



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
G01N 33/569 (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2017107750, 12.08.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
12.08.2015

Дата регистрации:  
26.08.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
14.08.2014 US 62/037,180;  
21.01.2015 US 62/105,938

(43) Дата публикации заявки: 17.09.2018 Бюл. № 26

(45) Опубликовано: 26.08.2020 Бюл. № 24

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 14.03.2017

(86) Заявка РСТ:  
IL 2015/050823 (12.08.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2016/024278 (18.02.2016)

Адрес для переписки:  
119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,  
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Лыу  
Татьяна Нгоковна

(72) Автор(ы):

ЭДЕН Эран (IL),  
ОВЕД Кфир (IL),  
НАВОН Рой (IL),  
КОЭН-ДОТАН Ассаф (IL),  
БОЙКО Ольга (IL)

(73) Патентообладатель(и):

МЕМЕД ДИАГНОСТИКС ЛТД. (IL)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: WO 2013117746 A1, 15.08.2013. WO  
2014117873 A1, 07.08.2014. US 20110312534 A1,  
22.12.2011. PEPE M.S. Combining diagnostic test  
results to increase accuracy / BIOSTATISTICS,  
2000, V.1, N.2, pp.123-140. RU 2348695 C2,  
10.03.2009.

## (54) ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ МНОГООБРАЗИЯ И ГИПЕРПЛОСКОСТИ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области медицины, более конкретно к вычислительному анализу биологических данных. Предложены варианты способа определения бактериальной инфекции на основании биологических данных, содержащих значения экспрессии множества полипептидов в крови субъекта, где значения экспрессии вводят в память аппаратного обрабатывающего устройства, а также машиночитаемый носитель данных для

осуществления этих способов. В одном из вариантов способ характеризуется тем, что используют аппаратное обрабатывающее устройство для выполнения хранимых на машиночитаемом носителе компьютерных программных инструкций, которые включают: компьютерные программные инструкции для вычисления расстояния  $d$  между сегментом  $S_{ROI}$  кривой  $S$  и осью  $\pi$ , образованной направлением, при этом  $d$  вычисляют перпендикулярно оси  $\pi$

между точкой Р на оси  $\pi$  и соответствующей точкой на кривой S, при этом указанные точки образованы координатой  $\delta_1$  вдоль указанного направления; и компьютерные программные инструкции для коррелирования указанного расстояния d с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет бактериальную инфекцию, и для генерирования на графическом пользовательском интерфейсе выходных данных указанного присутствия, отсутствия или вероятности, при этом если d выше предварительно определенного уровня  $\omega_B$ , то данные компьютерные программные инструкции определяют, что субъект вероятно имеет

бактериальную инфекцию, при этом координата  $\delta_1$  образована комбинацией указанных значений экспрессии, которая включает линейную комбинацию этих значений экспрессии, причем по меньшей мере 90% указанного сегмента заключено между нижней ограничивающей прямой  $f(\delta_1) - \epsilon_0$  и верхней ограничивающей прямой  $f(\delta_1) + \epsilon_1$ , где  $f(\delta_1)$  равняется  $1/(1 + \exp(\delta_1))$  и каждый из  $\epsilon_0$  и  $\epsilon_1$  составляет менее 0,5. Группа изобретений обеспечивает более точное определение наличия у субъекта бактериальной инфекции. 3 н. и 14 з.п. ф-лы, 14 пр., 38 табл., 39 ил.





FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*G01N 33/569* (2020.02)

(21)(22) Application: **2017107750, 12.08.2015**

(24) Effective date for property rights:  
**12.08.2015**

Registration date:  
**26.08.2020**

Priority:

(30) Convention priority:  
**14.08.2014 US 62/037,180;**  
**21.01.2015 US 62/105,938**

(43) Application published: **17.09.2018 Bull. № 26**

(45) Date of publication: **26.08.2020 Bull. № 24**

(85) Commencement of national phase: **14.03.2017**

(86) PCT application:  
**IL 2015/050823 (12.08.2015)**

(87) PCT publication:  
**WO 2016/024278 (18.02.2016)**

Mail address:  
**119019, Moskva, Gogolevskij b-r, 11, etazh 3,**  
**"Gouling VLG (Interneshnl) Ink.", Lyu Tatyana**  
**Ngokovna**

(72) Inventor(s):

**EDEN Eran (IL),**  
**OVED Kfir (IL),**  
**NAVON Roy (IL),**  
**COHEN-DOTAN Assaf (IL),**  
**BOICO Olga (IL)**

(73) Proprietor(s):

**MEMED DIAGNOSTICS LTD. (IL)**

(54) **COMPUTATIONAL ANALYSIS OF BIOLOGICAL DATA USING A MANIFOLD AND HYPERPLANE**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: group of inventions relates to the computational analysis of biological data. Disclosed are versions of a method of determining bacterial infection based on biological data containing expression values of a plurality of polypeptides in a subject's blood, where expression values are entered into memory of hardware processing device, as well as machine-readable data medium for implementation of these methods. In one version, the method is characterized in that a hardware processing device is used to execute computer program instructions stored on a machine-

readable medium, which include: computer program instructions for calculating distance  $d$  between segment  $S_{ROI}$  of curve  $S$  and axis  $\pi$ , formed by direction, wherein  $d$  is calculated perpendicular to axis  $\pi$  between point  $P$  on axis  $\pi$  and corresponding point on curve  $S$ , wherein said points are formed by coordinate  $\delta_1$  along said direction; and computer program instructions for correlating said distance  $d$  with presence, absence or probability of subject having bacterial infection, and to generate on the graphical user interface output data of said presence, absence or probability, wherein if  $d$  above a predetermined level  $\omega_B$ , then said computer program

instructions determine that the subject probably has a bacterial infection, wherein the coordinate  $\delta_1$  is formed by a combination of said expression values, which includes a linear combination of these expression values, wherein at least 90 % of said segment is enclosed between lower limiting line  $f(\delta_1)-\epsilon_0$  and upper

bounding straight line  $f(\delta_1)+\epsilon_1$ , where  $f(\delta_1)$  is equal to  $1/(1+\exp(\delta_1))$  and each of  $\epsilon_0$  and  $\epsilon_1$  is less than 0.5.  
EFFECT: group of inventions provides more accurate determination of the presence of a bacterial infection in a subject.  
17 cl, 14 ex, 38 tbl, 39 dwg

R U 2 7 3 0 8 3 6 C 2

R U 2 7 3 0 8 3 6 C 2

## РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Данная заявка притязает на приоритет предварительных заявок на патент США 62/037180, поданной 14 августа 2014 г., и 62/105938, поданной 21 января 2015 г, содержание которых полностью приведено здесь для ссылки.

### ОБЛАСТЬ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ, И УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение в рамках некоторых вариантов его осуществления относится к вычислительному анализу и, более конкретно, но не исключительно, к вычислительному анализу биологических данных, например с целью обеспечения различения бактериальной инфекции и небактериального заболевания, и/или бактериальной инфекции и вирусной инфекции, и/или инфекционного и неинфекционного заболевания.

Антибиотики (Abx) представляют собой наиболее часто назначаемый класс лекарств с глобальным рынком в размере 25-30 миллиардов долларов США. Abx также представляют собой тип лекарства, который наиболее часто подвергается неправильному применению среди значительной (40-70%) доли всех лекарств, подвергаемых неправильному назначению (binder, J.A. and R.S. Stafford 2001; Scott, J.G. and D. Cohen, et al. 2001; Davey, P. and E. Brown, et al. 2006; Cadieux, G. and R. Tamblyn, et al. 2007; Pulcini, C. and E. Cua, et al. 2007), ("CDC - Get Smart: Fast Facts About Antibiotic Resistance" 2011).

Один из типов неправильного применения Abx заключается во введении лекарства в случае небактериального заболевания, такого как вирусная инфекция, при котором Abx является неэффективным. Например, в соответствии с данными CDC (центра по контролю распространения и предотвращению заболеваний США), в США ежегодно происходит свыше 60 миллионов случаев неправильного назначения Abx для лечения гриппа. Здравоохранительные и экономические последствия чрезмерного назначения Abx включают: (i) стоимость излишне назначаемых антибиотиков в глобальном масштабе оценивается в >10 миллиардов долларов США ежегодно; (ii) побочные эффекты, возникающие вследствие излишнего лечения с применением Abx, снижают качество здравоохранения, вызывая осложнения и пролонгированную госпитализацию (например, аллергические реакции, Abx-ассоциированную диарею, возникновение кишечной дрожжевой инфекции и так далее), и (iii) возникновение резистентных штаммов бактерий в результате бесконтрольного применения (CDC провозгласил повышение резистентности бактерий к антибиотикам "одной из наиболее серьезных проблем здравоохранения в мире в 21-м веке" (Arias, C.A. and B.E. Murray 2009; "CDC - About Antimicrobial Resistance" 2011).

Недостаточное назначение антибиотиков также не является редким явлением. Например, до 15% госпитализированных взрослых пациентов с пневмонией в США получают лечение с применением Abx с задержкой или не получают его вовсе, даже несмотря на то, что в данных случаях раннее лечение может обеспечивать спасение жизней и уменьшать осложнения (Houck, P.M. and D. W. Bratzler, et al. 2002).

Технологии для диагностирования инфекционных заболеваний обладают потенциалом в плане снижения связанной с состоянием здоровья и стоимостью нагрузки, возникающей вследствие неправильного применения Abx. В идеальном случае подобная технология должна: (i) обеспечивать точное различение бактериальных и вирусных инфекций; (ii) быть быстрой (в течение нескольких минут); (iii) быть способной обеспечивать различение патогенных и непатогенных бактерий, которые являются частью естественной флоры организма; (iv) обеспечивать различение смешанных сопутствующих инфекций и чистых вирусных инфекций; и (v) быть применимой в случаях, когда патоген

является недоступным (например, при синусите, пневмонии, среднем отите, бронхите и так далее).

Современные решения (такие как культуральные анализы, ПЦР и иммуноанализы) не соответствуют всем этим требованиям: (i) некоторые из данных анализов обеспечивают низкую диагностическую точность (например, низкую чувствительность или специфичность) (Uyeki et al. 2009) и ограничены лимитированным набором бактериальных или вирусных штаммов; (ii) они зачастую требуют от нескольких часов до нескольких дней; (iii) они не обеспечивают различения патогенных и непатогенных бактерий (Del Mar, C 1992), таким образом приводя к ложноположительным результатам; (iv) они зачастую неспособны обеспечивать различение смешанных и чистых вирусных инфекций; и (v) они требуют прямого забора образца в области нахождения инфекции, в которой ищут следы вызвавшего заболевание агента, что, таким образом, делает невозможным диагностирование в случаях, когда патоген находится в недоступной ткани, что зачастую и является причиной возникновения заболевания.

Соответственно, все еще сохраняется связанный с диагностикой пробел, который в свою очередь часто приводит к чрезмерному назначению Abx (подход "на всякий случай") или недостаточному назначению Abx (подход "подождем и посмотрим") лечащими врачами (Little, P.S. and I. Williamson 1994; Little, P. 2005; Spiro, D.M. and K.Y. Tay, et al. 2006), оба из которых имеют далеко идущие последствия, связанные с состоянием здоровья и финансовыми расходами.

Соответственно, существует потребность в быстром способе, обеспечивающем точное различение пациентов с бактериальными (включая смешанную бактериальную плюс вирусную инфекцию), вирусными и небактериальными невирусными заболеваниями, который отвечает на данные вызовы.

В заявке WO 2013/117746 описаны сигнатуры и детерминанты для различения бактериальной и вирусной инфекции.

### СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ анализа биологических данных, при этом биологические данные содержат значения экспрессии множества полипептидов в крови субъекта. Способ включает: вычисление расстояния между сегментом кривой и осью, образованной направлением, при этом расстояние вычисляется в точке кривой, образованной координатой  $\delta_1$  вдоль направления. Способ также включает определение корреляции расстояния с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет бактериальную инфекцию. Координата  $\delta_1$  определяется на основе комбинации значений экспрессии, при этом, по меньшей мере, 90% сегмента заключено между нижней ограничивающей прямой  $f(\delta_1) - \epsilon_0$  и верхней ограничивающей прямой  $f(\delta_1) + \epsilon_1$ , при этом  $f(\delta_1)$  равняется  $1/(1 + \exp(\delta_1))$ , и при этом каждый из  $\epsilon_0$  и  $\epsilon_1$  составляет менее 0,5.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ включает определение вероятности на основе расстояния, сравнение вероятности с предварительно определенным пороговым значением и лечение бактериальной инфекции у субъекта, если вероятность превышает предварительно определенное пороговое значение.

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ анализа биологических данных, при этом биологические данные содержат значения экспрессии множества полипептидов в крови

субъекта. Указанный способ включает: вычисление расстояния между сегментом кривой и осью, образованной направлением, при этом расстояние вычисляется в точке кривой, образованной координатой  $\delta_0$  вдоль направления. Способ также включает определение корреляции расстояния с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет вирусную инфекцию. Координата  $\delta_0$  определяется на основе комбинации значений экспрессии, при этом, по меньшей мере, 90% сегмента заключено между нижней ограничивающей прямой  $g(\delta_0) - \epsilon_0$  и верхней ограничивающей прямой  $g(\delta_0) + \epsilon_1$ , при этом  $f(\delta_0)$  равняется  $1/(1 + \exp(\delta_0))$ , и при этом каждый из  $\epsilon_0$  и  $\epsilon_1$  составляет менее 0,5.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ включает определение вероятности на основе расстояния, сравнение вероятности с предварительно определенным пороговым значением и лечение вирусной инфекции у субъекта, если вероятность превышает предварительно определенное пороговое значение.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения комбинация значений экспрессии включает линейную комбинацию значений экспрессии.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения комбинация значений экспрессии включает, по меньшей мере, один нелинейный член, соответствующий, по меньшей мере, одному из значений экспрессии.

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ анализа биологических данных, при этом биологические данные содержат значения экспрессии множества полипептидов в крови субъекта. Способ включает: вычисление первого расстояния между сегментом кривой поверхности и плоскостью, образованной первым направлением и вторым направлением.

Первое расстояние вычисляют в точке на поверхности, образованной первой координатой  $\delta_0$  вдоль первого направления и второй координатой  $\delta_1$  вдоль второго направления. Способ также включает определение корреляции расстояния с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет бактериальную инфекцию. Каждая из координат образована различной комбинацией значений экспрессии, при этом, по меньшей мере, 90% сегмента заключено между нижней ограничивающей поверхностью  $f(\delta_0, \delta_1) - \epsilon_0$  и верхней ограничивающей поверхностью  $f(\delta_0, \delta_1) + \epsilon_1$ , при этом  $f(\delta_0, \delta_1)$  равняется  $\exp(\delta_1)/(1 + \exp(\delta_0) + \exp(\delta_1))$ , и при этом каждый из  $\epsilon_0$  и  $\epsilon_1$  составляет менее 0,5.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, по меньшей мере, для одной из координат комбинация значений экспрессии включает линейную комбинацию значений экспрессии.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, по меньшей мере, для одной из координат комбинация значений экспрессии включает, по меньшей мере, один нелинейный член, соответствующий, по меньшей мере, одному из значений экспрессии.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ включает определение вероятности на основе первого расстояния, сравнение вероятности с предварительно определенным пороговым значением и лечение бактериальной инфекции у субъекта, если вероятность превышает предварительно определенное пороговое значение.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ также включает вычисление второго расстояния между сегментом второй кривой поверхности

и плоскостью; а также определение корреляции второго расстояния с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет вирусную инфекцию. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, по меньшей мере, 90% сегмента второй поверхности заключено между второй нижней ограничивающей поверхностью  $g(\delta_0, \delta_1) - \epsilon_2$  и второй верхней ограничивающей поверхностью  $g(\delta_0, \delta_1) + \epsilon_3$ , при этом  $g(\delta_0, \delta_1)$  равняется  $\exp(\delta_0)/(1 + \exp(\delta_0) + \exp(\delta_1))$ , и при этом каждый из  $\epsilon_2$  и  $\epsilon_3$  составляет менее 0,5.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ включает определение вероятности на основе второго расстояния, сравнение вероятности со вторым предварительно определенным пороговым значением и лечение вирусной инфекции у субъекта, если вероятность превышает второе предварительно определенное пороговое значение.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ включает вычисление вероятности того, что субъект имеет бактериальную инфекцию на основе расстояния, вычисление вероятности того, что субъект имеет вирусную инфекцию на основе второго расстояния, сравнение каждой вероятности с соответствующим предварительно определенным пороговым значением, и, если каждая из вероятностей составляет менее соответствующего предварительно определенного порогового значения, последующее заключение о том, что пациент вероятно имеет неинфекционное заболевание.

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ анализа биологических данных, при этом биологические данные содержат значения экспрессии множества полипептидов в крови субъекта. Способ включает: вычисление расстояния между сегментом кривой поверхности и плоскостью, образованной первым расстоянием и вторым расстоянием. Расстояние вычисляют в точке на поверхности, образованной первой координатой  $\delta_0$  вдоль первого направления и второй координатой  $\delta_1$  вдоль второго направления.

Способ включает определение корреляции расстояния с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет вирусную инфекцию; при этом каждая из координат образована различной комбинацией значений экспрессии, при этом, по меньшей мере, 90% сегмента заключено между нижней ограничивающей поверхностью  $g(\delta_0, \delta_1) - \epsilon_0$  и верхней ограничивающей поверхностью  $g(\delta_0, \delta_1) + \epsilon_1$ , при этом  $g(\delta_0, \delta_1)$  равняется  $\exp(\delta_0)/(1 + \exp(\delta_0) + \exp(\delta_1))$ , и при этом каждый из  $\epsilon_0$  и  $\epsilon_1$  составляет менее 0,5.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения каждый из множества полипептидов выбран из группы, состоящей из CRP, IP-10, TRAIL, IL1ra, PCT и SAA.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения множество полипептидов включает, по меньшей мере, три полипептида.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения множество полипептидов включает, по меньшей мере, три полипептида, выбранных из группы, состоящей из CRP, IP-10, TRAIL, IL1ra, PCT и SAA.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения множество полипептидов включает, по меньшей мере, CRP и TRAIL.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения множество полипептидов включает, по меньшей мере, CRP, TRAIL и IP-10.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ включает генерирование выходных данных по вероятности, при этом выходные данные

представлены в виде текста.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ включает генерирование выходных данных по вероятности, при этом выходные данные представлены графически.

5 В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ включает генерирование выходных данных по вероятности, при этом выходные данные представлены в значения цвета.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения образец крови представляет собой цельную кровь.

10 В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения образец крови представляет собой составную часть цельной крови.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения составная часть крови включает сыворотку или плазму.

15 В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ включает определение значений экспрессии, при этом, по меньшей мере, одно из значений экспрессии определяется с помощью электрофореза или иммунохимического анализа.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения иммунохимическое определение осуществляется с помощью проточной цитометрии, радиоиммуноанализа, иммунофлуоресценции или с помощью иммуносорбентного анализа с ферментной меткой.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения вычисление и определение корреляции осуществляется с помощью компьютера, который удален от субъекта.

25 В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения вычисление и определение корреляции осуществляется с помощью компьютера, который находится рядом с субъектом.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения вычисление и определение корреляции осуществляется с помощью облачного вычислительного ресурса в облачном вычислительном центре.

30 В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения значения экспрессии измеряют с помощью измерительной системы, выполняющей, по меньшей мере, один вид автоматизированного анализа, выбранный из группы, состоящей из автоматизированного анализа ELISA, автоматизированного иммуноанализа и автоматизированного функционального анализа, при этом способ включает получение указанных биологических данных от указанной измерительной системы.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения указанное получение осуществляется через интернет посредством сетевого интерфейса.

40 В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ анализа биологических данных с применением компьютера. Способ включает: отображение на отображающем устройстве графического пользовательского интерфейса (GUI) с элементом управления для активации вычислений; получение значений экспрессии полипептидов в крови субъекта; автоматическое вычисление балла на основе значений экспрессии в ответ на активацию элемента управления пользователем; генерирование на GUI графической шкалы с первым концом, идентифицированным в качестве соответствующего вирусной инфекции у субъекта, и вторым концом, идентифицированным в качестве соответствующего бактериальной инфекции у субъекта; и генерирование отметки на шкале в области,

соответствующей баллу.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения значения экспрессии получают путем соединения с внешним устройством, которое обеспечивает измерение значений экспрессии. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения GUI включает элемент управления соединением, при этом соединение с внешним устройством осуществляется в ответ на активацию элемента управления соединением пользователем.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения GUI включает множество полей для ввода значений экспрессии, при этом значения экспрессии получают через поля для ввода.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения балл представляет собой вероятность того, что субъект имеет бактериальную инфекцию. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения балл представляет собой вероятность того, что субъект имеет вирусную инфекцию.

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен компьютерный программный продукт, включающий машиночитаемый носитель данных, на котором хранятся программные инструкции, которые при чтении аппаратным обрабатывающим устройством заставляют аппаратное обрабатывающее устройство получать значения экспрессии множества полипептидов в крови субъекта, который имеет неизвестное заболевание, и выполнять способ как описано выше и необязательно как более подробно описано ниже.

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрена система для анализа биологических данных. Система включает: пользовательский интерфейс, сконфигурированный для получения значений экспрессии множества полипептидов в крови субъекта, который имеет неизвестное заболевание; и аппаратное обрабатывающее устройство с машиночитаемым носителем данных, на котором хранится компьютерный программный продукт.

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрена система для анализа биологических данных. Система включает: первую часть, сконфигурированную для измерения значений экспрессии множества полипептидов в крови субъекта, который имеет неизвестное заболевание; вторую часть, включающую аппаратное обрабатывающее устройство с машиночитаемым носителем данных, на котором хранится компьютерный программный продукт.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения первая часть, вторая часть и дисплей смонтированы или интегрированы с корпусом карманного устройства.

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ анализа набора данных. Способ включает: (а) анализ набора данных, включающего группы для классификации на основе значений экспрессии множества полипептидов в крови субъекта, который имеет неизвестное заболевание, в образцах крови нескольких субъектов, при этом группы для классификации включают бактериальную инфекцию, вирусную инфекцию и невирусное небактериальное заболевание; и (b) анализ групп для классификации для получения, по меньшей мере, первой функции вероятностной классификации  $f(\delta_0, \delta_1)$ , отражающей вероятность того, что конкретный субъект имеет бактериальную инфекцию, при этом первая функция для классификации представляет собой функцию первой координаты  $\delta_0$  и второй



координаты  $\delta_1$ , и при этом каждая из координат образована различной комбинацией значений экспрессии.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ также включает вычисление второй функции для классификации  $g(\delta_0, \delta_1)$ , отражающей  
 5 вероятность того, что конкретный субъект имеет вирусную инфекцию, при этом вторая функция для классификации также представляет собой функцию первой и второй координаты.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ  
 10 включает вычисление третьей функции для классификации  $h(\delta_0, \delta_1)$ , отражающей вероятность того, что конкретный субъект имеет невирусное небактериальное заболевание, при этом третья функция для классификации также представляет собой функцию первой и второй координаты.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, по меньшей  
 15 мере, для одной из координат комбинация значений экспрессии включает линейную комбинацию значений экспрессии.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, по меньшей  
 мере, для одной из координат комбинация значений экспрессии включает, по меньшей мере, один нелинейный член, соответствующий, по меньшей мере, одному из значений  
 20 экспрессии.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения способ  
 включает генерирование выходных аналитических данных.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения набор данных  
 включает одну или несколько многомерных записей.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения предусмотрен  
 25 способ, при котором каждая запись в наборе данных включает, по меньшей мере, один клинический параметр соответствующего субъекта.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения предусмотрен  
 способ, при котором клинический параметр выбран из группы, состоящей из пола,  
 30 возраста, температуры, времени с момента появления симптомов и веса.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения анализ  
 включает машинное обучение.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения машинное  
 обучение включает машинное обучение с учителем.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения машинное  
 35 обучение включает, по меньшей мере, одну процедуру, выбранную из группы, состоящей из кластеризации, метода опорных векторов, линейного моделирования, анализа на основе  $k$ -ближайших соседей, обучения с применением дерева решений, процедуры на основе агрегирования моделей, нейронных сетей, вероятностной модели, графической  
 40 модели, байесовской сети, логистической регрессии и обучения на основе ассоциативных правил.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения предусмотрен  
 способ, при котором машинное обучение выбрано из группы, состоящей из метода  
 опорных векторов, нейронных сетей и логистической регрессии.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения образец крови  
 45 представляет собой цельную кровь.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения образец крови  
 представляет собой составную часть цельной крови.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения составная часть крови включает сыворотку или плазму.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения значение экспрессии определяется с помощью электрофореза или иммунохимического анализа.

5 В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения иммунохимическое определение осуществляется с помощью проточной цитометрии, радиоиммуноанализа, иммунофлуоресценции или с помощью иммуносорбентного анализа с ферментной меткой.

10 В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ предсказания прогноза заболевания. Способ включает измерение уровня белка TRAIL в сыворотке у субъекта с заболеванием, при этом если уровень TRAIL находится ниже предварительно определенного уровня, то прогноз является более негативным, чем у субъекта с заболеванием с уровнем белка TRAIL в сыворотке выше предварительно определенного уровня.

15 В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения предусмотрен способ, при котором заболевание представляет собой инфекционное заболевание.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения предусмотрен способ, при котором заболевание не является инфекционным заболеванием.

20 В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ определения курса лечения для заболевания у субъекта. Способ включает измерение уровня белка TRAIL в сыворотке у субъекта, при этом если уровень TRAIL находится ниже предварительно определенного уровня, то субъекта подвергают последнему оставшемуся эффективным виду лечения.

25 В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения предварительно определенный уровень составляет менее 20 пг/мл.

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ определения типа инфекции у субъекта женского пола детородного возраста.

30 Способ включает сравнение уровня белка TRAIL в сыворотке у субъекта с предварительно определенным пороговым уровнем, при этом предварительно определенный пороговый уровень соответствует уровню белка TRAIL в сыворотке здорового субъекта женского пола детородного возраста, или группы здоровых субъектов женского пола детородного возраста, при этом разница между уровнем белка TRAIL в сыворотке и предварительно определенным уровнем указывает на тип  
35 инфекции.

В соответствии с одним аспектом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ определения типа инфекции у субъекта мужского пола детородного возраста.

40 Способ включает сравнение уровня белка TRAIL в сыворотке у субъекта с предварительно определенным пороговым уровнем, при этом предварительно определенный пороговый уровень соответствует уровню белка TRAIL в сыворотке здорового субъекта мужского пола детородного возраста, или группы здоровых субъектов мужского пола детородного возраста, при этом разница между уровнем белка TRAIL в сыворотке и предварительно определенным уровнем указывает на тип  
45 инфекции.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения если уровень белка TRAIL в сыворотке превышает предварительно определенный пороговый уровень, то тип инфекции является вирусным.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения когда уровень белка TRAIL в сыворотке превышает предварительно определенный пороговый уровень, то тип инфекции является небактериальным.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения когда уровень белка TRAIL в сыворотке находится ниже предварительно определенного порогового уровня, то тип инфекции является бактериальным.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения когда уровень белка TRAIL в сыворотке находится ниже предварительно определенного порогового уровня, то тип инфекции является невирусным.

Если не указано иное, все используемые здесь технические и научные термины имеют те же значения, какие обычно понимаются средним специалистом в области, к которой относится данное изобретение. Несмотря на то, что при реализации на практике или тестировании настоящего изобретения могут применяться любые способы и материалы, являющиеся аналогичными или эквивалентными тем, которые описаны здесь, примеры способов и/или материалов описаны далее. В случае конфликта приоритет принадлежит данному описанию, включая определения. Кроме того, материалы, способы и примеры являются лишь иллюстративными и не должны рассматриваться в качестве ограничивающих.

### ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Некоторые варианты осуществления изобретения описаны здесь лишь в качестве примера со ссылкой на прилагаемые фигуры. В плане же фигур следует отметить, что конкретные иллюстрации приведены лишь в качестве примера и в целях иллюстративного описания вариантов осуществления изобретения. В этом отношении описание наряду с фигурами сделает очевидным специалистам в данной области то, как варианты осуществления изобретения могут быть реализованы на практике.

На фигурах:

Фиг. 1А-В. Схема исследования. (А) Общий вид схемы исследования,  $n_{\text{Бакт.}}$ ,  $n_{\text{Вирусн.}}$  и  $n_{\text{Контрол.}}$  означают количество бактериальных (включая смешанные бактериальные плюс вирусные совместные инфекции), вирусных и контрольных (без явного инфекционного заболевания) случаев, соответственно. (В) Обнаружение белков и процесс проверки.

Фиг. 2А-С. Белки TRAIL, IP-10 и CRP экспрессируются различным образом у пациентов с бактериальным, вирусным и неинфекционным заболеванием. Представлены диаграммы типа "ящик с усами" для TRAIL (А), IP-10 (В) и CRP (С), полученные при измерении у Мажоритарной группы ( $n=765$ ). Красная линия и окружность соответствуют групповой медиане и среднему значению, соответственно; показаны р-значения t-теста бактериальной против вирусной группы и инфекционной (бактериальной и вирусной) против неинфекционной группы (включая здоровых субъектов).

Фиг. 3А-В. Сравнение сигнатуры с лабораторными параметрами и белковыми биомаркерами для различения пациентов с бактериальным и вирусным заболеванием. (А) Эффективность клинических и лабораторных параметров, а также наиболее эффективная пара (ANC и % лимфоцитов), триплет (ANC, % лимфоцитов и Пульс), и квадруплеты (ANC, % лимфоцитов, Пульс, % моноцитов) параметров, значения которых были скомбинированы с применением логистической регрессии. Сравнения осуществляли в рамках Мажоритарной группы (пациенты с бактериальным и вирусным заболеванием,  $n=653$ ), помимо пульса (определен у 292 пациентов с бактериальным заболеванием и 326 пациентов с вирусным заболеванием) и интенсивностью дыхания (определена у 292 пациентов с бактериальным заболеванием и 326 пациентов с вирусным заболеванием).

Сигнатура демонстрировала значительно более высокую эффективность ( $P < 10^{-15}$ ), чем оптимальный квадруплет. (В) Сигнатура демонстрировала значительно более высокую эффективность ( $P < 10^{-8}$ ), чем биомаркеры с хорошо определенной ролью в плане реакции на инфекции. Для каждого из выбранных биомаркеров проводили анализ на подгруппе Мажоритарной группы ( $43 \leq n \leq 154$  для каждого анализа, нерепрезентативная выборка,  $n$  зависели от силы сигнала). Планки погрешностей соответствуют 95% доверительному интервалу.

Фиг. 4. Эффективность сигнатуры является стабильной в различных подгруппах пациентов. Показана AUC сигнатуры в подгруппах Мажоритарной группы (пациенты с бактериальным заболеванием и пациенты с вирусным заболеванием). Квадратная площадь пропорциональна количеству пациентов, а планки погрешностей соответствуют 95% доверительному интервалу. При анализе патогенов каждый вирус сравнивали с бактериями, поражающими ту же физиологическую систему, показано в скобках. R-респираторные, S-системные, C-центральная нервная система, G-желудочно-кишечный тракт, U-мочевыводящая система, K-кожа. Представлены только патогены, детектированные более чем у 5 пациентов. См. критерии для деления на подгруппы в Таблице 1 в Примере 1.

Фиг. 5. Калибровочный график MLR модели. В верхней части пациенты были сгруппированы в виде групп по 10 человек на основе их прогнозируемых вероятностей наличия бактериальной инфекции (ось x) и подвергнуты сравнению с наблюдаемой долей случаев бактериальных инфекции во второй группе (ось y). Пунктирная линия представляет собой скользящее среднее (размеров 5 групп). В нижней части показано распределение по прогнозируемым вероятностям наличия бактериальной инфекции (красные столбцы) и вирусной инфекции (синие столбцы).

Фиг. 6А-В. Возрастное распределение пациентов с поставленным диагнозом. А. Все участники исследования ( $n=794$ ); В. Только пациенты-дети ( $n=445$ ).

Фиг. 7А-В. Распределение детектированных патогенов у пациентов с поставленным диагнозом ( $n=794$ ). А. Распределение по детектированным патогенам на основе подгрупп патогенов; В. Распределение детектированных патогенов по штамму (присутствуют штаммы, детектированные более чем у  $>1\%$  пациентов). Распределение соответствует % положительных случаев детектирования у пациентов с диагностированным инфекционным заболеванием.

Фиг. 8. Распределение по пораженным физиологическим системам у пациентов с диагностированным инфекционным заболеванием ( $n=673$ ).

Фиг. 9А-В. Распределение по клиническим синдромам (все пациенты с поставленным диагнозом,  $n=794$ ). А. Основные клинические синдромы; В. Отдельные клинические синдромы.

Фиг. 10. Распределение по максимальным значениям температуры тела ( $n=794$ ).

Фиг. 11. Распределение по времени с момента появления симптомов ( $n=794$ ). N/A - здоровые контроли или пациенты, для которых не были получены данные.

Фиг. 12А-В. Характеристика сопутствующих патологий у пациентов. А. Распределение по сопутствующим патологиям (все хронически больные пациенты,  $n=305$ ); В. Распределение по постоянно принимаемым лекарственным средствам (все хронически больные пациенты,  $n=305$ ). Следует отметить, что у некоторых пациентов присутствовали несколько хронических заболеваний, которые подвергались лечению несколькими постоянно принимаемыми лекарственными средствами.

Фиг. 13. Распределение по месту направления на исследование (пациенты с поставленным диагнозом,  $n=794$ ).

Фиг. 14А-В. Экстраполированные значения PPV и NPV для сигнатуры в виде функции распространенности бактериальных инфекций, А. Единогласная группа (бактериальная инфекция, вирусная инфекция) (n=527), В. Мажоритарная группа (бактериальная инфекция, вирусная инфекция) (n=653).

5 Фиг. 15А-Е. Точечные диаграммы клинических параметров и лабораторных измерений у пациентов с бактериальным, вирусным и неинфекционным заболеванием (как указано) в Мажоритарной группе (бактериальное заболевание, вирусное заболевание, неинфекционное заболевание) (n=765). Красная линия и окружность соответствуют групповой медиане и среднему, соответственно. Показаны р-значения  
10 t-теста бактериальной против вирусной группы и инфекционной (бактериальной и вирусной) против неинфекционной группы (включая здоровых субъектов).

Фиг. 16А-В. Сравнение эффективности сигнатуры и РСТ с применением различных пороговых значений. А. Эффективность, определенная у 76 пациентов из Единогласной группы (бактериальное заболевание, вирусное заболевание); В. Эффективность,  
15 определенная у 101 пациентов из Мажоритарной группы (бактериальное заболевание, вирусное заболевание). Планки погрешности соответствуют 95% доверительному интервалу. Чувствительность сигнатуры и специфичность вычисляли после исключения 14% пациентов с промежуточной иммунной реакцией.

Фиг. 17А-В. Сравнение эффективности сигнатуры и CRP с применением различных пороговых значений. А. Эффективность, определенная у Единогласной группы  
20 (бактериальное заболевание, вирусное заболевание) (n=527); В. Эффективность, определенная у Мажоритарной группы (бактериальное заболевание, вирусное заболевание) (n=653). Планки погрешностей соответствуют 95% доверительному интервалу. Чувствительность сигнатуры и специфичность вычисляли после исключения  
25 14% пациентов с промежуточной иммунной реакцией.

Фиг. 18А-Н. Точечные диаграммы уровней некоторых белковых биомаркеров (произвольные единицы) у пациентов с бактериальным и вирусным заболеванием. Красная линия и окружность соответствуют групповой медиане и среднему,  
30 соответственно. Показаны р-значения t-теста бактериальной группы против вирусной группы.

Фиг. 19А-В. Клиническая точность сигнатуры является устойчивой при сравнении со снижением технической эффективности измерений на основе белков. (А) AUC  
сигнатуры, обеспечивающей различие бактериальной и вирусной инфекции, оценивали с применением карты цветов в качестве функции измерения CV (станд./средн.) TRAIL  
35 (ось у) и CRP (ось х). (В) Значения AUC присутствуют на диагонали Фиг. 19А, таким образом что CV TRAIL и CRP являются равными.

ФИГ. 20 представляет собой 3-мерную визуализацию пациентов с бактериальным ('+'), вирусным ('o') и неинфекционным ('^') заболеванием. Указаны различные типы  
40 пациентов для различения отдельных участков на карте концентрации CRP (мкг/мл), TRAIL и IP-10 (пг/мл).

Фиг. 21А-С. Вероятность вирусного заболевания (А), бактериального или смешанного заболевания (В), и неинфекционного заболевания или здорового субъекта (С) в виде  
функции концентраций TRAIL (ось у), CRP (ось х) и IP-10, определенная в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения для IP-10 в диапазоне  
45 от 0 до 100.

Фиг. 22А-С. Вероятность вирусного заболевания (А), бактериального или смешанного заболевания (В), и неинфекционного заболевания или здорового субъекта (С) в виде  
функции концентраций TRAIL (ось у), CRP (ось х) и IP-10, определенная в соответствии

с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения для IP-10 в диапазоне от 100 до 200.

Фиг. 23А-С. Вероятность вирусного заболевания (А), бактериального или смешанного заболевания (В), и неинфекционного заболевания или здорового субъекта (С) в виде функции концентраций TRAIL (ось у), CRP (ось х) и IP-10, определенная в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения для IP-10 в диапазоне от 200 до 300.

Фиг. 24А-С. Вероятность вирусного заболевания (А), бактериального или смешанного заболевания (В), и неинфекционного заболевания или здорового субъекта (С) в виде функции концентраций TRAIL (ось у), CRP (ось х) и IP-10, определенная в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения для IP-10 в диапазоне от 300 до 400.

Фиг. 25А-С. Вероятность вирусного заболевания (А), бактериального или смешанного заболевания (В), и неинфекционного заболевания или здорового субъекта (С) в виде функции концентраций TRAIL (ось у), CRP (ось х) и IP-10, определенная в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения для IP-10 в диапазоне от 400 до 500.

Фиг. 26А-С. Вероятность вирусного заболевания (А), бактериального или смешанного заболевания (В), и неинфекционного заболевания или здорового субъекта (С) в виде функции концентраций TRAIL (ось у), CRP (ось х) и IP-10, определенная в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения для IP-10 в диапазоне от 500 до 1000.

Фиг. 27А-С. Вероятность вирусного заболевания (А), бактериального или смешанного заболевания (В), и неинфекционного заболевания или здорового субъекта (С) в виде функции концентраций TRAIL (ось у), CRP (ось х) и IP-10, определенная в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения для IP-10 в диапазоне от 1000 до 2000.

Фиг. 28А-С. Вероятность вирусного заболевания (А), бактериального или смешанного заболевания (В), и неинфекционного заболевания или здорового субъекта (С) в виде функции концентраций TRAIL (ось у), CRP (ось х) и IP-10, определенная в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения для IP-10 в диапазоне от 2000 и более.

На Фиг. 29А-Е приведены иллюстративные примеры выходных данных в соответствии со способом различения бактериальной и небактериальной инфекции в соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения.

Фиг. 30А-В представляют собой графики, иллюстрирующие корреляцию между быстрым и медленным протоколом измерения TRAIL (Фиг. 30А) и IP-10 (Фиг. 30В).

Фиг. 31 представляет собой блок-схему способа, являющегося подходящим для анализа биологических данных, полученных от субъекта, в соответствии с различными примерами вариантов осуществления настоящего изобретения.

Фиг. 32А-В представляют собой схематические иллюстрации, описывающие процедуру вычисления расстояния между поверхностью и плоскостью в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения.

Фиг. 33А-Д представляют собой схематические иллюстрации, описывающие процедуру получения сглаженного варианта сегмента поверхности в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения.

Фиг. 34 представляет собой схематическую иллюстрацию блочной диаграммы системы для анализа биологических данных в соответствии с некоторыми вариантами

осуществления настоящего изобретения.

Фиг. 35А-Д представляют собой контурные диаграммы, описывающие вероятность наличия заболевания бактериальной (Фиг. 35А), вирусной (Фиг. 35В), небактериальной (Фиг. 35С) и неинфекционной (Фиг. 35В) этиологии в виде функции координат  $\delta_0$  и  $\delta_1$ .

5 Значения вероятности лежат в диапазоне от 0% (черные) до 100% (белые).

Фиг. 36А-В. Низкие уровни TRAIL свидетельствуют о негативном прогнозе для пациента и исходе, а также о высокой степени тяжести заболевания. (А) Концентрации TRAIL в сыворотке пациентов, которые соответствовали критериям поступления в отделение интенсивной терапии по сравнению со всеми другими пациентами (с 10 заболеванием инфекционной или неинфекционной этиологии). (В) Концентрации TRAIL в сыворотке пациентов-детей, которые соответствовали критериям поступления в отделение интенсивной терапии или умерли по сравнению со всеми другими пациентами с заболеванием инфекционной или неинфекционной этиологии.

15 Фиг. 37А-В представляют собой графики, иллюстрирующие разницу между концентрацией TRAIL у мужчин и женщин детородного возраста.

Фиг. 38А-Е представляют собой скриншоты графического пользовательского интерфейса (GUI), являющегося подходящим для введения пользователем данным в рамках способа с применением компьютера для анализа биологических данных в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения.

20 Фиг. 39А и 39В представляют собой схематические иллюстрации блочной диаграммы системы для анализа биологических данных в рамках вариантов осуществления изобретения, при которых система включает сетевой интерфейс (Фиг. 39А) и пользовательский интерфейс (Фиг. 39В).

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

25 Настоящее изобретение в рамках некоторых вариантов его осуществления относится к вычислительному анализу и, более конкретно, но не исключительно, к вычислительному анализу биологических данных, например с целью обеспечения различения бактериальной инфекции и небактериального заболевания, и/или бактериальной инфекции и вирусной инфекции, и/или инфекционного и неинфекционного 30 заболевания.

Перед подробным описанием, по меньшей мере, одного варианта осуществления изобретения следует отметить, что изобретение не является ограниченным в плане его применимости сведениями, которые приведены ниже в данном описании или которые 35 приведены в качестве примеров в разделе Примеры. Изобретение может быть реализовано в рамках других вариантов осуществления или может быть практически осуществлено или выполнено иными способами.

Различные инфекционные агенты обладают уникальными молекулярными паттернами, которые могут быть идентифицированы иммунной системой и являться ее мишенями. Патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (РАМР) представляют 40 собой пример подобных молекул, которые связаны с различными группами патогенов и могут быть распознаны клетками врожденной иммунной системы с применением Toll-подобных рецепторов (TLR) и других рецепторов распознавания паттернов (например, NOD белками).

Данные рецепторы могут значительно отличаться в рамках различных классов патогенов и, таким образом, вызывать различные иммунные реакции. Например, TLR-4 может распознавать липополисахарид, являющийся компонентом грамотрицательных бактерий, а также липотейхоевые кислоты, являющиеся компонентом 45 грамположительных бактерий, таким образом стимулируя противомикробную реакцию

иммунной системы. TLR-3 может распознавать одноцепочечную РНК (часто являющуюся признаком наличия вирусной инфекции) и, таким образом, стимулировать подходящую противовирусную реакцию. Благодаря различению различных классов патогенов (например бактериальных и вирусных) иммунная система может

5 задействовать подходящую защиту.

В течение нескольких последних десятилетий были идентифицированы несколько маркеров организма, которые могут применяться для обеспечения дифференциальной диагностики источника инфекции при различных проявлениях. Путем измерения маркеров, полученных от организма, а не от патогена, является возможным

10 минимизировать "ложноположительные" диагнозы вследствие непатологических штаммов бактерий, которые являются частью естественной флоры организма. Один из примеров представляет собой Прокальцитонин (РСТ), являющийся прекурсором гормона кальцитонина, продуцируемого С-клетками щитовидной железы. Уровни РСТ в кровотоке здоровых субъектов являются сложно детектируемыми (в пг/мл диапазоне),

15 однако они могут значительно повышаться в результате тяжелой инфекции, при этом уровни могут подниматься вплоть до 100 нг/мл. РСТ широко применяется для постановки диагноза у пациентов с системной инфекцией, то есть сепсисом, при этом чувствительность составляет 76%, а специфичность составляет 70%. Тем не менее, исследования, в рамках которых анализировали диагностическую ценность РСТ при

20 другой несистемной инфекции, такой как пневмония или инфекции верхних дыхательных путей, показали, что она является ограниченной, особенно при самостоятельном применении.

Авторы ранее определили новые наборы биомаркеров, паттерн экспрессии которых значительно коррелирует с типом инфекции - как описано в Международной патентной

25 заявке WO 2011/132086 и WO 2013/117746, обе из которых приведены здесь для ссылки.

Настоящее изобретение в рамках некоторых вариантов его осуществления основано на применении сигнатуры полипептидов для диагностики бактериальных инфекций, вирусных инфекций и небактериальных невирусных заболеваний. Способы по вариантам осуществления настоящего изобретения включают применение алгоритмов

30 распознавания паттернов для идентификации типа инфекции, которой страдает субъект, что в свою очередь обеспечивает возможность выбора подходящей схемы лечения. Различные варианты осуществления изобретения направлены на преодоление ограничений современных диагностических решений за счет: (i) обеспечения возможности проведения точной диагностики в рамках широкого диапазона патогенов;

35 (ii) обеспечения быстрой диагностики (в течение нескольких минут); (iii) нечувствительности к наличию непатогенных бактерий и вирусов (таким образом обеспечивая снижение проблемы ложноположительных результатов); и (iv) устранения потребности в прямом заборе образцов патогена, таким образом обеспечивая диагностику недоступных инфекций. Таким образом, некоторые способы по

40 изобретению обеспечивают возможность отбора субъектов, для которых лечение антибиотиками является желательным, и предотвращение нежелательного лечения антибиотиками у субъектов, имеющих только вирусную инфекцию или неинфекционное заболевание. Некоторые способы по изобретению также предусматривают отбор субъектов, для которых противовирусное лечение будет обладать являться

45 благоприятным.

Для подкрепления результатов, приведенных в Международной патентной заявке WO 2013/117746, авторы настоящего изобретения в данном случае увеличили количество пациентов, принимавших участие в многоцентровом клиническом исследовании, включив



в него 1002 пациентов больниц с различными типами подтвержденных инфекций, а также контрольных субъектов (пациентов с подтвержденным невирусным/небактериальным заболеванием и здоровых субъектов).

Пытаясь повысить уровень точности и чувствительности описанных ранее способов, авторы настоящего изобретения в данном случае применили троичный классификатор, который обеспечивает классификацию пациентов (с подтвержденным типом заболевания) на три различных класса: бактериальная инфекция, вирусная инфекция и небактериальное невирусное заболевание. Сравнение уровней комбинации полипептидов у тестируемого субъекта с паттернами экспрессии, полученными в рамках исследования, приводило к получению лучших результатов в плане чувствительности и специфичности по сравнению с двоичным классификатором, как показано в Примере 3 и в Таблицах 9-12.

В контексте настоящего изобретения могут применяться следующие аббревиатуры. ANC = Абсолютное количество нейтрофилов; ANN = Искусственные нейронные сети; AUC = Площадь под характеристической кривой; BP = Bordetella pertussis; CHF = Хроническая сердечная недостаточность; CI = Доверительный интервал; CID = Врожденный иммунодефицит; CLL = Хронический лимфолейкоз; CMV = Цитомегаловирус; CNS = Центральная нервная система; COPD = Хроническая обструктивная болезнь легких; CP = Chlamydomonas pneumoniae; CRP = С-реактивный белок; CSF = Спинномозговая жидкость; CV = Коэффициент вариации; DOR = Соотношение диагностических коэффициентов; EBV = Вирус Эпштейна-Барра; eCRF = Электронная форма отчета; ED = Отделение неотложной помощи; ELISA = Иммуносорбентный анализ с ферментной меткой; FDR = Частота ложноположительных обнаружений; FMF = Семейная средиземноморская лихорадка; G-CSF = Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; GM-CSF = Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; HBV = Вирус гепатита В; HCV = Вирус гепатита С; HI = Haemophilus influenza; HIV = Вирус иммунодефицита человека; IDE = Эксперты по инфекционным болезням; IL = Интерлейкин; IRB = Институциональный наблюдательный совет; IVIG = Внутривенный иммуноглобулин; KNN = Анализ на основе k-ближайших соседей; LP = Legionella pneumophila; LR+ = Положительный критерий отношения правдоподобия; LR- = Отрицательный критерий отношения правдоподобия; LRTI = Инфекции нижних дыхательных путей; mAb = Моноклональные антитела; MDD = Минимальная детектируемая доза; MDS = Миелодиспластический синдром; MP = Микоплазменная пневмония; MPD = Миелопролиферативное заболевание; NPV = Отрицательная прогностическая ценность; PCT = Прокальцитонин; PED = Детское отделение неотложной помощи; PPV = Положительная прогностическая ценность; QA = Гарантия качества; RSV = Респираторно-синцитиальный вирус; RV = Риновирус; SIRS = Системный воспалительный синдром; SP = Стрептококковая пневмония; STARD = Стандарты отчетности по диагностической точности; SVM = Метод опорных векторов; TNF = Фактор некроза опухоли; URTI = Инфекция верхних дыхательных путей; UTI = Инфекции мочевыводящих путей; WBC = Белая кровяная клетка; WS = Критерий Уилкоксона.

В контексте настоящего изобретения могут применяться следующие статистические термины.

"TP" представляет собой истинно положительный результат и означает положительный результат теста, который точно отражает тестируемую активность. Например, в контексте настоящего изобретения TP, например, но без ограничения, истинным образом классифицирует бактериальную инфекцию как таковую.

"TN" представляет собой истинно отрицательный результат и означает отрицательный результат теста, который точно отражает тестируемую активность. Например, в контексте настоящего изобретения TN, например, но без ограничения, истинным образом классифицирует вирусную инфекцию как таковую.

5 "FN" представляет собой ложноотрицательный результат и означает результат, который выглядит отрицательным, но не описывает ситуацию. Например, в контексте настоящего изобретения FN, например, но без ограничения, ложным образом классифицирует бактериальную инфекцию как таковую.

"FP" представляет собой ложноположительный результат и означает результат теста, 10 который ошибочно классифицируется в качестве соответствующего положительной категории. Например, в контексте настоящего изобретения FP, например, но без ограничения, ложным образом классифицирует бактериальную инфекцию в качестве бактериальной инфекции.

