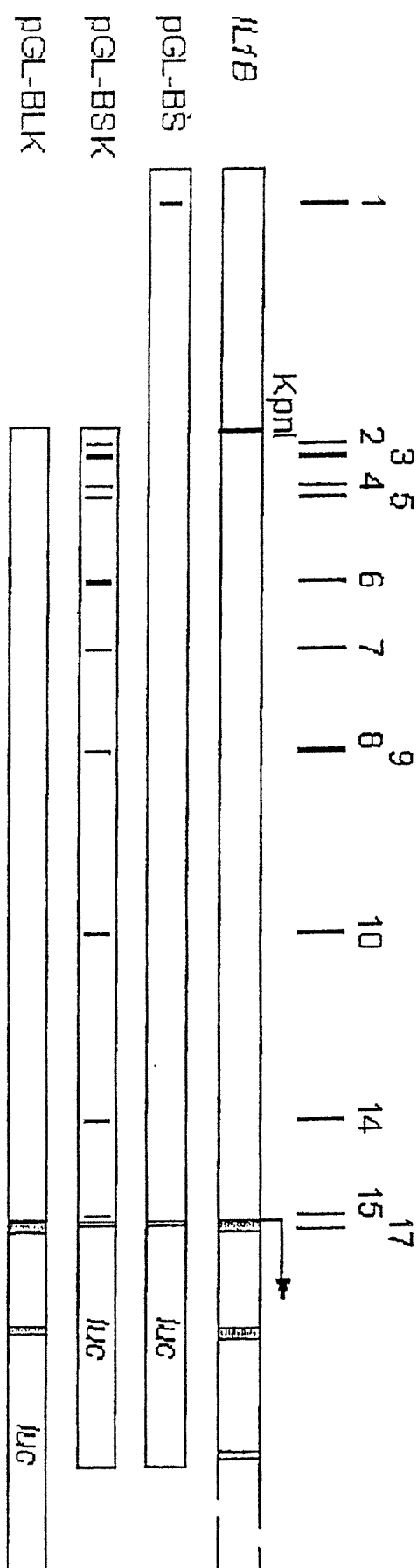


B



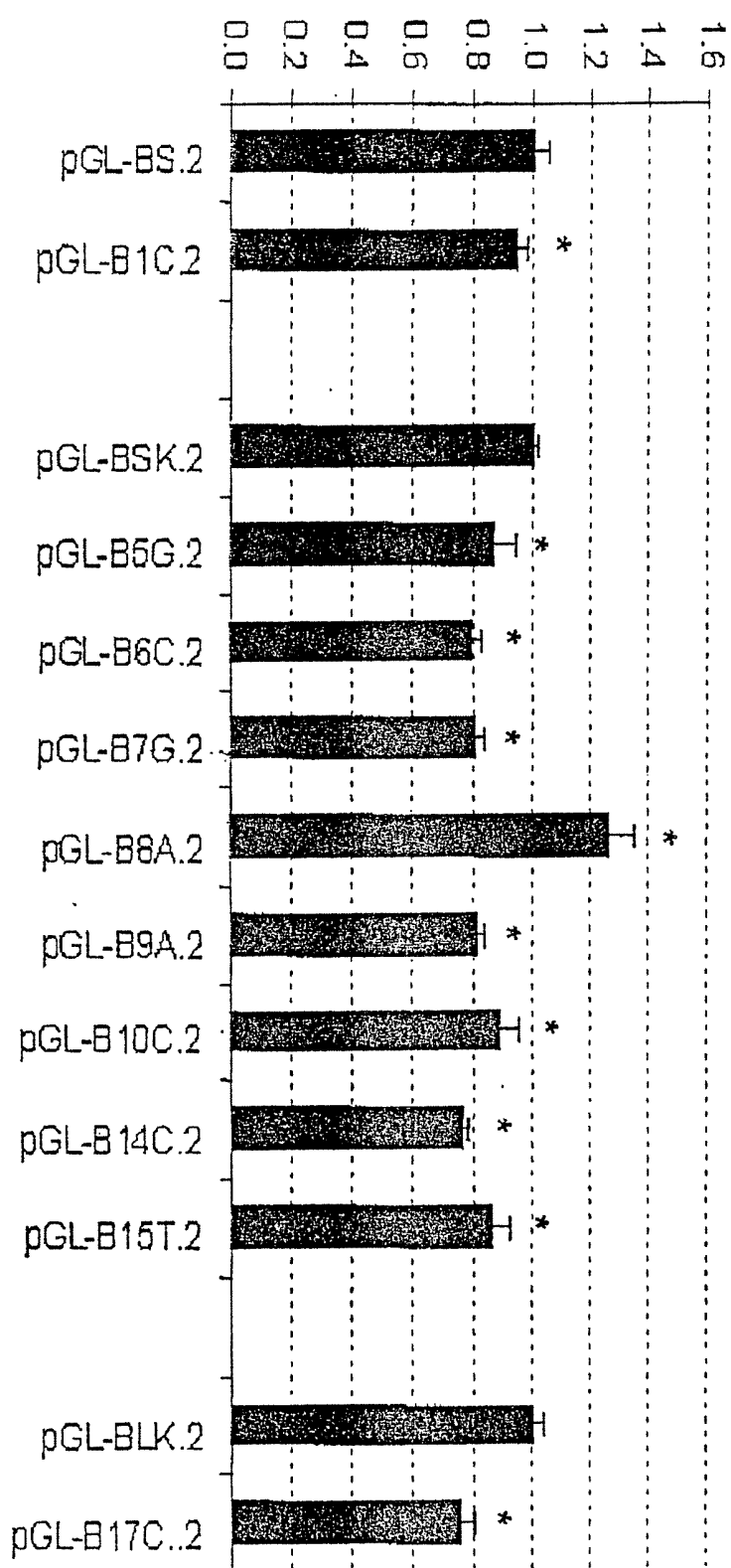
IL1B啟動子SNP建構片段

A



B

報導子活性(相對於具有位於
14 & 15的對偶基因2之個別的
全對偶基因-1建構片段)



IL1B啟動子SNP建構片段(位於14與15之對偶基因2)

第 15 圖

IL1B啟動子SNP建構片段(位於14與15之對偶基因2)

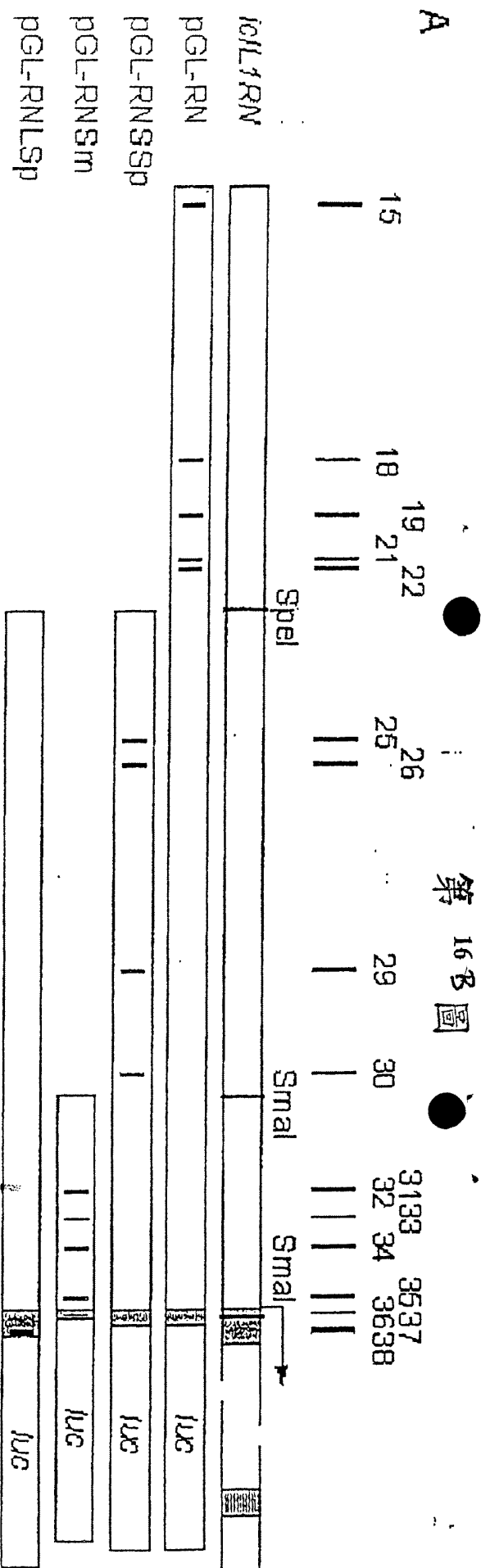
建構片段/SNP#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	15	17
pgL-B5.2	T	T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B1C.2	C	T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B5K.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B2C.2		C	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B3A.2		T	A	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B4T.2		T	G	T	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B5G.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B6C.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B7G.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B8A.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B9A.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B10C.2		T	G	C	A	T	A	G	G	C	T	C	
pgL-B14T.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B15C.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-BLK.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	
pgL-B17T.2		T	G	C	A	T	A	G	G	G	T	C	

第 16 A圖

IL1RN SNP建構片段基因型

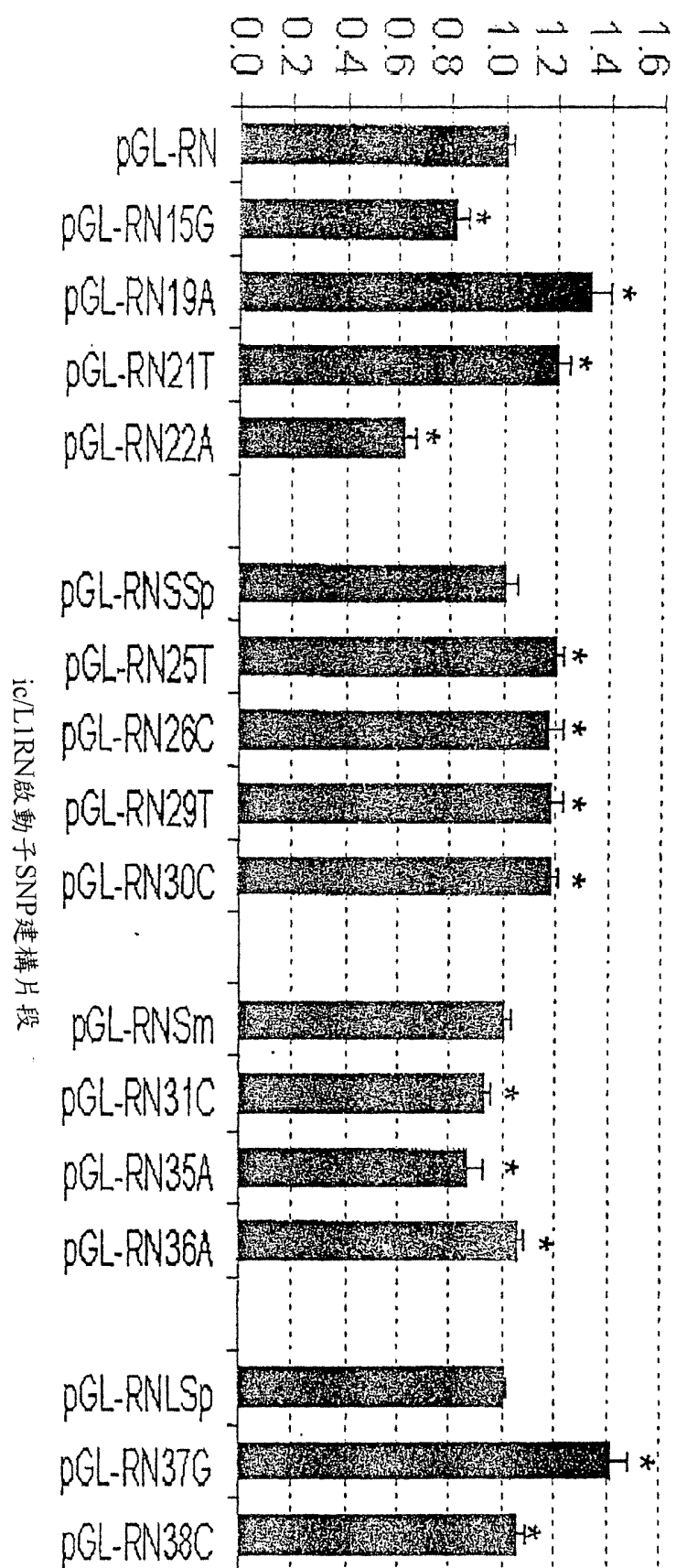
建構片段/SNP#	15	18	19	21	22	25	26	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
pGL3-IL1RNS	T	T	G	C	G	C	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL-RN15G	G	T	G	C	G	C	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL-RN18G	T	T	G	C	G	C	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL-RN19A	T	T	A	C	G	C	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL-RN21T	T	T	G	C	G	C	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL-RN22A	T	T	G	C	A	C	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL3-IL1RNS						C	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL-RN25T						T	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL-RN26C						C	C	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL-RN29T						C	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL-RN30C						C	T	C	T	G	G	C	A	G	G		
pGL3-IL1RN3S																	
pGL-RN31C																	
pGL-RN32A																	
pGL-RN33T																	
pGL-RN34C																	
pGL-RN35A																	
pGL-RN36A																	
pGL3-IL1RN3SX																	
pGL-RN37G																	
pGL-RN38C																	