"Чувствительность" вычисляют как  $TP/(TP+FN)$  или на основе истинно положительной 15 доли субъектов с заболеванием.

"Специфичность" вычисляют как  $TN/(TN+FP)$  или на основе истинно отрицательной доли случаев отсутствия заболевания или нормальных субъектов.

"Общую точность" вычисляют как  $(TN+TP)/(TN+FP+TP+FN)$ .

"Положительную прогностическую ценность" или "PPV" вычисляют как  $TP/(TP+FP)$  20 или в виде истинно положительной доли всех положительных результатов тестирования. На него по существу влияют частотность заболевания и вероятность его возникновения в тестируемой популяции перед проведением теста.

"Отрицательную прогностическую ценность" или "NPV" вычисляют как  $TN/(TN+FN)$  или на основе истинно отрицательной доли всех отрицательных результатов 25 тестирования. На нее также по существу влияют частотность заболевания и вероятность его возникновения в тестируемой популяции перед проведением теста. См., например, O'Marcaigh AS, Jacobson RM, "Estimating The Predictive Value Of A Diagnostic Test, How To Prevent Misleading Or Confusing Results," Clin. Ped. 1993, 32(8): 485-491, где обсуждается специфичность, чувствительность и положительная и отрицательная прогностическая 30 ценность теста, например клинического диагностического текста.

"MCC" (Коэффициент корреляции Мэтьюса) вычисляют следующим образом:  $MCC = (TP * TN - FP * FN) / ((TP + FN) * (TP + FP) * (TN + FP) * (TN + FN))^{0.5}$ ,

где TP, FP, TN, FN представляют собой истинно положительные, 35 ложноположительные, истинно отрицательные и ложноотрицательные результаты, соответственно. Следует обратить внимание, что значения MCC лежат в диапазоне между -1 и +1, что соответствует полностью неправильной и превосходной классификации, соответственно. Нулевое значение MCC указывает на произвольную классификацию. Было показано, что MCC может применяться для комбинирования чувствительности и специфичности в одну метрику (Baldi, Brunak et al. 2000). Он также 40 может применяться для измерения и оптимизации точности классификации в случаях несбалансированных размеров классов (Baldi, Brunak et al. 2000).

Термин "точность" означает степень соответствия измеренного или вычисленного количества (полученного в рамках теста значения) с его реальным (или истинным) 45 значением. Клиническая точность относится к доле истинных результатов (истинно положительных (TP) или истинно отрицательных (TN) относительно неправильно классифицированных результатов (ложноположительных (FP) или ложноотрицательных (FN)) и может быть выражена как чувствительность, специфичность, значения положительной прогностической ценности (PPV) или отрицательной прогностической

ценности (NPV), Коэффициент корреляции Мэттьюса (MCC) или в виде вероятности, соотношения вероятностей, характеристической кривой обнаружения (ROC), площади под кривой (AUC), а также других показателей.

5 Термин "аналитическая точность" означает воспроизводимость и предсказуемость самого процесса измерения и может быть обобщен в рамках подобных измерений в виде коэффициентов вариации (CV), коэффициента корреляции Пирсона и тестов на соответствие и калибровку нескольких образцов или контролей с различными показателями времени, пользователями, оборудованием и/или реагентами. Данные и  
10 и иные обстоятельства в рамках оценки новых биомаркеров также приведены у Vasan, 2006.

"Эффективность" представляет собой термин, который связан с общей полезностью и качеством диагностического или прогностического теста, включая, помимо прочего, клиническую и аналитическую эффективность, другие аналитические и процессные  
15 характеристики, такие как применение характеристик (например, стабильности, простоты применения), экономического показателя здоровья, и относительных затрат на компоненты теста. Любой из данных факторов может являться источником повышенной эффективности и, таким образом, полезности теста и может быть определен с помощью подходящих "метрик эффективности", таких как AUC и MCC, время до  
20 получения результата, срок хранения и так далее в качестве соответствующего данному критерию..

Под "статистически значимым" подразумевается, что соответствующее изменение является более существенным, чем то, которое произойти лишь случайным образом (которое могло являться "ложноположительным").

Статистическая значимость может быть определена с помощью любого способа,  
25 известного из уровня техники. Обычно применяемые способы измерения значимости включают р-значение, которое описывает вероятность получения результата, который, по меньшей мере, является столь же экстремальным, что и соответствующие данные при условии, что эти данные являлись результатом только случайности. Результат зачастую считают высокосignificant при р-значении  $\leq 0,05$  или менее.

30 Далее будут подробно описаны аспекты изобретения.

Фиг. 31 представляет собой блок-схему способа, являющегося подходящим для анализа биологических данных, полученных от субъекта, в соответствии с различными примерами вариантов осуществления настоящего изобретения. Следует понимать, что  
35 если не указано иное, описанные ниже операции могут быть осуществлены либо одновременно, либо последовательно в рамках множества комбинаций или последовательностей осуществления. В частности, приведенный на блок-схемах порядок осуществления не следует рассматривать в качестве ограничивающего. Например, две или более операции, которые приведены в рамках последующего описания или на блок-схемах в определенном порядке, могут быть осуществлены в ином порядке (например,  
40 в обратном порядке) или по существу одновременно. Дополнительно, некоторые описанные ниже операции являются необязательными и могут не осуществляться.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъект ранее подвергался лечению антибиотиком, при этом в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекты ранее не подвергался лечению антибиотиком.

45 Любой из описанных здесь способов может быть практически реализован в различных формах. Например, он может быть реализован в рамках физического носителя, например в виде компьютера для выполнения операций, являющихся частью способа. Он может быть реализован в рамках машиночитаемого носителя данных, включающего

машиночитаемые инструкции для реализации операций, являющихся частью способа. Он также может быть реализован в рамках электронного устройства, имеющего характеристики цифрового компьютера, являющегося подходящим для выполнения компьютерной программы в рамках физического носителя, или выполнять инструкции на машиночитаемом носителе данных.

Компьютерные программы, в рамках которых осуществляется практическая реализация способа в соответствии с настоящими вариантами осуществления изобретения, могут поставляться пользователям на дистрибуционном носителе, таком как, но без ограничения, CD-ROM или флэш-накопитель. Компьютерные программы могут быть скопированы с дистрибуционного носителя на жесткий диск или малый промежуточный носитель данных. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения компьютерные программы, в рамках которых осуществляется практическая реализация способа в соответствии с настоящими вариантами осуществления изобретения, могут быть поставлены пользователям путем обеспечения возможности скачивания пользователями программ из удаленного месторасположения через коммуникационную сеть, например интернет. Компьютерные программы могут быть запущены путем загрузки компьютерных инструкций либо с их дистрибуционного носителя или их промежуточного носителя данных в выполняемую память компьютера, конфигурирования компьютера для работы в соответствии со способом по данному изобретению. Все данные операции хорошо известны специалистам в области компьютерных систем.

Вычислительные операции в рамках способа в соответствии с настоящими вариантами осуществления изобретения могут быть выполнены компьютером, являющимся либо удаленным, либо находящимся рядом с субъектом. В случае, если компьютер является удаленным относительно пользователя, он может получать данные через сеть, такую как телефонная сеть или интернет. С этой целью локальный компьютер может применяться для передачи данных удаленному компьютеру. Данная конфигурация обеспечивает выполнение анализа, когда субъект находится в ином месте (например, дома), и также обеспечивает выполнение одновременных анализов для нескольких субъектов, находящихся во множестве различных мест.

Вычислительные операции в рамках способа также могут осуществляться с помощью облачного вычислительного ресурса в облачном вычислительном центре. Облачный вычислительный ресурс может включать вычислительный сервер и необязательно также сервер для хранения данных, и может управляться облачным вычислительным клиентом, как известно из уровня техники.

Способ в соответствии с некоторыми вариантами осуществления может применяться для "вынесения заключения" о наличии бактериальной инфекции. Альтернативно, способ также может применяться для "вынесения заключения" об отсутствии небактериальной инфекции. Способ в соответствии с некоторыми вариантами осуществления может применяться для "вынесения заключения" об отсутствии бактериальной инфекции и "вынесении заключения" о наличии небактериального заболевания.

Способ в соответствии с некоторыми вариантами осуществления может применяться для "вынесения заключения" о наличии вирусной инфекции. Альтернативно, способ также может применяться для "вынесения заключения" об отсутствии невирусной инфекции.

Способ в соответствии с некоторыми вариантами осуществления может применяться для "вынесения заключения" об отсутствии вирусной инфекции и для "вынесения

заклучения" о наличии невирусного заболевания.

Способ в соответствии с некоторыми вариантами осуществления может применяться для "вынесения заключения" о наличии неинфекционного заболевания. Альтернативно, способ может применяться для "вынесения заключения" об отсутствии неинфекционного

5      заболевания. Способ в соответствии с некоторыми вариантами осуществления может применяться для "вынесения заключения" об отсутствии инфекционного заболевания и "вынесении заключения" о наличии неинфекционного заболевания.

Биологические данные, анализируемые с помощью способа, содержат значения экспрессии множества полипептидов в крови субъекта. В некоторых вариантах

10      осуществления биологические данные включают значения экспрессии лишь двух полипептидов, в некоторых вариантах осуществления биологические данные включают значения экспрессии, по меньшей мере, трех полипептидов, в некоторых вариантах осуществления биологические данные включают значения экспрессии лишь трех полипептидов, в некоторых вариантах осуществления биологические данные включают

15      значения экспрессии, по меньшей мере, четырех полипептидов, в некоторых вариантах осуществления биологические данные включают значения экспрессии лишь четырех полипептидов, в некоторых вариантах осуществления биологические данные включают значения экспрессии, по меньшей мере, пяти полипептидов, и в некоторых вариантах осуществления биологические данные включают значения экспрессии лишь пяти

20      полипептидов.

Авторы настоящего изобретения рассматривают многие типы полипептидов. Соответствующие примеры включают, без ограничения, CRP, IP- 10, TRAIL, IL1ra, PCT и SAA. В некоторых вариантах осуществления данное множество полипептидов

25      включает, по меньшей мере, CRP и TRAIL, и в некоторых вариантах осуществления данное множество полипептидов включает, по меньшей мере, CRP, TRAIL и IP-10.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биологические данные представлены в форме субъект-специфического набора данных, как далее подробно описано ниже.

В соответствии с определенным вариантом осуществления уровни секретируемых

30      (то есть растворимых) полипептидов (например, TRAIL, CRP и IP-10) подвергают анализу с помощью данного способа.

Термин "субъект" в соответствии с используемым здесь значением предпочтительно означает человека. Субъект может иметь мужской или женский пол. Субъект может представлять собой новорожденного, ребенка, подростка или взрослого. Субъект

35      может являться тем, кому ранее был поставлен диагноз или кто был идентифицирован в качестве имеющего инфекцию, и необязательно уже подвергся или подвергается терапевтическому вмешательству для лечения инфекции. Альтернативно, субъект также может являться тем, кому не был ранее поставлен диагноз, связанный с наличием инфекции. Например, субъект может представлять собой того, кто демонстрирует один

40      или несколько факторов риска, связанных с наличием инфекции. Субъект также может иметь инфекции, но не демонстрировать симптомов инфекции.

Субъект, заболевание которого было диагностировано в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения обозначается ниже как "тестируемый субъект". Авторы настоящего изобретения собрали информацию

45      относительно паттернов экспрессии полипептидов у множества субъектов, чье заболевание было уже диагностировано, и разработали аналитический способ в соответствии с настоящими вариантами осуществления изобретения на основе собранной информации. Данное множество субъектов обозначено ниже как "субъекты перед

диагностикой" или "другие субъекты".

В соответствии с используемым здесь значением, термин "бактериальная инфекция" означает состояние, при котором субъект является инфицированным бактерией.

Инфекция может являться симптоматической или асимптоматической. В контексте  
5 данного изобретения бактериальная инфекция также может включать вирусный компонент (то есть являться смешанной инфекцией вследствие как бактерий, так и вируса).

Бактериальная инфекция может являться острой или хронической.

Острая инфекция характеризуется быстрым развитием заболевания, относительно  
10 быстрым периодом проявления симптомов и разрешением в течение нескольких дней. Хроническая инфекция представляет собой инфекцию, которая развивается медленно и длится в течение долгого времени. Одно различие между острой и хронической инфекцией заключается в том, что при острой инфекции иммунная система зачастую продуцирует IgM+ антитела против инфекционного агента, в то время как хроническая  
15 фаза инфекции обычно характеризуется IgM-/IgG+ антителами. Кроме того, острые инфекции вызывают опосредуемые иммунитетом некротические процессы, в то время как хронические инфекции зачастую вызывают опосредуемые воспалением фиброзные процессы и появление шрамов. Таким образом, острые и хронические инфекции могут затрагивать различные иммунологические механизмы более низкого порядка.

20 Бактериальная инфекция может являться результатом грамположительных, грамотрицательных бактерий или атипичных бактерий.

Термин "грамположительные бактерии" в соответствии с используемым здесь значением означает бактерии, характеризующиеся тем, что частью структуры их клеточной оболочки является пептидогликан, а также полисахариды и/или теихоевые кислоты, а  
25 также характеризуются сине-фиолетовым цветом их реакции при процедуре окрашивания по Граму. Соответствующие грамположительные бактерии включают: *Actinomyces* spp., *Bacillus anthracis*, *Bifidobacterium* spp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium* spp., *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Eubacterium* spp.,  
30 *Gardnerella vaginalis*, *Gemella morbillorum*, *Leuconostoc* spp., *Mycobacterium abscessus*, комплекс *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium haemophilum*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium scrofulaceum*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium ulcerans*, *Nocardia* spp., *Peptococcus niger*,  
35 *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus similans*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus*, *Streptococcus agalactiae*  
40 (стрептококк группы B), *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus canis*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus mitior*, мутанты *Streptococcus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (стрептококк группы A), *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*.

Термин "грамотрицательные бактерии" в соответствии с используемым здесь  
45 значением означает бактерии, характеризующиеся наличием двойной мембраны, окружающей каждую бактериальную клетку.

Соответствующие грамотрицательные бактерии включают *Acinetobacter calcoaceticus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Aeromonas hydrophila*, *Alcaligenes xylosoxidans*,

бактероиды, *Bacteroides fragilis*, *Bartonella bacilliformis*, *Bordetella* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Branhamella catarrhalis*, *Brucella* spp., *Campylobacter* spp., *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia trachomatis*, *Chromobacterium violaceum*, *Citrobacter* spp., *Eikenella corrodens*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium meningosepticum*,  
 5 *Fusobacterium* spp., *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus* spp., *Helicobacter pylori*, *Klebsiella* spp., *Legionella* spp., *Leptospira* spp., *Moraxella catarrhalis*, *Morganella morganii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Pasteurella multocida*, *Plesiomonas shigelloides*, *Prevotella* spp., *Proteus* spp., *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas* spp., *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia rickettsii*, *Rochalimaea* spp., *Salmonella*  
 10 spp., *Salmonella typhi*, *Serratia marcescens*, *Shigella* spp., *Treponema carateum*, *Treponema pallidum*, *Treponema pallidum endemicum*, *Treponema pertenuis*, *Veillonella* spp., *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica* и *Yersinia pestis*.

Термин "атипичные бактерии" означает бактерии, которые не относятся ни к одной из классических групп по Граму. Как правило, они представляют собой внутриклеточные  
 15 бактериальные патогены. Они включают, без ограничения, *Mycoplasmas* spp., *Legionella* spp., *Rickettsiae* spp. и *Chlamydiae* spp.

Термин "небактериальное заболевание" в соответствии с используемым здесь значением означает любое заболевание или состояние, которое не вызывается инфекционными бактериями.

20 На Фиг. 31 способ начинается в пункте 310 и продолжается в пункте 311, в котором вычисляется первое расстояние  $d$  между сегментом  $S_{ROI}$  первого кривого объекта  $S$  и некривого объекта  $\pi$ . В целом, первый кривой объект  $S$  представляет собой многообразие в  $n$  измерениях, при этом  $n$  представляет собой положительное целое  
 25 число, а некривой объект  $\pi$  представляет собой гиперплоскость в  $n+1$ -мерном пространстве.

Концепция  $n$ -мерных многообразий и гиперплоскостей в  $n+1$  измерениях хорошо известна специалистам в области геометрии. Например, если  $n=1$ , то первый кривой объект представляет собой кривую линию, а второй некривой объект  $\pi$  представляет собой гиперплоскость в 2 измерениях, а именно прямую линию, образующую ось. Если  
 30  $n=2$ , то первый кривой объект представляет собой кривую поверхность, в некривой объект  $\pi$  представляет собой гиперплоскость в 3 измерениях, а именно плоскую плоскость, называемую ниже "плоскостью".

Гиперплоскость  $\pi$  образована  $n$  направлениями. Например, если некривой объект представляет собой ось, то он образован одним направлением, а если некривой объект  
 35 представляет собой плоскость, то он образован двумя направлениями, называемыми первым направлением и вторым направлением.

Расстояние между многообразием  $S$  и гиперплоскостью  $\pi$  вычисляют в точке  $P$  на гиперплоскости.  $P$  определяется  $n$  координатами. Например, если гиперплоскость представляет собой ось, то  $P$  определяется одной координатой  $\delta_1$  вдоль одного  
 40 направления, а если гиперплоскость представляет собой плоскость, то  $P$  определяется парой указанных координат  $(\delta_0, \delta_1)$ , где  $\delta_0$  имеет название "первая координата" и определена вдоль первого направления, а  $\delta_1$  имеет название "вторая координата" и определена вдоль второго направления. Если явно не указано иное, указание на  
 45 координату  $\delta_0$  описывает необязательный вариант, который является предполагаемым в том случае, если  $S$  представляет собой поверхность, а  $\pi$  представляет собой плоскость.

Направления отмечены с использованием тех же греческих букв, что и соответствующие координаты, за исключением того, что направления отмечены с

использованием подчеркнутых греческих букв для указания того, что они являются векторами. Таким образом, первое направление отмечено как  $\underline{\delta}_0$ , а второе направление отмечено как  $\underline{\delta}_1$ .

5 На Фиг. 32А изображена гиперплоскость  $\pi$  для случая  $n=2$ . В рамках данных вариантов  $\pi$  представляет собой плоскость, образованную направлениями  $\underline{\delta}_0$  и  $\underline{\delta}_1$ . Также показана точка Р с координатами  $(\delta_0, \delta_1)$ . Направления  $\underline{\delta}_0$  и  $\underline{\delta}_1$  показаны как ортогональные по отношению к друг другу, однако это не является обязательным, поскольку угол между  $\underline{\delta}_0$  и  $\underline{\delta}_1$  может быть отличным от  $90^\circ$ . На плоскости  $\pi$  присутствует

10 представляющий интерес планарный участок  $\pi_{ROI}$ , расположенный от минимальной первой координаты  $\delta_{0,MIN}$  до максимальной первой координаты  $\delta_{0,MAX}$  вдоль направления  $\underline{\delta}_0$  и от минимальной второй координаты  $\delta_{1,MIN}$  до максимальной второй координаты  $\delta_{1,MAX}$  вдоль направления  $\underline{\delta}_1$ . Точка Р расположена в рамках

15 представляющего интерес участка  $\pi_{ROI}$ . Если  $n=1$  (не показано), то  $\pi$  представляет собой ось, а представляющий интерес участок  $\pi_{ROI}$  представляет собой линейный сегмент  $\pi$ , расположенный от  $\delta_{1,MIN}$  до  $\delta_{1,MAX}$  вдоль направления  $\underline{\delta}_1$ .

Вычисление первого расстояния  $d$  приведено на Фиг. 32В, на которой показана

20 гиперплоскость  $\pi$  и многообразие  $S$ . Расстояние  $d$  измеряют от  $S$  до точки Р перпендикулярно  $\pi$ . Следует понимать, что в то время как каждый из объектов  $\pi$  и  $S$  показан в виде одномерной линии, это необязательно должно быть так, поскольку  $S$  и  $\pi$  в целом представляют собой  $n$ -мерные математические объекты. Например, если  $S$  представляет собой поверхность, а  $\pi$  представляет собой плоскость, то как  $\pi$ , так и  $S$

25 в целом представляют собой двумерные математические объекты. Сегмент  $S_{ROI}$  расположен выше представляющего интерес участка  $\pi_{ROI}$ . Например, если  $\pi$  представляет собой плоскость, то  $\pi_{ROI}$  представляет собой планарный представляющий интерес участок, а если  $\pi$  представляет собой ось, то  $\pi_{ROI}$  представляет собой линейный

30 сегмент вдоль оси. Таким образом,  $\pi_{ROI}$  представляет собой проекцию  $S_{ROI}$  на  $\pi$ . Для  $n=2$   $S_{ROI}$  предпочтительно представляет собой непланарный сегмент (поверхности)  $S$ , а для  $n=1$   $S_{ROI}$  предпочтительно представляет собой кривой сегмент (кривой)  $S$ .

Каждая из  $n$  координат задана комбинацией значений экспрессии полипептидов. Например, для  $n=1$  координата  $\delta_1$  задана комбинацией значений экспрессии

35 полипептидов, а для  $n=2$  каждая из координат  $\delta_0$  и  $\delta_1$  задана отличной комбинацией значений экспрессии полипептидов.

Например,  $\delta_1$  и необязательно также  $\delta_0$  представляют собой комбинацией полипептидов, в соответствии со следующим уравнением:

$$40 \quad \delta_0 = a_0 + a_1 D_1 + a_2 D_2 + \dots + \varphi_0$$

$$\delta_1 = b_0 + b_1 D_1 + b_2 D_2 + \dots + \varphi_1,$$

где  $a_0, a_1, \dots$  и  $b_0, b_1, \dots$  представляют собой неизменные и предварительно определенные коэффициенты, а каждая из переменных  $D_1, D_2, \dots$  представляет собой

45 уровни экспрессии одного из полипептидов, а  $\varphi_0$  и  $\varphi_1$  представляют собой функции, которые являются нелинейными в отношении, по меньшей мере, одного из уровней экспрессии.

Каждая из функций  $\varphi_0$  и  $\varphi_1$  является необязательной и может независимо возвращать



ноль (или, эквивалентным образом, не включаться при вычислении соответствующей координаты). Если  $\varphi_0=0$ , то координата  $\delta_0$  представляет собой комбинацию полипептидов, а если  $\varphi_1=0$ , то координата  $\delta_1$  представляет собой комбинацию полипептидов.

Нелинейные функции  $\varphi_0$  и  $\varphi_1$  могут быть необязательно и предпочтительно выражены в виде степеней уровней экспрессии, например в соответствии со следующими выражениями:

$$\varphi_0 = \sum_i q_i X_i^{\gamma_i}$$

$\varphi_1 = \sum_i r_i X_i^{\lambda_i}$ , где  $i$  представляет собой индекс суммирования,  $q_i$  и  $r_i$  представляют собой наборы коэффициентов,  $X_i \in \{D_1, D_2, \dots\}$ , а каждый из  $\gamma_i$  и  $\lambda_i$  представляет собой численную экспоненту. Следует обратить внимание, что ряд членов в каждой из нелинейных функций  $\varphi_0$  и  $\varphi_1$  не обязательно равняется количеству полипептидов и что два или более члена в каждой сумме могут соответствовать одному полипептиду, хотя и с отличной численной экспонентой.

Соответствующие примеры коэффициентов, подходящих для настоящих вариантов осуществления изобретения, приведены в разделе Примеры далее (см. Таблицы 3, 13-17, 29 и 31-36).

Если  $\varphi_0=0$ ,  $\varphi_1=0$  и полипептиды включают TRAIL, то  $\delta_0$  необязательно и предпочтительно представляет собой возрастающую функцию значения экспрессии TRAIL, а  $\delta_1$  представляет собой убывающую функцию TRAIL. Если  $\varphi_0=0$ ,  $\varphi_1=0$  и полипептиды включают CRP, то  $\delta_1$  и необязательно также  $\delta_0$  необязательно и предпочтительно представляют собой возрастающие функции значения экспрессии CRP. Если полипептиды включают IP-10, то  $\delta_1$  и необязательно также  $\delta_0$  необязательно и предпочтительно представляют собой возрастающие функции значения экспрессии IP-10.

В вариантах осуществления изобретения, в рамках которых  $\varphi_0=0$ ,  $\varphi_1=0$  и полипептиды включают TRAIL, CRP и IP-10, каждый из  $\delta_0$  и  $\delta_1$  может представлять собой линейную комбинацию TRAIL, CRP и IP-10 в соответствии со следующим уравнением:

$$\delta_0 = a_0 + a_1 C + a_2 I + a_3 T$$

$$\delta_1 = b_0 + b_1 C + b_2 I + b_3 T,$$

где  $C$ ,  $I$  и  $T$  представляют собой, соответственно, уровни экспрессии CRP, IP-10 и TRAIL.

Предпочтительно, как  $a_1$ , так и  $b_1$  являются положительными. Предпочтительно, как  $a_2$ , так и  $b_2$  являются положительными.

Предпочтительно,  $a_3$  является положительным, а  $b_3$  является отрицательным. Соответствующие примеры коэффициентов, подходящих для вариантов осуществления изобретения, в рамках которых комбинация представляет собой линейную комбинацию, а полипептиды представляют собой CRP, IP-10 и TRAIL, приведены в разделе Примеры далее (см. Таблицы 3, 13-17 и 33).

В вариантах осуществления, в рамках которых  $\varphi_0 \neq 0$ ,  $\varphi_1 \neq 0$  и полипептиды включают TRAIL, CRP и IP-10, каждый  $\delta_0$  и  $\delta_1$  может представлять собой комбинацию TRAIL, CRP и IP-10 в соответствии со следующими уравнениями:

$$\delta_0 = a_0 + a_1 C + a_2 I + a_3 T + \varphi_0$$

$$\delta_1 = b_0 + b_1 C + b_2 I + b_3 T + \varphi_1,$$

где каждый из  $\varphi_0$  и  $\varphi_1$  представляет собой нелинейную функцию, по меньшей мере, одного или, по меньшей мере, двух из C, I и T. В качестве соответствующего примера  $\varphi_0$  и  $\varphi_1$  могут быть выражены как:

$$\varphi_0 = q_1 C^{\gamma_1} + q_2 C^{\gamma_2} + q_3 T^{\gamma_3}$$

$$\varphi_1 = r_1 C^{\gamma_1} + r_2 C^{\gamma_2} + r_3 T^{\gamma_3}.$$

Соответствующие примеры коэффициентов, подходящих для вариантов осуществления изобретения, в рамках которых полипептиды представляют собой CRP, IP-10 и TRAIL, а нелинейные функции не возвращают ноль, приведены в разделе Примеры далее (см. Таблицу 36).

Границы  $\delta_{0,MIN}$ ,  $\delta_{0,MAX}$ ,  $\delta_{1,MIN}$  и  $\delta_{1,MAX}$   $\pi_{ROI}$  предпочтительно соответствуют физиологически возможным диапазонам значений экспрессии полипептидов.

При измерении с применением протоколов, описанных ниже в Примере 8, более предпочтительно в Примере 9, физиологически возможные диапазоны составляют, как правило, от 0 до около 400 мкг/мл (CRP), от 0 до около 3000 пг/мл (IP-10) и от 0 до около 700 пг/мл (TRAIL). Некоторые субъекты могут демонстрировать концентрации, которые лежат вне данных диапазонов. - В рамках различных примеров вариантов осуществления изобретения если значения экспрессии TRAIL, CRP и IP-10 измеряют в соответствии с протоколом, описанным ниже в Примере 8, более предпочтительно в Примере 9, значения коэффициентов  $a_0, \dots, a_3$  и  $b_0, \dots, b_3$  берут из Таблицы 3 ниже, а границы  $\pi_{ROI}$  составляют:  $\delta_{0,MIN} = -1.3$ ,  $\delta_{0,MAX} = 45$ ,  $\delta_{1,MIN} = -14.3$  и  $\delta_{1,MAX} = 49.6$ .

При измерении значений экспрессии TRAIL, CRP и IP-10 с применением протокола, которые отличает от протокола, описанного ниже в Примере 8, более предпочтительно в Примере 9, значения коэффициентов  $a_0, \dots, a_3$  и  $b_0, \dots, b_3$  отличаются от значений в Таблице 3 ниже, и, таким образом, границы  $\pi_{ROI}$  также отличаются от указанных выше значений. В подобных случаях значения коэффициентов и границ коррелирует с вышеуказанными значениями, при этом корреляцию каждого коэффициента и границы получают на основе корреляции между значением экспрессии соответствующего белка при измерении в соответствии с протоколом, описанным в Примере 8, более предпочтительно в Примере 9, и значением экспрессии соответствующего белка при реальном измерении.

По крайней мере, основная часть сегмента  $S_{ROI}$  кривого объекта S расположена между двумя кривыми объектами, которые далее называют нижним ограничивающим кривым объектом  $S_{LB}$  и верхним ограничивающим кривым объектом  $S_{UB}$ .

В соответствии с используемым здесь значением, термин "основная часть сегмента  $S_{ROI}$ " означает часть сглаженного варианта  $S_{ROI}$ , чья длина (при  $n=1$ ), площадь поверхности (при  $n=2$ ) или объем (при  $n \geq 3$ ) составляет 60% или 70% или 80% или 90% или 95% или 99% сглаженного варианта длины, площади поверхности или объема  $S_{ROI}$ , соответственно.

В соответствии с используемым здесь значением, термин "сглаженный вариант сегмента  $S_{ROI}$ " означает сегмент  $S_{ROI}$  за исключением участков  $S_{ROI}$  вблизи точек, где гауссова кривизна превышает предельное значение кривизны, составляющее X-кратную величину медианной кривизны  $S_{ROI}$ , при этом X равен 1,5 или 2 или 4 или 8.

Нижеследующая процедура может применяться с целью определения того,

расположена ли основная часть сегмента  $S_{ROI}$  между  $S_{LB}$  и  $S_{UB}$ . Во-первых, получают сглаженный вариант сегмента  $S_{ROI}$ . Во-вторых, вычисляют длину (при  $n=1$ ), площадь поверхности (при  $n=2$ ) или объем (при  $n \geq 3$ )  $A_1$  сглаженного варианта сегмента  $S_{ROI}$ .

В-третьих, вычисляют длину (при  $n=1$ ), площадь поверхности (при  $n=2$ ) или объем (при  $n \geq 3$ )  $A_2$  части сглаженного варианта сегмента  $S_{ROI}$ , расположенного между  $S_{LB}$  и  $S_{UB}$ .

В-четвертых, вычисляют процентное отношение  $A_2$  к  $A_1$ .

На Фиг. 33A-D показана процедура получения сглаженного варианта  $S_{ROI}$ .

Для лучшего понимания  $S_{ROI}$  изображен в виде одномерного сегмента, однако специалисту в данной области будет очевидно, что  $S_{ROI}$  в целом представляет собой  $n$ -мерный математический объект. Гауссова кривизна вычисляется для достаточного количества точек на  $S_{ROI}$ . Например, при отображении многообразия в виде точечного множества гауссова кривизна может быть вычислена для точек, являющихся частью точечного множества. Затем получают медиану гауссовой кривизны и вычисляют предельную кривизну путем умножения полученной медианы на  $X$ . На Фиг. 33A показан  $S_{ROI}$  перед проведением операции сглаживания. Отмечен участок 320 с одной или несколькими точками 322, в которых гауссова кривизна превышает предельную кривизну. Точка или точка, в которых гауссова кривизна является максимальной в участке 320, удалена, а участок 320 плавно интерполирован, например с помощью полиномиальной интерполяции (Фиг. 33B). Удаление и интерполяция повторяются несколько раз (Фиг. 33C) до момента, когда сегмент  $S_{ROI}$  не содержит участков, в которых гауссова кривизна превышает предельную кривизну (Фиг. 33D).

Если  $n=1$  (то есть когда  $S$  представляет собой кривую линию), то  $S_{LB}$  представляет собой нижнюю ограничивающую кривую, а  $S_{UB}$  представляет собой верхнюю ограничивающую кривую. В рамках данных вариантов осуществления изобретения  $S_{LB}$  и  $S_{UB}$  могут быть записаны в форме:

$$S_{LB}=f(\delta_1)-\varepsilon_0,$$

$$S_{UB}=f(\delta_1)+\varepsilon_1$$

где  $f(\delta_1)$  представляет собой функцию вероятностной классификации координаты  $\delta_1$  (вдоль направления  $\delta_1$ ), которая отражает вероятность того, что тестируемый субъект имеет бактериальную инфекцию. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $f(\delta_1)=1/(1+\exp(\delta_1))$ . Каждый из  $S_{LB}$  и  $S_{UB}$  является положительным для любого значения  $\delta_1$  в рамках  $\pi_{ROI}$ . Также рассматриваются варианты осуществления изобретения, в рамках которых  $f(\delta_1)$  представляет собой функцию вероятностной классификации, которая отражает вероятность того, что тестируемый субъект имеет вирусную инфекцию. Также рассматриваются варианты осуществления изобретения, в рамках которых  $f(\delta_1)$  представляет собой функцию вероятностной классификации, которая отражает вероятность того, что тестируемый субъект имеет инфекцию.

Если  $n=2$  (то есть если  $S$  представляет собой кривую поверхность), то  $S_{LB}$  представляет собой нижнюю ограничивающую кривую поверхность, а  $S_{UB}$  представляет собой верхнюю ограничивающую кривую поверхность. В рамках данных вариантов осуществления изобретения  $S_{LB}$  и  $S_{UB}$  могут быть записаны в форме:

$$S_{LB}=f(\delta_0, \delta_1)-\varepsilon_0,$$

$$S_{UB}=f(\delta_0,\delta_1)+\varepsilon_1$$

где  $f(\delta_0,\delta_1)$  представляет собой функцию вероятностной классификации первой и второй координаты (вдоль первого и второго направления), которая отражает вероятность того, что тестируемый субъект имеет бактериальную инфекцию. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $f(\delta_0,\delta_1)=\exp(\delta_1)/(1+\exp(\delta_0)+\exp(\delta_1))$ . Как  $S_{LB}$ , так и  $S_{UB}$  являются положительными для любого значения  $\delta_0$  и  $\delta_1$  в рамках  $\pi_{ROI}$ .

В рамках любого из указанных выше вариантов осуществления каждый из параметров  $\varepsilon_0$  и  $\varepsilon_1$  составляет менее чем 0,5 или менее чем 0,4 или менее чем 0,3 или менее чем 0,2 или менее чем 0,1 или менее чем 0,05.

На Фиг. 31 способ далее включает пункт 312, в рамках которого вычисленное расстояние  $d$  коррелируется с присутствием, отсутствием, или вероятностью того, что субъект имеет заболевание или состояние, соответствующее типу вероятностной функции  $f$ . Например, если вероятностная функция  $f$  отражает вероятность того, что тестируемый субъект имеет бактериальную инфекцию, то вычисленная вероятность  $d$  коррелируется с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет бактериальную инфекцию.

В рамках различных примеров вариантов осуществления изобретения данное определение корреляции включает определение того, что расстояние  $d$  представляет собой вероятность того, что субъект имеет бактериальную инфекцию. Данная вероятность необязательно и предпочтительно сравнивается с предварительно определенным пороговым значением  $\omega_B$ , при этом способ может обеспечивать возможность определения того, что субъект вероятно имеет бактериальную инфекцию, если вероятность превышает  $\omega_B$ , и что он вероятно не имеет бактериальную инфекцию в ином случае. Обычные значения  $\omega_B$  включают, без ограничения, 0,2, около 0,3, около 0,4, около 0,5, около 0,6 и около 0,7. Также включены другие предельные значения вероятности.

В рамках некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения, если способ обеспечивает определение того, что субъект вероятно имеет бактериальную инфекцию, то субъект подвергается лечению бактериальной инфекции (316), как подробно описано здесь.

Авторы настоящего изобретения обнаружили функцию вероятностной классификации  $g(\delta_0,\delta_1)$ , которая отражает вероятность того, что тестируемый субъект имеет вирусную инфекцию. В различных примерах вариантов осуществления изобретения  $g(\delta_0,\delta_1)$  равняется  $\exp(\delta_0)/(1+\exp(\delta_0)+\exp(\delta_1))$ .

Функция  $g$  может также применяться, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения, для оценки присутствия, отсутствия или вероятности того, что субъект имеет вирусную инфекцию. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает пункт 313, в рамках которого вычисляют второе расстояние между сегментом второй кривой поверхности и плоскостью  $\pi$ , а также пункт 314, в рамках которого второе расстояние коррелируется с наличием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет вирусную инфекцию. Процедура и определения, соответствующие пунктам 313 и 314, аналогичны процедуре и определениям, соответствующим пунктам 311 и 312, которые описаны выше, *mutatis mutandis*. Таким образом, например, основная часть сегмента второй поверхности расположена между второй нижней ограничивающей поверхностью  $g(\delta_0,\delta_1)-\varepsilon_2$  и второй

верхней ограничивающей поверхностью  $g(\delta_0, \delta_1) + \epsilon_3$ , при этом каждый из  $\epsilon_2$  и  $\epsilon_3$  составляет менее 0,5 или менее 0,4 или менее 0,3 или менее 0,2 или менее 0,1 или менее 0,05.

В рамках некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения если способ обеспечивает определение того, что субъект вероятно имеет вирусную инфекцию, то субъект подвергается лечению вирусной инфекции (316), как подробно описано здесь.

В рамках различных примеров вариантов осуществления изобретения данная корреляция включает определение того, что второе расстояние представляет собой вероятность того, что субъект имеет вирусную инфекцию. Данная вероятность необязательно и предпочтительно сравнивается с предварительно определенным пороговым значением  $\omega_V$ , при этом способ может обеспечивать возможность определения того, что субъект вероятно имеет вирусную инфекцию, если вероятность превышает  $\omega_V$ , и что он вероятно не имеет вирусную инфекцию в ином случае. Обычные значения  $\omega_V$  включают, без ограничения, около 0,5, около 0,6, около 0,7 и около 0,8. Также включены другие предельные значения вероятности.

В вариантах осуществления изобретения, в рамках которых осуществляются операции 313 и 314, операции 311 и 312 могут либо осуществляться, либо не осуществляться. Например, настоящие варианты осуществления предусматривают процедуру, в рамках которой операции 311 и 312 не осуществляются, при этом способ обеспечивает определение вероятности того, что субъект имеет вирусную инфекцию, без вычисления первого расстояния и без коррелирования первого расстояния с наличием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет бактериальную инфекцию.

Альтернативно, могут быть осуществлены все операции 311-314, при этом 311 и 312 осуществляются безотносительно результата операции 314, а 313 и 314 осуществляются безотносительно результата 312. В рамках данных вариантов осуществления способ необязательно и предпочтительно включает определение как вероятности того, что субъект имеет бактериальную инфекцию, так и вероятности того, что субъект имеет вирусную инфекцию. Каждая из данных вероятностей может быть подвергнута сравнению с соответствующим предварительно определенным пороговым значением ( $\omega_B$  или  $\omega_V$ ). Если каждая из данных вероятностей находится ниже соответствующего порогового значения, способ обеспечивает определение того, что пациент вероятно имеет небактериальное и невирусное инфекционное заболевание. Например, способ может обеспечивать определение того, что субъект вероятно имеет неинфекционное заболевание, грибковое заболевание или паразитическое заболевание.

Альтернативно, осуществление некоторых операций зависит от результата одной или нескольких других операций. Например, способ может включать осуществление операций 311 и 312 для определения вероятности того, что субъект имеет бактериальную инфекцию. После этого определенная вероятность сравнивается с пороговым значением  $\omega_B$ . В рамках способа пропускается осуществление операций 313 и 314, если определенная вероятность превышает сов, и осуществляются операции 313 и 314 в ином случае. Другой пример данных вариантов осуществления представляют собой процедуру, в рамках которой способ включает осуществление операций 313 и 314 для определения вероятности того, что субъект имеет вирусную инфекцию. После этого определенная вероятность сравнивается с пороговым значением  $\omega_V$ . В рамках способа пропускается осуществление операций 311 и 312, если определенная вероятность превышает  $\omega_V$ , и осуществляются операции 311 и 312 в ином случае.

Способ необязательно и предпочтительно достигает пункта 315, в рамках которого генерируются выходные данные по вероятности (вероятностям). Выходные данные могут быть представлены в виде текста, и/или графически и/или с применением значений цвета. Выходные данные могут необязательно включать результаты сравнения с пороговым значением  $\omega_B$ . На Фиг. 29А-Е и 38А-Е показаны примеры выходных данных для различения бактериальной и небактериальной инфекции в соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения.

Способ оканчивается на пункте 317.

Фиг. 38А-Е представляют собой скриншоты графического пользовательского интерфейса (GUI), являющегося подходящим для введения пользователем данным в рамках способа с применением компьютера для анализа биологических данных в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения.

GUI включает элемент управления для активации вычислений 390, который может быть представлен в виде элемента управления в форме кнопки. GUI также может включать множество полей для ввода значений экспрессии 380, при этом каждое поле для ввода значения экспрессии сконфигурировано для получения от пользователя значения экспрессии полипептида в крови субъекта. Пользователь заполняет поля для ввода значениями экспрессии полипептидов. Альтернативно, значения экспрессии могут быть получены путем установления соединения между компьютером и внешним устройством (не показано), которое измеряет значения экспрессии. В рамках данных вариантов осуществления для пользователя необязательно вводить значения экспрессии в поля для ввода вручную. В некоторых вариантах осуществления GUI включает коммуникационный элемент управления 392, например в виде элемента управления в форме кнопки, при этом связь с внешним устройством осуществляется в ответ на активацию коммуникационного элемента управления пользователем.

В ответ на активацию элемента управления 390 пользователем компьютер вычисляет балл на основе значений экспрессии, полученных автоматически или через поля для ввода 380. Балл может представлять собой вероятность того, что субъект имеет бактериальную инфекцию и/или вирусную инфекцию. Балл может быть вычислен, например, путем вычисления расстояния между кривой поверхностью и плоскостью, образованной двумя направлениями, как подробно описано выше.

На GUI может быть сгенерирована графическая шкала 382. Графическая шкала может включать первый конец, идентифицированный в качестве соответствующего вирусной инфекции, и второй конец, идентифицированный в качестве соответствующего бактериальной инфекции.

При вычислении балла на графическую шкалу 382 может быть необязательно и предпочтительно нанесена метка 394 в месте, соответствующем вычисленной вероятности. На Фиг. 38А показан GUI перед введением значений в поля для ввода, на Фиг. 38 В показана отметка 394 на шкале 382 в месте, которое соответствует 96% вероятности того, что инфекция является бактериальной, а на Фиг. 38С показана отметка 394 на шкале 382 в месте, которое соответствует 1% вероятности того, что инфекция является бактериальной (или, эквивалентно, 99% вероятности, что инфекция является вирусной). Необязательно GUI также отображает вычисленный балл в числовом виде.

GUI необязательно и предпочтительно включает один или несколько дополнительных элементов управления 386, 388, которые могут быть в форме элементов управления в виде кнопок. Например, элемент управления 388 может заставлять компьютер очищать поля для ввода 380, когда пользователь активирует элемент управления 388. Это

позволяет пользователю вводить значения, которые соответствуют другому образцу. В некоторых вариантах осуществления GUI также генерирует выходные данные 384, которые обобщают результаты предыдущих образцов. Элемент управления 386 может заставлять компьютер очищать поля для ввода 380, а также выходные данные 384, когда пользователь активирует элемент управления 386. Это позволяет пользователю начинать новый сеанс вычислений (необязательно с применением нескольких образцов) без выхода из GUI.

Соответствующий пример протокола, который является подходящим для настоящих вариантов осуществления изобретения, является следующим.

GUI представляет аутентифицированному пользователю диалог, который позволяет пользователю вводить значения контроля качества (QC) эксперимента. QC проверяется и генерируется GUI, показанный на Фиг. 38А. Пользователь вводит значения экспрессии в поля для ввода 380 и активирует элемент управления 390 для получения результата (например, как показано на Фиг. 38В и 38С). Для введения значений экспрессии другого образца крови пользователь активирует элемент управления 388. Результат каждого образца добавляется в выходные данные 384, которые могут быть представлены, например, в форме таблицы. Для проведения нового эксперимента без закрытия программы или выхода пользователь активирует элемент управления 386 для очистки полей для ввода 384 и вводит новые значения QC. Предпочтительно, все операции записываются в один или несколько log-файлов.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения GUI также включает экран для отчетов (Фиг. 38D и 38Е), на котором отображаются результаты предыдущих экспериментов, например в ответ на запрос, связанный с определенной датой.

Очевидно, что представленные здесь названия полипептидов приведены лишь в качестве примеров. Специалистам в данной области будут очевидны многие альтернативные названия, наименования, модификации, изоформы и вариации. Соответственно, изобретение включает все альтернативные названия белков, наименования, модификации, изоформы и вариации.

Генетические продукты указаны на основе официальной буквенной аббревиатуры или символа гена, присвоенного Комитетом по наименованиям Международной организации по изучению генома человека (HGNC), и подвергнуты листингу на дату подачи данной заявки на веб-сайте Национального центра биотехнологической информации США (NCBI), также известном как Entrez Gene.

TRAIL: Кодированный данным геном белок, TNF-связанный апоптоз-индуцирующий лиганд (TRAIL), представляет собой цитокин, который принадлежит к семейству лигандов-факторов некроза опухоли (TNF). Дополнительные названия данного гена включают, без ограничения, AP02L, TNF-связанный апоптоз-индуцирующий лиганд, TNFSF10 и CD253. TRAIL существует в мембраносвязанной форме и растворимой форме, обе из которых могут индуцировать апоптоз в различных клетках, таких как трансформированные опухолевые клетки. Данный белок связывается с несколькими членами суперсемейства TNF-рецепторов, такими как TNFRSF10A/TRAILR1, TNFRSF10B/TRAILR2, TNFRSF10C/TRAILR3, TNFRSF10D/TRAILR4, и вероятно также с TNFRSF11B/OPG. Активность данного белка может модулироваться за счет связывания с рецепторами-приманками, такими как TNFRSF10C/TRAILR3, TNFRSF10D/TRAILR4 и TNFRSF11B/OPG, которые не могут индуцировать апоптоз. Было показано, что связывание данного белка с его рецепторами вызывает активацию MAPK8/JNK, каспазы 8 и каспазы 3. Для данного гена были обнаружены подвергнутые альтернативному сплайсингу транскриптные варианты, кодирующие иные изоформы. TRAIL может быть

подвергнут протеолитическому отщеплению от поверхности клетки для получения растворимой формы, которая обладает гомотримерной структурой.

В соответствии с определенным вариантом осуществления изобретения измеряют уровень растворимой (то есть секретируемой) формы TRAIL.

5 В соответствии с другим вариантом осуществления изобретения измеряют уровень мембранной формы TRAIL.

В соответствии с другим вариантом осуществления изобретения измеряют как уровень мембранной формы TRAIL, так и уровень секретируемой формы TRAIL.

10 В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения предусмотрен способ определения типа инфекции у субъекта, включающий измерение концентрации растворимого TRAIL и нерастворимого TRAIL, при этом концентрация свидетельствует о типе инфекции.

В одном варианте осуществления изобретения, когда концентрация растворимого TRAIL превышает предварительно определенное пороговое значение, делается  
15 заключение об отсутствии бактериальной инфекции у субъекта.

В другом варианте осуществления, когда концентрация растворимого TRAIL превышает предварительно определенное пороговое значение, делается заключение о наличии вирусной инфекции у субъекта.

20 Примеры белковых последовательностей для растворимого TRAIL указаны в SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38.

Пример мРНК последовательности мембранного TRAIL человека указан в SEQ IDNO: 1.

Пример аминокислотных последовательностей мембранного TRAIL человека указан в SEQ ID NO: 4.

25 Другие примеры последовательностей кДНК и аминокислот для TRAIL указаны в SEQ ID NO: 2, 3 и 5-8.

IP-10: Данный ген кодирует хемокин подсемейства CXС и лиганд для рецептора CXCR3. Связывание данного белка с CXCR3 приводит к плеiotропным эффектам, включая стимулирование миграции моноцитов, естественных киллеров (NK-клеток) и  
30 Т-клеток, а также к модулированию экспрессии молекул адгезии. Дополнительные названия данного гена включают, без ограничений: IP-10, CXCL10, гамма-IP 10, INP10 и хемокиновый (C-X-C мотив) лиганд 10.

Пример последовательности кДНК IP-10 человека указан в SEQ ID NO: 9-12. Пример аминокислотной последовательности IP-10 человека указан в SEQ ID NO: 13.

35 CRP: С-реактивный белок; дополнительные наименования CRP включают, без ограничения, RP11-419N 10.4 и PTX1. Белок, кодируемый данным геном, принадлежит к семейству пентаксинов. Он принимает участие в некоторых связанных с защитой организма функциях на основе его способности распознавать чужеродные патогены и поврежденные клетки организма, а также инициировать их уничтожение путем  
40 взаимодействия с гуморальными и клеточными эффекторными системами в крови. Как следствие, уровень данного белка в плазме сильно повышается при острой фазе реакции на повреждение ткани, инфекцию или другие воспалительные стимулы. CRP присущи несколько функций, связанных с защитой организма: он промотирует агрегацию, разбухание бактериальной капсулы, фагоцитоз и связывание комплемента благодаря  
45 его кальций-зависимому связыванию с фосфорилхолином.

Пример последовательности кДНК CRP человека указан в SEQ ID NO: 14-16.

Пример аминокислотной последовательности CRP человека указан в SEQ IDNO: 17.

IL1RA: Белок, кодируемый данным геном, представляет собой цитокиновый рецептор,



которые принадлежит к семейству рецепторов интерлейкина-1. Данный белок представляет собой рецептор интерлейкина-альфа (IL1A), интерлейкина-бета (IL1B) и рецептор интерлейкина-1 тип I (IL1R1/IL1RA). Он является важным медиатором, принимающим участие во многих цитокин- индуцированных иммунных и воспалительных реакциях. Дополнительные названия данного гена включают, без ограничений: CD121A, IL-1RT1, p80, антиген CD121a, CD121A, IL1R и IL1ra.

Примеры последовательностей кДНК IL1RA человека указаны в SEQ ID NO: 18, 19 и 20.

Примеры аминокислотных последовательностей IL1RA человека указаны в SEQ ID NO: 21-24.