A

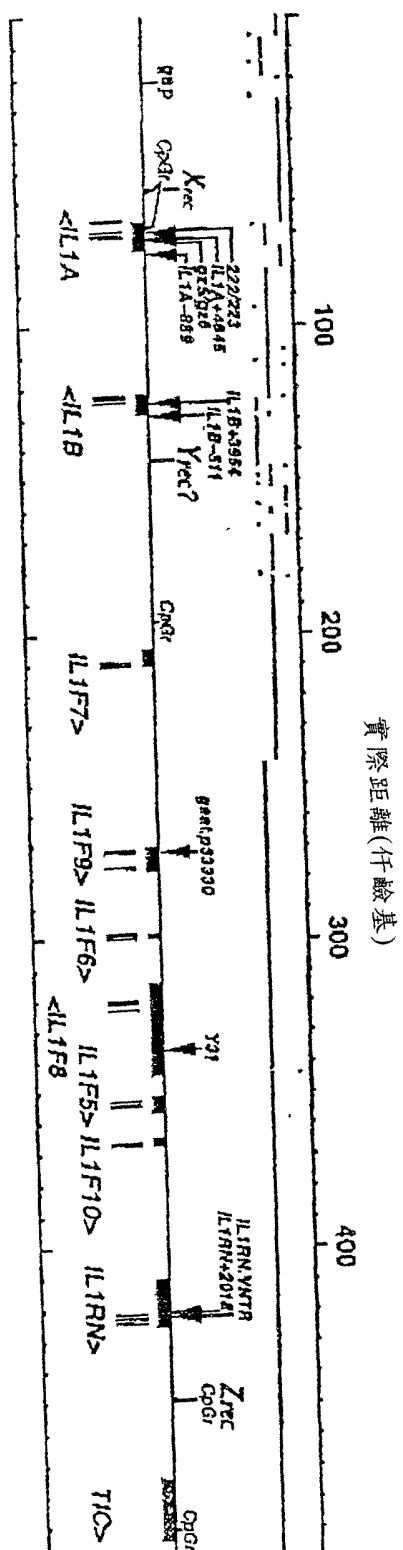


B

報導子活性(相對於個別的
全對偶基因-1建構片段)



新序列公開
加資料庫
標記
基因
CE1,2,3
符號



基因：IL1A (IL1F1)			
位置	定向：逆向		類型
	外顯子	外顯子交界	
065938-067002	IL1A-7	<u>GAGATGCCCTGACATA-ACATTAA</u> TACCTTG	CE3 + 3'
069496-069620	IL1A-6	<u>TGAAATTGACATGG-CCAGTGC</u> TGCTGAG	CE2
071005-071175	IL1A-5	<u>AAATCATCAGCCTA-ATCTGATG</u> AGCGAG	PS + CE1
073111-073333	IL1A-4	<u>AAATCCTTCTATCAT-ATGACTC</u> AGAGGAG	PS
074223-074271	IL1A-3	<u>TGAAATGAGAGAGA-CTGCTCTG</u> AATCAG	PS
075233-075287	IL1A-2	<u>AACTCAGATGGCCA-GAAGAACT</u> GTATCAG	5' + PS
075952-076002	IL1A-1	<u>AACTGCCAGCCAGA-TTGAGTC</u> AGCAAG	5'
編碼間白素-1α			
cDNA序列 NM_000575，基因體序列 X03833			
IL1A-1: 0			
IL1A-2: makvpdntfed lkncys'			
IL1A-3: eneedssald hlsing'			
IL1A-4: xsfyhveygp lhegcmdqav slslsetstkt sklfkesmv vvatngkvlk krrlsisqsl tdddlealan dagee'			
IL1A-5: lfkprsapfs flsnvkynfm riikyeftln dalngslra ndqyltaaal hnldēav'			
IL1A-6: kfdngaykxs kddakltvll risktqlvyt agdedqpvl k'			
IL1A-7: empelpkltc gsetnllffv ethgtknyfc svalpnllfa tkqdywcla gyppsitdf qltenga*			

基因：IL1B (IL1F2)

定向：逆向

位置 外顯子

外顯子交界

類型

121295-122108	IL1B-7	AGTGTAGATCCCAA-TAACTTCACTGAG	CE3 + 3'
122827-122957	IL1B-6	TGTTGTTCTTCATGT-ACTCTACAGCTGAG	CE2
124196-124360	IL1B-5	AACCTATCTTCTTCG-ATATGAGCACAAG	PS + CE1
124908-125109	IL1B-4	TGCTCCTTCCAGGAC-TCATCTTTGAGAG	PS
127099-127150	IL1B-3	TGCTATGAGGATGA-CCTAACAGATGAG	PS
127715-127777	IL1B-2	GTGCTCGAAGCAGC-EATGGCTATTACAG	5' + PS
128240-128311	IL1B-1	ACCAACCTCTTCGAG-ATCTTCATTCTCAA	5'

編號間白素-1B

IL1B：來自cDNA序列M15330及基因體序列X04500。

IL1B-1: Ø
IL1B-2: maevplase mna^{yy}s²
IL1B-3: qnehdlifea dapk^{gm}k³
IL1B-4: csfsgdlidlep ldgglqlrls dbhyskqfrq aasvrvamdk lrkmlvpcpg tfgendlsrf fpfllfe^e
IL1B-5: Rlffctwdng ayvhdapvrs lncclrdsqg kslvmsgpye lkahh^qgsd meq^y
IL1B-6: yfsmstfvqge esndkprval alkeknl^yls cvlkeddkptl qle³
IL1B-7: svdpknypk kmekpfvfnk telunklefe saqfpnwyls tsqaenmpvf lqgtk^ggqdl
ldftmgfvss *

基因：IL1F10

定向：正向

位置	外顯子	外顯子交界	外顯子類型
364023-364475	<i>IL1F10-a1</i>	GCCAGTGGGACTGGG-GGCAAGATACTACAT	5' + CS
366034-366119	<i>IL1F10-a2</i>	AATTAATATGCAGA-ACAACTGCTGTGCAG	CE1
366244-366555	* <i>IL1F10-b1</i>	GCTGTGGCCTCTCCT-TCCCTACAGCTGGAG	5' + CS + CE2
366428-366555	* <i>IL1F10-a3</i>	AGAGATCTGCATAC-TCCCTACAGCTGGAG	CE2
366857-367553	<i>IL1F10-a4/b2</i>	GATGTGAACATTGAG-TTATTGTAAACCTCT	CE3 + 3'N

編碼

不同的cDNA：IL-1F10a (AF334755)與IL-1F10b (AY026753)。

IL1F10-a1: mcslpmaryy i²
IL1F10-a2: ikyadqkaly trdgqllvgd pvadnccae¹
 **IL1F10-b1*: msssflepepl paksllqhgvp lsldslslsl lekicilpnrg
 lartkvpifl giqggsrcla cveteeglql e³
 **IL1F10-a3*: kictlpnrgl drtkvpiflg iqggsrclac vereeglql e³
IL1F10-a4/b2: dvnieselykq geeatrftff qsssgsafrl eaaawpgwfl cgpaepqgpv
 qltkeseart kfyfeqsw*

基因：IL1RN (IL1F3)

定向：正向

位置	外顯子	外顯子交界	外顯子類型
409176-409311	<i>IL1RN-b1/c1</i>	GGGCAGCTCCACCCT-TCCCCATGGCTT ¹ AG	5' + CS
411350-411412	<i>IL1RN-c2</i>	CTGACTTGTATGAAG-ATGCTGACTCAAAGG	CS
418888-419017	* <i>IL1RN-a1</i>	GCTGCAGTCACAGAA-GATGCAAGCCTTCAG	5' + SS
418966-419017	* <i>IL1RN-b2/c3</i>	AGACGATCTGCCGAC-GATGCAAGCCTTCAG	CS
420853-420941	<i>IL1RN-a2/b3/c4</i>	AATCTGGGATGTTAA-ATGTCAATTTAGAAG	CE1
422321-422433	<i>IL1RN-a3/b4/c5</i>	AAAAGATAGATGTGG-AGACTCCAGCTGGAG	CE2
423932-425290	<i>IL1RN-a4/b5/c6</i>	GCAGTTAATCACT-AATCTTGAAATGCC	CE3 + 3'