РСТ. Прокальцитонин (РСТ) представляет собой пептидный прекурсор гормона кальцитонина, при этом последний принимает участие в кальциевом гомеостазе. Прокальцитонин (РСТ) представляет собой белок, состоящий из 116 аминокислот и имеющий молекулярную массу около 13000 Да. Он представляет собой прогормон кальцитонина, который при нормальных метаболических условиях продуцируется и секретируется С-клетками щитовидной железы. Синтез РСТ и кальцитонина инициируется путем трансляции препрокальцитонина ("pre-РСТ"), являющегося прекурсорным пептидом, включающим 141 аминокислоту. Аминокислотная последовательность pre-РСТ была описана Moulic et al. в FEBS Letters, 167:93-97 в 1984. РСТ образуется после расщепления сигнального пептида (первые 24 аминокислот pre-РСТ).

Примеры последовательностей кДНК РСТ человека указаны в SEQ ID NO: 31-32.

Примеры аминокислотных последовательностей РСТ человека указаны в SEQ ID NO: 33-36.

SAA: кодирует член семейства А сывороточных амилоидных аполипопротеинов. Кодируемый белок представляет собой крупный белок острой фазы, который экспрессируется в большом количестве при реакции на воспаление и повреждение ткани. Данный белок также играет важную роль при метаболизме липопротеинов высокой плотности (HDL) и гомеостазе холестерина. Высокие уровни данного белка связаны с хроническими воспалительными заболеваниями, включая атеросклероз, ревматоидный артрит, болезнь Альцгеймера и болезнь Крона. Данный белок также может представлять собой потенциальный биомаркер определенных видов опухолей. Изменение сплайсинга приводит к получению множества транскриптных вариантов, которые кодируют тот же белок.

Примеры последовательностей кДНК SAA человека указаны в SEQ ID NO: 25-27.

Примеры аминокислотных последовательностей SAA человека указаны в SEQ ID NO: 28-30.

Следует отметить, что поскольку вариации ДНК от пациента к пациенту могут приводить к случаям однонуклеотидного полиморфизма (SNP), которые могут вызывать появление различий в аминокислотной последовательности белков, авторы настоящего изобретения также включили белки с аминокислотными последовательностями, которые являются, по меньшей мере, на 90%, 95% или 99% гомологичными относительно указанных здесь выше последовательностей.

Результаты измерения уровней полипептидов (например, TRAIL, IP-10 и CRP) обычно зависят от уровня белка, как описано ниже.

Способы детектирования экспрессии и/или активности белков

Уровень экспрессии и/или активности белков, экспрессируемых в клетках культур в рамках некоторых вариантов осуществления изобретения, может быть определен с

применением способов, которые известны из уровня техники и обычно включают применение антител. Подобные способы могут быть отнесены к иммуноанализам. Иммуноанализы могут быть проведены в рамках нескольких этапов с добавлением реагентов и промыванием или отделением в различные моменты времени при проведении анализа. Многоэтапные анализы часто называют сепарационными иммуноанализами или гетерогенными иммуноанализами. Некоторые иммуноанализы могут быть проведены просто путем смешивания реагентов и образца и осуществления физического измерения. Подобные анализы называют гомогенными иммуноанализами или (менее часто) несепарационными иммуноанализами. При проведении иммуноанализов зачастую применяют калибратор. Калибраторы представляют собой растворы, которые содержат исследуемый аналит, при этом концентрация данного аналита в целом является известной. Сравнение реакции анализа на реальный образец против реакции анализа, полученной с применением калибраторов, делает возможной интерпретацию силы сигнала в плане присутствия или концентрации аналита в образце.

Антитело может являться моноклональным, поликлональным, химерным или их фрагментом, при этом этап детектирования продукта реакции может быть осуществлен с применением любого подходящего иммуноанализа.

Подходящие источники антител для детектирования полипептидов включают коммерчески доступные источники, такие как, например, Abazyme, Abnova, AssayPro, Affinity Biologicals, AntibodyShop, Aviva bioscience, Biogenesis, Biosense Laboratories, Calbiochem, Cell Sciences, Chemicon International, Chemokine, Clontech, Cytolab, DAKO, Diagnostic BioSystems, eBioscience, Endocrine Technologies, Enzo Biochem, Eurogentec, Fusion Antibodies, Genesis Biotech, GloboZymes, Haematologic Technologies, Immunodetect, Immunodiagnostik, Immunometrics, Immunostar, Immunovision, Biogenex, Invitrogen, Jackson ImmunoResearch Laboratory, KMI Diagnostics, Koma Biotech, LabFrontier Life Science Institute, Lee Laboratories, Lifescreen, Maine Biotechnology Services, Mediclone, MicroPharm Ltd., ModiQuest, Molecular Innovations, Molecular Probes, Neoclone, Neuromics, New England Biolabs, Novocastra, Novus Biologicals, Oncogene Research Products, Orbigen, Oxford Biotechnology, Panvera, PerkinElmer Life Sciences, Pharmingen, Phoenix Pharmaceuticals, Pierce Chemical Company, Polymun Scientific, Polysciences, Inc., Promega Corporation, Proteogenix, Protos Immunoresearch, QED Biosciences, Inc., R&D Systems, Repligen, Research Diagnostics, Roboscreen, Santa Cruz Biotechnology, Seikagaku America, Serological Corporation, Serotec, SigmaAldrich, StemCell Technologies, Synaptic Systems GmbH, Technopharm, Terra Nova Biotechnology, TiterMax, Trillium Diagnostics, Upstate Biotechnology, US Biological, Vector Laboratories, Wako Pure Chemical Industries и Zeptomatrix. Тем не менее, специалист в данной области может без излишних трудозатрат получить антитело против любого из описанных здесь полипептидов.

Поликлональные антитела для измерения полипептидов включают, без ограничения, антитела, которые были получены из сывороток путем активной иммунизации одного или нескольких их следующих животных: кролика, козы, овцы, курицы, утки, морской свинки, мыши, осла, верблюда, крысы и лошади.

Примеры дополнительных агентов для детектирования включают, без ограничения: scFv, dsFv, Fab, sVH, F(ab')<sub>2</sub>, циклические пептиды, гаптамеры, однодоменное антитело, Fab-фрагменты, одноцепочечные переменные фрагменты, молекулы аффител, аффилины, нанопитины, антикарины, авимеры, DARP-ины (DARPin), домены Кунитца, финомеры и монотело.

Иммуносорбентный анализ с ферментной меткой (ELISA): Проведение ELISA включает применение, по меньшей мере, одного антитела со специфичностью в

отношении определенного антигена. Образец с неизвестным количеством антигена иммобилизуют на твердой подложке (обычно используют полистирольный микротитровальный планшет) либо неспецифичным образом (путем адсорбции на поверхности), либо специфичным образом (посредством захвата другим антителом, являющимся специфичным по отношению к тому же антигену, в рамках "сэндвич"-анализа ELISA). После иммобилизации антигена добавляют антитело для детектирования, образующее комплекс с антигеном. Антитело для детектирования может ковалентно связываться с ферментом или само может подвергаться детектированию вторичным антителом, которое связано с ферментом путем биоконъюгации. Между каждым этапом планшет, как правило, промывают мягким чистящим раствором для удаления любых белков или антител, подвергнутых аспецифическому связыванию. После последнего этапа промывания планшет подвергают дальнейшей обработке добавлением ферментативного субстрата для продуцирования визуально наблюдаемого сигнала, что свидетельствует о количестве антигена в образце.

Ферменты, которые обычно применяют в рамках данного способа, включают пероксидазу хрена и щелочную фосфатазу. При условии правильной калибровки и соблюдения линейного характера ответного сигнала количество субстрата, присутствующего в образце, является пропорциональным количеству продуцируемого цвета. Субстратный стандарт в целом применяют для повышения количественной точности.

Вестерн-блот: Данный способ включает отделение субстрата от другого белка с помощью акриламидного геля с последующим переносом субстрата на мембрану (например, из нейлона или поливинилиденфторида). Присутствие субстрата затем детектируют с помощью антител, являющихся специфичными по отношению к субстрату, которые, в свою очередь, детектируются с помощью антителосвязывающих реагентов. Антителосвязывающие реагенты могут представлять собой, например, белок А или другие антитела. Антителосвязывающие реагенты могут быть помечены радиоактивным изотопом или быть связанными с ферментной меткой, как описано выше.

Детектирование может осуществляться с помощью радиоавтографии, колориметрической реакции или хемилюминесценции. Данный способ обеспечивает как возможность проведения количественного анализа количества субстрата, так и определение его идентичности на основе относительного положения на мембране, что свидетельствует о расстоянии миграции в акриламидном геле при проведении электрофореза.

Сортировка клеток с активированной флуоресценцией (FACS): Данный способ включает детектирование субстрата *in situ* в клетках с помощью антител, являющихся специфичными по отношению к субстрату. Являющиеся специфичными по отношению к субстрату антитела связаны с флюорофорами. Детектирование осуществляется с помощью машины для сортировки клеток, которая считывает длину волны света, излучаемого из каждой клетки, при ее прохождении через луч света. Данный способ может включать одновременное применение двух или большего количества антител.

Автоматизированный иммуноанализ: Автоматизированный анализатор, применяемый в рамках проведения иммуноанализа (зачастую называемого "Автоматизированным иммуноанализом"), представляет собой медицинский лабораторный инструмент, приспособленный для быстрого измерения уровней различных химических веществ и других характеристик в рамках ряда биологических образцов с минимальным участием человека. Данные измеряемые свойства крови и других жидкостей могут применяться при диагностировании заболевания. Были изобретены различные способы помещения

образцов в анализатор. Это может включать помещение тестовых пробирок с образцом в стойки, которые могут двигаться вдоль трека, или вставку пробирок в круглые поворотные механизмы, которые вращаются для доставки образца. Некоторые анализаторы требуют переноса образцов в чашки для образцов. Однако стремление защитить здоровье и безопасность персонала лабораторий побудило многих производителей разработать анализаторы, которые обеспечивают возможность работы с закрытыми пробирками, что предотвращает непосредственное контактирование работников с образцами. Образцы могут обрабатываться по одиночке, сериями или непрерывно. Примеры автоматических машин для проведения иммуноанализа включают, без ограничения, ARCHITECT ci4100, ci8200 (2003), ci16200 (2007), ARCHITECT i1000SR, ARCHITECT i2000 i2000SR, i4000SR, AxSYM/AxSYM Plus, 1994 U.S., DS2, AIMS, AtheNA, DSX, ChemWell, клиническую систему UniCel DxI 860i Synchron Access, клиническую систему UniCel DxС 680i Synchron Access, системы для проведения иммуноанализа Access/Access 2, систему для проведения иммуноанализа UniCel DxI 600 Access, клиническую систему UniCel DxС 600i Synchron Access, систему для проведения иммуноанализа UniCel DxI 800 Access, клиническую систему UniCel DxС 880i Synchron Access, клиническую систему UniCel DxI 660i Synchron Access, SPA PLUS (Specialist Protein Analyzer), иммуноаналитический анализатор VIDAS, BioPlex 2200, PhD System EVOLIS PR 3100TSC Photometer, автоматизированное обрабатывающее устройство на основе ФИА (ферментативного иммуноанализа) MAGO 4S/2011 Mago Plus, LIAISON XL/2010 LIAISON, ETI-MAX 3000 Agility, Triturus, HYTEC 288 PLUSDSX, иммунодиагностическую систему VITROS ECi, иммунодиагностическую систему VITROS 3600, Phadia Laboratory System 100E, Phadia Laboratory System 250, Phadia Laboratory System 1000, Phadia Laboratory System 2500, Phadia Laboratory System 5000, cobas e 602/2010, cobas e411, cobas e601, MODULAR ANALYTICS EI70, Elecsys 2010, Dimension EXL 200/2011, интегрированную химическую систему Dimension Xpand Plus, интегрированную химическую систему Dimension RxL Max/Max Suite; интегрированную химическую систему Dimension RxL, интегрированную химическую систему Dimension EXL с LM, диагностическую систему Stratus CS Acute Care, иммуноаналитическую систему IMMULITE 2000 XPi, иммуноаналитическую систему ADVIA Centaur CP, IMMULITE 2000, IMMULITE 1000, умную лабораторную систему Dimension Vista 500, умную лабораторную систему Dimension Vista 1500, ADVIA Centaur XP, AIA-900, AIA- 360, AIA-2000, AIA-600 II, AIA-1800. Измерения CRP, IP-10 и TRAIL также могут быть осуществлены на аппарате Luminex.

Латеральные проточные иммуноанализы (LFIA): Данные анализы представляют собой технологию, которая обеспечивает быстрое измерения аналитов в месте оказания медицинской помощи (ПОС); лежащие в его основе принципы описаны ниже. В соответствии с одним вариантом осуществления LFIA применяют в контексте карманного устройства.

Технология основана на серии капиллярных русел, таких как фрагменты пористой бумаге или спеченный полимер. Каждый из данных элементов обладает способностью обеспечивать спонтанный транспорт жидкости (например, мочи). Первый элемент (подушечка для образца) действует в качестве губки и удерживает избыток жидкости образца. При впитывании жидкость поступает во второй элемент (конъюгационную подушечку), в которую производитель поместил так называемый конъюгат, представляющий собой биоактивные частицы в высушенном виде (см. ниже) в сахарно-солевом матриксе, который содержит все необходимое для обеспечения оптимизированной химической реакции между молекулой-мишенью (например,

антигеном) и его химическим партнером (например, антителом), который был иммобилизован на поверхности частицы. При растворении сахарно-солевого матрикса жидкостью образца она также растворяет частицы, при этом в рамках одного объединенного транспортного действия образец и конъюгат смешиваются при протекании через пористую структуру. Таким образом обеспечивается связывание 5 анализата с частицами при миграции далее через третье капиллярное русло. Данный материал имеет один или несколько участков (часто называемых полосками), где производителем была иммобилизована третья молекула. К тому времени, когда смесь образца и конъюгата достигает данных полосок, анализат связывается частицей, при 10 этом третья "захватывающая" молекула связывает комплекс.

Спустя некоторое время, когда все большее количество жидкости проходит через полоски, частицы скапливаются, и участок полоски меняет цвет. Как правило, присутствуют, по крайней мере, две полоски: одна (контроль), которая захватывает любую частицу и, таким образом, показывает, что реакционные условия и технология 15 сработали правильным образом, и вторая, которая содержит определенную захватывающую молекулу и захватывает только те частицы, на которых была иммобилизована молекула анализата. После прохождения данных реакционных зон жидкость достигает конечного пористого материала, представляющего собой тампон, который попросту действует в качестве контейнера для отходов. Латеральные 20 проточные тесты могут осуществляться в виде конкурентных анализов или сэндвич-анализов.

Иммуногистохимические анализы: Иммуноанализы, выполненные в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения, могут представлять собой гомогенные анализы или гетерогенные анализы. В рамках гомогенного анализа 25 иммунологическая реакция обычно включает определенное антитело (например, анти-TRAIL, анти-CRP и/или анти-IP-10 антитело), помеченный анализат и представляющий интерес образец. Сигнал, полученный благодаря метке, подвергается модификации, напрямую или косвенным образом, при связывании антитела с помеченным анализатом. Как иммунологическая реакция, так и детектирование ее степени может быть 30 осуществлено в гомогенном растворе. Иммунохимические метки, которые могут применяться, включают свободные радикалы, радиоизотопы, флуоресцентные красители, ферменты, бактериофаги или коферменты.

В рамках подхода с применением гетерогенного анализа реагенты обычно представляют собой образец, антитело и средства для продуцирования детектируемого 35 сигнала. Могут применяться описанные выше образцы. Антитело может быть иммобилизовано на подложке, такой как шарик (например, на агарозных шариках на основе белка А и белка G), пластинка или предметное стекло, и подвергнуто контакту с образцом, в отношении которого предполагается содержание антигена в жидкой фазе.

В соответствии с определенным вариантом осуществления изобретения антитело 40 иммобилизуют на пористой полоске для образования участка детектирования. Участок для измерения или детектирования пористой полоски может включать множество участков: один для TRAIL, один для CRP и один для IP-10. Тестовая полоска также может содержать участки для отрицательных и/или положительных контролей.

Альтернативно, контрольные участки могут быть расположены на полоске, 45 являющейся отличной от тестовой полоски. Необязательно, различные участки для детектирования могут содержать различные количества антител, например более высокое количество в первом участке для детектирования и более низкие количества в последующих участках. При добавлении тестового образца количество участков,

отображающих детектируемый сигнал, обеспечивает количественную индикацию количества полипептидов, присутствующих в образце. Участки для детектирования могут быть сконфигурированы в любой подходящей детектируемой форме и обычно представлены в форме полосы или точек, расположенных по ширине тестовой полосы.

Затем подложку отделяют от жидкой фазы и анализируют либо основную фазу, либо жидкую фазу на наличие детектируемого сигнала с применением средств для продуцирования подобного сигнала. Сигнал связан с наличием аналита в образце. Средства для продуцируемого детектируемого сигнала включают применение радиоактивных меток, флуоресцентных меток или ферментных меток. Например, если подвергаемый детектированию антиген содержит второй участок связывания, то антитело, которое связывается с данным участком, может быть конъюгировано с детектируемой группой или добавлено в реакционный раствор жидкой фазы перед этапом отделения. Наличие детектируемой группы на твердой подложке указывает на наличие антигена в тестируемом образце. Примеры подходящих иммуноанализов представляют собой способы на основе применения олигонуклеотидов, иммуноблоттинга, иммунофлуоресцентные способы, иммунопреципитацию, хемилюминесцентные способы, электрохемилюминесценцию (ECL) или иммуноанализы с применением ферментной метки.

Специалистам в данной области знакомы многочисленные конкретные форматы иммуноанализов и их вариации, которые могут применяться для осуществления описанного здесь способа. См., в основном, E. Maggio, *Enzyme-Immunoassay*, (1980) (CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.); также см. патент США 4727022 Skold et al. titled "Methods for Modulating Ligand-Receptor Interactions and their Application," патент США 4659678 Forrest et al. titled "Immunoassay of Antigens," патент США 4376110 David et al., озаглавленный "Immunometric Assays Using Monoclonal Antibodies," патент США 4275149 Litman et al., озаглавленный "Macromolecular Environment Control in Specific Receptor Assays," патент США 4233402 Maggio et al., озаглавленный "Reagents and Method Employing Channeling," и патент США 4,230,767 Boguslaski et al., озаглавленный "Heterogenous Specific Binding Assay Employing a Coenzyme as Label."

Антитела могут быть конъюгированы с твердой подложкой, подходящей для проведения диагностического анализа (например, с шариками, такими как агарозные шарики на основе бека А или белка G, микросферы, пластинки, предметные стекла или лунки, сделанные из таких материалов, как латекс или полистирол) в соответствии с хорошо известными способами, такими как нереакционное связывание. Описанные здесь антитела могут быть аналогичным образом сконъюгированы с детектируемыми метками или группами, такими как радиометки (например,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ), ферментными метками (например, пероксидазой хрена, щелочной фосфатазой) и флуоресцентными метками (например, флуоресцеином, Alexa, зеленым флуоресцентным белком, родамином) в соответствии с хорошо известными способами.

Моноклональные антитела для измерения TRAIL включают, без ограничения: мышь, моноклональное (55 B709-3) IgG; мышь, моноклональное (2E5) IgG1; мышь, моноклональное (2E05) IgG1; мышь, моноклональное (M912292) IgG1 каппа; мышь, моноклональное (PIF6) IgG2b; мышь, моноклональное (2E1-1 B9) IgG1; мышь, моноклональное (RIK-2) IgG1, каппа; мышь, моноклональное M181 IgG1; мышь, моноклональное VI10E IgG2b; мышь, моноклональное MAB375 IgG1; мышь, моноклональное MAB687 IgG1; мышь, моноклональное HS501 IgG1; мышь, моноклональный клон 75411.11 IgG1 мыши; мышь, моноклональное T8175-50 IgG; мышь, моноклональное 2B2.108 IgG1; мышь, моноклональное B-T24 IgG1; мышь,

моноклональное 55B709.3 IgG1; мышь, моноклональное D3 IgG1; коза, моноклональное C19 IgG; кролик, моноклональное H257 IgG; мышь, моноклональное 500-M49 IgG; мышь, моноклональное 05-607 IgG; мышь, моноклональное B-T24 IgG1; крыса, моноклональное (N2B2), IgG2a, каппа; мышь, моноклональное (1A7-2B7), IgG1; мышь, моноклональное (55B709.3), IgG и мышь, моноклональное B-S23\* IgG1, TRAIL/TNFSF10 MAb человека (клон75411), IgG1 мыши, TRAIL/TNFSF10 MAb человека (клон 124723), IgG1 мыши, TRAIL/TNFSF10 MAb человека (Clone 75402), IgG1 мыши.

Антитела для измерения TRAIL включают моноклональные антитела и поликлональные антитела для измерения TRAIL. Антитела для измерения TRAIL включают антитела, которые были разработаны для взаимодействия с эпитопами из перечня, состоящего из: рекомбинантного TRAIL человека, полученного на основе клеточной линии миеломы мыши NSO (Thr95-Gly281, кат. номер P50591); рекомбинантного TRAIL человека, полученного на основе клеточной линии миеломы мыши NSO (Thr95-Gly281, с N-терминальной метиониновой и 6-гистидиновой меткой, кат. номер P50591), полученного на основе E. coli (Vail 14-Gly281, с/без N-терминального метионина, кат. номер Q61BA9); TRAIL, полученного на основе сыворотки человека; рекомбинантного TRAIL человека, где первая аминокислота расположена между положениями 85-151, а последняя аминокислота расположена в положении 249-281.

Примеры моноклональных антител для измерения CRP включают, без ограничения: мышь, моноклональное (108-2A2); мышь, моноклональное (108-7G41D2); мышь, моноклональное (12D-2C-36), IgG1; мышь, моноклональное (1G1), IgG1; мышь, моноклональное (5A9), IgG2a каппа; мышь, моноклональное (63F4), IgG1; мышь, моноклональное (67A1), IgG1; мышь, моноклональное (8B-5E), IgG1; мышь, моноклональное (B893M), IgG2b, лямбда; мышь, моноклональное (C1), IgG2b; мышь, моноклональное (C11F2), IgG; мышь, моноклональное (C2), IgG1; мышь, моноклональное (C3), IgG1; мышь, моноклональное (C4), IgG1; мышь, моноклональное (C5), IgG2a; мышь, моноклональное (C6), IgG2a; мышь, моноклональное (C7), IgG1; мышь, моноклональное (CRP103), IgG2b; мышь, моноклональное (CRP11), IgG1; мышь, моноклональное (CRP135), IgG1; мышь, моноклональное (CRP169), IgG2a; мышь, моноклональное (CRP30), IgG1; мышь, моноклональное (CRP36), IgG2a; кролик, моноклональное (EPR283Y), IgG; мышь, моноклональное (KT39), IgG2b; мышь, моноклональное (N-a), IgG1; мышь, моноклональное (N1G1), IgG1; моноклональное (P5A9AT); мышь, моноклональное (S5G1), IgG1; мышь, моноклональное (SB78c), IgG1; мышь, моноклональное (SB78d), IgG1 и кролик, моноклональное (Y284), IgG, С-реактивный белок человека/CRP Biot MAb (C1 232024), IgG2B мыши, С-реактивный белок человека/CRP MAb (клон 232007), IgG2B человека, относящийся к человеку/мыши/свинье С-реактивный белок/CRP MAb (C1 232026), IgG2A мыши.

Антитела для измерения CRP включают моноклональные антитела для измерения CRP и поликлональные антитела для измерения CRP.

Антитела для измерения CRP также включают антитела, которые были разработаны для взаимодействия с эпитопами из перечня, состоящего из: CRP, полученного на основе плазмы человека; CRP, полученного из сыворотки человека; полученного на основе линии клеток миеломы мыши NS0 С-реактивного белка человека/CRP (Phe17-Pro224, кат. номер P02741).

Примеры моноклональных антител для измерения IP-10 включают, без ограничения: IP-10/CXCL10 моноклональное антитело мыши против человека (4D5) (LifeSpan Biosciences), IP-10/CXCL10 моноклональное антитело мыши против человека (A00163.01) (LifeSpan Biosciences), IP-10 мыши против человека (AbD Serotec), IP-10 кролика против

человека (AbD Serotec), IP-10 mAb человека 6D4 (Hycult Biotech), клон моноклонального антитела мыши против человека IP-10 B-C50 (Diaclone), клон моноклонального антитела мыши против человека IP-10 B-C55 (Diaclone), CXCL10/IP-10 клон MAб человека 33036 (R&D Systems), CXCL10/INPIO антитело 1E9 (Novus Biologicals), CXCL10/INP10 антитело 2C1 (Novus Biologicals), CXCL10/INP10 антитело 6D4 (Novus Biologicals), клон моноклонального антитела CXCL10 M01A 2C1 (Abnova Corporation), CXCL10 моноклональное антитело (M05), клон 1E9 (Abnova Corporation), моноклональное антитело CXCL10, клон 1 (Abnova Corporation), IP-10 антитело 6D4 (Abeam), IP-10 антитело EPR7849 (Abcam), IP-10 антитело EPR7850 (Abcam).

Антитела для измерения IP-10 включают моноклональные антитела для измерения IP-10 и поликлональные антитела для измерения IP-10.

Антитела для измерения IP-10 также включают антитела, которые были разработаны для взаимодействия с эпитопами из перечня, состоящего из: рекомбинантного CXCL10 человека/IP-10; негликозилированной полипептидной цепи, содержащей 77 аминокислот (аминокислоты 22-98) и индуцируемый N- терминальной гистидиновой меткой интерферон гамма белок 10 (длиной 125 аминокислот); рекомбинантного IP-10 человека с IP-10 гистидиновой меткой в E. Coli, содержащем фрагмент длиной 77 аминокислот (22-98) и имеющего общую молекулярную массу 8,5 кДа с амино-терминальной гексагистидиновой меткой; полученным на основе E. coli IP-10 человека (Val22-Pro98) с N-терминальным метионином; IP-10, полученного на основе плазмы человека; IP-10, полученного на основе сыворотки человека; рекомбинантного IP-10 человека, где первая аминокислота расположена между положениями 1-24, а последняя аминокислота расположена в положении 71-98.

Очевидно, что уровень экспрессии описанных здесь полипептидом может представлять собой абсолютный уровень экспрессии, нормализованный уровень экспрессии и/или относительный уровень экспрессии.

В рамках общего научного контекста нормализация представляет собой процесс, посредством которого необработанные данные измерений конвертируются в данные, которые могут быть подвергнуты непосредственному сравнению с другими данными, нормализованными подобным образом. В контексте настоящего изобретения измерение уровней экспрессии подвержено ошибкам, возникающим вследствие, например, неодинаковой деградации измеряемых образцов, различным загрузочным количествам в рамках одного анализа, а также другим различным ошибкам. Более конкретно, любой проанализированный образец может содержать большее или меньшее количество материала, чем это требуется, вследствие человеческой ошибки и проблем с оборудованием. Таким образом, одна и та же ошибка или отклонение присуще как полипептиду по изобретению, так и контролю, экспрессия которого в целом является постоянной. Таким образом, разделение необработанных значений экспрессии TRAIL, IP-10 или CRP на необработанное значение экспрессии контроля обеспечивает получение отношения, которое по существу является свободным от каких-либо технических ошибок или неточностей (за исключением крупных ошибок, которые приводят к невозможности тестирования образца) и образует нормализованное значение экспрессии полипептида. Поскольку значения экспрессии контролей являются равными для различных образцов, они составляют общее контрольное значение, которое является корректным для подобной нормализации.

В соответствии с определенным вариантом осуществления изобретения каждое из значений экспрессии полипептидов подвергается нормализации с применением одного и того же контроля.



Очевидно, что абсолютные значения экспрессии зависят от применения одного и того же протокола, поскольку каждый протокол как правило приводит к получению различных соотношений сигнал/шум и, соответственно, различных значений концентраций. Более конкретно, в то время как общий тренд величин показателей биомаркеров будет сохраняться вне зависимости от протокола (например, TRAIL повышается при вирусных инфекциях и снижается при бактериальных инфекциях), измерительная шкала является зависимой от протокола.

Подобные изменения в плане измеряемых концентраций белков среди различных протоколов могут быть компенсированы путем коррелирования результатов измерений с применением двух протоколов и вычисления трансформационной функции, как показано в Примере 5 ниже.

Как правило, анализируемые образцы представляют собой образцы крови, включающие цельную кровь, сыворотку, плазму, лейкоциты или клетки крови. Предпочтительно, образец представляет собой цельную кровь, сыворотку или плазму.

Следует отметить, что TRAIL и IP-10 и CRP подвергаются высокой экспрессии в других тканях и образцах, включая, без ограничения, CSF, слюну и эпителиальные клетки, аспират костного мозга, мочу, стул, бронхоальвеолярный лаваж, мокроту. Таким образом, некоторые варианты осуществления настоящего изобретения могут применяться для измерения TRAIL, CRP и IP-10 в таких тканях и образцах.

Предпочтительно, уровень полипептидов измеряют в течение примерно 24 часов после получения образца. Альтернативно, концентрацию полипептидов измеряют в образце, который хранился при температуре 12°C или ниже, когда хранение начинается менее чем через 24 часа после получения образца.

После проведения тестов для определения уровня полипептидов необязательно генерируют специфичный для конкретного субъекта набор данных, который содержит результаты измерений.

Специфичный для конкретного субъекта набор данных может храниться в машиночитаемом формате на энергонезависимом машиночитаемом носителе и необязательно и предпочтительно анализироваться аппаратным обрабатывающим устройством, таким как компьютер общего назначения или выделенное устройство.

Как было указано ранее, уровни полипептидов в крови тестируемых субъектов сравнивают с уровнями идентичных полипептидов во множестве образцов крови субъектов, если субъекты уже были верифицированы в качестве имеющих бактериальную инфекцию, вирусную инфекцию или небактериальное/невирусное заболевание на основе параметров, отличных от уровней данных полипептидов в крови. Данные по уровням полипептидов множества субъектов совместно с их верифицированным диагнозом могут храниться во втором наборе данных, также называемом здесь "групповым набором данных" или "преддиагностическим набором данных", как описано ниже.

Термин "небактериальное/невирусное заболевание" означает заболевание, которое не вызывается бактерией или вирусом. Он включает заболевания, такие как острый инфаркт миокарда, физическая травма, эпилептический приступ, воспалительные расстройства и так далее, грибковые заболевания, паразитарные заболевания и так далее.

Термин "вирусная инфекция" в соответствии с используемым здесь значением означает заболевание, которое вызывается вирусом и не включает бактериальный компонент.

Способы анализа набора данных, например в целях вычисления одной или нескольких функций вероятностной классификации, отражающих вероятность того, что конкретный субъект имеет бактериальную инфекцию, или вероятность того, что конкретный субъект

имеет вирусную инфекцию, или вероятность того, что конкретный субъект имеет небактериальное невирусное заболевания, могут быть осуществлены как описано в Примере 1 ниже. Например, диагноз может быть поддержан с применением диагностических анализов на основе ПЦР, таких как (i) Seeplex® RV15 для детектирования вируса парагриппа 1, 2, 3 и 4, коронавируса 229E/NL63, аденовируса A/B/C/D/E, бокавируса 1/2/3/4, вируса гриппа А и В, метапневмовируса, коронавируса ОС43, риновируса A/B/C, респираторно-синцитиального вируса А и В, и энтеровируса, или (ii) Seeplex® PB6 для детектирования *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Bordetella pertussis* и *Mycoplasma pneumoniae*.

Культуры, выделенные из крови, мочи и стула, могут быть проанализированы на *Shigella* spp., *Campylobacter* spp. и *Salmonella* spp.; серологическое тестирование (IgM и/или IgG) может быть проведено для анализа на цитомегаловирус (CMV), вирус Эпштейна-Барра (EBV), *Mycoplasma Pneumonia* и *Coxiella burnetii* (коксиеллез).

Радиологические тесты (например, рентгенография грудной клетки для субъектов с подозрением на наличие инфекции нижних дыхательных путей [LRTI]) могут применяться для подтверждения инфекций грудной клетки.

Альтернативно или дополнительно, по меньшей мере, один опытный лечащий врач может быть использован для постановки диагноза.

Способы определения уровня экспрессии полипептидов у субъектов перед диагностикой были описаны выше.

Предпочтительно, тот же способ, который применяется для определения уровня экспрессии полипептидов у субъектов перед диагностикой, применяется для определения уровня данных полипептидов у тестируемого субъекта. Таким образом, например, если способ иммуноаналитического типа применяется для определения уровня экспрессии полипептидов у субъектов перед диагностикой, то для определения уровня данных полипептидов у тестируемого субъекта должен применяться способ иммуноаналитического типа.

Очевидно, что тип образца крови не обязательно должен являться идентичным у тестируемого субъекта и субъектов перед диагностикой. Авторам настоящего изобретения удалось показать, что уровни TRAIL в сыворотке и плазме являются очень схожими. Таким образом, например, если образец сыворотки применяется для определения уровня экспрессии полипептидов у субъектов перед диагностикой, то для определения уровня данных полипептидов у тестируемого субъекта может применяться образец плазмы.

Групповой набор данных предпочтительно хранится в машиночитаемом формате на энергонезависимом машиночитаемом носителе и необязательно и предпочтительно анализируется аппаратным обрабатывающим устройством, таким как компьютер общего назначения или выделенное устройство. Оба набора данных могут храниться на одном носителе и необязательно и предпочтительно анализироваться одним аппаратным обрабатывающим устройством.

В специфичном по отношению к субъекту наборе данных каждая запись может быть необязательно и предпочтительно описана в виде кортежа (D, L), где D соответствует полипептиду в наборе данных, а L соответствует уровню полипептида D в крови. Таким образом, набор данных может представлять собой двумерный набор данных, в котором все элементы могут быть описаны вектором в двумерном пространстве, заполненном значениями названия полипептида и соответствующей величины реакции. В групповом наборе данных каждая запись может быть описана в виде кортежа (S, G, D, L), где S

соответствует конкретному субъекту, G соответствует диагнозу субъекта S в групповом наборе данных, D соответствует полипептиду, а L соответствует уровню полипептида D в крови. Таким образом, приведенная в качестве примера иллюстрация представляет собой четырехмерный набор данных, в котором все элементы могут быть описаны вектором в четырехмерном пространстве, заполненном значениями имени субъекта, диагноза, полипептида и соответствующими величинами реакции. Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения включают применение набора данных более высоких размерностей. Такие наборы данных описаны далее.

Групповой набор данных может также необязательно и предпочтительно включать один или несколько, более предпочтительно все, записи специфичного по отношению к субъекту набора данных. В вариантах осуществления, в которых групповой набор данных включает все записи специфичного по отношению к субъекту набора данных, не является обязательным применение двух отдельных наборов данных, поскольку весь набор данных содержится в одном общем наборе данных. Однако подобный общий набор данных необязательно и предпочтительно снабжен аннотациями, обеспечивающими возможность различения части общего набора данных, который связан с подвергаемым анализу субъектом, и части общего набора данных, которая связана только с другими субъектами. В контексте настоящего описания часть общего набора данных, которая связана с подвергаемым анализу субъектом, называется специфичным по отношению к субъекту набором данных, даже если она не представлена в виде отдельного набора данных. Аналогичным образом, часть общего набора данных, которая связана только с другими субъектами, называется групповым набором данных, даже если она не представлена в виде отдельного набора данных.

Групповой набор данных предпочтительно включает значения уровней полипептидов у многих субъектов (например, по меньшей мере, 10 субъектов, у которых была предварительно диагностирована вирусная инфекция; по меньшей мере, 10 субъектов, у которых была предварительно диагностирована бактериальная инфекция; и, по меньшей мере, 10 субъектов, у которых было предварительно диагностировано небактериальное/невирусное заболевание; или, по меньшей мере, 20 субъектов, у которых была предварительно диагностирована вирусная инфекция; по меньшей мере, 20 субъектов, у которых была предварительно диагностирована бактериальная инфекция; и, по меньшей мере, 20 субъектов, у которых было предварительно диагностировано небактериальное/невирусное заболевание; или, по меньшей мере, 50 субъектов, у которых была предварительно диагностирована вирусная инфекция; по меньшей мере, 50 субъектов, у которых была предварительно диагностирована бактериальная инфекция; и, по меньшей мере, 50 субъектов, у которых было предварительно диагностировано небактериальное/невирусное заболевание).

Специфичный по отношению к группе набор данных может включать дополнительные данные, которые описывают субъектов. Наборы данных, которые включают дополнительные данные, могут обеспечивать преимущество, поскольку они обеспечивают дополнительную информацию в плане аналогий между подвергаемым анализу субъектом и другим субъектом, тем самым повышая точность прогнозирования.

Соответствующие примеры типов данных, отличных от уровня полипептидов, включают, без ограничения, традиционные лабораторные факторы риска и/или клинические параметры, как описано выше.

Настоящие варианты осуществления изобретения включают специфические по отношению к субъекту и группе наборы данных, которые включают дополнительные данные помимо уровней полипептидов и величин реакций. В некоторых вариантах

осуществления, по меньшей мере, один из наборов данных включает одну или несколько (например, множество) многомерных записей, при этом каждая запись имеет, по меньшей мере, три измерения, при этом в некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один из наборов данных включает одну или несколько (например, множество)

5 многомерных записей, при этом каждая запись имеет, по меньшей мере, четыре измерения, в некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один из наборов данных включает одну или несколько (например, множество) многомерных записей, при этом каждая запись имеет, по меньшей мере, пять измерений, и в некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один из наборов данных включает одну  
10 или несколько (например, множество) многомерных записей, при этом каждая запись имеет более пяти измерений.

Дополнительные измерения наборов данных обеспечивают дополнительную информацию, относящуюся к подвергаемому анализу субъекту, другим субъектам и/или уровням полипептидов, отличных от TRAIL, CRP и IP-10.

15 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дополнительная информация относится, по меньшей мере, к одному из традиционных лабораторных факторов риска, клиническим параметрам, биохимическим показателям крови и/или генетическому профилю.

Термин "традиционные лабораторные факторы риска" охватывает биомаркеры, выделенные или полученные из образцов субъекта, которые в настоящее время анализируются в клинической лаборатории и применяются в рамках традиционных  
20 глобальных алгоритмах оценки риска, таких как абсолютное количество нейтрофилов (обозначается как ANC), абсолютное количество лимфоцитов (обозначается как ALC), количество белых кровяных клеток (обозначается как WBC), % нейтрофилов (определен как доля белых кровяных клеток, представляющих собой нейтрофилы; обозначается как Neu (%)), % лимфоцитов (определен как доля белых кровяных клеток,  
25 представляющих собой лимфоциты; обозначается как Lym (%)), % моноцитов (определен как доля белых кровяных клеток, представляющих собой моноциты; обозначается как Mon (%)), натрий (обозначается как Na), калий (обозначается как K), билирубин  
30 (обозначается как Bili).

Предпочтительно, по меньшей мере, один из традиционных лабораторных факторов риска подвергаемого анализу субъекта включен в специфичный по отношению к субъекту набор данных, при этом, по меньшей мере, один из традиционных лабораторных факторов риска одного или нескольких (более предпочтительно - всех)  
35 других субъектов включен в групповой набор данных. Если специфичный по отношению к субъекту набор данных включает, по меньшей мере, один из традиционных факторов риска, то факторы риска могут быть включены в виде отдельной записи. Если групповой набор данных включает факторы риска, то факторы риска необязательно и предпочтительно включены для каждого субъекта. Таким образом, например, запись  
40 в групповом наборе данных может быть описана кортежем (S, G, D, L {R}), где S, G, D и L были введены ранее, а {R} представляет собой, по меньшей мере, один фактор риска субъекта S.

Термин "клинические параметры" охватывает все не относящиеся к образцам или анализам биомаркеры состояния здоровья субъекта или иные характеристики, такие как, без ограничения, возраст (Age), раса (RACE), пол (Sex), температура тела (обозначается как "temperature"), максимальная температура тела с момента первоначального проявления симптомов (обозначается как "maximal temperature"),  
45 время с первоначального проявления симптомов (обозначается как "time from

symptoms"), беременность или семейная история (обозначается как "FamHX").

Предпочтительно, по меньшей мере, один из клинических параметров подвергнутого анализу субъекта включен в специфичный по отношению к субъекту набор данных и, по меньшей мере, один из клинических параметров одного или нескольких

5 (предпочтительно - всех) других субъектов включен в групповой набор данных. Если специфичный по отношению к субъекту набор данных включает, по меньшей мере, один из клинических параметров, то клинические параметры могут быть включены в виде отдельной записи. Если групповой набор данных включает клинические параметры, то клинические параметры необязательно и предпочтительно включены в расчете на  
10 отдельного субъекта. Таким образом, например, запись в групповом наборе данных может быть описана кортежем (S, G, D, L {C}), где S, G, D и L были введены ранее, а {C} представляет собой клинический параметр субъекта S.

В соответствии с используемым здесь значением, термин "биохимические показатели крови" означает концентрацию или концентрации любого и всех веществ, растворенных  
15 или содержащихся в крови. Соответствующие примеры таких веществ включают, без ограничения, альбумин, амилазу, щелочную фосфатазу, бикарбонат, общий билирубин, BUN (азот в составе мочевины в крови), С-реактивный белок, кальций, хлорид, LDL (липопротеины низкой плотности), HDL (липопротеины высокой плотности), общий холестерин, креатинин, СРК (креатинкиназу),  $\gamma$ -GT (гамма-глутаминтаурин), глюкозу,  
20 LDH (лактатдегидрогеназу), неорганический фосфор, липазу, калий, общий белок, AST (аспартатаминотрансферазу), ALT (аланинаминотрансферазу), натрий, триглицериды, мочевую кислоту и VLDL (липопротеины очень низкой плотности).

В соответствии с одним вариантом осуществления, биохимические показатели крови подвергнутого анализу субъекта включены в специфичный по отношению к субъекту  
25 набор данных, при этом биохимические показатели крови одного или нескольких (более предпочтительно - всех) других субъектов включены в групповой набор данных. Если специфичный по отношению к субъекту набор данных включает биохимические показатели крови, то биохимические показатели крови могут быть включены в виде отдельной записи. Если групповой набор данных включает биохимические показатели  
30 крови, то биохимические показатели крови необязательно и предпочтительно включены для каждого субъекта. Таким образом, например, запись в групповом наборе данных может быть описана кортежем (S, G, D, L {C}), где S, G, D и L были введены ранее, а {C} представляет собой биохимические показатели крови субъекта S.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дополнительная  
35 информация относится к генетическому профилю субъекта.

В соответствии с используемым здесь значением, термин "генетический профиль" означает анализ ряда различных генов. Генетический профиль может включать гены из всего генома субъекта или может включать отдельное подмножество генов. Генетический профиль может включать геномный профиль, протеомный профиль,  
40 эпигеномный профиль и/или транскриптомный профиль.

Предпочтительно, генетический профиль подвергнутого анализу субъекта включен в специфичный по отношению к субъекту набор данных, при этом генетический профиль одного или нескольких (более предпочтительно - всех) других субъектов включен в групповой набор данных. Если специфичный по отношению к субъекту набор данных  
45 включает генетический профиль, то генетический профиль может быть включен в виде отдельной записи. Если групповой набор данных включает генетический профиль, то генетический профиль необязательно и предпочтительно включен для каждого субъекта. Таким образом, например, запись в групповом наборе данных может быть описана

кортежем  $(S, G, D, L \{P\})$ , где  $S, G, D$  и  $L$  были введены ранее, а  $\{P\}$  представляет собой генетический профиль субъекта  $S$ .

Способ необязательно и предпочтительно продолжается до этапа хранения значений уровней полипептида, по меньшей мере, временно, на энергонезависимом машиночитаемом носителе, из которого он может быть извлечен или отображен необходимым образом.

После анализа двух наборов данных способ продолжается до фазы анализа в целях определения диагноза тестируемого субъекта.

Анализ осуществляется с целью вычисления одной или нескольких функций вероятностной классификации  $f(\delta_0, \delta_1)$ ,  $g(\delta_0, \delta_1)$ ,  $h(\delta_0, \delta_1)$ , отражающих вероятности того, что конкретный субъект имеет бактериальную инфекцию, вирусную инфекцию или невирусное небактериальное заболевание, соответственно. Как правило,  $f$ ,  $g$  и  $h$  удовлетворяют условию  $f(\delta_0, \delta_1) + g(\delta_0, \delta_1) + h(\delta_0, \delta_1) = 1$ . Каждая функция классификационная функция представляет собой функцию первой координаты  $\delta_0$  и второй координаты  $\delta_1$ , при этом каждая из координат  $\delta_0$  и  $\delta_1$  определена различной комбинацией значений экспрессии, как описано выше.

Анализ может осуществляться более чем одним способом.

В соответствии с одним вариантом осуществления в рамках анализа применяется двоичный или, более предпочтительно, троичный классификатор для вычисления одного или нескольких функций вероятностной классификации.

Предпочтительно, в рамках анализа осуществляется сложение вероятности вирусного и невирусного небактериального заболевания с целью присвоения значения вероятности небактериальной инфекции. В другом предпочтительном варианте осуществления в рамках анализа осуществляется сложение вирусной и бактериальной инфекции с целью присвоения значения вероятности инфекционному заболеванию. В другом предпочтительном варианте осуществления в рамках анализа игнорируется вероятность невирусного небактериального заболевания и осуществляется непосредственное сравнение вероятностей бактериального и вирусного заболевания. Примеры интерпретационных функций, являющихся подходящими для анализа наборов данных в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения, приведены ниже.

Анализ наборов данных в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения включает выполнение процедуры машинного обучения.

В соответствии с используемым здесь значением, термин "машинное обучение" означает процедуру, реализованную в виде компьютерной программы, сконфигурированной для индуцирования паттернов, регулирующих условий или правил на основе ранее собранных данных для разработки подходящей реакции на будущие данные или описания данных в определенном осмысленном виде.

Применение машинного обучения является особенно, но не исключительно, полезным, если набор данных включает многомерные записи.

Групповые и специфичные по отношению к отдельным субъектам наборы данных могут применяться в качестве тренировочного набора, на основе которого процедура машинного обучения может извлекать параметры, которые описывают набор данных наилучшим образом. После извлечения параметров они могут применяться для прогнозирования типа инфекции.

При машинном обучении информация может быть получена путем обучения с учителем или обучения без учителя. В некоторых вариантах осуществления изобретения

процедура машинного обучения включает или состоит из процедуры обучения с учителем. При обучении с учителем применяются функции достижения глобальных или локальных целей для оптимизации структуры обучающейся системы. Другими словами, при обучении с учителем существует желаемая реакция, которая применяется системой для направления процесса обучения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения процедура машинного обучения включает или состоит из процедуры обучения без учителя. При обучении без учителя целевые функции обычно отсутствуют. В частности, система обучения не включает набора правил. Одна форма обучения без учителя в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения представляет собой кластеризацию без учителя, при которой объекты данных не помечаются как относящиеся к определенным классам *a priori*.

Соответствующие примеры процедур "машинного обучения" являющихся подходящими для настоящих вариантов осуществления изобретения включают, без ограничения, кластеризацию, алгоритмы на основе правил ассоциирования, алгоритмы анализа признаков, алгоритмы выбора подмножеств, методы опорных векторов, классификационные правила, обучение с неодинаковыми издержками неправильной классификации, избирательные алгоритмы, объединительные алгоритмы, байесовские сети, деревья решений, нейронные сети, алгоритмы обучения на основе множественных способов, вероятностные модели, графические модели, способы на основе логистической регрессии (включая способы на основе полиномиальной логистической регрессии), способы на основе градиентного подъема, способы на основе разложения по сингулярным числам матрицы и метод главных компонент. Среди моделей нейронных сетей самоорганизующаяся карта и теория адаптивного резонанса являются наиболее часто используемыми алгоритмами обучения без учителя. Модель на основе теории адаптивного резонанса обеспечивает вариативность ряда кластеров в зависимости от величины задачи и позволяет пользователю контролировать степень сходства между членами одних и тех же кластеров с помощью определяемой пользователем константы, называемой параметром бдительности.

Далее следует обзор некоторых процедур машинного обучения, подходящих для настоящих вариантов осуществления изобретения.

Алгоритм ассоциативного правила представляет собой способ выделения значимых ассоциативных паттернов среди признаков.

Термин "ассоциация" в контексте машинного обучения означает любую взаимосвязь между признаками, а не только те из них, которые позволяют прогнозировать конкретный класс или числовое значение. Ассоциация включает, без ограничения, определение ассоциативных правил, определение паттернов, осуществление анализа признаков, осуществление отбора подмножества признаков, разработку прогностических моделей и понимание взаимодействий между признаками.

Термин "ассоциативные правила" означает элементы, которые часто совместно встречаются в наборах данных. Он включает, без ограничения, ассоциативные паттерны, дифференциальные паттерны, частотные паттерны, закрытые паттерны и колоссальные паттерны.

Обычным первичным этапом алгоритма ассоциативных правил является определение набора элементов или признаков, которые являются наиболее часто встречающимися среди всех наблюдений. После получения перечня на их основе могут быть получены правила.

Вышеуказанная самоорганизующаяся карта представляет собой способ обучения

без учителя, который часто применяется для визуализации и анализа данных высокой размерности. Традиционные виды применения связаны с визуализацией центральных зависимостей в рамках данных на карте. Карта генерируется алгоритмом, который может применяться для ускорения идентификации ассоциативных правил с применением других алгоритмов. Данный алгоритм обычно включает сеть из обрабатывающих элементов, называемых "нейронами". Каждый нейрон ассоциирован с характеристическим вектором, называемым наблюдением. Карта пытается отразить все доступные наблюдения с оптимальной точностью с применением ограничивающего набора моделей. В то же время модели становятся упорядоченными в рамках сети, таким образом что похожие модели расположены ближе друг к другу, а непохожие модели расположены далеко друг от друга. Данная процедура обеспечивает идентификацию, а также визуализацию зависимостей или ассоциаций между признаками в рамках данных.

Алгоритмы анализа признаков направлены на ранжирование признаков или ранжирование с последующим отбором признаков на основе их влияния.

Термин "признак" в контексте машинного обучения означает одну или несколько необработанных входных переменных, одну или несколько обработанных переменных, или одну или несколько математических комбинаций других переменных, включая необработанные переменные и обработанные переменные. Признаки могут являться непрерывными или дискретными.