編碼：間白素-1受體拮抗劑

不同的cDNA：pro-SIL-1ra (形式a, X52015), icIL-1ra (形式b, M55646)及
icIL-1ral (形式c, X84348)。

IL1RN-b1/c1: mal(e/a)¹
IL1RN-c2: dlyeeggggg gegednadsk e¹
 **IL1RN-a1*: meicrglrsh litlllflfh seticrgrks skmqaf²r²
 **IL1RN-b2/c3*: ticrgrks skmqaf²r²
IL1RN-a2/b3/c4: iwdvngktfy lrnnqlvagy lqgpvnalee¹
IL1RN-a3/b4/c5: kidvvpieph alflgiaggk mclscvksqd etrlql e³
IL1RN-a4/b5/c6: avnitdlsen rkqdkrfafi rsdsgpttsf esaacpgwfl ctameadqpv
 sltnmpdegv mvtkfyfqed e*

第 18 圖

(3/7)

位置	外顯子	外顯子交界	定向：正向	外顯子類型
<350401-350445	IL1F5-b1	...AAGGAGGAGGAGA-GMGGAGTGAAAA	5'	
350810-350943	IL1F5-a1	GCGTGGGANTCCTGC-AAAGAACATTCTGAG	5' + SORF	
351114-351169	IL1F5-a2/b2	GGAGCTTACACCTT-GGCGCTGCTTCGC	5' + CS	
352555-352640	IL1F5-a3/b3	ATGAGGAGCTCGGC-GGAGGTCAATTAAAG	CE1	
353827-353954	IL1F5-a4/b4	GTEAAGCATCAGCG-ACTCTAACACTAAG	CE2	
354156-356451	IL1F5-a5/b5	CCAGTGAAACATCATG-ACAAAGAGAAACAA	CE3 + 3'	
編碼：				
不同的cDNA：IL-1F5a (AF186094與AJ242737)及IL-1F5b (AJ242738)。				
IL1F5-b1:	∅			
IL1F5-a1:	magrkdrgrkegeqke*			
IL1F5-a2/b2:	mvlsagalcif ²			
IL1F5-a3/b3:	mksdsklvly lhnngllaag lhaqkylk ²			
IL1F5-a4/b4:	geisvvpnrw ldaslsplvl gvggsqcls cgvgsqepilt le ³			
IL1F5-a5/b5:	pvminelylg akeskstfily rtdmqltsac esaaypwvl ctvpeadpav rltqlpeng wnaplctdlyf gqcd*			

(5/17)

基因：IL1F9			
位置	外顯子	定向：正向 外顯子交界	外顯子類型
269711-269760	IL1F9-1	GAGCCAGGATTCAGT-ACCCYTTCTTGCCAG	5'
270302-270375	IL1F9-2	GTGCTGAGACRACCA-CCGTCATCAATCAA	5' + CS
270903-271007	IL1F9-3	TGTGTARACCTATT-ACAGTGTGACCCGAG	CE1
271691-271830	IL1F9-4	TCACTGTTCTGTGA-ACATTGCAGCTAATA	CE2
276523-277335	IL1F9-5	GAGCAGACATCATG-CTAARACTGATATA	CE3 + 3'
編碼： cDNA序列AF200492與AF206696。			
IL1F9-1: Ø IL1F9-2: mcytpgdag ggrayvqsm ¹ IL1F9-3: cslptgtind lnqwtlqg qnlvavprsd svtpv ¹ IL1F9-4: fvavitckyp ealeqrgdp iylglnpnm clycekvgq ptlqlk ¹ IL1F9-5: eqkmdlyqg pepvtpflfy raktgrtstl esvafpdrfi asskrdqpll ltselgksyn tafelnind ¹			
基因：IL1F6			
位置	外顯子	定向：正向 外顯子交界	外顯子類型
<297556-297565	IL1F6-1?	..ATGCAAAAG	5' + CS
297658-297771	IL1F6-2	CATTGAAATTGACA-ACCGTATGCTCCAG	CE1
298282-298421	IL1F6-3	TCACTATTGCCTTAA-ACACTGCAGCTGAAG	CE2
299516->299728	IL1F6-4	GAAGAAGATATAATG-ACTATGCTGTTTAA..	CE3...
編碼： cDNA序列AF201831。			
IL1F6-1: meka ¹ IL1F6-2: lkldtpqggs lqdlchrvwv lqdgltliavp rkdrmspv ¹ IL1F6-3: flaliscrnv etlekargnp iylglinglnl clmcakvqdg ptlqlk ¹ IL1F6-4: exkmdlynq pepvksflfy hsqgrnatf esvafpgrfi avssggcpl lltqelgkan ttdefgltmlf ¹			

基因：IL1F7				
位置	外顯子	定向：正向 外顯子交界	類型	
204598-204721	IL1F7-b1/c1	CTTCATTCATTTC-AGTCTGCTTAGAAG	5'+PS?	
205420-205482	IL1F7-b2/c2	AOCGGCTGGAGCC-ATTTGTGTTACACAA	PS?	
<206821-206887	IL1F7-a1	..ATGTACGGCTGTGAT-AGAGCCGCTTAGAG	PS?	
208769-208888	IL1F7-a2/b3	GTCCAAGGTGAAGA-ACACATACGCCAG	CE1	
209275- 209417	IL1F7-a3/b4/c3	AGATCTTCCTTTGCAT-TCCCTTCAGCTGAAG	CE2	
210204- 210529	IL1F7-a4/b5/c4	AGGAGAAACTGATG-AMCCTGCTCAGTAA	CE3 + 3'	
編碼				
不同的cDNA：IL-1F7a (AF201832)，IL-1F7b (AF200496)及IL-1F7c (AF251120)。				
IL1F7-b1/c1:	msfvngsgv kmgsedwejd epqccled ^d			
IL1F7-b2/c2:	pagsplpyp alptmfvht (s/k) ¹			
IL1F7-a1:	msgdrrete ckqksfkxr lrg ^d			
IL1F7-a2/b3:	pkvknlpk fshdqdhv lvidsgnla vpdknylrpe ¹			
IL1F7-a3/b4/c3:	iffalassls sasaekyspl llyvskgefc lycdkdkgs hlgly ²			
IL1F7-a4/b5/c4:	kekmlaag kesaripflf yragvswmm lesaahpwt lctscnnep			
	vgvtdkfent khiefstgqv ckaemsevsd *			

基因：IL1F8

定向：正向

位置

外顯子

外顯子交界---

外顯子類型

<313785-314471	IL1F8-b6	GTAGAAAGAGTGG- <u>TAGTTTCCCATGT</u>	CS + 3'
317797-317926	IL1F8-b5	<u>CTTCAGGGCTCCCA</u> -GGGAMTAGAG <u>TGG</u>	CS
<319597-319809	IL1F8-a5	<u>GAAAAAATATCATG</u> -GATTCGTGGA <u>ATPA</u> ..	CE3...
320633-320772	IL1F8-a4/b4	<u>TGACTCTCATTTAA</u> -ACTTGCAGCT <u>TAAG</u>	CE2
322742-322849	IL1F8-a3/b3	GGAGGCGAGCAC <u>CCA</u> -GCAGCATTAAG <u>CTTG</u>	CE1
323391-323460	IL1F8-a2/b2	CCCTCTCAGCACCAT- <u>TGATGAACCCAGAC</u>	5' + CS
344518->344570	IL1F8-a1/b1	GACACGGGTTCTCC-CTTCACCTTTCC <u>TAG</u> ...	5'

編號

不同的cDNA：IL-1F8a (AF201833)與IL-1F8b (AF200494)。

IL1F8-a1/b1: Ø
IL1F8-a2/b2: mmpg¹
IL1F8-a3/b3: eaapksyalr dsrgmwvls gnsllaapls rslkpv¹
IL1F8-a4/b4: lhlhlaacrdt efadkekgym vylgikgkdl clfcacelqgk pcliqlk²
IL1F8-a5: ekumdllyve kkaqkplif hnkegstsvf qsvsygwf1 acsttsyqpl fltkeryltn
ntnfyldave *