Прирост информации представляет собой один из способов машинного обучения, подходящий для анализа признаков. Определение прироста информации требует определения энтропии, которая представляет собой степень неоднородности в наборе элементов для тренировки. Снижение энтропии целевого признака, которое осуществляется благодаря знанию значений определенного признака, называют приростом информации. Прирост информации может применяться в качестве параметра для определения эффективности признака при определении типа инфекции. Симметрическая неопределенность представляет собой алгоритм, который может применяться в рамках алгоритма отбора признаков в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения. Симметрическая неопределенность компенсирует предвзятость вследствие прироста информации в пользу признаков с **большим** количеством значений путем нормализации признаков в рамках диапазона [0, 1].

Алгоритмы отбора подмножеств основаны на комбинации алгоритма анализа и алгоритма поиска. Аналогично алгоритмам анализа признаков алгоритмы отбора подмножеств включают ранжирование подмножеств признаков. Однако в отличие от алгоритмов анализа признаков алгоритм отбора подмножеств, подходящий для настоящих вариантов осуществления изобретения, нацелен на отбор подмножества признаков с наиболее сильным влиянием на тип инфекции одновременно с учетом степени статистической неопределенности между признаками, включенными в подмножество. Преимущества, связанные с отбором подмножества признаков, включают обеспечение визуализации данных и понимание, снижение требований к условиям измерения и хранения, снижение продолжительности тренировки и применения, и устранение отвлекающих признаков для улучшения классификации.

Двумя основными подходами к алгоритмам отбора подмножеств являются процесс добавления признаков к рабочему подмножеству (прямой отбор) и удаление признаков из текущего подмножества (обратное удаление). В машинном обучении прямой отбор осуществляется иным образом, чем статистическая процедура с тем же названием. В



рамках машинного обучения добавляемый в текущее подмножество признаков определяется путем анализа эффективности текущего подмножества, дополненного одним новым признаком, с применением перекрестной проверки. При прямом отборе подмножества формируются путем добавления каждого оставшегося признака в текущее подмножество при анализе ожидаемой эффективности каждого нового подмножества с применением перекрестной проверки. Приводящий к достижению наилучшей эффективности при добавлении к текущему подмножеству признак сохраняется и процесс продолжается. Поиск останавливается, когда ни один из оставшихся доступных признаков не улучшает прогностическую способность текущего подмножества. Данный процесс обеспечивает нахождение набора признаков локального оптимума.

Обратное удаление реализуется аналогичным образом. При обратном удалении поиск останавливается, когда дальнейшее удаление признаков из набора не повышает прогностическую способность подмножества. Настоящие варианты осуществления изобретения охватывают алгоритмы поиска, при которых осуществляется прямой поиск, обратный поиск или поиск в обоих направлениях. Соответствующие примеры алгоритмов поиска, которые могут применяться в рамках настоящих вариантов осуществления изобретения, включают, без ограничения, полный перебор, жадный алгоритм поиска с восхождением к вершине, случайные возмущения подмножеств, оберточные алгоритмы выбора признаков, поиск на основе гонки вероятностей, поиск на основе схем, поиск на основе гонки рангов и байесовский классификатор.

Дерево решений представляет собой алгоритм поддержки решений, который образует логическую последовательность этапов, связанных с анализом входных данных для принятия решения.

Термин "дерево решений" означает любой тип алгоритмов обучения на основе деревьев, включая, без ограничения, деревья в качестве моделей, классификационные деревья и деревья регрессии.

Дерево решений может применяться для классификации наборов данных или их связей иерархическим образом. Дерево решений имеет структуру дерева, которое включает узлы-"ветви" и узлы-"листья". Каждый узел-"ветвь" определяет атрибут (сплит-атрибут) и тест (сплит-тест) для осуществления в отношении значения сплит-атрибута и связан с другими узлами для всех возможных конечных результатов сплит-теста. Узел-ветвь, который представляет собой корень дерева решений, называют корневым узлом. Каждый узел-"лист" может соответствовать классификации (например, тому, является ли конкретная часть группового набора данных совпадающей с конкретной частью специфичного по отношению к субъекту набора данных) или значению. Узлы-"листья" также могут содержать дополнительную информацию о соответствующей классификации, такую как доверительный балл, который соответствует доверительности соответствующей классификации (например, вероятности того, что классификация является точной). Например, доверительный балл может представлять собой непрерывное значение от 0 до 1, при этом равный 0 балл указывает на очень малую доверительность (например, индикативное значение соответствующей классификации является очень низким), а равный 1 балл указывает на очень высокую доверительность (например, соответствующая классификация является практически наверняка точной).

Методы опорных векторов представляют собой алгоритмы, которые основаны на теории статистического обучения. Метод опорных векторов (SVM) в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения могут применяться для классификационных целей и/или для численного прогнозирования. Метод опорных векторов для классификации называют здесь "классификатором на основе метода

опорных векторов", а метод опорных векторов для численного прогнозирования называют здесь "регрессией на основе метода опорных векторов".

SVM обычно характеризуется ядерной функцией, выбор которой определяет, будет ли полученный SVM обеспечивать классификацию, регрессию и другие функции. В рамках применения ядерной функции SVM обеспечивает маппинг входных векторов в высокоразмерное пространство признаков, в котором может быть сконструирована гиперповерхность для принятия решений (также известная как разделитель) для обеспечения классификации, регрессии или других связанных с принятием решений функций. В самом простом случае поверхность представляет собой гиперплоскость (также известную как линейный разделитель), однако более комплексные разделители также включены в объем изобретения и могут применяться с использованием ядерных функций. Точки данных, которые определяют гиперповерхность, называют опорными векторами.

Классификатор на основе метода опорных векторов обеспечивает выбор разделителя в участке, где расстояние до разделителя от наиболее близких точек данных является максимально большим, таким образом отделяя точки векторов признаков, связанные с объектами внутри рамках класса, от точек векторов признаков, связанных с объектами вне класса. Для реализации регрессии на основе метода опорных векторов конструируют трубку высокой размерности с радиусом, соответствующим величине приемлемой ошибки, которая минимизирует ошибку в наборе данных с одновременной максимизацией плоскостности связанной кривой или функции. Другими словами, трубка представляет собой "обертку" вокруг аппроксимированной кривой, образованной набором точек данных, являющихся ближайшими к данной кривой или поверхности.

Преимущество метода опорных векторов заключается в том, что после идентификации опорных векторов остальные наблюдения могут быть устранены из вычислений, что значительно снижает степень вычислительной сложности проблемы. SVM обычно включает две фазы: фазы тренировки и фазы тестирования. В рамках фазы тренировки генерируют набор опорных векторов для применения при реализации правила принятия решений. В рамках фазы тестирования осуществляется принятие решений с применением правила принятия решений. Алгоритм на основе опорных векторов представляет собой способ тренировки SVM. Путем реализации алгоритма генерируется тренировочный набор параметров, включая опорные векторы, которые характеризуют SVM. Соответствующий пример алгоритма опорных векторов, подходящих для настоящих вариантов осуществления изобретения включает, без ограничения, последовательную минимальную оптимизацию.

Способы на основе регрессии, которые могут применяться в соответствии с настоящим изобретением, включают, без ограничения, линейную регрессию, множественную регрессию, логистическую регрессию, регрессию на основе пробитов, порядковую логистическую регрессию, порядковую регрессию на основе пробитов, пуассоновскую регрессию, отрицательную биномиальную регрессию, полиномиальную логистическую регрессию (MLR) и усеченную регрессию.

Логистическая регрессия или логит-регрессия представляет собой тип регрессионного анализа, применяемый для прогнозирования конечной величины зависимой распределенной по категориям переменной (зависимой переменной, которая может иметь ограниченное количество значений, чьи величины не являются значимыми, но чей порядок величин может являться или не являться значимым) на основе одной или нескольких прогностических переменных. Логистические регрессии также включают полиномиальный вариант. Модель на основе полиномиальной логистической регрессии

представляет собой модель на основе регрессии, которая обобщает логистическую регрессию путем обеспечения возможности наличия более чем двух дискретных конечных значений. Таким образом, она представляет собой модель, которая применяется для прогнозирования вероятностей различных возможных конечных значений распределенной по категориям зависимой переменной с учетом набора независимых переменных (которые могут иметь реальные значения, бинарные значения, соответствующие категориям значения и так далее).

Преимущество логистической регрессии заключается в том, что она обеспечивает определение интерпретируемой величины степени прогностической достоверности - вероятности. Например, пациенты, у которых прогнозируется наличие бактериальной инфекции с вероятностью 75% и 99%, будут отнесены к имеющим бактериальную инфекцию при применении интерпретационной функции на основе SVM, однако факт того, что последние из них имеют более высокую вероятность ее наличия, будет скрыт. Определение уровня вероятности степени достоверности добавляет ценную клиническую информацию, которая может повлиять на вынесение клинических решений.

Важно, что вычисление вероятности типа инфекции для каждого пациента позволяет рационально исключать пациентов, для которых система знает о своей неспособности осуществлять классификацию с высокой уверенностью. Это продемонстрировано здесь на Фиг. 5. Таким образом, продукт позволяет определять, например, 40% вероятность бактериальной инфекции (40 из 100 пациентов со значением балла "40%" будут иметь бактериальную инфекцию).

Дополнительно, благодаря применению пороговых значений в отношении баллов вероятности, является возможным осуществлять недвоичную классификацию тестируемого субъекта. Например, у тестируемого субъекта с вероятностью бактериальной инфекции ниже 30% может быть определена низкая вероятность бактериальной инфекции; от 30% до 70% - средняя вероятность бактериальной инфекции, а свыше 70% - высокая вероятность бактериальных инфекций. Могут применяться и другие пороговые значения.

Алгоритм LASSO (способ оценки параметров линейной модели с возможностью уменьшения размерности) представляет собой алгоритм для уменьшения размерности и/или отбора для линейной регрессии. Алгоритм LASSO может обеспечивать минимизирование обычной суммы квадратичных ошибок с регуляризацией, которая может представлять собой L1-регуляризацию (ограничение суммы абсолютных значений коэффициентов), L2-регуляризацию (ограничение суммы квадратов коэффициентов) и им подобные. Алгоритм LASSO может быть связан с мягкой пороговой классификацией вейвлет коэффициентов, прямой пошаговой регрессией и способами бустинга. Алгоритм LASSO описан в публикации Tibshirani, R, Regression Shrinkage and Selection via the Lasso, J. Royal. Statist. Soc B., т.58, №. 1, 1996, стр. 267-288, содержание которой приведено здесь для ссылки.

Байесовская сеть представляет собой модель, которая соответствует переменным и условным взаимозависимостям между переменными. В байесовской сети переменные представлены в виде узлов, при этом узлы могут быть соединены друг с другом с помощью одного или нескольких соединений. Соединение указывает на связь между двумя узлами. Узлы обычно имеют соответствующие таблицы условных вероятностей, которые применяются для определения вероятности состояния узла с учетом состояния других узлов, с которыми соединен данный узел. В некоторых вариантах осуществления изобретения применяется алгоритм на основе оптимального байесовского классификатора для использования максимальной апостериорной гипотезы в отношении

новой записи для прогнозирования вероятности ее классификации, а также для вычисления вероятностей на основе всех остальных гипотез, полученных на основе тренировочного набора, и для применения данных вероятностей в качестве весовых факторов для будущих предсказаний типа инфекции. Алгоритм, являющийся

5 подходящим для поиска наилучшей байесовской сети, включает, без ограничения, алгоритм на основе метрики общего балла. В рамках альтернативного подхода к формированию сети может применяться марковское покрытие. Марковское покрытие заключается в изолировании узла от влияния любого узла вне его границы, которая состоит из элементов-родителей узла, его элементов-детей и элементов-родителей его

10 элементов-детей.

Алгоритмы на основе экземпляров позволяют генерировать новую модель для каждого экземпляра вместо осуществления прогнозирования на основе деревьев или сетей, полученных (ранее) на основе тренировочного набора.

Термин "экземпляр" в контексте машинного обучения означает пример из набора

15 данных.

Алгоритмы на основе экземпляров обычно включают хранение всего набора данных в памяти и построение модели на основе набора записей, сходных тем, которые подвергаются тестированию. Данное сходство может быть проанализировано, например, с помощью методов ближайшего соседа или локально взвешенных регрессий, например

20 с применением евклидовых расстояний. После выбора набора записей конечная модель может быть построена с применением нескольких различных алгоритмов, таких как наивные байесовские классификаторы.

Настоящее изобретение также может применяться для скрининга подгрупп пациентов или субъектов в плане любых условий. Например, в рамках здравоохранительной

25 организации, медицинского учреждения или школьной здравоохранительной программы может осуществляться скрининг группы субъектов для идентификации тех из них, которым требуются вмешательства, как описано здесь, или для сбора эпидемиологических данных. Страховые компании (например, предлагающие страхование здоровья, жизни или инвалидности) могут подвергать клиентов скрининга

30 в рамках процесса определения покрываемых страховых случаев или стоимости или существующих клиентов для возможного вмешательства. Данные, собранные в рамках подобных анализов групп субъектов, особенно совместно с любым клиническим прогрессированием таких состояний, как инфекция, будут являться ценными в плане работы, например, здравоохранительных организаций, общественных

35 здравоохранительных программ или страховых компаний. Подобные наборы данных или коллекции могут храниться на машиночитаемых носителях и применяться в рамках любых систем для управления связанными с состоянием здоровья данными для предоставления улучшенных медицинских услуг, оптимизации стоимости медицинских услуг, улучшения условий страхования и так далее. См., например, См., например,

40 заявку на патент США 2002/0038227; заявку на патент США 2004/0122296; заявку на патент США 2004/ 0122297; и патент США 5018067. Подобные системы могут иметь доступ к данным непосредственно из внутреннего хранилища данных или удаленно из одного или нескольких мест для хранения данных, как описано ниже.

Машиночитаемый носитель для хранения данных может включать связанный с

45 хранением данных материал, кодируемый машиночитаемыми данными или массивами данных, который при применении устройства, запрограммированного с применением инструкций для использования указанных данных, может применяться для ряда целей. Измерения эффективных количеств биомаркеров по изобретению и/или анализ риска,

обусловленного данными биомаркерами, может быть реализован в рамках компьютерных программ, выполняемых на программируемых компьютерах, включающих, помимо прочего, процессор, систему хранения данных (включая энергозависимую и энергонезависимую память и/или элементы для хранения данных), по меньшей мере, одно устройство для ввода и, по меньшей мере, одно устройство для вывода.

Программный код может применяться для ввода данных для реализации описанных выше функций и генерации выходной информации. Выходная информация может подаваться на одно или несколько устройств вывода в соответствии со способами, которые известны из уровня техники. Компьютер может представлять собой, например, персональный компьютер, микрокомпьютер или рабочую станцию стандартного вида.

Каждая программа может быть реализована на высокоуровневом процедурном или объектно-ориентированном языке программирования для взаимодействия с компьютерной системой. Тем не менее, программы могут быть реализованы на ассемблере или машинном языке, если это требуется. Язык может представлять собой компилируемый или интерпретируемый язык. Каждая подобная компьютерная программа может храниться на носителях данных или устройстве (например, в ROM или на магнитной дискете или других носителях, как описано в других частях данного описания), читаемом программируемым компьютером общего или специального назначения для конфигурирования и работы компьютера при чтении носителей данных или устройства компьютером для реализации описанных здесь процедур.

Система управления связанными с состоянием здоровья данными по изобретению также может рассматриваться в качестве реализованной в виде машиночитаемого носителя данных, сконфигурированного с применением компьютерной программы, при этом носитель данных, сконфигурированный подобным образом, заставляет компьютер работать специальным и предварительно определенным образом для реализации различных описанных здесь функций.

Записываемые выходные данные могут включать результаты анализов, выводы, диагнозы, прогнозы и/или рекомендации по лечению. Они могут передаваться, например, техническим специалистам, лечащим врачам и/или пациентам. В определенных вариантах осуществления компьютеры будут применяться для передачи подобной информации заинтересованным сторонам, таким как пациенты и/или лечащие врачи. Терапия, вводимая субъекту, может быть модифицирована на основе выходных данных.

В одном варианте осуществления выходные данные представлены в графическом виде. В другом варианте осуществления выходные данные представлены в числовом виде (например, в виде вероятности). В другом варианте осуществления выходные данные генерируются с применением значения цвета (например, в рамках дисплея со шкалой), при этом один цвет указывает на наличие бактериальной инфекции, а другой цвет - на наличие небактериальной инфекции. Интенсивность цвета коррелирует с вероятностью наличия бактериальной инфекции/отсутствия инфекции. Подобный графический дисплей представлен на Фиг. 29А-Е.

В некоторых вариантах осуществления выходные данные передаются субъекту как можно скорее после завершения анализа и генерирования диагноза и/или прогноза. Результаты и/или связанная информация могут быть переданы субъекту лечащим врачом субъекта. Альтернативно, результаты могут быть переданы непосредственно тестируемому субъекту с помощью коммуникационных средств, включая письменные, например путем предоставления письменного отчета, электронных форм коммуникаций, таких как электронная почта, и с помощью телефона. Передача может осуществляться

путем применения компьютера, например в случае передачи по электронной почте. В определенных вариантах осуществления коммуникация, содержащая результаты диагностического теста и/или заключения на их основе и/или рекомендации по лечению, основанные на тесте, могут быть сгенерированы и доставлены автоматически субъекту с применением комбинации компьютерного аппаратного обеспечения и программного обеспечения, которое знакомо специалистам в области телекоммуникаций. Один пример коммуникационной системы для применения в области здравоохранения описан в патенте США 6283761; тем не менее, настоящее изобретение не ограничивается способами, в рамках которых применяется данная конкретная коммуникационная система. В определенных вариантах осуществления способов изобретения все или некоторые из этапов способа, включая анализ образцов, диагностику заболеваний и передачу результатов анализов или диагностики, могут быть осуществлены в различных (например, зарубежных) юрисдикциях.

В некоторых вариантах осуществления описанные здесь способы реализуются с применением системы 330, которая необязательно и предпочтительно, но не обязательно, включает карманное устройство, которое включает, по меньшей мере, две части: первую, которая обеспечивает измерение количества полипептидов в крови (например, с применением иммуногистохимического способа), и вторую, которая проводит вычислительный анализ результатов, измеренных первой частью, и генерирует выходные данные, относящиеся к диагнозу.

Блок-схема соответствующего примера системы 330 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения приведена на Фиг. 34. Система 330 может включать устройство 331, которое может представлять собой, но необязательно, карманное устройство. Альтернативно, устройство 331, которое может представлять собой устройство, которое монтируется или размещается на столе. Система 330 может включать первую часть 332 с измерительной системой 333, сконфигурированной для измерения значения экспрессии полипептидов в крови субъекта. Измерительная система 333 может выполнять, по меньшей мере, один вид автоматизированного анализа, выбранный из группы, состоящей из автоматизированного анализа ELISA, автоматизированного иммуноанализа и автоматизированного функционального анализа. Система 330 также может включать вторую часть 334, включающую аппаратное обрабатывающее устройство 336 с машиночитаемым носителем данных 338 для хранения инструкций компьютерной программы для выполнения описанных здесь операций (например, инструкций компьютерной программы для определения первой и/или второй координаты, инструкций компьютерной программы для определения кривой и/или плоскости, инструкций компьютерной программы для вычисления первого и/или второго расстояния, инструкции компьютерной программы для коррелирования вычисленной дистанции (дистанций) с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет бактериальную и/или вирусную инфекцию). Аппаратное обрабатывающее устройство 336 сконфигурировано для получения результатов измерений значений экспрессии из первой части 332 и выполнения программных инструкций в ответ на данные результаты. Необязательно и предпочтительно аппаратное обрабатывающее устройство 336 также сконфигурировано для вывода обработанных данных на устройство для отображения 340.

В некоторых необязательных вариантах осуществления настоящего изобретения система 330 соединена с коммуникационной сетью. В данных вариантах осуществления система 330 или аппаратное обрабатывающее устройство 336 включает сетевой

интерфейс 350, который соединен с коммуникационной сетью 352. На соответствующей иллюстрации, приведенной на Фиг. 34, сеть 352 применяется для передачи результатов анализа, осуществленного аппаратным обрабатывающим устройством 336 (например, наличия, отсутствия или вероятности того, что субъект имеет бактериальную и/или вирусную инфекцию) в одно или несколько удаленных мест. Например, система 330 может передавать результаты анализа, по меньшей мере, одной лабораторной информационной системе 360, и/или центральному серверу 362, который собирает данные от множества систем, подобных системе 330.

Фиг. 39А представляет собой схематичную иллюстрацию, показывающую блок-схему системы 330 в вариантах осуществления, в рамках которых коммуникационная сеть 352 применяется для получения результатов измерения значений экспрессии. В рамках данных вариантов осуществления система 330 может включать машиночитаемый носитель 338, как описано выше, и аппаратное обрабатывающее устройство, такое как, но без ограничения, обрабатывающее устройство 336. Аппаратное обрабатывающее устройство 336 может включать сетевой интерфейс 350. Через интерфейс 350 аппаратное обрабатывающее устройство 336 получает результаты измерения значений экспрессии от измерительной системы, такой как, без ограничения, измерительная система 333, и выполняет компьютерные программные инструкции с машиночитаемого носителя 338 в ответ на полученные результаты измерений. Аппаратное обрабатывающее устройство 336 затем может выводить обработанные данные на устройство для отображения 340.

Изобретение также включает комбинации вариантов осуществления, показанных на Фиг. 34 и 39А. Например, интерфейс 350 может применяться как для получения результатов измерения значений экспрессии из сети 352, так и для передачи результатов анализа через сеть 352.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения система 330 взаимодействует с пользователем, как схематически показано на блок-схеме на Фиг. 39 В. В рамках данных вариантов осуществления система 330 может включать машиночитаемый носитель 338, как описано выше, и аппаратное обрабатывающее устройство, такое как, но без ограничения, обрабатывающее устройство 336. Аппаратное обрабатывающее устройство 336 включает пользовательский интерфейс 354, который взаимодействует с пользователем 356. Через интерфейс 350 аппаратное обрабатывающее устройство 336 получает результаты измерения значений экспрессии от пользователя 356. Пользователь 356 может получать значение экспрессии из внешнего источника или путем выполнения, по меньшей мере, одного анализа, выбранного из группы, состоящей из иммуноанализа и функционального анализа, или с помощью операционной системы 333 (не показана, см. Фиг. 39А и 34). Аппаратное обрабатывающее устройство 336 выполняет компьютерные программные инструкции с машиночитаемого носителя 338 в ответ на полученные результаты измерений. Аппаратное обрабатывающее устройство 336 затем может выводить обработанные данные на устройство для отображения 340.

Очевидно, что при диагностировании может быть произведен ряд действий.

Таким образом, например, если сделано заключение о наличии бактериальной инфекции, то субъект затем может быть подвергнут лечению антибиотиком.

Примеры антибиотиков включают, без ограничения, даптомицин; гемифлоксацин; телаванцин; цефтаролин; фидаксомин; амоксициллин; ампициллин; бакампициллин; карбенициллин; клоксациллин; диклоксациллин; флуфлоксациллину; мезлоциллин; нафциллин; оксациллин; пенициллин G; пенициллин V; пиперациллин; пивампициллин; пивмециллинам; тикарциллин; азтреонам; имипенем; дорипенем; меропенем; эртапенем;

клиндамицин; линкомицин; пристиамицина; хинопристин; цефакетрил (цефакетрил);  
 цефадроксил (цефадроксил); цефалексин (цефалексин); цефалоглицин (цефалоглицин);  
 цефалониум (цефалониум); цефалоридин (цефалорадин); цефалотин (цефалотин);  
 цефапирин (цефапирин); цефатризин; цефазафлур; цефазедон; цефазолин (цефазолин);  
 5 цефрадин (цефрадин); цефроксадин; цефтезол; цефаклор; цефамандол; цефметазол;  
 цефоницид; цефотетан; цефокситин; цефпрозил (цефпроксил); цефуроксим; цефузонам;  
 цефкапен; цефдалоксим; цефдинир; цефдиторен; цефетамет; цефиксим; цефменоксим;  
 цефодизим; цефотаксим; цефпимизол; цефподоксим; цефтерам; цефтибутен; цефтиофур;  
 цефтиолен; цефтизоксим; цефтриаксон; цефоперазон; цефтазидим; цефклидин; цефепим;  
 10 цефлупренам; цефоселис; цефозопран; цефпиром; цефхином, пятое поколение;  
 цефтобипрол; цефтаролин, не классифицирован; цефакломедин; цефалорам; цефапарол;  
 цефканел; цефедролор; цефемпидон; цефетризол; цефивитрил; цефматилен;  
 цефмепидиниум; цефовицин; цефоксазол; цефротил; цефсумид; цефурацетим; цефтиоксид;  
 азитромицин; эритромицин; кларитромицин; диритромицин; рокситромицин;  
 15 телитромицин; амикацин; гентамицин; канамицина; неомицин; нетилмицин;  
 паромомицин; стрептомицин; тобрамицина; флуменкин; налидиксовую кислоту;  
 оксолиновую кислоту; пиромидиновую кислоту; пипемидовую кислоту; розоксацин;  
 ципрофлоксацин; эноксацин; ломефлоксацин; надифлоксацин; норфлоксацин;  
 офлоксацин; пefлоксацин; руфлоксацин; балофлоксацин; гатифлоксацин;  
 20 грепафлоксацин; левофлоксацин; моксифлоксацин; пазуфлоксацин; спарфлоксацин;  
 темафлоксацин; тосуфлоксацин; бесифлоксацин; клинафлоксацин; гемифлоксацин;  
 ситафлоксацин; тровафлоксацин; прулифлоксацин; сульфаметизол; сульфаметоксазолу;  
 сульфисоксазол; триметоприм- сульфаметоксазол; демеклоциклин; доксициклин;  
 миноциклин; окситетрациклин; тетрациклин; тигециклин; хлорамфеникол; метронидазол;  
 25 тинидазол; нитрофурантоин; ванкомицин; тейкопланин; телаванцин; линезолид;  
 циклосерин 2; рифампицин; рифабутин; рифапентин; бацитрацин; полимиксин В;  
 биомицин; капреомицин.

Если сделано заключение о наличии вирусной инфекции, то субъект может быть  
 подвергнут лечению противовирусным средством. Примеры противовирусных средств  
 30 включают, без ограничения, абакавир; ацикловир; ацикловир; адефовир; амантадин;  
 ампренавир; амплиген; арбидол; атазанавир; антрипла; балавир; боцепревирертет;  
 цидофовир; комбивир; долутегравир; дарунавир; делавирдин; диданозин; докозанол;  
 эдоксудин; эфавиренц; эмтрицитабин; энфувиртид; энтекавир; эколиевер; фамцикловир;  
 фомивирсен; фосампренавир; фоскарнет; фосфонет; ингибитор слияния; ганцикловир;  
 35 ибацитабин; имуновир; идоксуридин; имиквимод; индинавир; инозин; ингибитор  
 интегразы; интерферон типа III; интерферон типа II; интерферон типа I; интерферон;  
 ламивудин; лопинавир; ловирид; маразавирок; мороксидин; метисазон; нельфинавир;  
 невирапин; нексавир; оселтамивир; пегинтерферон альфа-2а; пенцикловир; перамивир;  
 плеконарил; подофиллотоксин; ралтегравир; ингибитор обратной транскриптазы;  
 40 рибавирин; ремантадин; ритонавир; пирамидин; саквинавир; софосбувир; ставудин;  
 телавир; тенофовир; тенофовир дизопроксил; типранавир; трифлуридин; тризивир;  
 тромантадин; трувада; трапорвед; валакцикловир; валганцикловир; викривирок;  
 видарабин; вирамидин; зальцитабин; занамивир; зидовудин; противовирусные средства  
 на основе РНК- интерференции; ингаляционные рибовирины; моноклональные антитела  
 45 (торговое наименование Respigam); блокираторы нейраминидазы.

Информация, полученная с применением описанных здесь способов, может являться  
 полезной в рамках дополнительных вариантов действий в отношении пациентов.

Например, данная информация может применяться для определения, должен ли пациент



быть госпитализирован. Она также может влиять на решение о пролонгации периода госпитализации. Она также может влиять на решение о том, следует ли проводить дополнительные тесты, или может предотвратить проведение необязательных тестов, таких как КТ и/или рентгенография и/или МРТ и/или культуральный и/или

5 серологический и/или ПЦР-анализ на определенные бактерии и/или ПЦР анализ на вирусы и/или проведение процедур, таких как люмбальная пункция.

Часто является полезным с клинической точки зрения проанализировать у пациентов прогноз, тяжесть заболевания и конечный исход. Авторы настоящего изобретения определили, что низкие уровни TRAIL (ниже чем около 20 пг/мл или около 15 пг/мл

10 или около 10 пг/мл или около 5 пг/мл или около 2 пг/мл) значительно коррелируют с плохим прогнозом и конечным исходом у пациента, а также с высокой тяжестью заболевания. Например, авторы настоящего изобретения показали, что взрослые пациенты в отделении интенсивной терапии (ICU), которые в целом являются тяжелобольными, имели значительно более низкие уровни TRAIL по сравнению со

15 всеми другими пациентами, которые были менее больными, вне зависимости от инфекционной или неинфекционной этиологии заболевания.

Таким образом, в соответствии с другим аспектом настоящего изобретения предусмотрен способ прогнозирования течения заболевания, включающий измерение

уровня белка TRAIL в сыворотке у субъекта с заболеванием, при этом если уровень

20 TRAIL находится ниже предварительно определенного уровня, то прогноз является более негативным, чем у субъекта с заболеванием с уровнем белка TRAIL в сыворотке выше предварительно определенного уровня.

Способы измерения уровней белка TRAIL в сыворотке описаны выше.

Заболевание может представлять собой инфекционное или неинфекционное

25 заболевание. Субъект может иметь заболевание, которое было диагностировано или не было диагностировано.

Конкретные примеры заболеваний включают, без ограничения, бактериальные инфекции (например, бактериемию, менингит, инфекции дыхательных путей, инфекции мочевыводящих путей и так далее), сепсис, физическую травму или травму, сердечно-

30 сосудистые заболевания, заболевания, ассоциированные с множественным отказом органов, лекарственную нефротоксичность, острую почечную недостаточность, травму почек, расширенный цирроз и почечную недостаточность, острую или хроническую недостаточность левого предсердия, легочную гипертензию с/без недостаточности правого предсердия и различные типы злокачественных образований.

В соответствии с другим вариантом осуществления измеряют уровни дополнительных

полипептидов, что помогает повышать точность прогнозирования. Таким образом, например, другие полипептиды, которые могут подвергаться измерению, включают

35 IP-10, CRP, IL1RA, PCT и SAA.

В соответствии с определенным вариантом осуществления измеряют уровни IP-10,

40 CRP и TRAIL.

В соответствии с другим вариантом осуществления измеряют уровни только TRAIL.

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что пациенты с очень низкими уровнями TRAIL (в соответствии с указанной выше классификацией) имеют более

низкий шанс выздоровления и более высокий шанс возникновения осложнений.

Соответственно, авторы настоящего изобретения предлагают, что при обнаружении

45 у субъектов очень низких уровней TRAIL они должны подвергаться лечению средствами, которые применяются лишь в качестве последних оставшихся эффективными средств.

Такие средства, например, могут представлять собой, например, экспериментальные

средства, которые не были полностью одобрены FDA. Другие последние оставшиеся эффективными средства представляют собой средства, в отношении которых известно наличие связи с тяжелыми побочными эффектами. Другой пример последнего оставшегося эффективным средства представляет собой антибиотик, такой как ванкомицин (который обычно не назначается с целью предотвращения резистентности к антибиотикам).

Очевидно, что также могут быть назначены средства, которые обычно не считаются последними оставшимися эффективными средствами, но в дозировках, которые превосходят клинически допустимые дозировки.

В соответствии с данным аспектом настоящего изобретения, если уровень TRAIL превышает предварительно определенный уровень, то пациент обычно не должен подвергаться лечению последним оставшимся эффективным средством.

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что базальные уровни TRAIL у здоровых субъектов или пациентов с неинфекционным заболеванием являются более низкими у женщин по сравнению с мужчинами в рамках детородного возраста (Р-значение t-теста < 0,001) (см. Фиг. 37А), однако не различаются в рамках пре- или пост-детородного возраста (Р-значение t-теста = 0,9, Фиг. 37А). Данный тренд не наблюдался у пациентов с инфекционным заболеванием.

Данная зависящая от возраста динамика может применяться для улучшения моделей, обеспечивающих различение субъектов с бактериальным, вирусным и неинфекционным заболеванием, или здоровых субъектов, как будет очевидно специалисту в данной области.

Например, модель может включать параметры, связанные с возрастом и полом. Если возраст субъекта находится в рамках определенного диапазона,

свидетельствующего о фертильности (например, от 13 до 45 лет) и субъект является мужчиной, то могут применяться коэффициенты модели TRAIL для мужчин в детородном возрасте. Если возраст субъекта находится в рамках диапазона, свидетельствующего о фертильности, и субъект является женщиной, то могут применяться коэффициенты модели TRAIL для женщин в детородном возрасте. Если возраст субъекта находится вне диапазона, свидетельствующего о фертильности, то могут применяться коэффициенты модели TRAIL, которые не зависят от возраста.

Таким образом, в соответствии с другим аспектом изобретения предусмотрен способ определения типа инфекции у субъекта-женщины детородного возраста, при этом способ включает сравнение уровня белка TRAIL в сыворотке у субъекта с предварительно определенным пороговым значением, при этом указанное предварительно определенного пороговое значение соответствует уровню белка TRAIL в сыворотке здорового субъекта-женщины детородного возраста или группы здоровых субъектов-женщин детородного возраста, при этом разница между указанным уровнем белка TRAIL в сыворотке и указанным предварительно определенным пороговым значением свидетельствует о типе инфекции.

Таким образом, в соответствии с другим аспектом изобретения предусмотрен способ определения типа инфекции у субъекта-мужчины детородного возраста, при этом способ включает сравнение уровня белка TRAIL в сыворотке у субъекта с предварительно определенным пороговым значением, при этом указанное предварительно определенного пороговое значение соответствует уровню белка TRAIL в сыворотке здорового субъекта-мужчины детородного возраста или группы здоровых субъектов-мужчин детородного возраста, при этом разница между указанным уровнем белка TRAIL в сыворотке и указанным предварительно определенным пороговым

значением свидетельствует о типе инфекции.

Очевидно, что предварительно определенные пороговые значения могут применяться для заключения о наличии или отсутствии определенного типа инфекции.

Таким образом, например, если уровень белка TRAIL в сыворотке превышает первое  
5 предварительно определенное пороговое значение, то тип инфекции является вирусным.

Если, например, уровень белка TRAIL в сыворотке превышает второе предварительно определенное пороговое значение, то тип инфекции не является бактериальным.

Если, например, уровень белка TRAIL в сыворотке является более низким, чем третье  
10 предварительно определенное пороговое значение, то тип инфекции является бактериальным.

Если, например, уровень белка TRAIL в сыворотке является более низким, чем четвертое предварительно определенное пороговое значение, то тип инфекции не является вирусным.

Как правило, указанные здесь здоровые субъекты-мужчины и субъекты-женщины  
15 не имеют известного заболевания. В соответствии с определенным вариантом осуществления контрольный субъект не имеет инфекционного заболевания.

Как правило, разница между уровнем белка TRAIL в сыворотке субъекта и предварительно определенным пороговым значением является статистически значимым различием, как описано выше.

20 В соответствии с используемым здесь значением, термин "около" означает  $\pm 10\%$ .

Термины "включает", "включающий", "имеющий" и их варианты означают "включая, без ограничения".

Термин "состоящий из" означает "включающий и ограниченный".

Термин "состоящий по существу из" означает, что композиция, способ или структура  
25 может включать дополнительные элементы, этапы и/или части, но только если дополнительные элементы, этапы и/или части существенно не изменяют основные и связанные с новизной характеристики указанной композиции, способа или структуры.

В рамках данной заявки различные варианты осуществления данного изобретения могут быть представлены в формате диапазонов. Следует понимать, что описание в  
30 формате диапазона приведено для удобства и краткости и не должно рассматриваться в качестве негибкого ограничения области, охватываемой изобретением.

Соответственно, описание диапазона должно рассматриваться в качестве явно описывающего все возможные поддиапазоны, а также отдельные числовые значения в рамках данного диапазона. Например, описание диапазона, такого как от 1 до 6,  
35 должно рассматриваться в качестве явно описывающего поддиапазоны, такие как от 1 до 3, от 1 до 4, от 1 до 5, от 2 до 4, от 2 до 6, от 3 до 6 и так далее, а также все отдельные числа в рамках такого диапазона, например 1, 2, 3, 4, 5 и 6. Это применимо вне зависимости от ширины диапазона.

В соответствии с используемым здесь значением, термин "способ" означает способы, средства, методы и процедуры для достижения указанной цели, включая, без  
40 ограничения, такие способы, средства, методы и процедуры, которые либо известны, либо могут быть легко разработаны на основе известных способов, средств, методов и процедур практикующими специалистами в области химии, фармакологии, биологии, биохимии и медицины.

45 В соответствии с используемым здесь значением, термин "лечение" включает устранение, существенное ингибирование, замедление или обращение прогрессирования состояния, существенное облегчение клинических или эстетических симптомов состояния или предотвращение появления клинических или эстетических симптомов состояния в

значительной степени.

Следует понимать, что определенные признаки изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов осуществления, также могут быть предусмотрены в виде комбинации в рамках единого варианта осуществления. Наоборот, различные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте единого варианта осуществления, также могут быть предусмотрены по отдельности или в виде любой подходящей субкомбинации или в любом подходящем виде в рамках любого иного описанного варианта осуществления изобретения. Определенные признаки, описанные в контексте различных вариантов осуществления, не должны рассматриваться в качестве существенных признаков таких вариантов осуществления, если только подобный вариант осуществления не становится неработоспособным без таких элементов.

Различные варианты осуществления и аспекты настоящего изобретения, которые описаны выше и приведены ниже в Формуле изобретения, находят экспериментальное подтверждение в рамках нижеследующих примеров.

### ПРИМЕРЫ

Далее будет приведена ссылка на нижеследующие примеры, которые наряду с приведенным выше описанием неограничивающим образом иллюстрируют некоторые варианты осуществления изобретения.

В целом, используемые здесь обозначения и лабораторные процедуры, применяемые в рамках настоящего изобретения, включают молекулярные, биохимические, микробиологические способы и способы на основе рекомбинантных ДНК. Подобные способы подробно описаны в литературе. См., например, "Molecular Cloning: A laboratory Manual" Sambrook et al., (1989); "Current Protocols in Molecular Biology" т. I-III Ausubel, R.M., ed. (1994); Ausubel et al., "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989); Perbal, "A Practical Guide to Molecular Cloning", John Wiley & Sons, New York (1988); Watson et al., "Recombinant DNA", Scientific American Books, New York; Birren et al. (eds) "Genome Analysis: A Laboratory Manual Series", т.1-4, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1998); методологии, описанные в патентах США 4666828; 4683202; 4801531; 5192659 и 5272057; "Cell Biology: A Laboratory Handbook", т. I-III Cellis, J.E., ed. (1994); "Culture of Animal Cells - A Manual of Basic Technique" Freshney, Wiley-Liss, N.Y. (1994), 3-е изд.; "Current Protocols in Immunology" т. I-III Coligan J.E., ed. (1994); Stites et al. (eds), "Basic and Clinical Immunology" (8-е изд.), Appleton & Lange, Norwalk, CT (1994); Mishell and Shiigi (eds), "Selected Methods in Cellular Immunology", W.H. Freeman and Co., New York (1980); доступные иммуноанализы подробно описаны в патентной и научной литературе, см., например, патенты США 3791932; 3839153; 3850752; 3850578; 3853987; 3867517; 3879262; 3901654; 3935074; 3984533; 3996345; 4034074; 4098876; 4879219; 5011771 и 5281521; "Oligonucleotide Synthesis" Gait, M.J., ed. (1984); "Nucleic Acid Hybridization" Hames, B.D., and Higgins S.J., eds. (1985); "Transcription and Translation" Hames, B.D., and Higgins S.J., eds. (1984); "Animal Cell Culture" Freshney, R.I., ed. (1986); "Immobilized Cells and Enzymes" IRL Press, (1986); "A Practical Guide to Molecular Cloning" Perbal, B., (1984) и "Methods in Enzymology" т. 1-317, Academic Press; "PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications", Academic Press, San Diego, CA (1990); Marshak et al., "Strategies for Protein Purification and Characterization - A Laboratory Course Manual" CSHL Press (1996); все из которых полностью приведены здесь для ссылки. Другие общие ссылки приведены во всему объему данного описания. Считается, что указанные процедуры являются хорошо известными в данной области и приведены для удобства читателя. Вся содержащаяся информация приведена здесь для ссылки.

## ПРИМЕР 1

Протеомная сигнатура организма для различения между бактериальной и вирусной инфекцией: Проспективное многоцентровое наблюдательное исследование

### Способы

Исследуемая группа: В исследовании приняли участие всего 1002 пациента. Пациентов детского возраста ( $\leq 18$  лет) набирали из педиатрических отделений неотложной помощи (PED), педиатрических палат и хирургических отделений, а взрослых пациентов (в возрасте  $>18$  лет) - из отделений неотложной помощи (ED), отделений внутренней медицины и хирургических отделений. У каждого участника или законного представителя получали информированное согласие. Критерии включения в группу с инфекционным заболеванием включали: клиническое подозрение на наличие острого инфекционного заболевания, пиковую температуру  $>37,5^{\circ}\text{C}$  с момент появления симптомов и продолжительность симптомов  $\leq 12$  дней. Критерии включения в контрольную группу включали: клинические признаки неинфекционного заболевания (например, травмы, инсульта или инфаркта миокарда) или здоровых субъектов. Критерии исключения включали: признаки какого-либо эпизода острого инфекционного заболевания в течение 2 недель перед включением в исследование, диагностированный врожденный иммунодефицит; текущее лечение на основе иммуносупрессорной или иммуномодулирующей терапии; активное злокачественное заболевание, подтвержденное или предполагаемое наличие заражения вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ)-1, вирусом гепатита В (HBV) или вирусом гепатита С (HVC) (Фиг. 1А). Важно, что для обеспечения возможности широкого обобщения лечение антибиотиком при включении в исследование не являлось причиной исключения.

Процесс включения в исследования и сбор данных: Для каждого пациента записывали значения следующих базисных переменных: демографические показатели, показатели физического состояния, медицинскую историю (например, основные жалобы, сопутствующие диагнозы, постоянно применяемые лекарства, сопутствующие заболевания, время появления симптомов и пиковую температуру), результаты клинического анализа крови (CBC), полученные при включении в исследование и химические показатели (например, креатинин, мочевины, электролиты и печеночные ферменты). Назальный мазок получали от каждого пациента для дальнейшего микробиологического анализа, а для проведения скрининга на белок и проверки получали образец крови. Лечащие врачи в случае необходимости получали дополнительные образцы (например, образцы мочевины и стула в случаях подозрения на инфекцию мочевыводящих путей [UTI] и гастроэнтерита [GI], соответственно). Радиологические тесты проводили при назначении лечащим врачом (например, рентгенографию грудной клетки для субъектов с подозрением на наличие инфекции нижних дыхательных путей [LRTI]). Спустя тридцать дней после включения в исследование отмечали историю течения заболевания и реакцию на лечение. Всю информацию заносили в кастомизированную форму для электронной отчетности (eCRF).

Микробиологический анализ: Пациенты прошли два диагностических анализа на основе множественной ПЦР с применением назальных мазков: (i) Seeplex® RV15 (n=713) для детектирования вируса парагриппа 1, 2, 3 и 4, коронавируса 229E/NL63, аденовируса A/B/C/D/E, бокавируса 1/2/3/4, вируса гриппа А и В, метапневмовируса, коронавируса OC43, риновируса A/B/C, респираторно-синцитиального вируса А и В и энтеровируса, и (ii) Seeplex® PB6 (n=633) для детектирования Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Chlamydia pneumoniae, Legionella pneumophila, Bordetella pertussis и Mycoplasma pneumoniae. Анализы на основе множественной ПЦР проводили в

сертифицированной сервисной лаборатории. Пациенты также проходили тестирование на дополнительные патогены в соответствии с их предполагаемым клиническим симптомом, включая: культуры, выделенные из крови (n=420), мочи (n=188) и стула (n=66), на предмет *Shigella* spp., *Campylobacter* spp. и *Salmonella* spp.; серологическое тестирование (IgM и/или IgG) на цитомегаловирус (CMV), вирус Эпштейна-Барра (EBV), *Mycoplasma Pneumonia* и *Coxiella burnetii* (коксиеллез) (n=167, n=130, n=206 и n=41, соответственно).

Определение контрольного стандарта: Группа с точным диагнозом, Единогласная группа и Мажоритарная группа: Строгий композитный контрольный стандарт был разработан на основании рекомендаций, приведенных в Стандартах отчетности по диагностической точности (Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy, STARD).<sup>38</sup> Сначала для каждого пациента проводили микробиологический анализ, как описано выше. Затем все данные, собранные в рамках истории заболевания, анализировались комиссией из трех лечащих врачей. Для взрослых пациентов (возрастом >18 лет) комиссия включала лечащего врача и двух специалистов по инфекционным заболеваниям, в то время как для детей и подростков (возрастом ≤18 лет) она включает лечащего детского врача, эксперта по инфекционным заболеваниям и старшего лечащего педиатра. Каждый член комиссии присваивал одну из следующих диагностических категорий каждому пациенту: (i) бактериальное заболевание; (ii) вирусное заболевание; (iii) отсутствие явного инфекционного заболевания или здоровое состояние (контроли); и (iv) неопределенную категорию. Пациентов со смешанными инфекциями (бактериальными плюс вирусными) относили к категории пациентов с бактериальным заболеванием, поскольку они контролируются аналогичным образом (например, подвергаются лечению антибиотиками). Важно, что члены комиссии не были информированы о решениях своих коллег и общих результатах.

Данный процесс применяли для создания трех групп с повышенным уровнем диагностической точности (Фиг. 1А).

(i) Мажоритарная группа: Пациентов относили к данной группе на основании решения, по меньшей мере, двух из трех членов комиссии;

(ii) Единогласная группа (подгруппа Мажоритарной группы): Пациентов относили к данной группе на основании решения всех трех членов комиссии (термины "единогласная группа" и "консенсусная группа" используются здесь взаимозаменяемым образом); а

(iii) Группа с точным диагнозом (подгруппа Единогласной группы): Пациенты, отнесенные к группе с бактериальным заболеванием, получали единогласный диагноз всех трех членов комиссии, имели WBC >15000/мкл (пороговое значение, свидетельствующее о повышенном риске наличия бактериального заболевания<sup>11</sup>) и одно из следующих подтвержденных микробиологических заболеваний: бактериемию (с полученной из крови культурой с наличием роста), бактериальный менингит (с полученной из спинномозговой жидкости культурой с наличием роста), пиелонефрит (с полученной из мочи культурой с наличием роста и подтверждением поражения почек на основе УЗИ), инфекции мочевыводящих путей (с полученной из мочи культурой с наличием роста), септический шок (с полученной из крови культурой с наличием роста) или перитонзиллярный абсцесс (подтвержденных на основе хирургического исследования или компьютерной томографии). Пациенты, отнесенные к группе с наличием вирусного заболевания, получали единогласный диагноз от членов комиссии и имели положительные результаты тестирования на присутствие вируса.

Кроме того, отнесенные к контролям пациенты получали единогласный диагноз от

всех трех членов комиссии.

Образцы, процедуры и измерения уровней белков. Образцы венозной крови хранили при 4°C в течение периода времени до 5 часов на месте проведения анализа и далее разделяли на плазму, сыворотку и общие лейкоциты и хранили при -80°C. Назальные мазки и образцы стула хранили при 4°C в течение периода времени до 72 часов и далее транспортировали в сертифицированную сервисную лабораторию для анализа на основе множественной ПЦР. В рамках фазы скрининга уровни белков организма измеряли в сыворотке и лейкоцитах с применением иммуносорбентного анализа с ферментной меткой (ELISA), технологии Luminex, белковых чипов и проточной цитометрии (на свежевыделенных лейкоцитах). После скрининга и разработки сигнатуры (см. раздел Протеомная сигнатура организма) были отобраны измерены три белка следующим образом: CRP измеряли с применением Cobas 6000, Cobas Integra 400, Cobas Integra 800 или Modular Analytics P800 (Roche). TRAIL и IP-10 измеряли с применением коммерческих наборов для ELISA (MeMed Diagnostics).

Статистический анализ: Первичный анализ был основан на площади под характеристической кривой (AUC), Чувствительности (TP/P), Специфичности (TN/N), Положительном критерии отношения правдоподобия ( $LR+ = \text{Чувствительность} / (1 - \text{Специфичность})$ ), Отрицательном критерии отношения правдоподобия ( $LR- = [1 - \text{Чувствительность}] / \text{Специфичность}$ ) и Соотношении диагностических коэффициентов ( $DOR = LR+ / LR-$ ), где P, N, TP и TN соответствуют положительным результатам (пациентам с бактериальным заболеванием), отрицательным результатам (пациентам с вирусным заболеванием), истинно положительным результатам (пациентам с правильно диагностированным бактериальным заболеванием) и истинно отрицательным результатам (пациентам с правильно диагностированным вирусным заболеванием), соответственно. Статистический анализ проводили с применением MATLAB. Вычисления размеров образцов представлены в Примере 2 ниже.

Скрининг протеома организма: Общий обзор процесса разработки, тренировки и тестирования мультивариативной логистической модели изображен на Фиг. 1В. Кратко, проводили системный описанный в литературе скрининг и биоинформатический анализ, позволивший идентифицировать 600 белков-кандидатов, которые с большой вероятностью дифференциально экспрессировались в образцах периферической крови пациентов с бактериальным заболеванием в отличие от пациентов с вирусным заболеванием, некоторые из которых играли известную роль в иммунной реакции организма на инфекцию, а другие не имели прямой связи с иммунной системой. Далее уровень каждого белка-кандидата измеряли у 20-30 пациентов из тренировочного набора (50% пациентов с вирусным заболеванием и 50% пациентов с бактериальным заболеванием) и применяли Р-значение  $< 0,01$  в рамках критерия Уилкоксона (WS) для скрининга белков со статистически значимыми дифференциальными измерениями. Это привело к получению набор из 86 белков (значение ожидаемой доли ложных отклонений [FDR] 0,07). Уровень каждого из данных белков затем анализировали у 100 дополнительных пациентов (50% пациентов с вирусным заболеванием и 50% пациентов с бактериальным заболеванием) и также подвергали скринингу с пороговым значением отсечения в рамках t-критерия  $P < 10^{-4}$ , что позволило определить 14 белков, которые значительно различались в плане экспрессии у пациентов с вирусным заболеванием по сравнению с пациентами с бактериальным заболеванием ( $FDR < 0,001$ ).