IL1F8-b5: lqgsqdnlgk dtcwklyglh tcldndvres cfmgtldqwg lgyy¹
IL1F8-b6: lkkwksstfqn nhlrkkdkdf smmrtnlqmp grm*

第 18 圖

(717)

多形性標記之圖譜位置

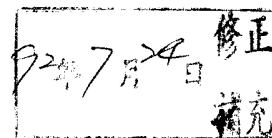
多形性	位置	變異 (資料庫股)	變異性	參考
222/223	069722	[GT] _N	多對偶基因性	A
IL1A+4845	071555	G/A (SNP)	二對偶基因性	B
gz5/gz6	072250	[AAT] _N	準二對偶基因性	A
IL1A-889	076892	G/A (SNP)	二對偶基因性	A,B
IL1B+3954	124347	A/G (cSNP)	二對偶基因性	A,B
IL1B-511	128822	G/A (SNP)	二對偶基因性	A,B
gaat.p33330	271535	[GAAT] _N	準三對偶基因性	A
Y31	335980	[GT] _N	多對偶基因性	A
IL1RN+2018	420907	C/T (SNP)	二對偶基因性	B

陸、(一)、本案指定代表圖爲：第1圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

無

柒、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



發明專利說明書

(填寫本書件時請先行詳閱申請書後之申請須知，作※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 92101760 ※IPC分類： C12Q1/68

※ 申請日期： 92 1 28

壹、發明名稱

(中文) 間白素-1(IL-1)基因簇及相關發炎反應多形性與單倍體型

(英文) THE IL-1 GENE CLUSTER AND ASSOCIATED INFLAMMATORY
POLYMORPHISMS AND HAPLOTYPES

貳、發明人(共8人)

發明人 1 (如發明人超過一人，請填說明書發明人續頁)

姓名：(中文) 馬汀·尼克林

(英文) Martin Nicklin

住居所地址：(中文) 英國南約克郡希費德·布魯克蘭德斯巷 118 號

(英文) 118 Brooklands Crescent, Sheffield, South Yorkshire, S10 4GG, UK

國籍：(中文) 英國 (英文) UK

參、申請人(共1人)

申請人 1 (如申請人超過一人，請填說明書申請人續頁)

姓名或名稱：(中文) 美商·英特魯金遺傳股份有限公司

(英文) Interleukin Genetics, Inc.

住居所或營業所地址：(中文) 美國麻州瓦夏姆·貝維街 135 號

(英文) 135 Beaver Street, Waltham, MA 02452, USA

國籍：(中文) 美國 (英文) USA

代表人：(中文) 菲利普·雷利

(英文) Philip Reilly

☒ 續發明人或申請人續頁 (發明人或申請人欄位不敷使用時，請註記並使用續頁)

發明人 2

姓名：(中文) 葛登 W. 道夫
(英文) Gordon W. Duff

住居所地址：(中文) 英國南約克郡希費德·亞希葛堤路 18 號
(英文) 18 Ashgate Road, Sheffield, South Yorkshire, S10 3B2, UK

國籍：(中文) 英 國 (英文) UK

發明人 3

姓名：(中文) 肯尼斯 S. 柯恩曼
(英文) Kenneth S. Kornman

住居所地址：(中文) 美國麻州紐頓市·中心街 920 號
(英文) 920 Centre Street, Newton, MA 02459-1236, USA

國籍：(中文) 美 國 (英文) USA

發明人 4

姓名：(中文) 克里斯·卡寧斯
(英文) Chris Cannings

住居所地址：(中文) 英國希費德·瑞德麥理斯路 484 號
(英文) 484 Redmires Road, Sheffield, S10 4LG, UK

國籍：(中文) 美 國 (英文) USA

發明人 5

姓名：(中文) 瑪耶姆 R. 柯派恩
(英文) Maryam Rafie Kolpin

住居所地址：(中文) 美國麻州麥佛德·伊爾姆街 69 號
(英文) 69 Elm Street, Medford, MA 02155, USA

國籍：(中文) 美 國 (英文) USA

發明人 6

姓名：(中文) 蔡春明
(英文) Chung-Ming Hsieh

住居所地址：(中文) 美國麻州西洛克斯布理·拉葛蘭吉街 661 號
(英文) 661 Lagrange Street, West Roxbury, MA 02132, USA

國籍：(中文) 美 國 (英文) USA