Разработка и проверка сигнатуры: Применяли процесс отбора признаков для идентификации оптимальной комбинации белков. Применяли две схемы отбора признаков: схему на основе минимума-максимума взаимной информации<sup>39</sup> и жадной

обертки<sup>40</sup>, в рамках которых применяется серия итераций для добавления или удаления признаков. Процесс останавливали, когда повышение эффективности при использовании тренировочного набора более не являлось статистически значимым ( $P > 0,05$ ). Оба процесса конвергировались до одного конечного набора из трех белков. Для интеграции 5 уровней белков в один балл было проанализировано множество вычислительных моделей. Их эффективность существенно не различалась ( $P > 0,1$ , как далее описано в Примере 2 ниже). Была выбрана модель на основе полиномиальной логистической регрессии (MLR), поскольку она обеспечивает возможность вероятностной 10 интерпретации путем присвоения диагнозу пациента балла вероятности. Сигнатура использует данное свойство для исключения пациентов, чья вероятность наличия бактериальной инфекции является промежуточной: между 0,35 и 0,55. Для описания данных пациентов здесь используется термин "промежуточная иммунная реакция", поскольку их профиль располагается между реакциями организма на бактериальную 15 инфекцию и вирусную инфекцию. Пациенты из Мажоритарной когорты были разделены на тренировочные и тестируемые набор, каждый из которых включал 50% пациентов (Фиг. 1В). Тренировочный набор включал 120 пациентов, которые принимали участие в процессе скрининга, и дополнительных пациентов, которые были включены произвольным образом. Тестируемый набор включает остальных пациентов и применялся для независимого анализа эффективности сигнатуры. Важно, что ни один 20 из пациентов из тестируемого набора не применялся для тренировки алгоритмов или для отбора белков. Перекрестную проверку с исключением 10% применяли для оценки эффективности модели. Более подробная информация о структуре модели приведена в Примере 2 ниже.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

25 Характеристики пациентов: Три лечащих врача независимо относили каждого пациента к определенной категории (имеющих бактериальное заболевание, вирусное заболевание, контролю, или к неопределенной категории). Категории применяли для создания трех групп с повышенным уровнем диагностической точности: Мажоритарной 30 группы ( $n=765$ ), Единогласной группы ( $n=639$ ) и Группы с точным диагнозом ( $n=312$ ) (Фиг. 1А). Кроме того, 98 пациентов относили к неопределенной категории, поскольку лечащие врачи не могли определить этиологию заболевания или отнести их к Мажоритарной группе. Подробная характеристика Мажоритарной группы приведена в Таблице 1. Кратко, группу балансировали на основе возраста (47% женщин, 53% 35 мужчин) и включали 56% пациентов детского возраста ( $\leq 18$  лет) и 44% взрослых (возрастом  $> 18$  лет). У пациентов наблюдался широкий ряд клинических симптомов (например, RTI, UTI и системные инфекции), значений максимальной температуры (36-41,5°C), значений продолжительности периодов времени с начала появления симптомов (0-12 дней), сопутствующих заболеваний и принимаемых лекарственных средств (Таблица 1 и Фиг. 6А-12В). Всего были определены 56 видов патогенов, которые 40 отвечают за большинство случаев острых инфекционных заболеваний в Западном мире (Фиг. 7А-В).



Таблица 1

| Критерии                                          | Всего<br>n=765 | Дети<br>(<18 лет)<br>n=432 | Взрослые<br>(>18 лет)<br>n=333 |
|---------------------------------------------------|----------------|----------------------------|--------------------------------|
| <b>Возраст (лет)</b>                              |                |                            |                                |
| <3                                                | 211 (28)       |                            |                                |
| 3-6                                               | 93 (12)        |                            |                                |
| 6-9                                               | 46 (6)         |                            |                                |
| 9-18                                              | 82 (11)        |                            |                                |
| 18-30                                             | 55 (7)         |                            |                                |
| 30-60                                             | 161 (21)       |                            |                                |
| >60                                               | 117 (15)       |                            |                                |
| <b>Пол</b>                                        |                |                            |                                |
| Женщины                                           | 363 (47)       | 205 (47)                   | 158 (47)                       |
| <b>Максимальная температура (°C)</b>              |                |                            |                                |
| <37,5                                             | 106 (14)       | 28 (6)                     | 78 (23)                        |
| 37,5-38,4                                         | 154 (20)       | 68 (16)                    | 86 (26)                        |
| 38,5-39,4                                         | 294 (38)       | 164 (38)                   | 130 (39)                       |
| 39,5-40,4                                         | 196 (26)       | 157 (36)                   | 39 (12)                        |
| >40,5                                             | 15 (2)         | 15 (3)                     | 0 (0)                          |
| <b>Время с начала появления симптомов (дней)</b>  |                |                            |                                |
| 0-1                                               | 175 (24)       | 118 (27)                   | 57 (17)                        |
| 2-3                                               | 265 (36)       | 161 (37)                   | 104 (31)                       |
| 4-5                                               | 161 (22)       | 89 (21)                    | 72 (22)                        |
| 6-7                                               | 109 (15)       | 52 (12)                    | 57 (17)                        |
| 8-9                                               | 10 (1)         | 2 (0,5)                    | 8 (2)                          |
| 10-12                                             | 14 (2)         | 2 (0,5)                    | 12 (4)                         |
| N/A                                               | 31 (4)         | 8 (2)                      | 23 (7)                         |
| <b>Клинический синдром</b>                        |                |                            |                                |
| Панникулит                                        | 28 (4)         | 7 (2)                      | 21 (6)                         |
| CNS                                               | 14 (2)         | 9 (2)                      | 5 (2)                          |
| GI                                                | 89 (11,5)      | 66 (15)                    | 23 (7)                         |
| LRTI                                              | 158 (21)       | 84 (19)                    | 74 (22)                        |
| Неинфекционный                                    | 112 (14,5)     | 29 (7)                     | 83 (25)                        |
| Другой                                            | 12 (1,5)       | 4 (1)                      | 8 (2,5)                        |
| Системный                                         | 150 (19,5)     | 110 (26)                   | 40 (12)                        |
| URTI                                              | 145 (19)       | 104 (24)                   | 41 (12)                        |
| UTI                                               | 57 (7)         | 19 (4)                     | 38 (11)                        |
| <b>Место набора</b>                               |                |                            |                                |
| Детское отделение и отделение внутренней медицины | 293 (38)       | 137 (32)                   | 156 (47)                       |
| PED и ED                                          | 472 (62)       | 295 (68)                   | 177 (53)                       |
| <b>Продолжительность госпитализации (дней)</b>    |                |                            |                                |
| Без госпитализации                                | 272 (36)       | 174 (40)                   | 98 (29)                        |
| 1-2                                               | 206 (28)       | 126 (29)                   | 80 (24)                        |
| 3-4                                               | 170 (22)       | 94 (22)                    | 76 (23)                        |
| 5-6                                               | 53 (7)         | 24 (6)                     | 29 (9)                         |
| 7-8                                               | 31 (4)         | 7 (1,5)                    | 24 (7)                         |
| >8                                                | 33 (4)         | 7 (1,5)                    | 26 (8)                         |
| <b>Время года</b>                                 |                |                            |                                |
| Осень                                             | 181 (24)       | 111 (26)                   | 70 (21)                        |
| Весна                                             | 208 (27)       | 124 (29)                   | 84 (25)                        |
| Лето                                              | 170 (22)       | 98 (23)                    | 72 (22)                        |
| Зима                                              | 206 (27)       | 99 (23)                    | 107 (32)                       |
| <b>Курение</b>                                    |                |                            |                                |
| Да                                                | 74 (10)        | 0 (0)                      | 74 (22)                        |
| Нет                                               | 691 (90)       | 432 (100)                  | 259 (78)                       |
| <b>Назначен антибиотик</b>                        |                |                            |                                |
| Да                                                | 432 (56)       | 207 (48)                   | 225 (68)                       |
| Нет                                               | 333 (44)       | 225 (52)                   | 108 (32)                       |

| Критерии                             | Всего<br>n=765 | Дети<br>( $<18$ лет)<br>n=432 | Взрослые<br>( $>18$ лет)<br>n=333 |
|--------------------------------------|----------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| <b>Обнаруженные микроорганизмы</b>   |                |                               |                                   |
| <b>Вирусы</b>                        |                |                               |                                   |
| Не обнаружены                        | 219 (29)       | 79 (18)                       | 140 (42)                          |
| Аденовирус A/B/C/D/E                 | 50 (7)         | 47 (11)                       | 3 (1)                             |
| Бокавирус 1/2/3/4                    | 9 (1)          | 9 (2)                         | 0 (0)                             |
| CMV и EBV                            | 25 (3)         | 23 (5)                        | 2 (0,6)                           |
| Коронавирус 229E/NL63/OC43           | 19 (2)         | 14 (3)                        | 5 (2)                             |
| Кишечные вирусы                      | 19 (2)         | 16 (4)                        | 3 (1)                             |
| Энтеровирус                          | 21 (3)         | 20 (5)                        | 1 (0,3)                           |
| Вирус гриппа А                       | 45 (6)         | 24 (6)                        | 21 (6)                            |
| Вирус гриппа В                       | 19 (2)         | 14 (3)                        | 5 (2)                             |
| Метапневмовирус                      | 17 (2)         | 13 (3)                        | 4 (1)                             |
| Вирус парагриппа 1/2/3/4             | 48 (6)         | 41 (9)                        | 7 (2)                             |
| Респираторно-синцитиальный вирус A/B | 40 (5)         | 38 (9)                        | 2 (0,6)                           |
| Риновирус A/B/C                      | 87 (11)        | 73 (17)                       | 14 (4)                            |
| <b>Бактерии</b>                      |                |                               |                                   |
| Атипичные бактерии                   | 27 (4)         | 7 (2)                         | 20 (6)                            |
| E.coli                               | 44 (6)         | 17 (4)                        | 27 (8)                            |
| Enterococcus faecalis                | 10 (1)         | 0 (0)                         | 10 (3)                            |
| Стрептококки группы А                | 19 (2)         | 16 (4)                        | 3 (1)                             |
| Haemophilus influenzae               | 179 (23)       | 148 (34)                      | 31 (9)                            |
| Streptococcus pneumoniae             | 306 (40)       | 207 (48)                      | 99 (30)                           |

Таблица 1 - Базисные характеристики пациентов из Мажоритарной группы. Значения представляют собой числа (доли). Представлены только микроорганизмы, детектированные более чем у 5 пациентов. CNS - центральная нервная система, GI - гастроэнтерит, LRTI - инфекция нижних дыхательных путей, UTRI - инфекция верхних дыхательных путей, UTI - инфекция мочевыводящих путей, N/A - здоровые контроли или пациенты, для которых не были получены данные. Подгруппа вируса гриппа А включала штаммы H1N1. Подгруппа атипичных бактерий включала *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumonia* и *Legionella pneumophila*. Подгруппа кишечных вирусов включала ротавирус, астровирус, кишечный аденовирус и норовирус G I/II. При анализе клинического синдрома LRTI группа включала пневмонию, бронхиолит, острый бронхиолит и ларингит; группа URTI включала фарингит, острый средний отит, острый синусит и острый тонзиллит.

Эффективность сигнатуры у Группы с точным диагнозом, Единогласной группы и Мажоритарной группы: Из 600 подвергнутых скринингу белков организма и их комбинаций наилучшая сигнатура для различения пациентов с бактериальным заболеванием, вирусным заболеванием и контрольных пациентов в тренировочном наборе Мажоритарной группы включала три растворимых белка: TNF-родственный индуцирующий апоптоз лиганд (TRAIL), интерферон-гамма-индуцируемый белок 10 (IP-10) и С-реактивный белок (CRP) (Фиг. 2А-С). AUC сигнатуры для различения бактериальных и вирусных инфекций в рамках тестируемого набора Мажоритарной группы составлял  $0,94 \pm 0,04$ . Аналогичные результаты были получены с применением перекрестной проверки с исключением 10% всей Мажоритарной группы ( $AUC = 0,94 \pm 0,02$ ). Сигнатура значительно превосходила все отдельные белки, проанализированные на этапе скрининга ( $P < 10^{-6}$ ). Процедуры тренировки и тестирования повторяли в отношении Единогласной группы и Группы с точным диагнозом с получением AUC в размере  $0,96 \pm 0,02$  и  $0,99 \pm 0,01$ , соответственно. Поэтапное повышение эффективности соответствует повышенной достоверности контрольного стандарта в рамках трех групп (Таблица 2, ниже).

**Таблица 2- Измерения точности сигнатуры при диагностике бактериальных и вирусных инфекций**

| В. Фильтрация по промежуточной иммунной реакции |                     |                           | А. Все пациенты     |                     |                           | Измерение точности |
|-------------------------------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------------|--------------------|
| Мажоритарная группа                             | Единогласная группа | Группа с точным диагнозом | Мажоритарная группа | Единогласная группа | Группа с точным диагнозом |                    |
| 0,94<br>(0,92;0,96)                             | 0,97<br>(0,95;0,99) | 0,99<br>(0,98;1,00)       | 0,94<br>(0,92;0,96) | 0,96<br>(0,94;0,98) | 0,99<br>(0,98;1,00)       | AUC                |
| 0,91<br>(0,88;0,94)                             | 0,93<br>(0,9;0,96)  | 0,96<br>(0,93;0,99)       | 0,88<br>(0,85;0,90) | 0,90<br>(0,87;0,92) | 0,94<br>(0,91;0,97)       | Общая точность     |
| 0,92<br>(0,88;0,96)                             | 0,94<br>(0,9;0,98)  | 0,96<br>(0,88;1,00)       | 0,87<br>(0,83;0,91) | 0,88<br>(0,84;0,91) | 0,96<br>(0,88;1,00)       | Чувствительность   |
| 0,89<br>(0,86;0,89)                             | 0,93<br>(0,9;0,96)  | 0,97<br>(0,89;0,97)       | 0,90<br>(0,86;0,93) | 0,92<br>(0,89;0,96) | 0,93<br>(0,89;0,97)       | Чувствительность   |
| 8,4<br>(6;12)                                   | 13,4<br>(8;21)      | 32,0<br>(13;78)           | 8,7<br>(6;12)       | 11,0<br>(7;16)      | 13,7<br>(8;24)            | LR+                |
| 0,09<br>(0,06;0,13)                             | 0,07<br>(0,04;0,11) | 0,04<br>(0,01;0,26)       | 0,14<br>(0,11;0,19) | 0,13<br>(0,09;0,18) | 0,04<br>(0,01;0,27)       | LR-                |
| 93<br>(53,164)                                  | 208<br>(99,436)     | 776<br>(92,6528)          | 60<br>(37,98)       | 84<br>(47,150)      | 319<br>(43,2383)          | DOR                |

А. Значения эффективности и их 95% доверительные интервалы получали с применением перекрестной проверки с исключением 10% у всех пациентов из Группы с точным диагнозом ( $n_{\text{Бакт.}}=27$ ,  $n_{\text{Вирусн.}}=173$ ), единогласной группы ( $n_{\text{Бакт.}}=256$ ,  $n_{\text{Вирусн.}}=271$ ) и Мажоритарной группы ( $n_{\text{Бакт.}}=319$ ,  $n_{\text{Вирусн.}}=334$ ). В. Анализ повторяли после исключения пациентов с промежуточной иммунной реакцией (Группа с точным диагнозом [ $n_{\text{Бакт.}}=27$ ,  $n_{\text{Вирусн.}}=159$ ,  $n_{\text{Промеж.}}=14$ ], Единогласная группа [ $n_{\text{Бакт.}}=233$ ,  $n_{\text{Вирусн.}}=232$ ,  $n_{\text{Промеж.}}=62$ ] и Мажоритарная группа [ $n_{\text{Бакт.}}=290$ ,  $n_{\text{Вирусн.}}=277$ ,  $n_{\text{Промеж.}}=88$ ]), что соответствует вероятному способу применения сигнатуры лечащими врачами.

Далее, авторы настоящего изобретения применяли сигнатуру для различения пациентов с инфекционным (бактериальным или вирусным) заболеванием и неинфекционных контролей в рамках тестируемого набора Мажоритарной группы, что приводило к получению AUC в размере  $0,96 \pm 0,02$ . Дальнейшая оценка с применением перекрестной проверки с исключением 10% давала аналогичные результаты ( $AUC = 0,96 \pm 0,01$ ). Сигнатура превосходила любой из отдельных белков ( $P < 10^{-8}$ ). Оценка на Единогласной группе и Группе с точным диагнозом опять же показывала повышенные значения AUC в размере  $0,97 \pm 0,02$  и  $0,97 \pm 0,03$ , соответственно. Для получения консервативных оценок эффективности сигнатуры описанный ниже анализ был выполнен в отношении Мажоритарной группы.

Сравнение с лабораторными показателями, клиническими параметрами и хорошо известными биомаркерами: Сигнатуру сравнивали с хорошо известными клиническими параметрами и лабораторными показателями, включая количество белых кровяных клеток (WBC), абсолютное количество нейтрофилов (ANC), долю нейтрофилов, максимальную температуру, пульс и интенсивность дыхания (Фиг. 3А и Пример 2).

Сигнатура превосходила все отдельные параметры ( $P < 10^{-18}$ ). Далее сигнатуру сравнивали с комбинацией нескольких клинических параметров. С этой целью получали полиномиальные логистические модели для всех комбинаций вплоть до четырех клинических параметров. Наиболее эффективная пара, триплет и квадруплет, изображены на Фиг. 3А (добавление пятого параметра не повышало эффективность). Сигнатура являлась значительно более эффективной, чем наиболее эффективная

комбинация клинических параметров ( $P < 10^{-15}$ ), которая состояла из АВС, пульса, % лимфоцитов и % моноцитов ( $AUC = 0,94 \pm 0,02$  против  $0,77 \pm 0,04$ ). Далее эффективность сигнатуры сравнивали с PCT и CRP, двумя белками, которые обычно применяются в клинической практике для диагностики сепсиса и бактериальных инфекций (Пример 2). Сигнатура была значительно более эффективной, чем оба белка ( $P < 10^{-8}$  и  $P < 10^{-6}$ , соответственно). Сигнатура также была более эффективной, чем широкий диапазон белков организма с известной ролью в плане иммунной реакции на инфекцию, включая сепсис, и связанных с бактериями (например, TREM, IL-6 и IL-8), связанных с вирусами (например, IFN- $\gamma$  и IL-2), и связанных с воспалением (например, IL-1a и TNF- $\alpha$ ) белков ( $P < 10^{-8}$ ) (Фиг. 3В и Пример 2 ниже).

Эффективность сигнатуры является устойчивой в рамках различных подгрупп пациентов: Гетерогенность пациентов и патогенов, которая является неотъемлемой частью реальных клинических условий, может отрицательно влиять на диагностическую применимость любого отдельного биомаркера организма. Для анализа способности сигнатуры, представляющей собой комбинацию множества биомаркеров, поддерживать стабильную эффективность несмотря на различные условия у различных пациентов были проведены анализы с использованием подгрупп. Сигнатура являлась устойчивой ( $AUC$  от 0,87 до 1,0) в рамках широкого диапазона характеристик пациентов, включая возраст, клинический синдром, время с момента проявления симптомов, максимальную температуру, вид патогенов, сопутствующие заболевания, лечение лекарственными средствами для хронических заболеваний, и место применения (Фиг. 4 и Пример 2, ниже). Сигнатуру также тестировали на подгруппе пациентов, которых технически были исключены, но имели были отнесены к Единогласной группе комиссией экспертов, что соответствовало значению  $AUC 0,96 \pm 0,06$  ( $n_{\text{Бакт.}} = 27$ ,  $n_{\text{Вирусн.}} = 14$ ). Это может свидетельствовать о том, что сигнатура может применяться более широко в рамках условий, который были первоначально исключены (например, у пациентов с субфебрильной температурой).

Эффективность сигнатуры остается неизменной при наличии потенциальных бактерий-колонизаторов: Многие вызывающие заболевания бактерии также представляют собой часть естественной флоры и часто обнаруживаются у субъектов без симптомов<sup>12,42-44</sup>. Подобные бактерии вызывают значительные трудности при диагностике, поскольку их обнаружение необязательно связано с их ролью в плане возникновения заболевания; таким образом, подходящее лечение может оставаться неясным. Авторы настоящего изобретения попытались определить влияние их наличия на эффективность сигнатуры.

*Streptococcus pneumoniae* (SP) и *Haemophilus influenzae* (HI), детектируемые с помощью ПЦР в назальных мазках, представляли собой две наиболее часто встречающиеся бактерии в рамках Мажоритарной группы (Таблица 1, выше). Высокие количества SP и HI были обнаружены как у пациентов с бактериальным заболеванием, так и у пациентов с вирусным заболеванием (SP: 36% и 47%; HI: 20% и 32%), являясь основанием для понимания того, что само их наличие необязательно вызывает заболевание.<sup>12</sup> Пациенты были подвергнуты стратификации на основании того, имели ли они SP (SP+:  $n_{\text{Бакт.}} = 116$ ,  $n_{\text{Вирусн.}} = 157$ ; SP-:  $n_{\text{Бакт.}} = 203$ ,  $n_{\text{Вирусн.}} = 177$ ), при этом сравнивали эффективность  $AUC$  обеих групп. Значительное различие не наблюдалось ( $0,93 \pm 0,03$  против  $0,94 \pm 0,02$ ,  $P = 0,31$ ). Наличие или отсутствие HI также не влияло на эффективность сигнатуры ( $0,94 \pm 0,04$  против  $0,93 \pm 0,02$ ; HI+:  $n_{\text{Бакт.}} = 63$ ,  $n_{\text{Вирусн.}} = 106$ ; HI-:  $n_{\text{Бакт.}} = 256$ ,

$n_{\text{Вирусн.}}=228$ ,  $P=0,34$ ). Это свидетельствует о том, что наличие SP и HI не влияет на эффективность сигнатуры.

#### Обсуждение

Была разработана стратегия на основе строгого композитного контрольного стандарта, которая включала сбор клинических данных, группу химических анализов и широкий ряд микробиологических тестов с последующим отнесением к определенной группе тремя независимыми лечащими врачами. Данный процесс позволял получать иерархию из трех подгрупп с уменьшающимся размером и повышающейся достоверностью контрольного стандарта: Мажоритарной подгруппы, Единогласной подгруппы и Подгруппы с точным диагнозом. Соответствующие AUC сигнатуры составляли  $0,94 \pm 0,02$ ,  $0,96 \pm 0,02$  и  $0,99 \pm 0,01$ . Данное поэтапное повышение эффективности может быть отнесено к повышению достоверности контрольного стандарта. Однако повышенная точность, в частности в рамках Группы с точным диагнозом, также может быть частично вызвана смещением отбора пациентов с тяжелым заболеванием или очевидным диагнозом. Таким образом, представленный здесь первичный анализ был сосредоточен на Мажоритарной группе, которая включает более широкий спектр степени тяжести заболевания и сложные в плане диагностики случаи. Данная группа потенциально включает некоторые ошибочные решения о включении в данную группу, что приводит к консервативным оценкам точности сигнатуры.

Сигнатура отвечает на несколько вызовов, присущих современным микробиологическим тестам, (i) Сложность диагностики инфекции в недоступных или неизвестных участках. Сигнатура обеспечивает точную диагностику подобных случаев, включая инфекции нижних дыхательных путей ( $AUC\ 0,95 \pm 0,03$ ,  $n=153$ ) и высокую температуру без явного источника ( $AUC=0,97 \pm 0,03$ ,  $n=123$ ). (ii) Продолжительное время, необходимое для получения результатов (от часов до дней). В рамках сигнатуры осуществляется измерение уровней растворимых белков, которые легко поддаются проведению быстрого измерения (в течение нескольких минут) при использовании больничных автоматизированных устройств для проведения иммуноанализа и стационарных устройств, (iii) Смешанные инфекции могут приводить к неточной диагностике, поскольку детектирование вируса не исключает наличия сопутствующей бактериальной инфекции.<sup>14,15</sup> Сигнатура решает эту проблему благодаря отнесению смешанных инфекций к одной категории наряду с исключительно бактериальными инфекциями, что позволяет лечащим врачам работать с обеими группами аналогичным образом в плане лечения антибиотиками. Тот факт, что смешанные сопутствующие инфекции вызывали протеомную реакцию организма, которая является аналогичной реакции на исключительно бактериальную инфекцию, но не смесь различных реакций, может свидетельствовать о доминировании бактериальных инфекций над вирусными в плане биологического маршрута, (iv) Значительный недостаток микробиологических тестов, в частности ПЦР, заключается в детектировании потенциальных бактерий-колонизаторов у субъектов с небактериальными заболеваниями.<sup>12,13</sup> Эффективность сигнатуры не изменялась в зависимости от наличия или отсутствия потенциальных бактерий-колонизаторов.

Белки организма, такие как PCT, CRP и IL-6, традиционно применяют для содействия при диагностировании бактериальных инфекций, поскольку они предоставляют дополнительную информацию по клиническим симптомам, количеству в крови и микробиологическим показателям.<sup>11</sup> Тем не менее, вариабельность в рамках одного пациента и в плане различных патогенов ограничивает их применимость.<sup>21-27</sup>

Комбинации белков организма обладают потенциалом в плане преодоления данного ограничения, однако на сегодняшний день по сравнению с отдельными белками они обеспечили улучшение диагностики в степени от незначительного до умеренного.<sup>11,35-</sup>

<sup>37</sup> Данное умеренное улучшение может обеспечиваться комбинацией индуцируемых бактериями белков, которые являются чувствительными по отношению к тем же факторам и, таким образом, являются менее способными компенсировать эффект друг друга. Соответственно, крупное улучшение наблюдалось при применении комбинаций, которые включали уровни белков в организме, клинические параметры и другие тесты.<sup>11,35-37</sup> Однако получение данных множественных параметров в реальном времени зачастую неосуществимо.

Для решения данной проблемы была идентифицирована комбинация белков с комплементарным действием. В частности, было обнаружено, что TRAIL индуцировался в ответ на вирусы и подавлялся бактериями, IP-10 имел более высокий уровень при вирусных инфекциях по сравнению с бактериальными инфекциями, а уровень CRP был выше при бактериальных инфекциях по сравнению с вирусными инфекциями. В то время как применение повышенного уровня CRP в качестве индикатора наличия бактериальных инфекций является хорошо известным<sup>31,45</sup>, включение новых индуцируемых вирусами белков для дополнения традиционно применяемых индуцируемых бактериями белков по существу обеспечивало стабильность сигнатуры в рамках широкого диапазона подгрупп, включая, помимо прочего, время с момента появления симптомов, вид патогенов и сопутствующие заболевания. Например, аденовирусы, представляющие собой важную подгруппу вирусов, которые вызывают 5%-15% острых инфекций у детей, являются особенно сложными в плане диагностики, поскольку они вызывают клинические симптомы, которые имитируют бактериальную инфекцию.<sup>46</sup> Стандартные лабораторные параметры обеспечивают плохую эффективность в рамках данной подгруппы по сравнению с сигнатурой (AUCs=0,60±0,10 [WBC], 0,58±0,10 [ANC], 0,88±0,05 [сигнатура]; n=223).

Несмотря на прогресс в области диагностики инфекционных заболеваний, своевременная идентификация бактериальных инфекций остается затрудненной, что приводит к излишнему применению антибиотиков и сопутствующим широкомасштабным последствиям в плане здравоохранения и экономики. Для удовлетворения потребности в улучшенном виде лечения авторы настоящего изобретения разработали и проверили сигнатуру, в рамках которой скомбинированы новые и традиционные белки организма для различения бактериальных и вирусных инфекций. Настоящее открытие, сделанное в рамках крупного объема выборки пациентов, является многообещающим, что свидетельствует о том, что данная сигнатура обладает потенциалом в плане помощи лечащим врачам при лечении пациентов с острым инфекционным заболеванием и снижения частоты излишнего применения антибиотиков.

## ПРИМЕР 2

Протеомная сигнатура организма для различения бактериальной и вирусной инфекции: Проспективное многоцентровое наблюдательное исследование - дополнительный материал

Меры точности: Сигнатура включает уровни трех белковых биомаркеров, измеренные у субъекта, и включает вычисление числового балла, который отражает вероятность наличия бактериальной инфекции по сравнению с вирусной инфекцией. Для количественного анализа диагностической точности сигнатуры применяли пороговое

значение балла и проводили следующие измерения: чувствительность, специфичность, положительная прогностическая ценность (PPV), отрицательная прогностическая ценность (NPV), общая точность, положительный критерий отношения правдоподобия (LR+), отрицательный критерий отношения правдоподобия (LR-) и соотношение 5 диагностических коэффициентов (DOR). Данные измерения осуществляются следующим образом:

$$\text{Чувствительность} = \frac{TP}{TP + FN}$$

$$\text{Специфичность} = \frac{TN}{TN + FP}$$

$$\text{Общая точность} = \frac{TP + TN}{TP + FN + TN + FP}$$

$$PPV = \frac{TP}{TP + FP}$$

$$= \frac{\text{чувствительность} \cdot \text{распространенность}}{\text{чувствительность} \cdot \text{распространенность} + (1 - \text{специфичность}) \cdot (1 - \text{распространенность})}$$

$$NPV = \frac{TN}{TN + FN}$$

$$= \frac{\text{специфичность} \cdot (1 - \text{распространенность})}{\text{специфичность} \cdot (1 - \text{распространенность}) + (1 - \text{чувствительность}) \cdot (\text{распространенность})}$$

$$LR+ = \frac{\text{Чувствительность}}{1 - \text{Специфичность}}$$

$$LR- = \frac{1 - \text{Чувствительность}}{\text{Специфичность}}$$

$$DOR = \frac{LR+}{LR-}$$

P, N, TP, FP, TN, FN представляют собой положительные результаты, отрицательные результаты, истинно положительные результаты, ложноположительные результаты, истинно отрицательные результаты и ложноотрицательные результаты, соответственно. 35 Распространенность представляет собой относительную частотность положительного класса (то есть распространенность = P/(P+N)). Если не указано иное, положительные результаты и отрицательные результаты соответствуют пациентам с бактериальными и вирусными инфекциями, соответственно.

Площадь под характеристической кривой (AUC) также применяли для осуществления 40 не зависящих от порогового значения сравнений различных диагностических способов. Подробное описание формулирования и вычисления доверительного интервала (CI) AUC см. в Hanley and McNeil.<sup>1</sup> В рамках данного описания указаны 95% CI измерений точности.

Объем выборки: Первичная задача исследования заключалась в определении 45 эффективности сигнатуры в плане классификации пациентов с заболеванием вирусной и бактериальной этиологии. Было определено, что объем выборки, требуемый для того, чтобы отвергнуть нулевую гипотезу о том, что чувствительность и специфичность в рамках всей группы, то есть P, являются ниже P0=75% при уровне значимости 1%,

составлял 90% для 15% разности ( $P1-P0 \geq 15\%$ ), то есть 394 пациентов (197 пациентов с вирусным заболеванием и 197 пациентов с бактериальным заболеванием). Кроме того, было предварительно определено, что примерно 15% пациентов будут иметь

неопределяемый источник инфекции, при этом 10% будут исключены по техническим причинам и 10% будут являться здоровыми или неинфекционными контролями.

Исследование требовало включения всего, по меньшей мере, 607 пациентов. Данное требование было выполнено, поскольку в исследовании приняли участие 1002 пациента.

Построение вычислительной модели логистической модели: Для включения уровней белков в одиночный прогностический балл было проанализировано множество вычислительных моделей, включая Искусственные нейронные сети (ANN), Методы опорных векторов (SVM), Байесовские сети (BN), Анализ на основе k-ближайших соседей (KNN) и Полиномиальную логистическую регрессию (MLR).<sup>2-3</sup> Значения AUC для различения между бактериальной и вирусной инфекцией, полученные в рамках Мажоритарной группы с применением перекрестной проверки с исключением 10%, составляли  $0,93 \pm 0,02$  (ANN),  $0,93 \pm 0,02$  (SVM [линейный]),  $0,94 \pm 0,02$  [SVM (радиальная базисная функция)],  $0,92 \pm 0,02$  (BN),  $0,91 \pm 0,02$  (KNN) и  $0,94 \pm 0,02$  (MLR). Значительная разница в эффективности ANN, SVM и MLR моделей ( $P > 0,1$  при сравнении их AUC) не наблюдалась. Авторы настоящего изобретения выбрали MLR, поскольку она обеспечивает возможность вероятностной интерпретации путем присвоения диагнозу пациента балла вероятности.

Авторы настоящего изобретения выполнили тренировку и тестирование MLR сигнатуры для различения заболеваний бактериальной и небактериальной этиологии. Поскольку распространенность лежащих в основе этиологии варьируется в рамках различных клинических условий, более ранние полученные с помощью моделей результаты корректировали для соответствия равной базисной распространенности (50% - бактериальные заболевания и 50% - небактериальные заболевания). В рамках группы без бактериального заболевания более ранние результаты были скорректированы до 45% вирусных заболеваний и 5% неинфекционных заболеваний для соответствия предполагаемому более высокой распространенности пациентов с вирусными заболеваниями против пациентов с неинфекционными заболеваниями среди субъектов с подозрением на наличие острой инфекции. Весовые коэффициенты MLR и их соответствующие 95% доверительные интервалы, а также р-значения, связанные с каждым коэффициентом, приведены в Таблицах 3-4 ниже. При сравнительном анализе бактериальных инфекций и вирусных инфекций вероятности корректировали для соответствия общей суммы 1 ( $P_{b\_коррект.} = [P_b + P_v]$  и  $P_{b\_коррект.} = [P_b + P_v]$ , где  $P_b$  и  $P_v$  соответствуют вероятности бактериальных и вирусных инфекций, соответственно).

**Таблица 3. Коэффициенты MLR и их соответствующая стандартная ошибка**

| Вторая координата<br>$\delta_1$ (бакт.) | Первая координата<br>$\delta_0$ (вируси.) |            |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------|------------|
| $b_0 = -0,378 \pm 0,732$                | $a_0 = -1,299 \pm 0,651$                  | Константн. |
| $b_1 = -0,020 \pm 0,0084$               | $a_1 = 0,0088 \pm 0,0064$                 | TRAIL      |
| $b_2 = 0,0875 \pm 0,015$                | $a_2 = 0,0605 \pm 0,0145$                 | CRP        |
| $b_3 = 0,0050 \pm 0,0014$               | $a_3 = 0,0053 \pm 0,0014$                 | IP-10      |



**Таблица 4. Р-значения, связанные с каждым MLR коэффициентом.**

| Класс (бакт.) | Класс (вирусн.) |            |
|---------------|-----------------|------------|
| <0,001        | <0,001          | Константн. |
| <0,001        | 0,008           | TRAIL      |
| <0,001        | <0,001          | CRP        |
| <0,001        | <0,001          | IP-10      |

Логистические калибровочные кривые: В целях анализа проверки MLR модели вычисленные прогностические значения вероятности сравнивали с реально наблюдаемыми конечными результатами (Фиг. 5). Прогностические вероятности близко соответствовали наблюдаемым, что обеспечивало 5 дополнительную демонстрацию правильности модели.

Общие данные по группам пациентов, применяемым в данном исследовании: Всего было набрано 1002 пациентов и 892 пациентов приняли участие в исследовании (110 были исключены на основании предварительно определенных критериев исключения). На основе описанного в разделе "Способы" Примера 1 процесса определения контрольного стандарта пациентов относили к четырем различным диагностическим группам: (i) бактериальное заболевание; (ii) вирусное заболевание; (iii) отсутствие явного инфекционного заболевания или здоровое состояние (контроли); и (iv) неопределенная категория. Пациентов со смешанными инфекциями (бактериальными плюс вирусными) относили к категории пациентов с бактериальным заболеванием, поскольку они контролируются аналогичным образом (например, подвергаются лечению антибиотиками) (Фиг. 1А). Всего у 89% всех принимавших участие в исследовании пациентов был поставлен диагноз, при этом эта доля соответствует приводимому в литературе пределу.<sup>4-6</sup> В дальнейших разделах приведено подробное описание характеристик пациентов, которое включает всех пациентов с конечным диагнозом (n=794): 765 пациентов из Мажоритарной группы и 29 пациентов, для которых образцы сыворотки были подвергнуты обеднению на этапе скрининга (Фиг. 1А-В).

Распределение по возрасту и полу: В исследовании принимали участие пациенты всех возрастов. Пациенты с не вызывающим сомнение диагнозом (пациенты с диагнозом; n=794) включали больше пациентов детского возраста ( $\leq 18$  лет), чем взрослых ( $> 18$  лет) (445 пациентов [56%] против 349 [44%]). Распределение по возрасту было относительно равномерным для пациентов в возрасте 20-80 лет и достигала пика при значении возраста  $< 4$  лет для пациентов детского возраста (Фиг. 6А-В). Наблюдаемое распределение по возрасту для пациентов детского возраста соответствует ожидаемому и отражает фоновое распределение в рамках условий стационара<sup>7</sup> (например, отделения неотложной помощи [ED], педиатрических отделений и отделений внутренней медицины). В исследовании принимали участие пациенты обоих полов. Группа пациентов являлась сбалансированной в плане распределения по полу (47% женщин, 53% мужчин).

Детектированные патогены: Применяли широкий набор микробиологических инструментов для максимизации степени детектирования патогенов. По меньшей мере, один патоген детектировали у 65% пациентов с острым инфекционным заболеванием (56% всех 794 пациентов с поставленным диагнозом). Всего 36 различных патогенов были детектированы активным образом с применением множественной ПЦР, детектирования антигенов и серологического исследования. Дополнительные 20

патогенов детектировали с применением стандартных культуральных способов или самостоятельно проводимой ПЦР. Были детектированы всего 56 различных патогенов, принадлежащих ко всем основным подгруппам патогенов (Фиг. 7А). Данная степень идентификации патогенов аналогична степени, которая отмечена в ранее

5 опубликованных исследованиях, и включает патогены из всех основных подгрупп патогенов (грамотрицательные бактерии, грамположительные бактерии, атипичные бактерии, РНК вирусы и ДНК вирусы). У 13% пациентов были детектированы патогены из более чем одной указанной выше подгруппы патогенов (Фиг. 7А).

10 Патогенные штаммы, обнаруженные в рамках данного исследования являются ответственными за широкий ряд острых инфекционных заболеваний в Западном мире и включают ключевые патогены, такие как вирус гриппа А/В, респираторно-синцитиальный вирус (RSV), парагрипп, E. Coli, Streptococcus группы А и так далее. Следует отметить, что анализ детектированных патогенов выявил, что ни один из данных патогенов не является доминирующим (Фиг. 7В).

15 Вовлеченные физиологические системы и клинические синдромы: У пациентов с инфекционным заболеванием (все пациенты с диагнозом [n=794], за исключением пациентов с неинфекционными заболеваниями или здоровых субъектов, n=673) присутствовали инфекции в различных физиологических системах (Фиг. 8). Наиболее частой вовлеченной системой являлась респираторная система (46%) и затем системные 20 инфекции (22%). Все инфекции, которые не поражали вышеуказанные системы и не являлись поражающими желудочно-кишечный тракт, мочевыводящую систему, сердечно-сосудистую систему или центральную нервную систему (CNS), относили к категории "Другие" (например, панникулит, абсцесс). Наблюдаемое распределение пораженных физиологических систем отражает естественное распределение и 25 соответствует распределению в крупных группах пациентов, включенных в выборку в течение года.

У пациентов с диагнозом в рамках настоящего исследования (n=794) присутствовал ряд клинических синдромов (Фиг. 9А-В), который отражал ожидаемую клиническую 30 гетерогенность в рамках группы пациентов детского и взрослого возраста, собранной в течение года. Наиболее частым клиническим синдромом являлся LRTI (21%), включая в основном пневмонию, бронхит, бронхиолит, обострение хронической обструктивной болезни легких (COPD) и неспецифическую LRTI. Вторым наиболее частым синдромом являлась системная инфекция (19%), включая в основном случаи высокой температуры без явного источника и скрытой бактериемии. Системные инфекции в основном 35 детектировались у детей в возрасте <3 лет, но также детектировались и у нескольких взрослых пациентов. Системные инфекции представляют собой серьезную клиническую проблему, поскольку соблюдение баланса между риском для пациента и стоимостью тестирования/лечения является сложным. Третьим наиболее частым клиническим синдромом являлась URTI (19%), включая в основном острый тонзиллит, острый 40 фарингит, неспецифическую URTI, острый синусит и острый средний отит. Следующими наиболее частыми синдромами являлись гастроэнтерит (12%), UTI (7%) и панникулит (4%). CNS инфекции (2%) включали септический и асептический менингит. Дополнительные клинические синдромы (1%) относили к категории "Другие", при этом они включали менее распространенные инфекции (например, наружный отит, 45 эпидидимит и так далее).

Наблюдаемый паттерн распределения клинических синдромов соответствует наиболее частым и клинически релевантным симптомам и согласуется с ранее опубликованным крупным исследованием.

Температура тела: Температура тела представляет собой важный параметр при оценке степени тяжести инфекционного заболевания. Распределение максимальных значений температуры тела анализировали у всех пациентов с диагнозом (n=794) на основе наиболее высокого значения температуры тела (при пероральном или ректальном измерении). Распределение максимальных значений температуры тела было относительно равномерным между 38°C и 40°C с пиковым значением 39°C (Фиг. 10). Температура тела <37,5°C была определена у 15% пациентов (подгруппа пациентов с неинфекционными заболеваниями или здоровыми субъектами). Температура тела ≥40,5°C являлась редкой (<3% пациентов). Общие результаты наблюдаемого распределения соответствуют нормальному диапазону температур в клинических условиях.

Время с момента появления симптомов: "Время с момента появления симптомов" было определено как продолжительности (в днях) с момента появления первого видимого симптома (первый видимый симптом мог представлять собой высокую температуру, но также мог представлять собой другой симптом, такой как тошнота или головная боль перед появлением высокой температуры). Распределение "времени с момента появления симптомов" в нашей группе (все пациенты с диагнозом, n=794) достигало пика спустя 2-4 дня после появления симптомов (35% пациентов) со значительными долями пациентов, обратившихся за медицинской помощью либо быстрее, либо позднее (Фиг. 11).

Сопутствующие заболевания и постоянный прием лекарственных средств: Сопутствующие заболевания и постоянный прием лекарственных средств теоретически могут влиять на результаты диагностического теста. Из всех пациентов с диагнозом 62% не имели сопутствующих заболеваний, в то время как 38% имели ≥1 хроническое заболевание. Кроме того, 75% пациентов не подвергались лечению постоянно принимаемыми лекарственными средствами, а 25% подвергались лечению ≥1 постоянно принимаемым лекарственным средством. Наиболее частыми хроническими заболеваниями в рамках нашей группы пациентов являлись гипертензия, гиперлипидемия, заболевания легких (например, COPD, астма и так далее), сахарный диабет (в основном 2 типа) и ишемические заболевания сердца, что соответствует наиболее частым хроническим заболеваниям в Западном мире (Фиг. 12A). Распределение постоянно принимаемых лекарственных средств, применяемых нашей группой пациентов, сильно коррелировало с диапазоном присутствующих хронических заболеваний (например, 29% пациентов с сопутствующими заболеваниями имели гиперлипидемию, при этом понижающие уровень липидов средства являлись наиболее часто применяемыми лекарственными средствами). Другие часто применяемые лекарственные средства включали аспирин, лекарственные средства для контроля уровня глюкозы в крови и бета-блокаторы (Фиг. 12B).

Места набора пациентов: Пациентов детского возраста (≤18 лет) набирали из педиатрических отделений неотложной помощи (PED), педиатрических больничных палат и хирургических отделений, а взрослых (>18 лет) - из отделений неотложной помощи (ED), отделений внутренней медицины и хирургических отделений. Педиатрические ED являлись наиболее частым местом набора (39%), а другие места набора имели сравнимые значения (17-20%), что соответствует относительно сбалансированному процессу набора. Соотношение между пациентами из ED и госпитализированными пациентами составляло ~1:1 для взрослых и ~2:1 для детей (Фиг. 13).

Характеристики исключенных пациентов: Из 1002 пациентов, которые были набраны

для данного исследования, были исключены 110 пациентов (11%) (некоторые пациенты соответствовали более чем одному критерию исключения). Наиболее частой причиной исключения являлась повышенная температура, которая была ниже порогового значения 37,5°C в рамках исследования (n=54), и далее время с момента появления симптомов >12 дней (n=26) и недавно перенесенное (за последние 14 дней) инфекционное заболевание (n=22). Другие причины исключения включали активное злокачественное заболевание (n=14) и ослабленный иммунитет (например, вследствие лечения иммуносупрессорным лекарственным средством; n=2).

Характеристики пациентов с неопределенным заболеванием: Всего 98 пациентов были определены как имеющие неопределенное заболевание на основе неспособности экспертной комиссии надежно определить композитный контрольный стандарт, несмотря на строгий набор лабораторной и клинической информации. Несмотря на невозможность прямого анализа эффективности сигнатуры у данных пациентов при отсутствии контрольного стандарта, является возможным проанализировать их реакцию на основе белков организма в целях оценки их отличия от пациентов с контрольным стандартом. Авторы сравнили распределение TRAIL, IP-10 и CRP у пациентов с острой инфекцией с контрольным стандартом (n=653) с пациентами без контрольного стандарта (n=98). Отмечали количество статистических значимых различий (Р-значение критерия Колмогорова-Смирнова = 0,20, 0,25, 0,46 для TRAIL, IP-10 и CRP, соответственно). Сходство в плане реакции на основе белков организма между пациентами с контрольным стандартом и без контрольного стандарта свидетельствует о том, что настоящий подход может применяться для определения диагноза у пациентов с неопределенным заболеванием в рамках клинических условий.

Эффективность сигнатуры является устойчивой в рамках различных подгрупп пациентов: В Примере 1 авторы настоящего изобретения продемонстрировали, что эффективность сигнатуры оставалась устойчивой в рамках широкого диапазона характеристик пациентов, включая возраст, клинический синдром, время с момента появления симптомов, максимальную температуру, вид патогенов, сопутствующие заболевание и место применения, при этом значения AUC составляли от 0,87 до 1,0 (Фиг. 4). В рамках данного примера приведен обзор эффективности сигнатуры в рамках дополнительных подгрупп пациентов.

Стратификация на основе постоянного приема лекарственных средств: В условиях реальной клинической практики пациенты часто проходят различные курсы лечения с постоянным приемом лекарственных средств, которые потенциально могут влиять на уровень белков, входящих в состав сигнатуры. Таким образом, авторы настоящего изобретения проанализировали влияние наиболее часто применяемых лекарственных средств в рамках группы (по категориям) на эффективность сигнатуры. Ни одна из проанализированных групп лекарственных средств не была связана со значительными измерениями в плане эффективности сигнатуры (Таблица 5).

**Таблица 5. Анализ чувствительности сигнатуры к различным типам курсов лечения на основе постоянно принимаемых лекарственных средств.**

| Пациенты с вирусным заболеванием, n | Пациенты с бактериальным заболеванием, n | Всего пациентов, n | AUC [95% доверительный интервал] |      | Категория лекарственного средства            |
|-------------------------------------|------------------------------------------|--------------------|----------------------------------|------|----------------------------------------------|
| 7                                   | 43                                       | 50                 | [0,90; 1,00]                     | 0,95 | Антигипертензивное                           |
| 6                                   | 48                                       | 54                 | [0,96; 1,00]                     | 0,99 | Антитромбоцитарное                           |
| 7                                   | 35                                       | 42                 | [0,80; 1,00]                     | 0,90 | Противокислотное                             |
| 4                                   | 25                                       | 29                 | [0,93; 1,00]                     | 0,98 | Антидепрессант                               |
| 5                                   | 35                                       | 40                 | [0,88; 1,00]                     | 0,95 | Бета-блокатор                                |
| 5                                   | 34                                       | 39                 | [0,86; 1,00]                     | 0,94 | Блокатор кальциевых каналов                  |
| 11                                  | 53                                       | 64                 | [0,89; 1,00]                     | 0,94 | Понижающее уровень холестерина/триглицеридов |
| 5                                   | 35                                       | 40                 | [0,74; 1,00]                     | 0,87 | Диабетическое                                |
| 5                                   | 25                                       | 30                 | [0,83; 1,00]                     | 0,93 | Мочегонное                                   |
| 4                                   | 14                                       | 18                 | [0,93; 1,00]                     | 0,98 | Гормональное                                 |
| 8                                   | 18                                       | 26                 | [0,87; 0,99]                     | 0,95 | Ингаляционный кортикостероид                 |
| 4                                   | 21                                       | 25                 | [0,84; 1,00]                     | 0,94 | Препарат для лечения аденомы простаты        |

Стратификация на основе сепсиса: Сепсис представляет собой потенциально летальное медицинское состояние, характеризуемое состоянием воспаления всего организма (называемым синдромом системной воспалительной реакции [SIRS]) и наличием известной или предполагаемой инфекции. Пациенты с бактериальным сепсисом получают пользу от ранней терапии с применением антибиотиков, при этом отсроченное или неправильное определение диагноза может иметь серьезные или даже фатальные последствия. Авторы настоящего изобретения сосредоточились на взрослых пациентах, для которых определение SIRS является очевидным, и проанализировали способность сигнатуры обеспечивать различие взрослых пациентов с бактериальным сепсисом и пациентов с вирусными инфекциями, а также взрослых пациентов с бактериальным сепсисом и пациентов с вирусным сепсисом.

Взрослых пациентов с бактериальным сепсисом определяли в соответствии с критериями Американской коллегии специалистов по заболеваниям грудной полости (American College of Chest Physicians) и Общества работников реаниматологии (Society of Critical Care Medicine). SIRS определяли на основе присутствия, по меньшей мере, двух из следующих результатов: (i) температуры тела  $<36^{\circ}\text{C}$  или  $>38^{\circ}\text{C}$ , (ii) частоты сердечных сокращений  $>90$  ударов в минуту, (iii) интенсивности дыхания  $>20$  вдохов в минуту или на основе давления газа в крови,  $\text{PaCO}_2 <32$  мм рт.ст. (4,3 кПа) и (iv)

$\text{WBC} <4000$  клеток/ $\text{мм}^3$  или  $>12000$  клеток/ $\text{мм}^3$  или  $>10\%$  палочкоядерных нейтрофилов. Было обнаружено, что сигнатура обеспечивала очень высокие уровни точности при различении взрослых пациентов с бактериальным сепсисом и вирусным сепсисом (значение AUC 0,97 и 0,93 для Единогласной [взрослые пациенты с бактериальным сепсисом, взрослые пациенты с вирусным сепсисом] и Мажоритарной [взрослые пациенты с бактериальным сепсисом, взрослые пациенты с вирусным сепсисом] группы, соответственно). Данные результаты демонстрируют применимость сигнатуры при различении взрослых пациентов с бактериальным сепсисом и взрослых пациентов с

вирусными инфекциями.

**Таблица 6. Точность сигнатуры при диагностике бактериального сепсиса и вирусного сепсиса у взрослых пациентов**

|  | Пациенты с вирусным заболеванием, n | Пациенты с бактериальным заболеванием, n | Всего пациентов, n | AUC<br>[95% доверительный интервал] |                     |
|--|-------------------------------------|------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|---------------------|
|  |                                     |                                          |                    |                                     |                     |
|  | 21                                  | 93                                       | 114                | [0,94; 1,00]                        | 0,97                |
|  | 35                                  | 112                                      | 147                | [0,89; 0,97]                        | 0,93                |
|  |                                     |                                          |                    |                                     | Единогласная группа |
|  |                                     |                                          |                    |                                     | Мажоритарная группа |

Стратификация пациентов с бактериальным заболеванием и пациентов без бактериального заболевания: Излишнее применение антибиотиков обычно возникает вследствие применения данных лекарственных средств для лечения пациентов с небактериальным (вирусным или неинфекционным) заболеванием или вследствие поздней или отсутствующей диагностики бактериальных инфекций.

Таким образом, авторы настоящего изобретения дополнительно проанализировали эффективность сигнатуры в плане различения пациентов с бактериальным и небактериальным заболеванием. Всю Мажоритарную группу подвергли анализу с применением перекрестной проверки с исключением 10%, что привело к получению значения AUC  $0,94 \pm 0,02$ . Повышенные значения эффективности были продемонстрированы при оценке Единогласной группы (AUC  $0,96 \pm 0,02$ ) и после исключения пациентов с промежуточной иммунной реакцией (Таблица 7).

**Таблица 7. Измерения точности сигнатуры при различении пациентов с бактериальным заболеванием и пациентов с небактериальным (вирусным и неинфекционным) заболеванием. А. Величины эффективности и их 95% доверительные интервалы получали с применением перекрестной проверки с исключением 10% у всех пациентов из Единогласной ( $n_{\text{Бакт.}}=256$ ,  $n_{\text{Небакт.}}=383$ ) и Мажоритарной ( $n_{\text{Бакт.}}=319$ ,  $n_{\text{Небакт.}}=446$ ) группы. В. Анализ повторяли после исключения пациентов с промежуточной иммунной реакцией (Единогласная группа ( $n_{\text{Бакт.}}=237$ ,  $n_{\text{Небакт.}}=343$ ,  $n_{\text{Промеж.}}=59$ ) и Мажоритарная группа ( $n_{\text{Бакт.}}=292$ ,  $n_{\text{Небакт.}}=387$ ,  $n_{\text{Промеж.}}=86$ )), что соответствует вероятному способу применения сигнатуры лечащими врачами.**

| В. Исключение на основе промежуточной иммунной реакции |                      | А. Все пациенты      |                      | Измерение точности |
|--------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|--------------------|
| Мажоритарная группа                                    | Единогласная группа  | Мажоритарная группа  | Единогласная группа  |                    |
| 0,95<br>(0,93; 0,97)                                   | 0,96<br>(0,94; 0,98) | 0,94<br>(0,92; 0,96) | 0,96<br>(0,94; 0,98) | AUC                |
| 0,91<br>(0,89; 0,93)                                   | 0,93<br>(0,91; 0,95) | 0,88<br>(0,85; 0,91) | 0,91<br>(0,89; 0,93) | Общая точность     |
| 0,91<br>(0,88; 0,95)                                   | 0,92<br>(0,88; 0,95) | 0,87<br>(0,83; 0,91) | 0,88<br>(0,85; 0,91) | Чувствительность   |
| 0,92<br>(0,89; 0,95)                                   | 0,94<br>(0,91; 0,96) | 0,90<br>(0,87; 0,93) | 0,93<br>(0,91; 0,95) | Чувствительность   |
| 11,4<br>(8; 16)                                        | 15,3<br>(10; 23)     | 8,7<br>(6; 12)       | 12,6<br>(9; 18)      | LR+                |
| 0,1<br>(0,07; 0,14)                                    | 0,08<br>(0,05; 0,13) | 0,14<br>(0,11; 0,19) | 0,13<br>(0,09; 0,18) | LR-                |
| 116<br>(67; 200)                                       | 180<br>(94; 344)     | 60<br>(38; 94)       | 97<br>(56; 168)      | DOR                |

Стабильность белков при различных температурах может влиять на эффективность

анализа: Применимость биомаркера зависит от его стабильности в рамках реальных клинических условий (например, скорости его разложения при 20 хранении образца при комнатной температуре перед измерением уровня аналита). Для решения данной проблемы авторы анализировали стабильность TRAIL, CRP и IP-10 в образцах сыворотки от четырех независимых субъектов в течение 24 часов при 4°C и 25°C. Аликвоты по 100 мкл из каждого образца сыворотки переносили с помощью пипетки в 0,2 мл пробирки и хранили при 4°C или 25°C в течение от 0 до 24 часов. Далее измеряли уровни аналитов (в различные моменты времени для одних и тех же аналитов с применением того же планшета и реагентов). Для TRAIL, CRP и IP-10 время полужизни аналитов при 4°C и 25°C составляло более 72 часов (Фиг. 15A-C). Следует отметить, что в рамках реальных клинических условий в случае хранения образцов при комнатной температуре концентрации TRAIL, IP-10 и CRP должны быть измерены в течение примерно 24 часов после получения образца. Предпочтительно они должны быть измерены в течение 5 часов, 4 часов, 3 часов, 2 часов, 1 часа или даже немедленно после получения образца. Альтернативно, образец должен храниться при температуре ниже 10°C, после чего TRAIL может быть измерен в течение более чем 24 часов после получения образца.

Комбинация из трех белков является более эффективной, чем любой отдельный белок и пары белков: Комбинация трех белков является более эффективной, чем отдельные белки и пары белков при различении бактериальных и вирусных заболеваний, и инфекционных и неинфекционных заболеваний.

**Таблица 8: Бактериальные и вирусные заболевания**

| AUC  | Белки #3 | Белок #2 | Белок #1 |
|------|----------|----------|----------|
| 0,89 | -        | -        | TRAIL    |
| 0,88 | -        | -        | CRP      |
| 0,66 | -        | -        | IP-10    |
| 0,95 | -        | CRP      | TRAIL    |
| 0,93 | -        | IP-10    | CRP      |
| 0,90 | -        | IP-10    | TRAIL    |
| 0,96 | IP-10    | CRP      | TRAIL    |

**Таблица 9: Инфекционные и неинфекционные заболевания**

| AUC  | Белки #3 | Белок #2 | Белок #1 |
|------|----------|----------|----------|
| 0,60 | -        | -        | TRAIL    |
| 0,87 | -        | -        | CRP      |
| 0,89 | -        | -        | IP-10    |
| 0,90 | -        | CRP      | TRAIL    |
| 0,95 | -        | IP-10    | CRP      |
| 0,89 | -        | IP-10    | TRAIL    |
| 0,96 | IP-10    | CRP      | TRAIL    |

Анализ эффективности в виде функции распространенности бактериальных инфекций: Распространенность бактериальных и вирусных инфекций зависит от окружающих условий. Например, ожидается, что в зимний период педиатр у амбулаторных больных будет сталкиваться с существенно большим количеством случаев вирусных инфекций, чем лечащий врач в рамках больничного отделения внутренней медицины в летний

период. Следует отметить, что некоторые меры диагностической точности, такие как AUC, чувствительность и специфичность, являются инвариантными в плане лежащей в основе распространенности, в то время как меры точности, такие как PPV и NPV, являются зависящими от распространенности. В данном разделе приведен обзор

ожидаемой эффективности сигнатуры в плане PPV и NPV в клинических условиях с различной распространенностью бактериальных и вирусных инфекций.

В качестве базиса для данного анализа применяли меры точности сигнатуры, которые получали с применением Единогласной (бактериальное заболевание, вирусное заболевание) и Мажоритарной (бактериальное заболевание, вирусное заболевание) группы. Распространенность бактериальных инфекций в Единогласной группе составляла 51,7% с получением PPV в размере  $93\% \pm 3\%$  и NPV в размере  $93\% \pm 3\%$ . Распространенность бактериальных инфекций в Мажоритарной группе составляла 48,7% с получением PPV в размере  $89\% \pm 3\%$  и NPV в размере  $92\% \pm 3\%$ .

Измеренную чувствительность и специфичность применяли для вычисления ожидаемых изменений в плане PPV и NPV сигнатуры в виде функции распространенности бактериальных инфекций (Фиг. 14А-В).

Примеры различных клинических условий и экстраполированные значения PPV и NPV сигнатуры для каждого из них приведены в Таблице 10А.

**Таблица 10А. Экстраполированные значения PPV и NPV сигнатуры в различных клинических условиях на основе Единогласной группы.**

| NPV | PPV | Распространенность бактериальных инфекций* | Возраст  | Условия      |
|-----|-----|--------------------------------------------|----------|--------------|
| 98% | 76% | 20%                                        | Дети     | Амбулаторные |
| 97% | 85% | 35%                                        | Взрослые | Амбулаторные |
| 94% | 93% | 50%                                        | Дети     | Стационарные |
| 78% | 98% | 80%                                        | Взрослые | Стационарные |

\*Средняя ежегодная распространенность. Оценки распространенности бактериальной инфекции основаны на данных, полученных из главы о бактериальной этиологии. 7-я часть учебника Internal Medicine, Harrison, 17-е изд.

Сигнатура превосходит стандартные лабораторные и клинические параметры при диагностике бактериальных и вирусных инфекций: Стандартные лабораторные и клинические параметры, некоторые из которых традиционно применяются в клинической практике для облегчения определения дифференциального диагноза источника инфекции, анализировали у Мажоритарной группы (бактериальное заболевание, вирусное заболевание, неинфекционное заболевание,  $n=765$ ).

Проанализированные параметры включают ANC, % нейтрофилов, % лимфоцитов, WBC и максимальную температуру. В соответствии с хорошо известной клинической ролью данных параметров авторы наблюдали статистически значимое различие в их уровнях между пациентами с бактериальным заболеванием и вирусным заболеванием (Фиг. 15А-Е). Например, пациенты с бактериальным заболеванием имели повышенные уровни ANC ( $P < 10^{-24}$ ) и WBC ( $P < 10^{-10}$ ), в то время как пациенты с вирусным заболеванием имели более высокий уровень % лимфоцитов ( $P < 10^{-31}$ ). Сигнатура являлась значительно более точной, чем любой из отдельных признаков ( $P < 10^{-18}$ ) и их комбинации ( $P < 10^{-15}$ ) (см. Фиг. 3А).

Сигнатура превосходит белковые биомаркеры с хорошо известной иммунологической



ролью: Сигнатура превзошла все клинические параметры и 600 белков, которые анализировали на этапе скрининга (см. Фиг. 3А-В). В приведенном ниже разделе сигнатура дополнительно сравнивается с выбранными белками, которые традиционно применяются в рамках клинических условий или которые имеют иммунологическую роль.

Одним из наиболее широко применяемых и полезных белковых биомаркеров для различения сепсиса и других неинфекционных случаев SIRS у критически больных пациентов является прокальцитонин (РСТ). Возможность применения РСТ для различения местных бактериальных и вирусных инфекций является менее очевидной. Для анализа этого авторы измеряли концентрации РСТ у 76 произвольно выбранных пациентов из Единогласной (бактериальное заболевание, вирусное заболевание) группы ( $n_{\text{Бакт.}}=39$ ,  $n_{\text{Вирусн.}}=37$ ) и 101 произвольно выбранных пациентов из Мажоритарной (бактериальное заболевание, вирусное заболевание) группы ( $n_{\text{Бакт.}}=51$ ,  $n_{\text{Вирусн.}}=50$ ) и сравнивали диагностическую точность на основе уровней РСТ с точностью сигнатуры. Точность РСТ вычисляли с применением стандартных пороговых значений, которые обычно применяют в рамках клинических условий (0,1 нг/мл, 0,25 нг/мл, 0,5 нг/мл и 1 нг/мл).<sup>19-23</sup> Максимальная чувствительность РСТ в размере 69% достигалась при пороговом значении 0,1 нг/мл и проводила к получению величины специфичности 62% (для Единогласной [бактериальное заболевание, вирусное заболевание] группы). Для той же группы сигнатура показывала значительно более высокую чувствительность в размере 94% ( $P<0,001$ ) и специфичность в размере 93% ( $P<0,001$ ) (Фиг. 16А). Сравнение с применением пациентов из Мажоритарной (бактериальной, вирусной) группы показало аналогичные результаты (Фиг. 16 В).

В целом, несмотря на высокую диагностическую и прогностическую ценность в плане детектирования сепсиса у критически больных пациентов, результаты авторов показывают, что РСТ является менее точным при различении пациентов с местными инфекциями (бактериальными инфекциями по сравнению с вирусными инфекциями).

Другой белковый биомаркер, применяемый в рамках клинических условий, представляет собой С-реактивный белок (CRP), являющийся белком реакции острой фазы, уровень которого повышается при инфекциях и других воспалительных условиях. Эффективность CRP сравнивали с эффективностью сигнатуры с применением всей Единогласной (бактериальное заболевание, вирусное заболевание) и Мажоритарной (бактериальное заболевание, вирусное заболевание) групп. Точность CRP определяли с применением нескольких стандартных пороговых значений, применяемых в рамках клинических условий. 26 Максимальную чувствительность CRP в размере 92% получали при пороговом значении 20 мг/мл, что приводило к получению специфичности в размере 60% (для Единогласной [бактериальное заболевание, вирусное заболевание] группы) (Фиг. 17А). Сигнатура имела аналогичную чувствительность (94%) и значительно более высокую специфичность (93%,  $P<10^{-9}$ ) в той же группе. Аналогичные результаты наблюдали при применении Мажоритарной (бактериальное заболевание, вирусное заболевание) группы (Фиг. 17 В). В целом, сигнатура имела аналогичную чувствительность относительно CRP при пороговом значении 20 мг/л, однако заметно более высокую специфичность в плане различения пациентов с бактериальным заболеванием и пациентов с вирусным заболеванием.

Далее анализировали дифференциальную реакцию белковых биомаркеров с хорошо известной ролью в плане реакции организма на инфекции (Таблица 10В и Фиг. 18А-Н). Каждый биомаркер тестировали, по меньшей мере, на 43 пациентах (примерно половина

- с бактериальным заболеванием и примерно половина - с вирусным заболеванием), при этом если он показывал многообещающие результаты, то его подвергали дальнейшему тестированию на дополнительных пациентах (вплоть до 150).

**Таблица 10В. Список белковых биомаркеров с хорошо известной ролью в плане реакции организма против инфекций и количество пациентов, использованных для тестирования каждого биомаркера (для каждого анализа анализируемые пациенты включали приблизительно половину пациентов с бактериальным заболеванием и половину пациентов с вирусным заболеванием).**

| # пациентов | Краткое описание                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Белковый биомаркер |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 120         | CD11a экспрессируется всеми лейкоцитами в виде части связанного с функцией лимфоцитов интегринового антигена-1 (LFA-1). LFA-1 играет центральную роль в межклеточной адгезии лейкоцитов благодаря взаимодействиям с его лигандами, ICAM 1-3 (молекулы межклеточной адгезии 1-3). CD11a также влияет на передачу лимфоцитами костимулирующего сигнала. | CD11a              |
| 79          | CD11C представляет собой белок цепи X интегрин $\alpha$ и опосредует взаимодействия типа клетка-клетка при                                                                                                                                                                                                                                            | CD11C              |

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |               |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
|    | воспалительных реакциях                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |               |
| 82 | CD80 представляет собой мембранный рецептор, играющий роль в плане костимулирующего сигнала, являющегося необходимым для активации Т-лимфоцитов. Связывание CD28 или CTLA-4 с CD80 индуцирует пролиферацию Т-клеток и продуцирование цитокинов.                                                                                                                                                        | CD80          |
| 65 | МНС антигены класса I, ассоциированные с $\beta$ 2-микроглобулином и экспрессируемые всеми ядросодержащими клетками человека. HLA-A,B,C являются наиболее важными в плане опосредуемой клетками иммунной реакции и контроля опухолей.                                                                                                                                                                  | HLA-A,B,C     |
| 49 | IFN- $\gamma$ представляет собой растворимый цитокин. IFN- $\gamma$ влияет на врожденный и приобретенный иммунитет против вирусных и внутриклеточных бактериальных инфекций и контроль опухолей.                                                                                                                                                                                                       | IFN- $\gamma$ |
| 43 | IL-1a представляет собой элемент семейства цитокинов IL-1. IL-1a представляет собой плейотропный цитокин, принимающий участие в различных иммунных реакциях, воспалительных процессах и гемопоэзе. IL-1a продуцируется моноцитами и макрофагами в виде пробелка, который подвергается протеолитическому расщеплению и высвобождается в ответ на повреждение клеток, таким образом обеспечивая апоптоз. | IL-1a         |
| 49 | IL-2 продуцируется Т-клетками в ответ на антигенное или митогенное стимулирование. IL-2 необходим для Т-клеточной пролиферации и других видов активности, являющихся критически важными для регулирования иммунной реакции.                                                                                                                                                                            | IL-2          |
| 43 | IL-6 представляет собой цитокин, который функционирует при воспалении и созревании В-клеток. IL-6 представляет собой эндогенный пироген, способный индуцировать высокую температуру у людей с аутоиммунными заболеваниями или инфекциями.                                                                                                                                                              | IL-6          |
| 43 | IL-8 представляет собой элемент семейства хемокинов СХС и функционирует в качестве одного из основных медиаторов воспалительной реакции.                                                                                                                                                                                                                                                               | IL-8          |
| 43 | IL-9 представляет собой цитокин, который действует в качестве регулятора ряда гемопоэтических клеток. IL-9 поддерживает не зависящий от IL-2 и не зависящий от IL-4 рост хелперных Т-клеток.                                                                                                                                                                                                           | IL-9          |
| 48 | IL-10 представляет собой цитокин, продуцируемый в основном моноцитами и, в меньшей степени, лимфоцитами. IL-10 обладает плейотропными эффектами в плане иммунорегулирования и воспаления.                                                                                                                                                                                                              | IL-10         |
| 49 | IL-15 представляет собой цитокин, который стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | IL-15         |
| 49 | IL-16 функционирует в качестве хемоаттрактанта, то есть модулятора активации Т-клеток и ингибитора репликации ВИЧ.                                                                                                                                                                                                                                                                                     | IL-16         |
| 54 | sTNFRSF1A представляет собой рецептор для TNFSF2/TNF- $\alpha$ и гомотримерного TNFSF1/лимфотоксина- $\alpha$ , который вносит вклад в индуцирование                                                                                                                                                                                                                                                   | sTNFRSF1A     |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |       |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
|     | нецитопатических эффектов TNF, включая противовирусное состояние и активацию кислотнойфингомиелиназы.                                                                                                                                                                                                                              |       |
| 43  | TNF-α представляет собой цитокин, который в основном секретируется макрофагами. TNF-α может индуцировать смерть опухолевых клеток определенных линий. Он является эффективным пирогеном, вызывающим высокую температуру непосредственным образом или за счет стимулирования секреции IL-1.                                         | TNF-α |
| 43  | TNF-β представляет собой эффективный медиатор воспалительных и иммунных реакций. Он продуцируется активированными Т- и В-лимфоцитами и принимает участие в регулировании различных биологических процессов, включая клеточную пролиферацию, дифференциацию, апоптоз, липидный метаболизм, коагуляцию и передачу нервных импульсов. | TNF-β |
| 150 | TREM представляет собой провоспалительный усилитель, присутствующий на нейтрофилах и моноцитах.                                                                                                                                                                                                                                    | TREM  |

Поскольку данные биомаркеры не имеют хорошо известного порогового значения в рамках клинических условий, авторы применяли их AUC в качестве базиса для сравнения (Фиг. 3В). Наиболее информативным биомаркером являлся TREM (AUC в  
 20 размере  $0,68 \pm 0,09$ ). Точность TREM была значительно ниже, чем точность сигнатуры ( $P < 10^{-9}$  при сравнении двух AUC; Фиг. 3В). Данные результаты показывают, что само по себе участие белка в реакции организма на инфекцию не обязательно обеспечивает  
 25 диагностическую применимость. Например, несмотря на то, что IFN- $\gamma$  обладает хорошо известной ролью в плане иммунной реакции на вирусы и внутриклеточные бактерии, его короткий период полужизни ( $< 20$  часов)<sup>27</sup> ограничивает его диагностическую  
 применимость (поскольку его концентрация в крови сильно зависит от времени с момента возникновения инфекции).

### ПРИМЕР 3

30 Троишный классификатор превосходит двоичный классификатор

В рамках двоичной модели классификатор тренируют путем классификации всех образцов в качестве либо "Бактериальных", либо "Небактериальных" ("Вирусные" и "Неинфекционные" входят в одну группу). В рамках троичной модели классификатор обучается различать три класса: "Бактериальные", "Вирусные" и "Неинфекционные".  
 35 Вероятность вирусного заболевания и неинфекционного заболевания затем группируют вместе для получения вероятности "небактериального заболевания". Это было продемонстрировано на настоящих данных.

Оба указанных выше классификатора были проанализированы с применением перекрестной проверки с исключением 10% на рамках как Мажоритарной группы, так  
 40 и Единогласной группы.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Применение двоичного классификатора в отношении данных из Мажоритарной группы привело к получению результатов, показанных в Таблице 10С ниже:

Таблица 10С

| Класс                        |                                                 |             |
|------------------------------|-------------------------------------------------|-------------|
| <b>Бактериальные<br/>(В)</b> | <b>Вирусные и<br/>неинфекционные<br/>(V+NI)</b> |             |
| 63                           | 411                                             | <b>V+NI</b> |
| 256                          | 35                                              | <b>В</b>    |

Чувствительность классификатора в рамках Мажоритарной группы составляла 80,3%, а специфичность составляла 92,2%.

Применение полиномиального классификатора в отношении того же набора данных привело к получению следующих результатов, указанных в Таблице 10D.

Таблица 10D

| Класс      |               |             |
|------------|---------------|-------------|
| <b>(В)</b> | <b>(V+NI)</b> |             |
| 54         | 417           | <b>V+NI</b> |
| 265        | 29            | <b>В</b>    |

Можно увидеть, что данный классификатор превосходит предыдущий как плане чувствительности, так и в плане специфичности. Чувствительность была повышена до 83,1%, а специфичность - до 93,5%.

Применение двоичного классификатора в отношении данных из Единогласной группы привело к получению результатов, показанных в Таблице 11.

Таблица 11

| Класс      |               |             |
|------------|---------------|-------------|
| <b>(В)</b> | <b>(V+NI)</b> |             |
| 39         | 358           | <b>V+NI</b> |
| 217        | 25            | <b>В</b>    |

Чувствительность классификатора в Единогласной группе составила 84,8%, а специфичность - 93,5%.

Применение полиномиального классификатора в отношении того же набора данных привело к получению результатов, показанных в Таблице 12.

Таблица 12

| Класс      |               |             |
|------------|---------------|-------------|
| <b>(В)</b> | <b>(V+NI)</b> |             |
| 38         | 364           | <b>V+NI</b> |
| 218        | 19            | <b>В</b>    |

Данный классификатор превосходит предыдущий как плане чувствительности, так и в плане специфичности. Чувствительность была повышена до 85,2%, а специфичность

- до 95,0%.

В целом, троичный классификатор превосходит двоичный классификатор как в плане чувствительности, так и в плане специфичности на обоих протестированных наборах данных.

#### 5 ПРИМЕР 4

Клиническая точность сигнатуры остается устойчивой даже при снижении аналитической точности

10 Важно проанализировать влияние повышения CV (стандартное отклонение/среднее значение) уровней белков на клиническую точность, поскольку зачастую различные измерительные устройства, в частности те, которые применяются в местах оказания помощи, показывают повышенные значения CV (что соответствует сниженной аналитической точности).

15 Авторы настоящего изобретения проанализировали изменение в AUC сигнатуры для различения бактериальной и вирусной инфекции в виде функции повышения CV как TRAIL, так и CRP. Это было осуществлено путем использования исходных данных пациентов из Единогласной группы и симулирования повышения CV с применением симуляций на основе метода Монте-Карло (Фиг. 19А-В). В частности, для каждой комбинации CV TRAIL и CRP каждому пациенту были присвоены 100 симулируемых измерений, при этом осуществляли повторное вычисление AUC в каждом случае.

20 Изображено среднее значение AUC на комбинацию CV. Можно увидеть, что клиническая точность сигнатуры (в плане AUC) является устойчивой в случаях повышения технического CV. Например, повышение CV в рамках ELISA на 0, 0,24 и 0,4 приводит к снижению AUC на 0,96, 0,95 и 0,94, соответственно. Аналогичные результаты были получены при повышении CV IP-10 и повторении симуляций на Мажоритарной группе.

25 Данный результат может быть объяснен применением множества биомаркеров, которые компенсируют влияние друг друга. Данное удивительное открытие является полезным, так как оно открывает способ осуществления измерений белков с применением дешевых и быстрых технологий (таких как технологии, используемые в местах оказания медицинской помощи), которые зачастую демонстрируют сниженную аналитическую чувствительность (по сравнению с автоматизированными иммуноанализами или ELISA), без утраты клинической точности.

#### 30 ПРИМЕР 5

Для измерения уровней TRAIL и IP-10 могут применяться различные протоколы ELISA, которые будут приводить к получению различных соотношений сигнал/шум и, 35 соответственно, различных значений измеряемых концентраций. Более конкретно, в то время как общий тренд величин показателей биомаркеров будет сохраняться вне зависимости от протокола (например, TRAIL повышается при вирусных инфекциях и снижается при бактериальных инфекциях), измерительная шкала является зависимой от протокола. В нижеследующих подразделах описаны примеры протоколов, которые 40 приводят к получению различных значений измеряемых концентраций IP-10 и TRAIL.

Измерения уровней растворимого IP-10 и TRAIL с применением ELISA - Протокол №1: Для определения концентраций растворимого IP-10 и TRAIL в образцах плазмы и сыворотки человека применяли стандартный "сэндвич"-анализ ELISA. Кратко, лунки 96-луночного планшета покрывали иммобилизованным антителом, являющимся 45 специфичным по отношению к TRAIL и IP-10, и разводили в буфере для иммобилизации (например, 1×PBS) с последующим инкубированием в течение ночи при 4°C. Лунки дважды промывали промывочным буфером (например, 1×PBS с 0,2% Твин-20) и далее блокировали блокирующим буфером, содержащим белки (например, 1×PBS с 0,2%

Твин-20 и 5% обезжиренным молоком) в течение, по меньшей мере, 2 часов при комнатной температуре или в течение ночи при 4°C. Затем лунки дважды промывали промывочным буфером. Белковые стандарты и образцы плазмы или сыворотки инкубировали в течение двух часов при комнатной температуре. Затем лунки промывали три раза промывочным буфером и далее инкубировали с конъюгированным с пероксидазой хрена детектирующим антителом, являющимся специфичным по отношению к TRAIL и IP-10, и разводили в блокирующем буфере в течение двух часов при комнатной температуре.

Лунки промывали четыре раза промывочным буфером и инкубировали с реакционным раствором, который содержал субстрат на основе пероксидазы хрена (например, ТМВ; 3, 3', 5,5'-тетраметилбензидин). После достаточного проявления цвета в каждую лунку добавляли останавливающий раствор. Адсорбцию продукта реакции с пероксидазой хрена при 450 нм определяли с применением стандартного спектрофотометра. Данный протокол занимал 5 (TRAIL) и 4,75 (IP-10) часов, соответственно, и называется здесь "медленным протоколом".

Измерения уровней растворимого IP-10 и TRAIL с применением ELISA - Протокол №2:

Сниженное время проведения анализа обеспечивает повышенную клиническую применимость. Для дальнейшего снижения времени проведения протокола протокол оптимизировали для измерения TRAIL и IP-10 и снижения продолжительности до менее чем 100 минут. Быстрый протокол осуществляли следующим образом:

50 мкл аналитического разбавителя и 50 мкл стандартов добавляли в образцы или контроли в расчете на одну лунку. Реакцию инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре на горизонтальном орбитальном шейкере для микропланшетов (орбита 3 мм) при 550 об/мин. Затем каждую лунку подвергали аспирации и промывали четыре раза с применением промывочного буфера. Затем в каждую лунку добавляли 200 мкл конъюгата и инкубировали реакции в течение 45 минут при комнатной температуре на шейкере. Лунки промывали четыре раза промывочным буфером и инкубировали с реакционным раствором, который содержал субстрат на основе пероксидазы хрена (например, ТМВ; 3, 3', 5,5'-тетраметилбензидин). Спустя 10-25 минут в каждую лунку добавляли останавливающий раствор. Адсорбцию продукта реакции с пероксидазой хрена при 450 нм определяли с применением стандартного спектрофотометра. Данный протокол занимал 99 (TRAIL) и 85 (IP-10) минут, соответственно, и называется здесь "быстрым протоколом".

Измерения, сделанные в рамках медленного и быстрого протокола, сравнивали с применением 357 образцов для TRAIL и 189 образцов для IP-10, при этом они показывали значительно коррелирующие результаты (Фиг. 30А-В).

Следует отметить, что средняя концентрация TRAIL, полученная с применением быстрого протокола, была приблизительно на 70 процентов меньше, чем концентрация, полученная с применением медленного протокола. Подобные изменения в плане измеряемых концентраций белков среди различных протоколов часто возникают и могут быть компенсированы путем коррелирования результатов измерений с применением двух протоколов и вычисления трансформационной функции. Например, трансформационная функция  $y_{\text{медл.}} = 0,709 \times y_{\text{быстр.}} - 3e-12$  может применяться для перевода концентраций, полученных в рамках быстрого протокола и медленного протокола. Данный перевод обеспечивает сохранение точности TRAIL. Специалистом в данной области могут быть разработаны и другие функции и протоколы для перевода, которые также обеспечивают сохранение точности. В целом, поведение TRAIL остается

одинаковым в рамках обоих протоколов (то есть наиболее высокие уровни при вирусном заболевании, более низкие уровни при неинфекционном заболевании и самые низки при бактериальном заболевании) несмотря на различие в плане вычисленных концентраций.

5 Различные протоколы и группы ведут к различным коэффициентам модели:

В Таблице 13 приведен пример коэффициентов полиномиальной логистической модели, полученных у пациентов из Мажоритарной группы при измерении IP-10 и TRAIL в соответствии с медленным протоколом:

**Таблица 13**

10

15

| Вторая координата<br>$\delta_1$ (бакт. заболевание) | Первая координата<br>$\delta_0$ (вирусн. заболевание) |                      |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------|
| $b_0 = -1,5389 \pm 0,75676$                         | $a_0 = -1,7331 \pm 0,62936$                           | <b>Конст.</b>        |
| $b_1 = 0,0851 \pm 0,015288$                         | $a_1 = 0,0514 \pm 0,014896$                           | <b>CRP (мг/мл)</b>   |
| $b_2 = 0,0046 \pm 0,001372$                         | $a_2 = 0,0049 \pm 0,001372$                           | <b>IP-10 (пг/мл)</b> |
| $b_3 = -0,0155 \pm 0,007056$                        | $a_3 = 0,0048 \pm 0,005096$                           | <b>TRAIL (пг/мл)</b> |

В Таблице 14 приведен пример коэффициентов полиномиальной логистической модели, полученных у пациентов из Единогласной группы при измерении IP-10 и TRAIL в соответствии с медленным протоколом:

20

**Таблица 14**

25

| Вторая координата<br>$\delta_1$ (бакт. заболевание) | Первая координата<br>$\delta_0$ (вирусн. заболевание) |                      |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------|
| $b_0 = 2,6091 \pm 0,9357$                           | $a_0 = -2,6866 \pm 0,75048$                           | <b>Конст.</b>        |
| $b_1 = 0,0866 \pm 0,016856$                         | $a_1 = 0,0499 \pm 0,016464$                           | <b>CRP (мг/мл)</b>   |
| $b_2 = 0,0052 \pm 0,001568$                         | $a_2 = 0,0059 \pm 0,001568$                           | <b>IP-10 (пг/мл)</b> |
| $b_3 = -0,0115 \pm 0,008232$                        | $a_3 = 0,0084 \pm 0,005684$                           | <b>TRAIL (пг/мл)</b> |

30

35

Поскольку частота подгрупп в рамках группы пациентов отклоняется от предполагаемой частоты в общей популяции, является возможным провести дальнейшую корректировку коэффициентов модели для отражения предварительно определенного предыдущего значения вероятности с применением стандартных способов корректирования коэффициентов (например, см. G. King and L Zeng, Statistics in Medicine 2002). Например, следующие примеры показывают коэффициенты полиномиальной логистической модели, полученных у пациентов из Мажоритарной группы при измерении IP-10 и TRAIL в соответствии с медленным протоколом, что соответствует предыдущему значению 45% вероятности бактериального заболевания, 45% вероятности вирусного заболевания и 10% вероятности неинфекционного заболевания.

Коэффициенты модели (при тренировке на данных из Мажоритарной группы) после предыдущей корректировки приведены в Таблице 15:

40

**Таблица 15**

45

| Вторая координата<br>$\delta_1$ (бакт. заболевание) | Первая координата<br>$\delta_0$ (вирусн. заболевание) |                      |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------|
| $b_0 = -1,1302 \pm 0,75676$                         | $a_0 = -1,4151 \pm 0,62936$                           | <b>Конст.</b>        |
| $b_1 = 0,0851 \pm 0,015288$                         | $a_1 = 0,0514 \pm 0,014896$                           | <b>CRP (мг/мл)</b>   |
| $b_2 = 0,0046 \pm 0,001372$                         | $a_2 = 0,0049 \pm 0,001372$                           | <b>IP-10 (пг/мл)</b> |
| $b_3 = -0,0155 \pm 0,007056$                        | $a_3 = 0,0048 \pm 0,005096$                           | <b>TRAIL (пг/мл)</b> |

Коэффициенты модели (при тренировке на данных из Единогласной группы) после



предыдущей корректировки приведены в Таблице 16.

**Таблица 16**

| Вторая координата<br>$\delta_1$ (бакт. заболевание) | Первая координата<br>$\delta_0$ (вирусн. заболевание) |                      |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------|
| $b_0 = -1,7833 \pm 0,9357$                          | $a_0 = -2,083 \pm 0,75048$                            | <b>Конст.</b>        |
| $b_1 = 0,0866 \pm 0,016856$                         | $a_1 = 0,0499 \pm 0,016464$                           | <b>CRP (мг/мл)</b>   |
| $b_2 = 0,0052 \pm 0,001568$                         | $a_2 = 0,0059 \pm 0,001568$                           | <b>IP-10 (пг/мл)</b> |
| $b_3 = -0,0115 \pm 0,008232$                        | $a_3 = 0,0084 \pm 0,005684$                           | <b>TRAIL (пг/мл)</b> |

Следует отметить, что для получения аналогичных результатов могут быть выбраны другие комбинации коэффициентов, как будет очевидно для специалиста в данной области. Другие протоколы измерения уровней белков, которые влияют на концентрации подвергаемых измерению белков будут приводить к получению иных коэффициентов модели. Например, в рамках быстрого протокола для измерения TRAIL вычисляемые концентрации снижаются приблизительно до 70% концентраций, вычисленных в рамках медленного протокола. Таким образом, одним способом корректировки с учетом этого факта является изменение коэффициентов модели TRAIL для учета данного изменения. Другой способ заключается в разделении полученных в рамках быстрого протокола уровней TRAIL на 70% и их применение в рамках указанных выше моделей, которые были разработаны для медленного протокола.

Часто является предпочтительным применение логарифмического преобразования значений уровней белков для повышения точности модели и калибровки (то есть лучшего соответствия с учетом прогнозируемого риска определенной инфекции и наблюдаемого риска).

Пример модели с логарифмическим преобразованием уровней TRAIL и IP-10 указан в Таблице 17 (модель тренировали на Единогласной группе):

**Таблица 17**

| Вторая координата<br>$\delta_1$ (бакт. заболевание) | Первая координата<br>$\delta_0$ (вирусн. заболевание) |                      |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------|
| $b_0 = -5,9471 \pm 3,3391$                          | $a_0 = -14,8487 \pm 3,3839$                           | <b>Конст.</b>        |
| $b_1 = 0,0833 \pm 0,016856$                         | $a_1 = 0,0437 \pm 0,017052$                           | <b>CRP (мг/мл)</b>   |
| $b_2 = 1,3868 \pm 0,48608$                          | $a_2 = 2,0148 \pm 0,4408$                             | <b>IP-10 (пг/мл)</b> |
| $b_3 = -0,788 \pm 0,60505$                          | $a_3 = 0,8946 \pm 0,61348$                            | <b>TRAIL (пг/мл)</b> |

#### ПРИМЕР 6

Параметризация гиперповерхности

С учетом концентраций CRP [C], TRAIL [T] и IP-10 [P] определено следующее:

$$\delta_0 = -1,299 + 0,0605 \times [C] + 0,0053 \times [P] + 0,0088 \times [T]$$

$$\delta_1 = -0,378 + 0,0875 \times [C] + 0,0050 \times [P] - 0,0201 \times [T]$$

Затем значения вероятностей могут быть вычислены следующим образом:

$$P(\text{Вирусн.}) = \frac{e^{\delta_0}}{1 + e^{\delta_0} + e^{\delta_1}}$$

$$P(\text{Бакт.}) = \frac{e^{\delta_1}}{1 + e^{\delta_0} + e^{\delta_1}}$$

$$P(\text{Неинфекц.}) = \frac{1}{1 + e^{\delta_0} + e^{\delta_1}}$$

Определим гиперповерхность в [C], [T], [P] пространстве

$$\frac{e^{\delta_1}}{1 + e^{\delta_0} + e^{\delta_1}} = \omega$$

которая применяется для различения пациентов с бактериальным заболеванием и небактериальным заболеванием в одном предпочтительном варианте осуществления изобретения. В других предпочтительных вариантах осуществления изобретения на основе значений пациента [C], [T], [P] его классифицируют как имеющего бактериальное заболевание, если  $\frac{e^{\delta_1}}{1 + e^{\delta_0} + e^{\delta_1}} = \omega$ , иначе его/ее классифицируют в качестве не имеющего (не имеющей) бактериального заболевания.

Авторы определили набор всех гиперплоскостей, которые могут применяться для различения бактериальных и небактериальных инфекций в виде результатов, расположенных на следующих двух гиперповерхностях:

$$\frac{e^{\delta_1}}{1 + e^{\delta_0} + e^{\delta_1}} = \omega + \epsilon_1$$

$$\frac{e^{\delta_1}}{1 + e^{\delta_0} + e^{\delta_1}} = \omega - \epsilon_0$$

$\epsilon_1$  может представлять собой любое число от 0 до 1-. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления  $\epsilon_1$  составляет менее 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 или 0,1.

$\epsilon_0$  может представлять собой любое число от 0 до  $\omega$ . В некоторых предпочтительных вариантах осуществления  $\epsilon_0$  составляет менее 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 или 0,1.

Иллюстрированные примеры поверхностей приведены в Примере 7.

#### ПРИМЕР 7 Графическое представление классификации

Фиг. 20 представляет собой трехмерную визуализацию пациентов с бактериальным заболеванием ('+'), вирусным заболеванием ('o') и неинфекционным заболеванием ('^'). Разные типы пациентов нанесены на различные участки на карте концентрации CRP (мкг/мл), TRAIL и IP-10 (пг/мл).

В качестве примера были получены поверхности со значениями вероятностей с применением полиномиальной логистической регрессии. Контурные диаграммы поверхностей показаны на Фиг. 21А-28С в виде функции концентраций TRAIL (ось y), CRP (ось x) и IP-10. На Фиг. 21А, 22А, 23А, 24А, 25А, 26А, 27А, 28А показаны вероятности наличия вирусных инфекций, на Фиг. 21В, 22В, 23В, 24В, 25В, 26В, 27В, 28В показаны вероятности наличия бактериальных или смешанных инфекций, а на Фиг. 21С, 22С, 23С, 24С, 25С, 26С, 27С, 28С показаны вероятности наличия неинфекционных заболеваний или здоровые субъекты. Фиг. 21А-С соответствуют IP-10 в диапазоне от 0 до 100 пг, Фиг. 22А-С соответствуют IP-10 в диапазоне от 100 до 200 пг, Фиг. 23А-С соответствуют IP-10 в диапазоне от 200 до 300 пг, Фиг. 24А-С соответствуют IP-10 в диапазоне от 300 до 400 пг, Фиг. 25А-С соответствуют IP-10 в диапазоне от 400 до 500 пг, Фиг. 26А-С соответствуют IP-10 в диапазоне от 500 до 1000 пг, Фиг. 27А-С соответствуют IP-10 в диапазоне от 1000 до 2000 пг и Фиг. 28А-С соответствуют IP-10 в диапазоне от 2000 пг и выше.

Пациенты с бактериальной или смешанной инфекцией отмечены в виде '+'; с вирусной инфекцией - в виде 'o', а с неинфекционным заболеванием или здоровые - в виде '^'. Можно увидеть, что низкие уровни IP-10 ассоциированы с неинфекционным заболеванием, более высокие уровни - с бактериальным заболеванием, а самые высокие

- с вирусным заболеванием. Низкие уровни TRAIL ассоциированы с бактериальными инфекциями, более высокие уровни - с неинфекционным заболеванием или здоровыми субъектами, а самые высокие - с вирусным заболеванием. Низкие уровни CRP ассоциированы с неинфекционным заболеванием и здоровыми субъектами, более высокие - с вирусной инфекцией, а самые высокие - с бактериальной инфекцией. Комбинация из трех белков позволяет получать функцию вероятности, чья диагностическая эффективность превосходит любой из отдельных белков или пар белков.

Фиг. 35А-Д представляют собой контурные диаграммы, описывающие вероятность наличия заболевания бактериальной (Фиг. 35А), вирусной (Фиг. 35В), небактериальной (Фиг. 35С) и неинфекционной (Фиг. 35Д) этиологии в виде функции координат  $\delta_0$  и  $\delta_1$ . Значения вероятности лежат в диапазоне от 0% (черные) до 100% (белые).

#### ПРИМЕР 8

Примеры протоколов для измерения уровней экспрессии

В целом, без ограничения, значение экспрессии TRAIL может быть измерено с применением ELISA или автоматизированного иммуноанализа; значение экспрессии IP-10 может быть измерено с применением анализа ELISA; а значение экспрессии CRP может быть измерено с применением ELISA или автоматизированного иммуноанализа. Значение экспрессии CRP также может быть измерено с применением функционального анализа, основанного на его кальцийзависимом связывании с фосфорилхолином.

Протокол А;

Подходящий протокол для измерения значения экспрессии TRAIL

(а) иммобилизация TRAIL, присутствующего в образце, с применением антитела на твердой подложке;

(b) контактирование иммобилизованного TRAIL со вторым антителом, которое специфично связывается с TRAIL; и

(с) количественный анализ антитела, которое связалось с иммобилизованным TRAIL.

Подходящий протокол для измерения значения экспрессии IP-10

(а) иммобилизация IP-10, присутствующего в образце, с применением иммобилизованного антитела на твердой подложке;

(b) контактирование иммобилизованного IP-10 со вторым антителом, которое специфически связывается с IP-10; и

(с) количественный анализ антитела, которое связалось с иммобилизованным IP-10.

Подходящий протокол для измерения значения экспрессии CRP

(а) иммобилизация CRP, присутствующего в образце, с применением иммобилизованного антитела на твердой подложке;

(b) контактирование иммобилизованного CRP со вторым антителом, которое специфически связывается с CRP; и

(с) количественный анализ антитела, которое связалось с иммобилизованным CRP.

Протокол В;

Подходящий протокол для измерения значения экспрессии TRAIL

(а) Инкубирование образца с первым антителом, которое специфически связывается с TRAIL, при этом указанное первое антитело иммобилизовано на твердой подложке;

(b) Промывание;

(с) Добавление второго антитела, которое специфически связывается с TRAIL, при этом второе антитело конъюгировано с ферментом; промывание

(d) Добавление ферментативного субстрата и количественный анализ антитела, которое связалось с иммобилизованным образцом.

Подходящий протокол для измерения значения экспрессии IP-10

(a) Инкубирование образца с первым антителом, которое специфически связывается с IP-10, при этом указанное первое антитело иммобилизовано на твердой подложке;

(b) Промывание;

5 (c) Добавление второго антитела, которое специфически связывается с IP-10, при этом второе антитело конъюгировано с ферментом; промывание

(d) Добавление ферментативного субстрата и количественный анализ антитела, которое связалось с иммобилизованным образцом.

Подходящий протокол для измерения значения экспрессии CRP

10 (a) Инкубирование образца с первым антителом, которое специфически связывается с CRP, при этом указанное первое антитело иммобилизовано на твердой подложке;

(b) Промывание;

(c) Добавление второго антитела, которое специфически связывается с CRP, при этом второе антитело конъюгировано с ферментом; промывание

15 (d) Добавление ферментативного субстрата и количественный анализ антитела, которое связалось с иммобилизованным образцом.

Протокол С:

Подходящий протокол для измерения значения экспрессии CRP

(a) измерение помутнения смеси липидов;

20 (b) контактирование образца с известным количеством липидов (предпочтительно фосфорилхолина) в присутствии кальция; и

(c) измерение помутнения раствора, при этом повышение помутнения коррелирует с количеством CRP.

ПРИМЕР 9

25 Подробное описание ELISA для анализа количества TRAIL и IP-10

Сбор и хранение образцов: Подвергание образцов действию комнатной температуры должно быть минимизировано (менее 6 часов). Применяли пробирку для отделения сыворотки (SST) и оставляли образцы для образования сгустков в течение, по меньшей мере, 30 минут после центрифугирования (5 минут при 1200 × g). Сыворотка может  
30 быть проанализирована немедленно или подвергнута аликвотированию и хранению при 4-8°C в течение времени до 24 часов или при ≤-20°C в течение времени до 3 месяцев. Повторных циклов замораживания и оттаивания следует избегать.

Подготовка реагентов: Все реагенты должны быть доведены до комнатной температуры перед применением.

35 Субстратный раствор: Цветные реагенты А и В должны быть смешаны вместе в равных объемах в рамках 10 минут перед применением. Следует обеспечивать защиту от света.

QC-1V, QC-2B и стандарты: Следует разморозить все QC и стандарты и удалить 150 мкл из каждого флакона в отдельную промаркированную полипропиленовую тестовую  
40 пробирку. После применения следует немедленно поместить их обратно под действие температуры -20°C.

Измерения TRAIL:

Материалы, применяемые для анализа TRAIL, указаны в Таблице 18 ниже.

Таблица 18

| Условия хранения                             | Описание                                                                                                                                                                            | Элемент                                  |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Хранить при 2-8 °С.                          | 96-луночный микропланшет (12 стрипов по 8 лунок), покрытый анти-TRAIL антителом                                                                                                     | Микропланшет TRAIL                       |
|                                              | 21 мл анти-TRAIL специфического антитела, конъюгированного с пероксидазой хрена с консервантами                                                                                     | Конъюгат TRAIL                           |
|                                              | 11 мл буферированного белкового основания с консервантами                                                                                                                           | Аналитический разбавитель MM1S           |
|                                              | 21 мл 25-кратного концентрированного раствора буферированного поверхностно-активного вещества с консервантом                                                                        | Концентрат промывочного буфера           |
|                                              | 12 мл стабилизированной перекиси водорода                                                                                                                                           | Цветной реагент А                        |
|                                              | 12 мл тетрамethylбензидина (ТМВ)                                                                                                                                                    | Цветной реагент В                        |
|                                              | 6 мл 2 N серной кислоты                                                                                                                                                             | Раствор для остановки                    |
|                                              | 4 адгезивных стрипа                                                                                                                                                                 | Приспособление для заклеивания планшетов |
| Хранить при -20С° немедленно после получения | 6 флаконов, содержащих 0,7 мл рекомбинантного TRAIL человека в буферированном белковом основании с консервантами при следующих концентрациях: 500, 250, 125, 62,5, 31,2 и 0 [пг/мл] | 6 стандартов TRAIL                       |
|                                              | 1 мл                                                                                                                                                                                | QC-1V                                    |
|                                              | 1 мл                                                                                                                                                                                | QC-2B                                    |

## Процедура ELISA TRAIL

- а) Подготовить образцы, реагенты и стандарты, как указано выше.
- б) Удалить избыточные стрипы с рамки планшета, положить их обратно в пакет из фольги, содержащий водопоглотитель, и закрыть.
- в) Добавить 50 мкл аналитического разбавителя MM1S в каждую лунку.
- г) Добавить 50 мкл стандарта, образцов или QC в каждую лунку. Накрыть сверху адгезивным стрипом.
- е) Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре на шейкере для микропланшетов (орбита 3 мм) при 550 об/мин.
- ф) Подвергнуть каждую лунку аспирации и промыть; повторить процесс 4 раза. Промыть путем заполнения каждой лунки промывочным буфером (300 мкл).
- После последнего промывания удалить любой оставшийся промывочный буфер с помощью аспирации или декантации. Перевернуть планшет и осуществить блоттинг с использованием чистых бумажных полотенец.
- г) Добавить 200 мкл конъюгата TRAIL в каждую лунку. Накрыть новым адгезивным стрипом. Инкубировать в течение 45 минут при комнатной температуре на шейкере для микропланшетов (орбита 3 мм) при 550 об/мин.
- х) Повторить аспирацию/промывание как на стадии (г).
- и) Добавить 200 мкл субстратного раствора в каждую лунку. Инкубировать в течение от 24 до 30 минут при комнатной температуре. Обеспечить защиту от света.

ж) Добавить 20 мкл раствора для остановки в каждую лунку. Цвет в лунках должен измениться с синего на желтый. Если цвет в лунках является зеленым или изменение цвета не является равномерным, следует осторожно постучать по планшету для обеспечения тщательного смешивания.

к) Немедленно определить оптическую плотность каждой лунки с применением сканера для микропланшетов, настроенного на 450 нм. Установить величину коррективы длины волны на 570 нм, что будет обеспечивать коррекцию оптических изъянов в планшете.

Вычисление концентраций TRAIL: Усреднить дублированные показания для каждого образца и вычесть оптическую плотность нулевого стандарта (O.D.). Создать стандартную кривую путем нанесения средней величины адсорбции для каждого стандарта (ось y) относительно концентрации (ось x) и построить аппроксимированную линейную кривую. Минимальное значение  $r^2$  не должно падать ниже 0,96. В случае наличия более низких значений  $r^2$  следует повторить эксперимент для получения надежных результатов.

Прецизионность: Прецизионность оценивали на основе руководств EP05-A2 Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI) (бывш. Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам США, NCCLS). Для анализа прецизионности применяли три образца с низкими (11,4 пг/мл), промежуточными (58,8 пг/мл) и высокими (539,9 пг/мл) физиологическими концентрациями. Результаты приведены в Таблице 19, где  $S_r$  представляет собой межсерийную прецизионность, а  $S_T$  представляет собой межлабораторную прецизионность:

**Таблица 19**

| Высокая<br>(539,0 пг/мл) | Средняя<br>(58,8 пг/мл) | Низкая<br>(11,4 пг/мл) |              |
|--------------------------|-------------------------|------------------------|--------------|
| 18                       | 18                      | 18                     | # повторов   |
| 36                       | 36                      | 36                     | # дубликатов |
| 13,2                     | 2,45                    | 0,84                   | $S_r$ пг/мл  |
| 2,5%                     | 4,2%                    | 7,3%                   | $S_r$ CV (%) |
| 29,7                     | 3,6                     | 1,3                    | $S_T$ пг/мл  |
| 5,5%                     | 6,1%                    | 11,5%                  | $S_T$ CV (%) |

Степень извлечения: Степень извлечения оценивали путем добавления трех уровней рекомбинантного TRAIL человека (250, 125 и 62,5 пг/мл) к 5 образцам сыворотки человека без детектируемых уровней TRAIL. Затем измеряли и вычисляли подвергнутые добавлению значения и среднюю степень извлечения, как показано в Таблице 20 ниже.

**Таблица 20**

| Диапазон | Среднее извлечение, % | Образец         |
|----------|-----------------------|-----------------|
| 75-78%   | 77%                   | Сыворотка (n=5) |

Линейность: Для анализа линейности исследования пять клинических образцов, содержащих высокие концентрации TRAIL, подвергали последовательному разбавлению с применением заменителя сыворотки для получения образцов со значениями в рамках

физиологического диапазона исследования. Линейность в среднем составляла 97%, 100%) и 105% для 1:2, 1:4 и 1:8 разбавлений, соответственно, как указано в Таблице 21 ниже.

Таблица 21

|                 |                                 |     |
|-----------------|---------------------------------|-----|
| Сыворотка (n=5) |                                 |     |
| 97%             | Средняя ожидаемая линейность, % | 1:2 |
| 90-104%         | Диапазон, %                     |     |
| 100%            | Средняя ожидаемая линейность, % | 1:4 |
| 90-108%         | Диапазон, %                     |     |
| 105%            | Средняя ожидаемая линейность, % | 1:8 |
| 90-121%         | Диапазон, %                     |     |

Чувствительность: Для анализа Предела измерения холостого образца (Limitation of Blank, LOB) авторы протестировали 72 холостых образца заменителя сыворотки. Среднее значение холостых образцов составляло 0,78 пг/мл, а стандартное отклонение составляло 1,39 пг/мл. Таким образом, вычисленный LOB составлял 3,07 пг/мл.

Для анализа Предела обнаружения (Limitation of Detection, LOD) следовали руководствам CLSI EP17-A. Кратко, было охарактеризовано распределение результатов вокруг семи предварительно определенных концентраций, каждой из которых соответствовали 30 независимых результатов (всего 210 результатов), с получением значения LOD 10 пг/мл.

Калибровка: В рамках данного иммуноанализа проводили калибровку относительно очищенного экспрессированного NS0 рекомбинантного TRAIL человека.

Ожидаемые значения: Образцы, полученные от очевидно здорового взрослого субъекта (в возрасте >18 лет), подвергали анализу на наличие TRAIL. Значения диапазона и средний величины приведены в Таблице 22.

Table 22

| Диапазон, пг/мл | Средняя величина, пг/мл | Тип образца      |
|-----------------|-------------------------|------------------|
| 17-157          | 90                      | Сыворотка (n=34) |

Перекрестная реактивность и интерференция: Данный анализ обеспечивает различие естественного и рекомбинантного TRAIL человека. Факторы 4-1 BB лиганд, APRIL, BAFF/BLyS, CD27 лиганд, CD30 лиганд, CD40 лиганд, Fas лиганд, GITR лиганд, LIGHT, LT  $\alpha$ 1/ $\beta$ 2, LT  $\alpha$ 2/ $\beta$ 1, OPG, OX40 лиганд, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , TRAIL R3, TRAIL R4, TRANCE и TWEAK получали в количестве 5 50 нг/мл в заменителе сыворотки и анализировали на перекрестную реактивность. Дополнительно, препараты на основе данных факторов в количестве 50 пг/мл в контроле на основе рекомбинантного TRAIL человека среднего диапазона тестировали на интерференцию. Значительная перекрестная

реактивность или интерференция не наблюдалась.

Измерения уровня IP-10: Материалы, применяемые для анализа IP-10, указаны в Таблице 23 ниже.

**Таблица 23**

| Условия хранения                             | Описание                                                                                                                                                                            | Элемент                        |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| Хранить при 2-8 °С.                          | 96-луночный микропланшет (12 стрипов по 8 лунок), покрытый анти-IP-10 антителом                                                                                                     | Микро-планшет IP-10            |
|                                              | 21 мл анти-IP-10 специфического антитела, конъюгированного с пероксидазой хрена с консервантами                                                                                     | Конъюгат IP-10                 |
|                                              | 11 мл буферированного белкового основания с консервантами                                                                                                                           | Аналитический разбавитель MM56 |
|                                              | 21 мл 25-кратного концентрированного раствора буферированного поверхностно-активного вещества с консервантом                                                                        | Концентрат промывочного буфера |
|                                              | 12 мл стабилизированной перекиси водорода                                                                                                                                           | Цветной реагент А              |
|                                              | 12 мл тетраметилбензидина (ТМВ)                                                                                                                                                     | Цветной реагент В              |
|                                              | 6 мл 2 N серной кислоты                                                                                                                                                             | Раствор для остановки          |
|                                              | 4 адгезивных стрипа                                                                                                                                                                 | Приспособл                     |
|                                              |                                                                                                                                                                                     | ение для заклеивания планшетов |
| Хранить при -20С° немедленно после получения | 6 флаконов, содержащих 0,7 мл рекомбинантного IP-10 человека в буферированном белковом основании с консервантами при следующих концентрациях: 1000, 500, 250, 125, 62.5 и 0 [пг/мл] | 6 стандартов IP-10             |
|                                              | 1 мл                                                                                                                                                                                | QC-1V                          |
|                                              | 1 мл                                                                                                                                                                                | QC-2B                          |

#### Процедура ELISA IP-10

а) Подготовить образцы, реагенты и стандарты, как указано выше.

б) Удалить избыточные стрипы с рамки планшета, положить их обратно в пакет из фольги, содержащий водопоглотитель, и закрыть.

с) Добавить 50 мкл аналитического разбавителя MM56 в каждую лунку.

д) Добавить 50 мкл стандарта, образцов или QC в каждую лунку. Накрыть сверху адгезивным стрипом.

е) Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре на шейкере для микропланшетов (орбита 3 мм) при 550 об/мин.

ф) Подвергнуть каждую лунку аспирации и промыть; повторить процесс 4 раза.

Промыть путем заполнения каждой лунки промывочным буфером (300 мкл). После последнего промывания удалить любой оставшийся промывочный буфер с помощью



аспирации или декантации. Перевернуть планшет и осуществить блоттинг с использованием чистых бумажных полотенец.

g) Добавить 200 мкл конъюгата IP-10 в каждую лунку. Накрыть новым адгезивным стрипом. Инкубировать в течение 45 минут при комнатной температуре на шейкере для микропланшетов (орбита 3 мм) при 550 об/мин.

h) Повторить аспирацию/промывание как на стадии (g).

i) Добавить 200 мкл субстратного раствора в каждую лунку. Инкубировать в течение 10 минут при комнатной температуре. Обеспечить защиту от света.

j) Добавить 50 мкл раствора для остановки в каждую лунку. Цвет в лунках должен измениться с синего на желтый. Если цвет в лунках является зеленым или изменение цвета не является равномерным, следует осторожно постучать по планшету для обеспечения тщательного смешивания.

k) Немедленно определить оптическую плотность каждой лунки с применением сканера для микропланшетов, настроенного на 450 нм.

Установить величину коррективки длины волны на 570 нм, что будет обеспечивать коррективку оптических изъянов в планшете.

Вычисление концентраций IP-10: Усреднить дублированные показания для каждого образца и вычесть оптическую плотность нулевого стандарта (O.D.). Создать стандартную кривую путем нанесения средней величины адсорбции для каждого стандарта (ось y) относительно концентрации (ось x) и построить аппроксимированную линейную кривую. Минимальное значение  $r^2$  не должно падать ниже 0,96. В случае наличия более низких значений  $r^2$  следует повторить эксперимент для получения надежных результатов.

Прецизионность: Прецизионность оценивали на основе руководств EP05-A2 Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI) (бывш. Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам США, NCCLS). Для анализа прецизионности применяли три образца с низкими (69,4 пг/мл), промежуточными (228,2 пг/мл) и высокими (641,5 пг/мл) физиологическими концентрациями. Результаты приведены в Таблице 24, где  $S_r$  представляет собой межсерийную прецизионность, а  $S_T$  представляет собой межлабораторную прецизионность:

**Таблица 24**

| Высокая<br>(641,5 пг/мл) | Средняя<br>(228,2 пг/мл) | Низкая<br>(69,4 пг/мл) |              |
|--------------------------|--------------------------|------------------------|--------------|
| 18                       | 18                       | 18                     | # повторов   |
| 36                       | 36                       | 36                     | # дубликатов |
| 21,1                     | 5,6                      | 4,0                    | $S_r$ пг/мл  |
| 3,3%                     | 2,4%                     | 5,8%                   | $S_r$ CV (%) |
| 37,2                     | 12,9                     | 4,9                    | $S_T$ пг/мл  |
| 5,8%                     | 5,7%                     | 7,1%                   | $S_T$ CV (%) |

Степень извлечения: Степень извлечения оценивали путем добавления трех уровней IP-10 человека, 500, 250 и 125 пг/мл, к 5 образцам сыворотки человека без детектируемых уровней IP-10. Затем измеряли и вычисляли подвергнутые добавлению значения и среднюю степень извлечения, как показано в Таблице 25 ниже.

**Table 25**

| Диапазон | Среднее извлечение, % | Образец                |
|----------|-----------------------|------------------------|
| 72-80%   | 77                    | Сыворотка/плазма (n=5) |

Линейность: Для анализа линейности анализа IP-10 пять клинических образцов, содержащих высокие концентрации IP-10 в диапазоне от 873,7 до 1110,4 пг/мл, подвергали последовательному разбавлению с применением заменителя сыворотки для получения образцов со значениями в рамках физиологического диапазона исследования. Линейность в среднем составляла 98%, 102%) и 104%) для 1:2, 1:4 и 1:8 разбавлений, соответственно, как указано в Таблице 26 ниже.

**Таблица 26**

| Сыворотка (n=5) |                                 |     |
|-----------------|---------------------------------|-----|
| 98%             | Средняя ожидаемая линейность, % | 1:2 |
| 93-102%         | Диапазон, %                     |     |
| 102%            | Средняя ожидаемая линейность, % | 1:4 |
| 97-107%         | Диапазон, %                     |     |
| 104%            | Средняя ожидаемая линейность, % | 1:8 |
| 96-111%         | Диапазон, %                     |     |

Чувствительность: Для анализа Предела измерения холостого образца (Limitation of Blank, LOB) авторы протестировали 72 холостых образца заменителя сыворотки.

Среднее значение холостых образцов составляло 0,23 пг/мл, а стандартное отклонение составляло 1,26 пг/мл, что приводило к получению значения LOB 2,29 пг/мл.

Для анализа Предела обнаружения (Limitation of Detection, LOD) следовали руководствам CLSI EP17-A. Кратко, было охарактеризовано распределение результатов вокруг семи предварительно определенных концентраций, каждой из которых соответствовали 30 независимых результатов (всего 210 результатов), с получением значения LOD 10 пг/мл.

Калибровка: В рамках данного иммуноанализа проводили калибровку относительно высокоочищенного экспрессируемого E-coli рекомбинантного IP-10 человека.

Ожидаемые значения: Образцы, полученные от очевидно здоровых добровольцев, подвергали анализу на наличие IP-10. Значения диапазона и средний величины приведены в Таблице 27 ниже.

**Table 27**

| Диапазон, пг/мл | Средняя величина, пг/мл | Тип образца      |
|-----------------|-------------------------|------------------|
| 29-525          | 119                     | Сыворотка (n=34) |

Перекрестная реактивность и интерференция: Данный анализ обеспечивает

различение естественного и рекомбинантного IP-10 человека. Факторы BLC/BCA-1, ENA-78, GCP-2, GRO $\alpha$ , GRO $\gamma$ , IFN- $\gamma$ , IL-8, I-TAC, MIG, NAP-2, SDF-1 $\alpha$  и SDF-1 $\beta$  получали в количестве 50 нг/мл в заместителе сыворотки и анализировали на перекрестную реактивность. Дополнительно, препараты на основе данных факторов в количестве 50 пг/мл в контроле на основе рекомбинантного IP-10 человека среднего диапазона тестировали на интерференцию. Значительная перекрестная реактивность или интерференция не наблюдалась.

#### ПРИМЕР 10

##### TRAIL И ПРОГНОЗ РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Часто является полезным с клинической точки зрения проанализировать у пациентов прогноз, тяжесть заболевания и конечный исход. Авторы настоящего изобретения определили, что низкие уровни TRAIL значительно коррелируют с плохим прогнозом и конечным исходом у пациента, а также с высокой тяжестью заболевания. Например, взрослые пациенты в отделении интенсивной терапии (ICU) имели значительно более низкие уровни TRAIL по сравнению со всеми другими пациентами, которые были менее больными вне зависимости от инфекционной или неинфекционной этиологии заболевания. Медианные значения концентрации в сыворотке составляли 9 пг/мл против 80 пг, соответственно (р-значение ранговой суммы  $<0,001$ , Фиг. 36А), для тяжелобольных пациентов и остальных пациентов, соответственно.

40 пациентов детского возраста из Нидерландов в возрасте от 3 месяцев до 5 лет. Уровень TRAIL в сыворотке измеряли у 40 пациентов детского возраста из Нидерландов в возрасте от 3 месяцев до 5 лет. Было обнаружено, что пациенты, которые соответствовали критериям поступления в ICU (что являлось признаком осложнения заболевания и плохого прогноза) или даже умирали, имели значительно более низкие концентрации TRAIL в сыворотке по сравнению с остальными пациентами (медиана 11 против 85, соответственно, Р-значение ранговой суммы  $P<0,001$ ), как изображено на Фиг. 36В. Удивительно, что наиболее низкие уровни TRAIL ( $<5$  пг/мл) определяли только у двух детей из всей группы, которые умерли. Данные результаты свидетельствуют о том, что TRAIL может применяться в качестве прогностического маркера для прогнозирования тяжести заболевания и конечного исхода.

#### ПРИМЕР 11

##### TRAIL - ПАРАМЕТРЫ ВОЗРАСТА И ПОЛА

Базальные уровни TRAIL у здоровых субъектов или пациентов с неинфекционным заболеванием являются более низкими у женщин по сравнению с мужчинами в рамках детородного возраста (Р-значение t-теста  $<0,001$ ) (см. Фиг. 37А), однако не различаются в рамках пре- или пост-детородного возраста (Р-значение t-теста=0,9, Фиг. 37А). Данный тренд не наблюдался у пациентов с инфекционным заболеванием.

#### ПРИМЕР 12

##### Примеры многообразий, гиперплоскостей и координат

##### Одномерное многообразие

Если  $n=1$ , то многообразие  $S$  представляет собой кривую, а гиперплоскость  $\pi$  представляет собой ось, образующую одно направление  $\delta_1$ . Координата  $\delta_1$  в данном Примере необязательно и предпочтительно представляет собой линейную комбинацию  $b_0+b_1D_1+b_2D_2+\dots$  полипептидов  $D_1$ ,  $D_2$  и так далее.

В Таблице 28 ниже перечислены показатели диагностической эффективности (в виде AUC), достигнутые при  $n=1$ . Показатели эффективности вычисляли с применением перекрестной проверки с исключением 10% на группе, указанной в каждой строке. В строках 1-4 анализируемые субъекты имели либо бактериальные или вирусные инфекции

и осуществлялось вычисление координаты  $\delta_1$ , таким образом что функция вероятностной классификации  $f(\delta_1)$  отражала вероятность того, что тестируемый субъект имел бактериальную инфекцию. В строках 5-8 анализируемые субъекты имели либо инфекционные или неинфекционные заболевания и осуществлялось вычисление координаты  $\delta_1$ , таким образом что функция вероятностной классификации  $f(\delta_1)$  отражала вероятность того, что тестируемый субъект имел инфекционное заболевание. В строках 10-12 анализируемые субъекты имели бактериальную или небактериальную инфекцию и осуществлялось вычисление координаты  $\delta_1$ , таким образом что функция вероятностной классификации  $f(\delta_1)$  отражала вероятность того, что тестируемый субъект имел бактериальную инфекцию. В строках 1-4 столбцы Р и N соответствуют количеству пациентов с бактериальным и вирусным заболеванием, соответственно, в строках 5-8 столбцы Р и N соответствуют количеству пациентов с инфекционным и неинфекционным заболеванием, соответственно, а в строках 9-12 столбцы Р и N соответствуют количеству пациентов с бактериальным и небактериальным заболеванием, соответственно. "Мажоритарная" и "Единогласная" указывают на тип группы, в рамках которой была проверена модель.

Table 28

| N   | P   | AUC  | Полипептиды |       |     | Группа       | №  |
|-----|-----|------|-------------|-------|-----|--------------|----|
| 334 | 319 | 0,93 |             | TRAIL | CRP | Мажоритарная | 1  |
| 334 | 319 | 0,94 | TRAIL       | IP-10 | CRP | Мажоритарная | 2  |
| 271 | 256 | 0,95 |             | TRAIL | CRP | Единогласная | 3  |
| 271 | 256 | 0,96 | TRAIL       | IP-10 | CRP | Единогласная | 4  |
| 112 | 653 | 0,93 |             | TRAIL | CRP | Мажоритарная | 5  |
| 112 | 653 | 0,96 | TRAIL       | IP-10 | CRP | Мажоритарная | 6  |
| 112 | 527 | 0,93 |             | TRAIL | CRP | Единогласная | 7  |
| 112 | 527 | 0,97 | TRAIL       | IP-10 | CRP | Единогласная | 8  |
| 446 | 319 | 0,94 |             | TRAIL | CRP | Мажоритарная | 9  |
| 446 | 319 | 0,94 | TRAIL       | IP-10 | CRP | Мажоритарная | 10 |
| 383 | 256 | 0,95 |             | TRAIL | CRP | Единогласная | 11 |
| 383 | 256 | 0,96 | TRAIL       | IP-10 | CRP | Единогласная | 12 |

В Таблице 29 ниже перечислены коэффициенты  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$  и так далее, которые применяли для определения координаты  $\delta_1$ , для каждого из 12 случаев, перечисленных в Таблице 28, соответственно. Первый коэффициент слева представляет собой  $b_0$  и затем слева направо указаны коэффициенты, соответствующие порядку полипептидов в каждой строке Таблицы 28. Коэффициенты соответствуют следующим показателям концентрации для каждого полипептида: TRAIL (пг/мл), IP-10 (пг/мл) и CRP (мкг/мл).

Для указанного набора полипептидов полученные коэффициенты обладают небольшими вариациями среди разных групп. Тем не менее, коэффициенты для функций вероятностной классификации и координаты в рамках настоящих вариантов осуществления изобретения предпочтительно соответствуют тем, которые были получены для Мажоритарной группы.

Таблица 29

| Коэффициенты |             |          |           | №  |
|--------------|-------------|----------|-----------|----|
|              | -0,029953   | 0,027472 | 0,64814   | 1  |
| -0,029013    | -0,00028168 | 0,028119 | 0,71542   | 2  |
|              | -0,033669   | 0,034565 | 0,636     | 3  |
| -0,03195     | -0,00058691 | 0,035748 | 0,79543   | 4  |
|              | 0,016837    | 0,17237  | -2,0549   | 5  |
| 0,005213     | 0,00592     | 0,1263   | -2,3344   | 6  |
|              | 0,018624    | 0,16625  | -2,3469   | 7  |
| 0,0079169    | 0,0061124   | 0,12261  | -2,7949   | 8  |
|              | -0,027839   | 0,034954 | -0,08503  | 9  |
| -0,027916    | 2,2524e-05  | 0,034878 | -0,088207 | 10 |
|              | -0,030997   | 0,044289 | -0,26606  | 11 |
| -0,03042     | -0,00018635 | 0,044938 | -0,23907  | 12 |

В Таблице 30 ниже перечислены показатели диагностической эффективности (в AUC), полученные для одномерного многообразия. Показатели эффективности вычисляли с применением перекрестной проверки с исключением 10% на Мажоритарной группе. В строках 1-55 анализируемые субъекты имели либо бактериальные или вирусные инфекции, а функция вероятностной классификации  $f(\delta_1)$  отражала вероятность того, что тестируемый субъект имел бактериальную инфекцию. В строках 56-110 анализируемые субъекты имели либо инфекционные или неинфекционные заболевания, а функция вероятностной классификации  $f(\delta_1)$  отражала вероятность того, что тестируемый субъект имел инфекционное заболевание. В строках 1-55 столбцы Р и N соответствуют количеству пациентов с бактериальным и вирусным заболеванием, соответственно, а в строках 56-110 столбцы Р и N соответствуют количеству пациентов с инфекционным и неинфекционным заболеванием, соответственно.

Таблица 30

| N   | P   | AUC  | Полипептиды |  |  |       |       |       | №  |
|-----|-----|------|-------------|--|--|-------|-------|-------|----|
| 141 | 142 | 0,88 |             |  |  |       | IL1ra | CRP   | 1  |
| 299 | 295 | 0,90 |             |  |  |       | IP-10 | CRP   | 2  |
| 50  | 51  | 0,87 |             |  |  |       | PCT   | CRP   | 3  |
| 241 | 255 | 0,90 |             |  |  |       | SAA   | CRP   | 4  |
| 142 | 142 | 0,64 |             |  |  |       | IP-10 | IL1ra | 5  |
| 14  | 19  | 0,62 |             |  |  |       | PCT   | IL1ra | 6  |
| 122 | 124 | 0,83 |             |  |  |       | SAA   | IL1ra | 7  |
| 142 | 142 | 0,88 |             |  |  |       | TRAIL | IL1ra | 8  |
| 49  | 51  | 0,74 |             |  |  |       | PCT   | IP-10 | 9  |
| 242 | 251 | 0,85 |             |  |  |       | SAA   | IP-10 | 10 |
| 297 | 295 | 0,88 |             |  |  |       | TRAIL | IP-10 | 11 |
| 40  | 45  | 0,78 |             |  |  |       | SAA   | PCT   | 12 |
| 50  | 51  | 0,87 |             |  |  |       | TRAIL | PCT   | 13 |
| 244 | 255 | 0,90 |             |  |  |       | TRAIL | SAA   | 14 |
| 141 | 142 | 0,90 |             |  |  | IP-10 | IL1ra | CRP   | 15 |
| 14  | 19  | 0,82 |             |  |  | PCT   | IL1ra | CRP   | 16 |
| 121 | 124 | 0,89 |             |  |  | SAA   | IL1ra | CRP   | 17 |
| 141 | 142 | 0,94 |             |  |  | TRAIL | IL1ra | CRP   | 18 |
| 49  | 51  | 0,89 |             |  |  | PCT   | IP-10 | CRP   | 19 |
| 239 | 251 | 0,91 |             |  |  | SAA   | IP-10 | CRP   | 20 |
| 40  | 45  | 0,88 |             |  |  | SAA   | PCT   | CRP   | 21 |
| 50  | 51  | 0,93 |             |  |  | TRAIL | PCT   | CRP   | 22 |
| 241 | 255 | 0,94 |             |  |  | TRAIL | SAA   | CRP   | 23 |
| 14  | 19  | 0,62 |             |  |  | PCT   | IP-10 | IL1ra | 24 |
| 122 | 124 | 0,85 |             |  |  | SAA   | IP-10 | IL1ra | 25 |
| 142 | 142 | 0,88 |             |  |  | TRAIL | IP-10 | IL1ra | 26 |
| 13  | 17  | 0,76 |             |  |  | SAA   | PCT   | IL1ra | 27 |
| 14  | 19  | 0,71 |             |  |  | TRAIL | PCT   | IL1ra | 28 |

|    |     |     |      |       |       |       |       |       |       |    |
|----|-----|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|
|    | 122 | 124 | 0,92 |       |       |       | TRAIL | SAA   | IL1ra | 29 |
|    | 39  | 45  | 0,81 |       |       |       | SAA   | PCT   | IP-10 | 30 |
|    | 49  | 51  | 0,86 |       |       |       | TRAIL | PCT   | IP-10 | 31 |
| 5  | 242 | 251 | 0,91 |       |       |       | TRAIL | SAA   | IP-10 | 32 |
|    | 40  | 45  | 0,86 |       |       |       | TRAIL | SAA   | PCT   | 33 |
|    | 14  | 19  | 0,83 |       |       | PCT   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 34 |
|    | 121 | 124 | 0,92 |       |       | SAA   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 35 |
|    | 141 | 142 | 0,94 |       |       | TRAIL | IP-10 | IL1ra | CRP   | 36 |
| 10 | 13  | 17  | 0,74 |       |       | SAA   | PCT   | IL1ra | CRP   | 37 |
|    | 14  | 19  | 0,90 |       |       | TRAIL | PCT   | IL1ra | CRP   | 38 |
|    | 121 | 124 | 0,94 |       |       | TRAIL | SAA   | IL1ra | CRP   | 39 |
|    | 39  | 45  | 0,88 |       |       | SAA   | PCT   | IP-10 | CRP   | 40 |
|    | 49  | 51  | 0,92 |       |       | TRAIL | PCT   | IP-10 | CRP   | 41 |
| 15 | 239 | 251 | 0,94 |       |       | TRAIL | SAA   | IP-10 | CRP   | 42 |
|    | 40  | 45  | 0,92 |       |       | TRAIL | SAA   | PCT   | CRP   | 43 |
|    | 13  | 17  | 0,70 |       |       | SAA   | PCT   | IP-10 | IL1ra | 44 |
|    | 14  | 19  | 0,70 |       |       | TRAIL | PCT   | IP-10 | IL1ra | 45 |
|    | 122 | 124 | 0,91 |       |       | TRAIL | SAA   | IP-10 | IL1ra | 46 |
| 20 | 13  | 17  | 0,82 |       |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IL1ra | 47 |
|    | 39  | 45  | 0,85 |       |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IP-10 | 48 |
|    | 13  | 17  | 0,82 |       | SAA   | PCT   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 49 |
|    | 14  | 19  | 0,75 |       | TRAIL | PCT   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 50 |
|    | 121 | 124 | 0,94 |       | TRAIL | SAA   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 51 |
| 25 | 13  | 17  | 0,78 |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IL1ra | CRP   | 52 |
|    | 39  | 45  | 0,92 |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IP-10 | CRP   | 53 |
|    | 13  | 17  | 0,62 |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IP-10 | IL1ra | 54 |
|    | 13  | 17  | 0,74 | TRAIL | SAA   | PCT   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 55 |
|    | 87  | 283 | 0,91 |       |       |       |       | IL1ra | CRP   | 56 |
| 30 | 102 | 594 | 0,96 |       |       |       |       | IP-10 | CRP   | 57 |
|    | 6   | 101 | 0,85 |       |       |       |       | PCT   | CRP   | 58 |
|    | 78  | 496 | 0,91 |       |       |       |       | SAA   | CRP   | 59 |
|    | 87  | 284 | 0,89 |       |       |       |       | IP-10 | IL1ra | 60 |
|    | 6   | 33  | 0,79 |       |       |       |       | PCT   | IL1ra | 61 |
| 35 | 64  | 246 | 0,91 |       |       |       |       | SAA   | IL1ra | 62 |
|    | 87  | 284 | 0,86 |       |       |       |       | TRAIL | IL1ra | 63 |
|    | 6   | 100 | 0,73 |       |       |       |       | PCT   | IP-10 | 64 |
|    | 81  | 493 | 0,96 |       |       |       |       | SAA   | IP-10 | 65 |
|    | 107 | 592 | 0,91 |       |       |       |       | TRAIL | IP-10 | 66 |
| 40 | 3   | 85  | 0,89 |       |       |       |       | SAA   | PCT   | 67 |
|    | 7   | 101 | 0,60 |       |       |       |       | TRAIL | PCT   | 68 |
|    | 81  | 499 | 0,93 |       |       |       |       | TRAIL | SAA   | 69 |
|    | 87  | 283 | 0,95 |       |       |       | IP-10 | IL1ra | CRP   | 70 |
|    | 6   | 33  | 0,76 |       |       |       | PCT   | IL1ra | CRP   | 71 |
| 45 | 64  | 245 | 0,92 |       |       |       | SAA   | IL1ra | CRP   | 72 |
|    | 87  | 283 | 0,93 |       |       |       | TRAIL | IL1ra | CRP   | 73 |

|    |    |     |      |       |       |       |       |       |       |     |
|----|----|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
|    | 6  | 100 | 0,81 |       |       |       | PCT   | IP-10 | CRP   | 74  |
|    | 78 | 490 | 0,97 |       |       |       | SAA   | IP-10 | CRP   | 75  |
|    | 3  | 85  | 0,88 |       |       |       | SAA   | PCT   | CRP   | 76  |
| 5  | 6  | 101 | 0,87 |       |       |       | TRAIL | PCT   | CRP   | 77  |
|    | 78 | 496 | 0,95 |       |       |       | TRAIL | SAA   | CRP   | 78  |
|    | 6  | 33  | 0,77 |       |       |       | PCT   | IP-10 | IL1ra | 79  |
|    | 64 | 246 | 0,94 |       |       |       | SAA   | IP-10 | IL1ra | 80  |
|    | 87 | 284 | 0,90 |       |       |       | TRAIL | IP-10 | IL1ra | 81  |
| 10 | 3  | 30  | 0,72 |       |       |       | SAA   | PCT   | IL1ra | 82  |
|    | 6  | 33  | 0,67 |       |       |       | TRAIL | PCT   | IL1ra | 83  |
|    | 64 | 246 | 0,90 |       |       |       | TRAIL | SAA   | IL1ra | 84  |
|    | 3  | 84  | 0,98 |       |       |       | SAA   | PCT   | IP-10 | 85  |
|    | 6  | 100 | 0,68 |       |       |       | TRAIL | PCT   | IP-10 | 86  |
| 15 | 81 | 493 | 0,96 |       |       |       | TRAIL | SAA   | IP-10 | 87  |
|    | 3  | 85  | 0,98 |       |       |       | TRAIL | SAA   | PCT   | 88  |
|    | 6  | 33  | 0,77 |       |       | PCT   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 89  |
|    | 64 | 245 | 0,95 |       |       | SAA   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 90  |
|    | 87 | 283 | 0,95 |       |       | TRAIL | IP-10 | IL1ra | CRP   | 91  |
| 20 | 3  | 30  | 0,73 |       |       | SAA   | PCT   | IL1ra | CRP   | 92  |
|    | 6  | 33  | 0,74 |       |       | TRAIL | PCT   | IL1ra | CRP   | 93  |
|    | 64 | 245 | 0,92 |       |       | TRAIL | SAA   | IL1ra | CRP   | 94  |
|    | 3  | 84  | 0,98 |       |       | SAA   | PCT   | IP-10 | CRP   | 95  |
|    | 6  | 100 | 0,77 |       |       | TRAIL | PCT   | IP-10 | CRP   | 96  |
| 25 | 78 | 490 | 0,97 |       |       | TRAIL | SAA   | IP-10 | CRP   | 97  |
|    | 3  | 85  | 0,80 |       |       | TRAIL | SAA   | PCT   | CRP   | 98  |
|    | 3  | 30  | 0,91 |       |       | SAA   | PCT   | IP-10 | IL1ra | 99  |
|    | 6  | 33  | 0,67 |       |       | TRAIL | PCT   | IP-10 | IL1ra | 100 |
|    | 64 | 246 | 0,94 |       |       | TRAIL | SAA   | IP-10 | IL1ra | 101 |
| 30 | 3  | 30  | 0,78 |       |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IL1ra | 102 |
|    | 3  | 84  | 0,65 |       |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IP-10 | 103 |
|    | 3  | 30  | 0,91 |       | SAA   | PCT   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 104 |
|    | 6  | 33  | 0,66 |       | TRAIL | PCT   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 105 |
|    | 64 | 245 | 0,95 |       | TRAIL | SAA   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 106 |
| 35 | 3  | 30  | 0,73 |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IL1ra | CRP   | 107 |
|    | 3  | 84  | 0,97 |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IP-10 | CRP   | 108 |
|    | 3  | 30  | 0,78 |       | TRAIL | SAA   | PCT   | IP-10 | IL1ra | 109 |
|    | 3  | 30  | 0,73 | TRAIL | SAA   | PCT   | IP-10 | IL1ra | CRP   | 110 |

В Таблице 31 ниже перечислены коэффициенты  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$  и так далее, которые применяли для определения координаты  $\delta_1$ , для каждого из 110 случаев, перечисленных в Таблице 30, соответственно. Первый коэффициент слева представляет собой  $b_0$  и затем слева направо указаны коэффициенты, соответствующие порядку полипептидов в каждой строке Таблицы 30.

Коэффициенты соответствуют следующим показателям концентрации для каждого полипептида: TRAIL (пг/мл), IP-10 (пг/мл), CRP (мкг/мл), PCT (нг/мл), SAA (г/мл) и IL1ra (г/мл).



Таблица 31

| Коэффициенты |  |          |           |            |                |            | №  |
|--------------|--|----------|-----------|------------|----------------|------------|----|
|              |  |          |           | -9849178,8 | 0,0363         | -1,997     | 1  |
|              |  |          |           | -0,0009    | 0,039722       | -1,6069    | 2  |
| 5            |  |          |           | 0,6405     | 0,054137       | -2,9681    | 3  |
|              |  |          |           | 1098,3777  | 0,034353       | -2,33196   | 4  |
|              |  |          |           | -0,00089   | 47954608,09    | 0,4715979  | 5  |
|              |  |          |           | 4,5607     | -69280395,624  | -0,74822   | 6  |
|              |  |          |           | 5283,68    | -33345728,8342 | -1,706206  | 7  |
| 10           |  |          |           | -0,03151   | 43833567,7377  | 3,0601663  | 8  |
|              |  |          |           | 0,86013    | -0,00060898    | -0,13268   | 9  |
|              |  |          |           | 4677,8311  | -0,0009684361  | -1,01872   | 10 |
|              |  |          |           | -0,0288    | 0,00031349     | 2,5632     | 11 |
|              |  |          |           | 2349,8702  | 1,1895403      | -1,35195   | 12 |
| 15           |  |          |           | -0,019169  | 0,4382         | 1,4742     | 13 |
|              |  |          |           | -0,02176   | 2962,7685      | 1,08972    | 14 |
|              |  |          | -0,00165  | 6,264E+7   | 0,039986       | -1,27532   | 15 |
|              |  |          | 1,07655   | -8,42E+7   | 0,0475326      | -2,3376    | 16 |
|              |  |          | 2098,4    | -2,22E+7   | 0,027867       | -2,23709   | 17 |
|              |  |          | -0,0266   | 2,0497E+7  | 0,030146       | 0,9001561  | 18 |
| 20           |  |          | 0,65349   | -0,0005    | 0,051698       | -2,5383    | 19 |
|              |  |          | 1378,2    | -0,00109   | 0,034481544    | -1,6940577 | 20 |
|              |  |          | -1243,01  | 1,4735726  | 0,054245413    | -2,7487888 | 21 |
|              |  |          | -0,010529 | 0,42793    | 0,04535        | -1,421     | 22 |
|              |  |          | -0,01891  | 183,3117   | 0,0312776      | 0,1044034  | 23 |
| 25           |  |          | 4,8755    | -0,001241  | -4107077       | -0,0013248 | 24 |
|              |  |          | 5777      | -0,001377  | 21179055       | -1,054077  | 25 |
|              |  |          | -0,03151  | -1,118-06  | 43882108       | 3,0605     | 26 |
|              |  |          | 4823      | 2,91       | -68741718      | -1,9806377 | 27 |
|              |  |          | -0,0342   | 1,941      | 113905139,6    | 2,844483   | 28 |
| 30           |  |          | -0,0264   | 3745,49    | -7296968,1     | 1,4399     | 29 |
|              |  |          | 2427,6    | 1,3263344  | -0,000765      | -0,8562752 | 30 |
|              |  |          | -0,020588 | 0,38993    | 0,00045394     | 1,357      | 31 |
|              |  |          | -0,021174 | 3048,4182  | -0,000163      | 1,0917705  | 32 |
|              |  |          | -0,013629 | 1431,011   | 0,89320046     | 0,48274    | 33 |
|              |  | 1,5      | -0,003888 | 75533424   | 0,07214        | -0,6620    | 34 |
| 35           |  | 2425,771 | -0,002    | 59894763   | 0,034006       | -1,433018  | 35 |
|              |  | -0,0251  | -0,00084  | 50294164   | 0,03259        | 1,074937   | 36 |
|              |  | 893,395  | 1,1316    | -70994467  | 0,038          | -2,302     | 37 |
|              |  | -0,0477  | -0,084    | -81575254  | 0,061632       | 1,903272   | 38 |
|              |  | -0,02483 | 1236      | 10145313   | 0,025          | 0,65146    | 39 |
| 40           |  | -949,2   | 1,528887  | -5,5688E-4 | 0,04984696     | -2,32016   | 40 |

|        |         |           |           |            |                |            |    |
|--------|---------|-----------|-----------|------------|----------------|------------|----|
|        |         | -0,011113 | 0,40033   | 0,00021523 | 0,045264       | -1,4662    | 41 |
|        |         | -0,0177   | 329,7448  | -0,0003975 | 0,03169        | 0,14333    | 42 |
|        |         | -0,011    | -1930,2   | 1,24       | 0,050385       | -1,109923  | 43 |
|        |         | 6082,17   | 4,286     | -0,002014  | 2715886        | -1,087150  | 44 |
|        |         | -0,0397   | 2,126     | 0,00092636 | -1508120       | 2,9154     | 45 |
|        |         | -0,0252   | 4082,939  | -0,00062   | 17100158       | 1,55114    | 46 |
|        |         | -0,0560   | 7639,7    | 0,68134    | -27909258      | 2,85226    | 47 |
|        |         | -0,0134   | 1423,99   | 0,87764371 | 6,13e-05       | 0,446      | 48 |
|        | 4736,86 | 1,250     | -0,00652  | 172681901  | 0,07676        | -0,3021    | 49 |
|        | -0,044  | -0,121    | -0,000873 | -4,62E+7   | 0,0671         | 1,937      | 50 |
|        | -0,0219 | 1576,6    | -0,00134  | 54069432   | 0,029267       | 0,78878    | 51 |
|        | -0,055  | 3598      | -0,098620 | -74159142  | 0,041577       | 2,309      | 52 |
|        | -0,0116 | -2055     | 1,188     | 0,00023    | 0,0512         | -1,1542    | 53 |
|        | -0,055  | 8903,82   | 1,03      | -0,0012627 | 14035678       | 3,2        | 54 |
| -0,078 | 14133   | -0,687    | -0,009695 | 1,062E+8   | 0,10           | 5,59       | 55 |
|        |         |           |           | 3,996E+8   | 0,11089        | -1,021759  | 56 |
|        |         |           |           | 0,0063336  | 0,11347        | -1,9467    | 57 |
|        |         |           |           | 860,3249   | 0,0639025      | -84,98948  | 58 |
|        |         |           |           | 9898,8177  | 0,091563631    | -0,3299621 | 59 |
|        |         |           |           | 0,00721    | 107920251,6624 | -1,0006445 | 60 |
|        |         |           |           | 419,2      | 596535240      | -41,585735 | 61 |
|        |         |           |           | 14320      | 234257296,8937 | -0,4789050 | 62 |
|        |         |           |           | 0,00066    | 812307573,5455 | 0,09918792 | 63 |
|        |         |           |           | 1089,4251  | 0,00069423293  | -107,18015 | 64 |
|        |         |           |           | 12590,5    | 0,00967490979  | -2,05501   | 65 |
|        |         |           |           | -0,00905   | 0,0092076      | 0,19189    | 66 |
|        |         |           |           | 165893,71  | 122,7205081    | -11,30895  | 67 |
|        |         |           |           | 0,0041105  | 6,5788         | 0,98581    | 68 |
|        |         |           |           | 0,010541   | 19453,2163     | -1,366750  | 69 |
|        |         |           | 0,0062    | -77782071  | 0,10876        | -2,301980  | 70 |
|        |         |           | 393,7     | 559628637  | 0,048935       | -39,915    | 71 |
|        |         |           | 8656,83   | 244256710  | 0,0663         | -0,885780  | 72 |
|        |         |           | 0,0129    | 157875482  | 0,142003       | -2,694252  | 73 |
|        |         |           | 846,608   | 0,0014     | 0,07831107     | -84,66684  | 74 |
|        |         |           | 5900,1661 | 0,00927    | 0,081369191    | -2,5885198 | 75 |
|        |         |           | 131629    | 108,84     | 0,06793071342  | -10,12169  | 76 |
|        |         |           | 0,011421  | 822,6365   | 0,08303337     | -82,88872  | 77 |
|        |         |           | 0,013257  | 10662,5415 | 0,106214424    | -2,33978   | 78 |
|        |         |           | 417,43    | -0,000381  | 744190123,3893 | -41,369532 | 79 |
|        |         |           | 12128     | 0,0091619  | -130390666     | -2,266204  | 80 |
|        |         |           | -0,005459 | 0,007583   | 82287681       | -0,50010   | 81 |
|        |         |           | 377360    | -8,1908    | 6837963488     | -2,47028   | 82 |
|        |         |           | 0,00099   | 418,212    | 560182293      | -41,5502   | 83 |
|        |         |           | 0,011194  | 17111,2    | 29398797       | -1,8577    | 84 |
|        |         |           | 21649017  | 28,96307   | 0,4328         | -156,16    | 85 |
|        |         |           | 0,00330   | 1086,1672  | 0,00029753173  | -107,01823 | 86 |

|    |          |           |             |             |                |            |           |
|----|----------|-----------|-------------|-------------|----------------|------------|-----------|
| 5  |          |           | -9,3941e-05 | 12572,6828  | 0,00969        | -2,0464    | 87        |
|    |          |           | 24,2        | 80696477    | 471,6          | -2614,99   | 88        |
|    |          | 392,929   | -0,0001     | 611767730   | 0,0491         | -39,82     | 89        |
|    |          | 6854      | 0,00937     | -157521601  | 0,070555       | -2,81351   | 90        |
|    |          | 0,005871  | 0,00552     | -61236289   | 0,118          | -2,9416    | 91        |
|    |          | 403954    | -8,6576     | 7107285383  | -0,07356       | -2,349     | 92        |
|    |          | 0,00857   | 373,75      | 383823513   | 0,05763        | -38,781    | 93        |
|    |          | 0,013998  | 9692,125    | -4665192,1  | 0,0965657      | -2,782     | 94        |
|    |          | 4998296   | -132,70     | 0,3202      | 10,567847038   | -132,7427  | 95        |
|    | 10       |           | 0,00927     | 827,6066    | 0,000498       | 0,08349426 | -83,41464 |
|    |          | 0,00369   | 6461,9905   | 0,008696    | 0,084631596    | -2,9639303 | 97        |
|    |          | 2,32E+12  | 4,83248e+18 | -1,05E+14   | 9037614498892  | 1,185E+14  | 98        |
|    |          | 9471186   | -296        | 0,196688    | 116933544267   | -99,64     | 99        |
| 15 |          | 0,002761  | 413,88      | -0,00058    | 713679677,7954 | -41,177966 | 100       |
|    |          | 0,00349   | 12684,8     | 0,0088176   | -124943185     | -2,6391378 | 101       |
|    |          | 1,3718    | 8853215     | -272,0191   | 68076716508    | -163,16785 | 102       |
|    |          | 0,9352    | 11007611    | 24,21772    | 0,09197        | -134,8402  | 103       |
|    | 5448434  | -195      | 0,1975318   | 32157214873 | 5,367          | -82,7      | 104       |
|    | 0,024158 | 327,2     | -0,002344   | 823767988   | 0,0803         | -35,325    | 105       |
| 20 | 0,0065   | 7390,9    | 0,008791    | -151905670  | 0,080040       | -3,579     | 106       |
|    | 2,78     | -1129873  | -106,418    | 43593035460 | 29,2           | -338,972   | 107       |
|    | 1,563    | -96788,08 | -22,217     | 0,4843      | 8,2370         | -237,8248  | 108       |
|    | 4,06E+12 | 1,757e+18 | 2,798E+13   | 3,97E+12    | -5,96133e+22   | -8,51E+14  | 109       |
|    | 1,839    | -9,83E+5  | -16,687     | 0,58062     | -4575512593    | 9,549      | -276,3    |

#### Двумерное многообразие

Если  $n=2$ , то многообразие  $S$  представляет собой кривую поверхность, а гиперплоскость  $\pi$  представляет собой плоскую плоскость, образованную первым направлением  $\delta_0$  и вторым направлением  $\delta_1$ . Координата  $\delta_0$  в данном Примере необязательно и предпочтительно представляет собой линейную комбинацию  $a_0+a_1D_1+a_2D_2+\dots$  полипептидов  $D_1$ ,  $D_2$  и так далее; а координата  $\delta_1$  в данном Примере необязательно и предпочтительно представляет собой линейную комбинацию  $b_0+b_1D_1+b_2D_2+\dots$  полипептидов  $D_1$ ,  $D_2$  и так далее.

В Таблицах 32-35 ниже перечислены показатели диагностической эффективности (в AUC), полученные для случая  $n=2$ . Показатели эффективности вычисляли с применением перекрестной проверки с исключением 10% на подмножестве Мажоритарной группы, которое имело достаточное количество сыворотки для измерения уровней всех белков. Вычисляли координаты  $\delta_0$  и  $\delta_1$ , таким образом что функция вероятностной классификации  $f(\delta_0, \delta_1)$  отражала вероятность того, что тестируемый субъект имел бактериальную инфекцию. Значения AUC соответствуют классификациям в соответствии с условием Бактериальное заболевание/Вирусное заболевание (второй столбец справа - Б/В) и Инфекционное заболевание/Неинфекционное заболевание (самый левый столбец - И/НИ). Показаны результаты для вариантов осуществления, в рамках которых множество полипептидов включает два полипептида (Таблица 32), три полипептида (Таблица 33), четыре полипептида (Таблица 34) и пять полипептидов (Таблица 35). Для каждого полипептида указаны коэффициенты для координат  $\delta_0$  и  $\delta_1$ , при этом "Конст." соответствует  $a_0$  при применении в отношении координаты  $\delta_0$  и  $b_0$  при применении в отношении координаты  $\delta_1$ . Коэффициенты соответствуют следующим показателям

концентрации для каждого белка: TRAIL (пг/мл), IP-10 (пг/мл), CRP (мкг/мл), PCT (нг/мл), SAA (г/мл) и IL1ra (г/мл).

**Таблица 32**

| AUC<br>(И/НИ) | AUC<br>(Б/В) |            |             |         |    |
|---------------|--------------|------------|-------------|---------|----|
| 0,91          | 0,88         | TRAIL      | IP-10       | Конст.  |    |
|               |              | 0,0006     | 0,0086      | -0,3333 | 80 |
|               |              | -0,0294    | 0,0089      | 2,4481  | 81 |
|               |              |            |             |         |    |
| 0,95          | 0,89         | IP-10      | CRP         | Конст.  |    |
|               |              | 0,0055     | 0,0517      | -0,474  | 80 |
|               |              | 0,0046     | 0,0902      | -1,9201 | 81 |
|               |              |            |             |         |    |
| 0,96324       | 0,85647      | SAA        | IP-10       | Конст.  |    |
|               |              | 9623,7195  | 0,0089      | -1,0634 | 80 |
|               |              | 14280,3897 | 0,0079      | -2,0098 | 81 |
|               |              |            |             |         |    |
| 0,89408       | 0,63901      | IP-10      | IL1ra       | Конст.  |    |
|               |              | 0,0077     | 77589304,64 | -0,2347 | 80 |
|               |              | 0,0069     | 122880671,4 | 0,3245  | 81 |
|               |              |            |             |         |    |
| 0,735         | 0,70468      | PCT        | IP-10       | Конст.  |    |
|               |              | 0,1778     | 0,0012      | 1,3717  | 80 |
|               |              | 0,9426     | 0,0007      | 1,3073  | 81 |
|               |              |            |             |         |    |
| 0,93          | 0,94         | TRAIL      | CRP         | Конст.  |    |
|               |              | 0,0129     | 0,0647      | -0,551  | 80 |
|               |              | -0,0077    | 0,0953      | -0,1177 | 81 |

|    |         |         |            |             |            |
|----|---------|---------|------------|-------------|------------|
|    |         |         |            |             |            |
|    | 0,92719 | 0,90714 | TRAIL      | SAA         | Конст.     |
|    |         |         | 0,0146     | 15457,6689  | -1,0101 80 |
| 5  |         |         | -0,0081    | 18311,8735  | 0,2736 81  |
|    |         |         |            |             |            |
|    | 0,85523 | 0,88673 | TRAIL      | IL1ra       | Конст.     |
|    |         |         | 0,0118     | 660539652,3 | -0,1638 80 |
| 10 |         |         | -0,0224    | 691029794,9 | 3,3011 81  |
|    |         |         |            |             |            |
|    | 0,69731 | 0,86706 | TRAIL      | PCT         | Конст.     |
|    |         |         | 0,0095     | 0,6699      | 0,7941 80  |
| 15 |         |         | -0,0105    | 1,0871      | 2,4419 81  |
|    |         |         |            |             |            |
|    | 0,92    | 0,89    | SAA        | CRP         | Конст.     |
|    |         |         | 7927,9578  | 0,0371      | 0,9937 80  |
| 20 |         |         | 9043,9184  | 0,0704      | -1,2549 81 |
|    |         |         |            |             |            |
|    | 0,93    | 0,87    | IL1ra      | CRP         | Конст.     |
|    |         |         | 357544464  | 0,0549      | 0,9321 80  |
| 25 |         |         | 345095895  | 0,0895      | -0,8849 81 |
|    |         |         |            |             |            |
|    | 0,85    | 0,88    | PCT        | CRP         | Конст.     |
|    |         |         | 0,1493     | 0,0543      | 1,225 80   |
| 30 |         |         | 0,71       | 0,1052      | -1,48 81   |
|    |         |         |            |             |            |
|    | 0,9154  | 0,82529 | SAA        | IL1ra       | Конст.     |
|    |         |         | 11965      | 233885248   | 0,9453 80  |
| 35 |         |         | 17194,2625 | 201037678   | -0,6599 81 |
|    |         |         |            |             |            |
|    | 0,84314 | 0,78722 | SAA        | PCT         | Конст.     |
|    |         |         | 6627       | -0,6192     | 1,4185 80  |
| 40 |         |         | 8964       | 0,2744      | 0,1417 81  |
|    |         |         |            |             |            |
|    | 0,82323 | 0,58647 | PCT        | IL1ra       | Конст.     |
|    |         |         | -1,0932    | 601268546   | 1,3547 80  |
| 45 |         |         | 0,7431     | 600085479   | 0,7175 81  |

**Таблица 33**

| AUC<br>(И/НИ) | AUC<br>(Б/В) |       |        |        |         |    |
|---------------|--------------|-------|--------|--------|---------|----|
| 0,96          | 0,94         | TRAIL | IP-10  | CRP    | Конст.  |    |
|               |              | 0,005 | 0,0053 | 0,0555 | -1,0317 | 80 |

|    |         |         |           |              |              |        |
|----|---------|---------|-----------|--------------|--------------|--------|
|    |         | -0,0143 | 0,005     | 0,0884       | -0,6693      | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
| 5  | 0,96    | 0,91    | TRAIL     | SAA          | IP-10        | Конст. |
|    |         |         | 0,0047    | 9804,469     | 0,0087       | 80     |
|    |         |         | -0,0167   | 12810,9197   | 0,0085       | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,90    | 0,89    | TRAIL     | IP-10        | IL1ra        | Конст. |
| 10 |         |         | 0,0056    | 0,0072       | 24233992,13  | 80     |
|    |         |         | -0,0282   | 0,0073       | 57162308,55  | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,66    | 0,85    | TRAIL     | PCT          | IP-10        | Конст. |
| 15 |         |         | 0,008     | 0,7463       | 0,0005       | 80     |
|    |         |         | -0,0136   | 1,1103       | 0,001        | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,97318 | 0,91325 | SAA       | IP-10        | CRP          | Конст. |
| 20 |         |         | 4964,9078 | 0,0079       | 0,0389       | 80     |
|    |         |         | 6345,7097 | 0,0069       | 0,0729       | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,95695 | 0,90645 | IP-10     | IL1ra        | CRP          | Конст. |
| 25 |         |         | 0,0062    | -72572842,54 | 0,0635       | 80     |
|    |         |         | 0,0046    | -16278785,64 | 0,1025       | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,8     | 0,88475 | PCT       | IP-10        | CRP          | Конст. |
| 30 |         |         | 0,1083    | 0,0016       | 0,0598       | 80     |
|    |         |         | 0,6599    | 0,0011       | 0,1081       | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,94944 | 0,85722 | SAA       | IP-10        | IL1ra        | Конст. |
| 35 |         |         | 9571,3145 | 0,0094       | -141670519,4 | 80     |
|    |         |         | 15309,775 | 0,008        | -119518794,5 | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,95635 | 0,79658 | SAA       | PCT          | IP-10        | Конст. |
| 40 |         |         | 6137,1652 | -0,6596      | 0,0047       | 80     |
|    |         |         | 8580,4524 | 0,2775       | 0,004        | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,73737 | 0,69549 | PCT       | IP-10        | IL1ra        | Конст. |
| 45 |         |         | -1,1448   | 0,0005       | 540518195,3  | 80     |
|    |         |         | 0,7431    | -0,0003      | 578154355,6  | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,94489 | 0,93838 | TRAIL     | SAA          | CRP          | Конст. |
|    |         |         | 0,0147    | 8741,563     | 0,0419       | 80     |
|    |         |         | -0,0045   | 8922,431     | 0,0715       | 81     |
|    |         |         |           |              |              |        |
|    | 0,92941 | 0,94316 | TRAIL     | IL1ra        | CRP          | Конст. |

|    |         |         |             |             |              |         |
|----|---------|---------|-------------|-------------|--------------|---------|
|    |         | 0,0158  | 142723684,3 | 0,0735      | -1,1214      | 80      |
|    |         | -0,0124 | 142922206,2 | 0,1005      | 0,254        | 81      |
|    |         |         |             |             |              |         |
| 5  | 0,85644 | 0,91373 | TRAIL       | PCT         | CRP          | Конст.  |
|    |         |         | 0,0132      | 0,3236      | 0,066        | -0,695  |
|    |         |         | 0,0019      | 0,6114      | 0,1084       | -1,7666 |
|    |         |         |             |             |              | 80      |
|    |         |         |             |             |              | 81      |
|    |         |         |             |             |              |         |
|    | 0,91298 | 0,91698 | TRAIL       | SAA         | IL1ra        | Конст.  |
| 10 |         |         | 0,0165      | 13897,6693  | 19314215,49  | -1,1796 |
|    |         |         | -0,0114     | 17471,1789  | -373899,4284 | 0,5955  |
|    |         |         |             |             |              | 80      |
|    |         |         |             |             |              | 81      |
|    |         |         |             |             |              |         |
|    | 0,9451  | 0,85    | TRAIL       | SAA         | PCT          | Конст.  |
|    |         |         | 0,0281      | 13902,8636  | -0,0348      | -2,1844 |
| 15 |         |         | 0,0141      | 15302,3132  | 0,7361       | -1,6348 |
|    |         |         |             |             |              | 80      |
|    |         |         |             |             |              | 81      |
|    |         |         |             |             |              |         |
|    | 0,73737 | 0,8797  | TRAIL       | PCT         | IL1ra        | Конст.  |
|    |         |         | 0,0126      | 1,6517      | 445497461,8  | -0,3418 |
| 20 |         |         | -0,0203     | 2,4203      | 638669048,4  | 2,2766  |
|    |         |         |             |             |              | 80      |
|    |         |         |             |             |              | 81      |
|    |         |         |             |             |              |         |
|    | 0,91932 | 0,88856 | SAA         | IL1ra       | CRP          | Конст.  |
|    |         |         | 7641,7563   | 224710899,2 | 0,0265       | 0,8638  |
|    |         |         | 9730,7248   | 201425116,6 | 0,0536       | -1,256  |
| 25 |         |         |             |             |              | 80      |
|    |         |         |             |             |              | 81      |
|    |         |         |             |             |              |         |
|    | 0,90588 | 0,88556 | SAA         | PCT         | CRP          | Конст.  |
|    |         |         | 8520,704    | -1,4792     | 0,0207       | 1,1579  |
|    |         |         | 7599,3621   | -0,2234     | 0,0695       | -1,3994 |
|    |         |         |             |             |              | 80      |
|    |         |         |             |             |              | 81      |
|    |         |         |             |             |              |         |
| 30 | 0,84343 | 0,86842 | PCT         | IL1ra       | CRP          | Конст.  |
|    |         |         | -0,6599     | 547844063,4 | 0,0388       | 0,8368  |
|    |         |         | -0,1506     | 473174484,1 | 0,0873       | -1,6604 |
|    |         |         |             |             |              | 80      |
|    |         |         |             |             |              | 81      |
|    |         |         |             |             |              |         |
|    | 0,9     | 0,81448 | SAA         | PCT         | IL1ra        | Конст.  |
| 35 |         |         | 10349,4815  | -2,3088     | 565967860,9  | 1,0109  |
|    |         |         | 15172,8663  | -0,2687     | 515166286,4  | -1,0283 |
|    |         |         |             |             |              | 80      |
|    |         |         |             |             |              | 81      |

Таблица 34

|    |               |              |        |           |        |        |         |
|----|---------------|--------------|--------|-----------|--------|--------|---------|
| 40 | AUC<br>(И/НИ) | AUC<br>(Б/В) |        |           |        |        |         |
|    | 0,97          | 0,94         | TRAIL  | SAA       | IP-10  | CRP    | Конст.  |
|    |               |              | 0,0058 | 5383,841  | 0,0075 | 0,0394 | -1,7981 |
|    |               |              | -0,012 | 5731,9467 | 0,007  | 0,0702 | -1,5541 |
|    |               |              |        |           |        |        | 80      |
|    |               |              |        |           |        |        | 81      |



5

10

15

20

25

30

35

40

45

|         |         |            |            |            |              |         |    |
|---------|---------|------------|------------|------------|--------------|---------|----|
| 0,96    | 0,94    | TRAIL      | IP-10      | IL1ra      | CRP          | Конст.  |    |
|         |         | 0,0091     | 0,0053     | -6,995E+7  | 0,0703       | -1,5229 | 80 |
|         |         | -0,0166    | 0,0046     | -3,228E+7  | 0,101        | -0,2128 | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,78667 | 0,903   | TRAIL      | PCT        | IP-10      | CRP          | Конст.  |    |
|         |         | 0,0101     | 0,2921     | 0,0007     | 0,0651       | -0,6733 | 80 |
|         |         | -0,0021    | 0,5293     | 0,001      | 0,1077       | -1,8383 | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,94957 | 0,91777 | TRAIL      | SAA        | IP-10      | IL1ra        | Конст.  |    |
|         |         | 0,0091     | 10289,5699 | 0,0088     | -153195983,2 | -2,036  | 80 |
|         |         | -0,0169    | 14282,9357 | 0,0082     | -138993063,2 | -0,2825 | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,93254 | 0,8433  | TRAIL      | SAA        | PCT        | IP-10        | Конст.  |    |
|         |         | 0,0218     | 12161,0003 | -0,2264    | 0,0068       | -3,3387 | 80 |
|         |         | 0,0083     | 13578,3133 | 0,5366     | 0,0068       | -2,9001 | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,65657 | 0,86842 | TRAIL      | PCT        | IP-10      | IL1ra        | Конст.  |    |
|         |         | 0,0147     | 1,6805     | -0,0004    | 481673333,4  | -0,356  | 80 |
|         |         | -0,0268    | 2,4993     | 0,001      | 491494579,8  | 2,4805  | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,95829 | 0,92002 | SAA        | IP-10      | IL1ra      | CRP          | Конст.  |    |
|         |         | 6131,1692  | 0,0088     | -1,5446E+8 | 0,028        | -1,0249 | 80 |
|         |         | 8579,4749  | 0,0067     | -9,6352E+7 | 0,0614       | -2,3655 | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,9881  | 0,8735  | SAA        | PCT        | IP-10      | CRP          | Конст.  |    |
|         |         | 4377,1407  | -1,4641    | 0,0064     | 0,0419       | -1,4913 | 80 |
|         |         | 3810,7522  | -0,1982    | 0,0059     | 0,0857       | -3,62   | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,74242 | 0,89098 | PCT        | IP-10      | IL1ra      | CRP          | Конст.  |    |
|         |         | -0,4843    | 0,0004     | 4,54739E+8 | 0,0378       | 0,6379  | 80 |
|         |         | -0,2044    | -0,0018    | 4,84865E+8 | 0,0969       | -0,7642 | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,94444 | 0,77828 | SAA        | PCT        | IP-10      | IL1ra        | Конст.  |    |
|         |         | 4951,1109  | -2,8236    | 0,0095     | -212692846,6 | -0,802  | 80 |
|         |         | 10430,5725 | -0,1446    | 0,008      | -210027138,1 | -2,0339 | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,92564 | 0,93742 | TRAIL      | SAA        | IL1ra      | CRP          | Конст.  |    |
|         |         | 0,0163     | 8701,5399  | 2,10729E+7 | 0,0386       | -1,3076 | 80 |
|         |         | -0,0099    | 9890,6956  | 1,31614E+7 | 0,062        | -0,2694 | 81 |
|         |         |            |            |            |              |         |    |
| 0,95294 | 0,91111 | TRAIL      | SAA        | PCT        | CRP          | Конст.  |    |
|         |         | 0,0253     | 11551,5028 | -1,3285    | 0,0278       | -1,8221 | 80 |
|         |         | 0,0141     | 9802,9581  | -0,2648    | 0,0748       | -2,7829 | 81 |

|         |         |           |            |            |             |         |    |
|---------|---------|-----------|------------|------------|-------------|---------|----|
|         |         |           |            |            |             |         |    |
| 0,79798 | 0,89474 | TRAIL     | PCT        | IL1ra      | CRP         | Конст.  |    |
|         |         | 0,0137    | -0,1689    | 2,756E+8   | 0,0476      | -0,6344 | 80 |
|         |         | -0,0264   | -0,236     | 2,7563E+8  | 0,0994      | 0,5587  | 81 |
| 0,85556 | 0,92308 | TRAIL     | SAA        | PCT        | IL1ra       | Конст.  |    |
|         |         | 0,0343    | 12347,4916 | -0,5098    | 432026875,9 | -2,2741 | 80 |
|         |         | -0,0152   | 19586,5686 | -0,4124    | 426850211,8 | 0,0383  | 81 |
| 0,9     | 0,85068 | SAA       | PCT        | IL1ra      | CRP         | Конст.  |    |
|         |         | 2665,2949 | -0,5099    | 6,42961E+8 | 0,0552      | 0,5611  | 80 |
|         |         | 3734,4091 | -0,3614    | 5,88426E+8 | 0,0941      | -1,8313 | 81 |

Таблица 35

|               |              |           |          |         |             |             |         |    |
|---------------|--------------|-----------|----------|---------|-------------|-------------|---------|----|
| AUC<br>(И/НИ) | AUC<br>(Б/В) |           |          |         |             |             |         |    |
| 0,95963       | 0,94381      | TRAIL     | SAA      | IP-10   | IL1ra       | CRP         | Конст.  |    |
|               |              | 0,0092    | 6688,18  | 0,0082  | -1,6265E+8  | 0,0336      | -2,1333 | 80 |
|               |              | -0,0136   | 8261,93  | 0,0069  | -1,17187E+8 | 0,0619      | -1,1202 | 81 |
| 0,95635       | 0,89972      | TRAIL     | SAA      | PCT     | IP-10       | CRP         | Конст.  |    |
|               |              | 0,0178    | 6302,89  | -1,297  | 0,0074      | 0,0517      | -3,4117 | 80 |
|               |              | 0,0063    | 4437,96  | -0,249  | 0,0076      | 0,1         | -4,4957 | 81 |
| 0,71717       | 0,88346      | TRAIL     | PCT      | IP-10   | IL1ra       | CRP         | Конст.  |    |
|               |              | 0,0246    | -0,2302  | -0,0017 | 5,4749E+8   | 0,0616      | -1,3864 | 80 |
|               |              | -0,017    | -0,2819  | -0,0012 | 5,0261E+8   | 0,1096      | -0,1627 | 81 |
| 0,85556       | 0,87783      | TRAIL     | SAA      | PCT     | IP-10       | IL1ra       | Конст.  |    |
|               |              | 0,0529    | 5922,72  | -0,7334 | 0,0149      | 2530173,292 | -6,1686 | 80 |
|               |              | 0,0043    | 14225,92 | -0,282  | 0,0139      | 32115407,24 | -3,7073 | 81 |
| 0,91111       | 0,819        | SAA       | PCT      | IP-10   | IL1ra       | CRP         | Конст.  |    |
|               |              | -22863,96 | -0,2611  | 0,0141  | -8,7081E+8  | 0,1586      | -2,8588 | 80 |
|               |              | -18573,7  | -0,3918  | 0,008   | 7,27742E+8  | 0,2362      | -3,2596 | 81 |
| 0,87778       | 0,90045      | TRAIL     | SAA      | PCT     | IL1ra       | CRP         | Конст.  |    |
|               |              | 0,0397    | -7661,57 | -0,4075 | 6,98426E+8  | 0,1355      | -3,522  | 80 |
|               |              | -0,008    | -4178,89 | -0,4915 | 6,53495E+8  | 0,1689      | -1,7514 | 81 |

## ПРИМЕР 13

Примеры координат, которые включают нелинейные функции

Авторами настоящего изобретения неожиданно было обнаружено, что включение нелинейных функций  $\varphi_0$  и  $\varphi_1$  при вычислении координат  $\delta_1$  и  $\delta_2$  позволяет охватывать большее количество неочевидных трендов в данных, в то же время обеспечивая сохранение вероятностного каркаса, способствующего содержательной интерпретации результатов. В данном Примере координаты  $\delta_0$  и  $\delta_1$  вычисляли в соответствии со следующими уравнениями:

$$\delta_0 = a_0 + a_1 C + a_2 I + a_3 T + \varphi_0$$

$$\delta_1 = b_0 + b_1 C + b_2 I + b_3 T + \varphi_1,$$

а нелинейные функции были определены как:

$$\varphi_0 = q_1 C^{\gamma_1} + q_2 C^{\gamma_2} + q_3 T^{\gamma_3}$$

$$\varphi_1 = r_1 C^{\gamma_1} + r_2 C^{\gamma_2} + r_3 T^{\gamma_3}.$$

где  $\gamma_1 = 0.5$ ,  $\gamma_2 = 2$  и  $\gamma_3 = 0.5$ .

В Таблице 36 приведены коэффициенты и константы, используемые в рамках данного Примера.

**Таблица 36**

| Первая<br>координата<br>$\delta_0$ (вирусн.) | Вторая<br>координата<br>$\delta_1$ (бакт.) |                                                  |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| $a_0 = -0,8388$                              | $b_0 = 5,5123$                             | <b>Конст.</b>                                    |
| $a_1 = -0,0487$                              | $b_1 = -0,0636$                            | <b>CRP (мг/мл)</b>                               |
| $q_1 = 1,1367$                               | $r_1 = 1,4877$                             | <b>CRP<sup>0.5</sup> (мг/мл)<sup>0.5</sup></b>   |
| $q_2 = -5,14 \times 10^{-05}$                | $r_2 = 3,50 \times 10^{-05}$               | <b>CRP<sup>2</sup> (мг/мл)<sup>2</sup></b>       |
| $a_2 = 0,0089$                               | $b_2 = 0,0085$                             | <b>IP-10 (пг/мл)</b>                             |
| $a_3 = 0,0408$                               | $b_3 = 0,0646$                             | <b>TRAIL (пг/мл)</b>                             |
| $q_3 = -0,6064$                              | $r_3 = -1,8039$                            | <b>TRAIL<sup>0.5</sup> (пг/мл)<sup>0.5</sup></b> |

Эффективность модели, представленной в Таблице 36, анализировали на Группе с подтвержденным микробиологическим диагнозом (AUC 0,95±0,03), Единогласной группе (AUC 0,95±0,02) и Исследуемой группе (AUC 0,93±0,02). Эффективность сигнатуры повышалась с ростом размера эквивокального участка.

В Таблицах 37А-С ниже показаны меры точности сигнатуры при диагностике бактериальных и вирусных инфекций при использовании нелинейной модели настоящего Примера. Величины эффективности и их 95% доверительные интервалы были получены на Подгруппе с подтвержденным микробиологическим диагнозом (Таблица 37А; n=241), Единогласной подгруппе (Таблица 37В; n=527) и Исследуемой группе (Таблица 37С; n=653) с применением различных размеров эквивокальных участков, как указано. В Таблицах 37D-F ниже показаны процентные доли пациентов в Исследуемой группе, имеющих эквивокальные иммунные реакции, при использовании различных пороговых значений, а в Таблицах 37G-H ниже показана чувствительность и специфичность сигнатуры при использовании различных пороговых значений эквивокальных иммунных реакций, полученных в рамках Исследуемой группы. В Таблицах 37D-H самые левые столбцы соответствуют минимальному пороговому значению эквивокальной иммунной реакции, а самая верхняя строка соответствует максимальному пороговому значению эквивокальной иммунной реакции.

Таблица 37А

| Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(10-90) | Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(20-80) | Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(30-70) | Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(35-65) | Все<br>пациенты       | Мера точности                        |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| 0,98;<br>(0,96; 1,00)                                        | 0,96;<br>(0,93; 0,99)                                        | 0,94;<br>(0,91; 0,97)                                        | 0,93;<br>(0,90; 0,97)                                        | 0,89;<br>(0,85; 0,93) | Общая точность                       |
| 0,96;<br>(0,90; 1,00)                                        | 0,96;<br>(0,91; 1,00)                                        | 0,95;<br>(0,89; 1,00)                                        | 0,93;<br>(0,87; 1,00)                                        | 0,88;<br>(0,80; 0,96) | Чувствительность                     |
| 0,99;<br>(0,97; 1,00)                                        | 0,96;<br>(0,93; 0,99)                                        | 0,94;<br>(0,90; 0,98)                                        | 0,94;<br>(0,90; 0,97)                                        | 0,90;<br>(0,87; 0,94) | Специфичность                        |
| 65%                                                          | 78%                                                          | 87%                                                          | 90%                                                          | 100%                  | % от всех<br>включенных<br>пациентов |

Таблица 37В

| Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(10-90) | Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(20-80) | Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(30-70) | Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(35-65) | Все<br>пациенты       | Мера точности                        |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| 0,97;<br>(0,95; 0,99)                                        | 0,95;<br>(0,93; 0,97)                                        | 0,93;<br>(0,90; 0,95)                                        | 0,92;<br>(0,89; 0,94)                                        | 0,88;<br>(0,85; 0,91) | Общая точность                       |
| 0,96;<br>(0,93; 0,99)                                        | 0,93;<br>(0,90; 0,97)                                        | 0,91;<br>(0,87; 0,95)                                        | 0,90;<br>(0,86; 0,94)                                        | 0,85;<br>(0,81; 0,89) | Чувствительность                     |
| 0,98;<br>(0,96; 1,00)                                        | 0,96;<br>(0,93; 0,99)                                        | 0,94;<br>(0,91; 0,97)                                        | 0,93;<br>(0,90; 0,97)                                        | 0,91;<br>(0,87; 0,94) | Специфичность                        |
| 63%                                                          | 76%                                                          | 86%                                                          | 90%                                                          | 100%                  | % от всех<br>включенных<br>пациентов |

Таблица 37С

| Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(10-90) | Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(20-80) | Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(30-70) | Фильтр по<br>эквивокальной<br>иммунной<br>реакции<br>(35-65) | Все<br>пациенты       | Мера точности                        |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| 0,95;<br>(0,93; 0,98)                                        | 0,92;<br>(0,90; 0,95)                                        | 0,90;<br>(0,87; 0,92)                                        | 0,89;<br>(0,86; 0,91)                                        | 0,85;<br>(0,83; 0,88) | Общая точность                       |
| 0,95;<br>(0,91; 0,98)                                        | 0,92;<br>(0,88; 0,95)                                        | 0,89;<br>(0,85; 0,92)                                        | 0,87;<br>(0,83; 0,91)                                        | 0,83;<br>(0,79; 0,87) | Чувствительность                     |
| 0,95;<br>(0,92; 0,98)                                        | 0,93;<br>(0,89; 0,96)                                        | 0,91;<br>(0,88; 0,95)                                        | 0,90;<br>(0,87; 0,94)                                        | 0,87;<br>(0,84; 0,91) | Специфичность                        |
| 58%                                                          | 72%                                                          | 84%                                                          | 88%                                                          | 100%                  | % от всех<br>включенных<br>пациентов |

Таблица 37D

|    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|
|    | 0,95 | 0,9  | 0,85 | 0,8  | 0,75 | 0,7  | 0,65 | 0,6  | 0,55 | 0,5  | 0,45 | 0,4  | 0,35 | 0,3  | 0,25 | 0,2  | 0,15 | 0,1 |      |
|    | 52,8 | 47,2 | 44,0 | 40,9 | 38,6 | 36,3 | 34,8 | 33,2 | 31,2 | 29,1 | 26,3 | 24,0 | 22,7 | 20,5 | 17,6 | 13,9 | 10,4 | 6,6 | 0,05 |
| 5  | 46,2 | 40,6 | 37,4 | 34,3 | 32,0 | 29,7 | 28,2 | 26,6 | 24,7 | 22,5 | 19,8 | 17,5 | 16,1 | 13,9 | 11,0 | 7,4  | 3,8  |     | 0,1  |
|    | 42,4 | 36,8 | 33,5 | 30,5 | 28,2 | 25,9 | 24,3 | 22,8 | 20,8 | 18,7 | 15,9 | 13,6 | 12,3 | 10,1 | 7,2  | 3,5  |      |     | 0,15 |
|    | 38,9 | 33,2 | 30,0 | 27,0 | 24,7 | 22,4 | 20,8 | 19,3 | 17,3 | 15,2 | 12,4 | 10,1 | 8,7  | 6,6  | 3,7  |      |      |     | 0,2  |
|    | 35,2 | 29,6 | 26,3 | 23,3 | 21,0 | 18,7 | 17,2 | 15,6 | 13,6 | 11,5 | 8,7  | 6,4  | 5,1  | 2,9  |      |      |      |     | 0,25 |
| 10 | 32,3 | 26,6 | 23,4 | 20,4 | 18,1 | 15,8 | 14,2 | 12,7 | 10,7 | 8,6  | 5,8  | 3,5  | 2,1  |      |      |      |      |     | 0,3  |
|    | 30,2 | 24,5 | 21,3 | 18,2 | 15,9 | 13,6 | 12,1 | 10,6 | 8,6  | 6,4  | 3,7  | 1,4  |      |      |      |      |      |     | 0,35 |
|    | 28,8 | 23,1 | 19,9 | 16,8 | 14,5 | 12,3 | 10,7 | 9,2  | 7,2  | 5,1  | 2,3  |      |      |      |      |      |      |     | 0,4  |
|    | 26,5 | 20,8 | 17,6 | 14,5 | 12,3 | 10,0 | 8,4  | 6,9  | 4,9  | 2,8  |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,45 |
| 15 | 23,7 | 18,1 | 14,9 | 11,8 | 9,5  | 7,2  | 5,7  | 4,1  | 2,1  |      |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,5  |
|    | 21,6 | 15,9 | 12,7 | 9,6  | 7,4  | 5,1  | 3,5  | 2,0  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,55 |
|    | 19,6 | 13,9 | 10,7 | 7,7  | 5,4  | 3,1  | 1,5  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,6  |
|    | 18,1 | 12,4 | 9,2  | 6,1  | 3,8  | 1,5  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,65 |
|    | 16,5 | 10,9 | 7,7  | 4,6  | 2,3  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,7  |
| 20 | 14,2 | 8,6  | 5,4  | 2,3  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,75 |
|    | 11,9 | 6,3  | 3,1  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,8  |
|    | 8,9  | 3,2  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,85 |
|    | 5,7  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     | 0,9  |

Таблица 37E

|    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |     |      |     |      |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|    | 0,95 | 0,9  | 0,85 | 0,8  | 0,75 | 0,7  | 0,65 | 0,6  | 0,55 | 0,5  | 0,45 | 0,4  | 0,35 | 0,3 | 0,25 | 0,2 | 0,15 | 0,1 |      |
| 25 | 53,6 | 43,6 | 38,2 | 33,5 | 29,5 | 26,0 | 23,5 | 21,6 | 18,8 | 16,6 | 13,8 | 11,3 | 10,3 | 9,1 | 7,5  | 5,3 | 3,4  | 2,5 | 0,05 |
|    | 51,1 | 41,1 | 35,7 | 31,0 | 27,0 | 23,5 | 21,0 | 19,1 | 16,3 | 14,1 | 11,3 | 8,8  | 7,8  | 6,6 | 5,0  | 2,8 | 0,9  |     | 0,1  |
|    | 50,2 | 40,1 | 34,8 | 30,1 | 26,0 | 22,6 | 20,1 | 18,2 | 15,4 | 13,2 | 10,3 | 7,8  | 6,9  | 5,6 | 4,1  | 1,9 |      |     | 0,15 |
|    | 48,3 | 38,2 | 32,9 | 28,2 | 24,1 | 20,7 | 18,2 | 16,3 | 13,5 | 11,3 | 8,5  | 6,0  | 5,0  | 3,8 | 2,2  |     |      |     | 0,2  |
| 30 | 46,1 | 36,1 | 30,7 | 26,0 | 21,9 | 18,5 | 16,0 | 14,1 | 11,3 | 9,1  | 6,3  | 3,8  | 2,8  | 1,6 |      |     |      |     | 0,25 |
|    | 44,5 | 34,5 | 29,2 | 24,5 | 20,4 | 16,9 | 14,4 | 12,5 | 9,7  | 7,5  | 4,7  | 2,2  | 1,3  |     |      |     |      |     | 0,3  |
|    | 43,3 | 33,2 | 27,9 | 23,2 | 19,1 | 15,7 | 13,2 | 11,3 | 8,5  | 6,3  | 3,4  | 0,9  |      |     |      |     |      |     | 0,35 |
|    | 42,3 | 32,3 | 27,0 | 22,3 | 18,2 | 14,7 | 12,2 | 10,3 | 7,5  | 5,3  | 2,5  |      |      |     |      |     |      |     | 0,4  |
| 35 | 39,8 | 29,8 | 24,5 | 19,7 | 15,7 | 12,2 | 9,7  | 7,8  | 5,0  | 2,8  |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,45 |
|    | 37,0 | 27,0 | 21,6 | 16,9 | 12,9 | 9,4  | 6,9  | 5,0  | 2,2  |      |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,5  |
|    | 34,8 | 24,8 | 19,4 | 14,7 | 10,7 | 7,2  | 4,7  | 2,8  |      |      |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,55 |
|    | 32,0 | 21,9 | 16,6 | 11,9 | 7,8  | 4,4  | 1,9  |      |      |      |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,6  |
|    | 30,1 | 20,1 | 14,7 | 10,0 | 6,0  | 2,5  |      |      |      |      |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,65 |
| 40 | 27,6 | 17,6 | 12,2 | 7,5  | 3,4  |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,7  |
|    | 24,1 | 14,1 | 8,8  | 4,1  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,75 |
|    | 20,1 | 10,0 | 4,7  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,8  |
|    | 15,4 | 5,3  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,85 |
| 45 | 10,0 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |     |      |     | 0,9  |

Таблица 37F

|    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|    | 0,95 | 0,9  | 0,85 | 0,8  | 0,75 | 0,7  | 0,65 | 0,6  | 0,55 | 0,5  | 0,45 | 0,4  | 0,35 | 0,3  | 0,25 | 0,2  | 0,15 | 0,1  |      |
|    | 52,1 | 50,6 | 49,4 | 47,9 | 47,3 | 46,1 | 45,5 | 44,3 | 43,1 | 41,0 | 38,3 | 36,2 | 34,4 | 31,4 | 27,2 | 22,2 | 17,1 | 10,5 | 0,05 |
| 5  | 41,6 | 40,1 | 38,9 | 37,4 | 36,8 | 35,6 | 35,0 | 33,8 | 32,6 | 30,5 | 27,8 | 25,7 | 24,0 | 21,0 | 16,8 | 11,7 | 6,6  |      | 0,1  |
|    | 35,0 | 33,5 | 32,3 | 30,8 | 30,2 | 29,0 | 28,4 | 27,2 | 26,0 | 24,0 | 21,3 | 19,2 | 17,4 | 14,4 | 10,2 | 5,1  |      |      | 0,15 |
|    | 29,9 | 28,4 | 27,2 | 25,7 | 25,1 | 24,0 | 23,4 | 22,2 | 21,0 | 18,9 | 16,2 | 14,1 | 12,3 | 9,3  | 5,1  |      |      |      | 0,2  |
|    | 24,9 | 23,4 | 22,2 | 20,7 | 20,1 | 18,9 | 18,3 | 17,1 | 15,9 | 13,8 | 11,1 | 9,0  | 7,2  | 4,2  |      |      |      |      | 0,25 |
| 10 | 20,7 | 19,2 | 18,0 | 16,5 | 15,9 | 14,7 | 14,1 | 12,9 | 11,7 | 9,6  | 6,9  | 4,8  | 3,0  |      |      |      |      |      | 0,3  |
|    | 17,7 | 16,2 | 15,0 | 13,5 | 12,9 | 11,7 | 11,1 | 9,9  | 8,7  | 6,6  | 3,9  | 1,8  |      |      |      |      |      |      | 0,35 |
|    | 15,9 | 14,4 | 13,2 | 11,7 | 11,1 | 9,9  | 9,3  | 8,1  | 6,9  | 4,8  | 2,1  |      |      |      |      |      |      |      | 0,4  |
|    | 13,8 | 12,3 | 11,1 | 9,6  | 9,0  | 7,8  | 7,2  | 6,0  | 4,8  | 2,7  |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,45 |
|    | 11,1 | 9,6  | 8,4  | 6,9  | 6,3  | 5,1  | 4,5  | 3,3  | 2,1  |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,5  |
| 15 | 9,0  | 7,5  | 6,3  | 4,8  | 4,2  | 3,0  | 2,4  | 1,2  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,55 |
|    | 7,8  | 6,3  | 5,1  | 3,6  | 3,0  | 1,8  | 1,2  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,6  |
|    | 6,6  | 5,1  | 3,9  | 2,4  | 1,8  | 0,6  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,65 |
|    | 6,0  | 4,5  | 3,3  | 1,8  | 1,2  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,7  |
|    | 4,8  | 3,3  | 2,1  | 0,6  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,75 |
| 20 | 4,2  | 2,7  | 1,5  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,8  |
|    | 2,7  | 1,2  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,85 |
|    | 1,5  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,9  |

Таблица 37G

|    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|    | 0,95 | 0,9  | 0,85 | 0,8  | 0,75 | 0,7  | 0,65 | 0,6  | 0,55 | 0,5  | 0,45 | 0,4  | 0,35 | 0,3  | 0,25 | 0,2  | 0,15 | 0,1  |      |
|    | 98,0 | 98,3 | 98,5 | 98,6 | 98,7 | 98,7 | 98,8 | 98,8 | 98,8 | 98,9 | 95,6 | 92,9 | 92,0 | 90,7 | 89,2 | 87,1 | 85,4 | 84,6 | 0,05 |
| 25 | 92,9 | 94,1 | 94,6 | 95,0 | 95,3 | 95,5 | 95,6 | 95,7 | 95,9 | 96,0 | 92,9 | 90,4 | 89,5 | 88,3 | 86,8 | 84,8 | 83,2 |      | 0,1  |
|    | 91,2 | 92,7 | 93,3 | 93,7 | 94,1 | 94,3 | 94,5 | 94,6 | 94,8 | 94,9 | 92,0 | 89,5 | 88,6 | 87,4 | 85,9 | 84,0 |      |      | 0,15 |
|    | 87,9 | 89,8 | 90,7 | 91,3 | 91,7 | 92,1 | 92,3 | 92,5 | 92,8 | 92,9 | 90,1 | 87,7 | 86,8 | 85,7 | 84,3 |      |      |      | 0,2  |
| 30 | 84,3 | 86,8 | 87,8 | 88,6 | 89,2 | 89,6 | 89,9 | 90,1 | 90,5 | 90,7 | 88,0 | 85,7 | 84,8 | 83,8 |      |      |      |      | 0,25 |
|    | 81,9 | 84,7 | 85,8 | 86,7 | 87,4 | 87,9 | 88,3 | 88,5 | 88,9 | 89,2 | 86,5 | 84,3 | 83,5 |      |      |      |      |      | 0,3  |
|    | 80,1 | 83,1 | 84,3 | 85,3 | 86,0 | 86,6 | 87,0 | 87,3 | 87,7 | 88,0 | 85,4 | 83,2 |      |      |      |      |      |      | 0,35 |
|    | 78,8 | 81,9 | 83,3 | 84,3 | 85,1 | 85,7 | 86,1 | 86,4 | 86,8 | 87,1 | 84,6 |      |      |      |      |      |      |      | 0,4  |
| 35 | 75,5 | 79,0 | 80,5 | 81,6 | 82,5 | 83,2 | 83,7 | 84,0 | 84,5 | 84,8 |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,45 |
|    | 72,1 | 76,0 | 77,6 | 78,9 | 79,9 | 80,6 | 81,1 | 81,5 | 82,1 |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,5  |
|    | 73,1 | 76,7 | 78,2 | 79,4 | 80,4 | 81,1 | 81,6 | 81,9 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,55 |
|    | 74,2 | 77,5 | 78,9 | 80,1 | 81,0 | 81,6 | 82,1 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,6  |
|    | 74,9 | 78,0 | 79,4 | 80,5 | 81,3 | 82,0 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,65 |
| 40 | 75,8 | 78,7 | 80,0 | 81,0 | 81,8 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,7  |
|    | 76,9 | 79,6 | 80,8 | 81,7 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,75 |
|    | 78,0 | 80,5 | 81,6 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,8  |
|    | 79,3 | 81,5 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,85 |
| 45 | 80,5 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,9  |

Таблица 37Н

|    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|    | 0,95 | 0,9  | 0,85 | 0,8  | 0,75 | 0,7  | 0,65 | 0,6  | 0,55 | 0,5  | 0,45 | 0,4  | 0,35 | 0,3  | 0,25 | 0,2  | 0,15 | 0,1  |      |
| 5  | 97,5 | 94,5 | 92,3 | 89,7 | 88,6 | 86,7 | 85,7 | 83,9 | 82,1 | 79,2 | 80,1 | 80,8 | 81,3 | 82,1 | 83,1 | 84,2 | 85,2 | 86,3 | 0,05 |
|    | 97,9 | 95,5 | 93,6 | 91,4 | 90,5 | 88,8 | 88,0 | 86,4 | 84,9 | 82,3 | 83,0 | 83,5 | 83,9 | 84,5 | 85,3 | 86,1 | 86,9 |      | 0,1  |
|    | 98,2 | 95,9 | 94,2 | 92,2 | 91,4 | 89,9 | 89,1 | 87,7 | 86,2 | 83,9 | 84,4 | 84,8 | 85,1 | 85,7 | 86,3 | 87,1 |      |      | 0,15 |
|    | 98,3 | 96,2 | 94,7 | 92,7 | 92,0 | 90,6 | 89,8 | 88,5 | 87,1 | 84,9 | 85,4 | 85,7 | 86,0 | 86,5 | 87,1 |      |      |      | 0,2  |
|    | 98,4 | 96,5 | 95,0 | 93,2 | 92,5 | 91,1 | 90,5 | 89,2 | 87,9 | 85,8 | 86,2 | 86,5 | 86,8 | 87,2 |      |      |      |      | 0,25 |
| 10 | 98,5 | 96,7 | 95,3 | 93,5 | 92,9 | 91,6 | 90,9 | 89,7 | 88,5 | 86,4 | 86,8 | 87,1 | 87,3 |      |      |      |      |      | 0,3  |
|    | 98,5 | 96,8 | 95,4 | 93,8 | 93,1 | 91,9 | 91,2 | 90,0 | 88,9 | 86,9 | 87,2 | 87,5 |      |      |      |      |      |      | 0,35 |
|    | 98,6 | 96,9 | 95,5 | 93,9 | 93,3 | 92,0 | 91,4 | 90,2 | 89,1 | 87,1 | 87,5 |      |      |      |      |      |      |      | 0,4  |
|    | 98,6 | 96,9 | 95,6 | 94,0 | 93,4 | 92,2 | 91,6 | 90,4 | 89,3 | 87,4 |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,45 |
|    | 98,7 | 97,0 | 95,8 | 94,2 | 93,6 | 92,4 | 91,8 | 90,7 | 89,6 |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,5  |
| 15 | 96,4 | 94,8 | 93,6 | 92,1 | 91,6 | 90,4 | 89,9 | 88,8 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,55 |
|    | 95,1 | 93,6 | 92,4 | 91,0 | 90,4 | 89,3 | 88,8 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,6  |
|    | 93,9 | 92,4 | 91,3 | 89,9 | 89,3 | 88,3 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,65 |
|    | 93,3 | 91,8 | 90,7 | 89,3 | 88,8 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,7  |
|    | 92,1 | 90,7 | 89,6 | 88,3 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,75 |
| 20 | 91,6 | 90,2 | 89,1 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,8  |
|    | 90,2 | 88,8 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,85 |
|    | 89,1 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,9  |

Эффективность сигнатуры также анализировали на Исследуемой группе при  
 25 исключении следующих двух подгрупп: (i) пациентов, чьи образцы крови были получены  
 спустя более чем 3 дня лечения антибиотиком в больнице и (ii) пациентов с  
 предполагаемым гастроэнтеритом. Сведения об эффективности модели у Группы с  
 подтвержденным микробиологическим диагнозом ( $AUC\ 0,96\pm0,04$ ), Единогласной  
 группы ( $AUC\ 0,96\pm0,02$ ) и Исследуемой группы ( $AUC\ 0,95\pm0,02$ ) указаны далее в  
 30 Таблицах 38А-С.

В таблицах 38А-С указаны меры точности сигнатуры в плане диагностики  
 бактериальных и вирусных инфекций с применением нелинейной MLR модели. Анализы  
 эффективности и их 95% доверительные интервалы получали для Подгруппы с  
 подтвержденным микробиологическим диагнозом (Таблица 38А;  $n=200$ ), Единогласной  
 35 подгруппы (Таблица 38 В;  $n=402$ ) и Исследуемой группы (Таблица 38С;  $n=491$ ) при  
 исключении пациентов, которые подвергались лечению антибиотиками в течение более  
 3 дней в больнице и/или имеющих предполагаемый гастроэнтерит.

40

45

Таблица 38А

| Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (10-90) | Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (20-80) | Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (30-70) | Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (35-65) | Все пациенты          | Мера точности                  |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 0,98;<br>(0,96; 1)                               | 0,96;<br>(0,93; 0,99)                            | 0,95;<br>(0,92; 0,99)                            | 0,95;<br>(0,92; 1)                               | 0,91;<br>(0,86; 0,95) | Общая точность                 |
| 0,94;<br>(87; 1)                                 | 0,95;<br>(0,89; 1)                               | 0,96;<br>(0,89; 1)                               | 0,96;<br>(0,89; 1)                               | 0,90;<br>(0,82; 0,99) | Чувствительность               |
| 1;<br>(1;1)                                      | 0,97;<br>(0,93; 1)                               | 0,95;<br>(0,92; 0,99)                            | 0,95;<br>(0,91; 0,99)                            | 0,91;<br>(0,86; 0,95) | Специфичность                  |
| 65%                                              | 80%                                              | 88%                                              | 90%                                              | 100%                  | % от всех включенных пациентов |

Таблица 38В

| Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (10-90) | Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (20-80) | Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (30-70) | Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (35-65) | Все пациенты          | Мера точности                  |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 0,98;<br>(0,96; 1)                               | 0,96;<br>(0,94; 0,98)                            | 0,95;<br>(0,93; 0,97)                            | 0,94;<br>(0,92; 0,97)                            | 0,91;<br>(0,88; 0,94) | Общая точность                 |
| 0,98;<br>(0,95; 1)                               | 0,95;<br>(0,92; 0,99)                            | 0,94;<br>(0,90; 0,98)                            | 0,93;<br>(0,89; 0,97)                            | 0,89;<br>(0,85; 0,94) | Чувствительность               |
| 0,99;<br>(0,97; 1)                               | 0,97;<br>(0,94; 0,99)                            | 0,95;<br>(0,93; 0,98)                            | 0,95;<br>(0,92; 0,98)                            | 0,92;<br>(0,88; 0,96) | Специфичность                  |
| 65%                                              | 79%                                              | 88%                                              | 91%                                              | 100%                  | % от всех включенных пациентов |

Таблица 38С

| Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (10-90) | Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (20-80) | Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (30-70) | Фильтр по эквивокальной иммунной реакции (35-65) | Все пациенты          | Мера точности                  |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 0,97;<br>(0,95; 0,99)                            | 0,94;<br>(0,92; 0,97)                            | 0,93;<br>(0,90; 0,95)                            | 0,91;<br>(0,89; 0,94)                            | 0,88;<br>(0,85; 0,91) | Общая точность                 |
| 0,97;<br>(0,94; 1)                               | 0,95;<br>(0,91; 0,98)                            | 0,92;<br>(0,88; 0,96)                            | 0,91;<br>(0,87; 0,95)                            | 0,87;<br>(0,83; 0,92) | Чувствительность               |
| 0,97;<br>(0,94; 1)                               | 0,94;<br>(0,91; 0,97)                            | 0,93;<br>(0,90; 0,96)                            | 0,92;<br>(0,89; 0,96)                            | 0,89;<br>(0,85; 0,92) | Специфичность                  |
| 59%                                              | 74%                                              | 85%                                              | 88%                                              | 100%                  | % от всех включенных пациентов |

## ПРИМЕР 14

## Стратификация на основе антибиотиков

Из 653 пациентов с подозрением на острую инфекцию 427 получали антибиотики (299 имели диагностированное бактериальное заболевание и 128 имели диагностированное вирусное заболевание). AUC сигнатуры для различения пациентов с бактериальной и вирусной инфекцией в рамках подгруппы пациентов, подвергаемых лечению антибиотиками, составляла  $0,93 \pm 0,02$ . Статистически значимое различие между



эффективностью у подгруппы подвергаемых лечению антибиотиками пациентов и общей группой не наблюдалось ( $0,94 \pm 0,02$  против  $0,93 \pm 0,02$ ;  $P=0,5$ ).

Несмотря на то, что изобретение было описано в рамках определенных вариантов его осуществления, специалистам в данной области будут очевидны многие его альтернативы, модификации и вариации. Соответственно, оно предполагает охват всех подобных альтернатив, модификаций и вариаций, которые соответствуют духу и области, определенной прилагаемой формулой изобретения.

Все публикации, патенты и патентные заявки, указанные в данном описании, полностью приведены здесь для ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или патентная заявка была явно и отдельно указана для включения для ссылки. Кроме того, цитирование или указание любой ссылки в данном описании не должно рассматриваться в качестве допущения того, что подобная ссылка является доступной в качестве уровня техники по отношению к настоящему изобретению.

Заголовки разделов в их приведенном здесь виде не должны рассматриваться в качестве обязательно ограничивающих.

#### перечень последовательностей

<110> МЕМЕД ДИАГНОСТИКС ЛТД.

ЭДЕН, Эран

ОВЕД, Кфир

НАВОН, Рой

КОЭН-ДОТАН, Ассаф

БОЙКО, Ольга

<120> ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ МНОГООБРАЗИЯ И ГИПЕР

<130> 62853

<150> US 62/037,180

<151> 2014-08-14

<150> US 62/105,938

<151> 2015-01-21

<160> 38

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1953

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

acagaaccsa gaaaaacaac tcattcgctt tcatttcctc actgactata aaagaataga 60

gaaggaagg gcttcagtgac cggctgcctg gctgacttac agcagtcaga ctctgacagg 120

atcatggcta tgatggaggt ccagggggga cccagcctgg gacagacctg cgtgctgac 180

gtgatcttca cagtgtctct gcagtctctc tgtgtggctg taacttacgt gtactttacc 240

aacgagctga agcagatgca ggacaagtac tccaaaagtg gcattgcttg tttcttaaaa 300

gaagatgaca gttattggga cccaatgac gaagagagta tgaacagccc ctgctggcaa 360

gtcaagtggc aactccgtca gctcgttaga aagatgattt tgagaacctc tgaggaaacc 420

atttctacag ttcaagaaaa gcaacaaaat atttctcccc tagtgagaga aagaggtcct 480

cagagagtag cagctcacat aactgggacc agaggaagaa gcaacacatt gtcttctcca 540

aactccaaga atgaaaaggc tctgggccgc aaaataaact cctgggaatc atcaaggagt 600

gggcattcat tcctgagcaa cttgcacttg aggaatgggt aactgggtcat ccatgaaaaa 660

gggttttact acatctattc ccaaacatac tttcgatttc aggaggaaat aaaagaaaac 720

acaaagaacg acaaacaaat ggtccaatat atttacaat acacaagtta tcctgaccct 780

|    |             |              |             |             |             |             |      |
|----|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
|    | atattgttga  | tgaaaagtgc   | tagaaaatagt | tgttgggtcta | aagatgcaga  | atatggactc  | 840  |
|    | tattccatct  | atcaaggggg   | aatattttgag | cttaaggaaa  | atgacagaat  | ttttgtttct  | 900  |
|    | gtaacaaatg  | agcacttgat   | agacatggac  | catgaagcca  | gttttttttg  | ggccttttta  | 960  |
|    | gttggctaac  | tgacctggaa   | agaaaaagca  | ataacctcaa  | agtgactatt  | cagtttttcag | 1020 |
| 5  | gatgatacac  | tatgaagatg   | tttcaaaaaa  | tctgaccaa   | acaaacaaac  | agaaaacaga  | 1080 |
|    | aaacaaaaaa  | acctctatgc   | aatctgagta  | gagcagccac  | aaccaaaaaa  | ttctacaaca  | 1140 |
|    | cacactgttc  | tgaaagtgc    | tcacttatcc  | caagagaatg  | aaattgctga  | aagatctttc  | 1200 |
|    | aggactctac  | ctcatatcag   | tttgctagca  | gaaatctaga  | agactgtcag  | cttccaaaca  | 1260 |
|    | ttaatgcaat  | ggttaacatc   | ttctgtcttt  | ataatctact  | ccttgtaaag  | actgtagaag  | 1320 |
| 10 | aaagagcaac  | aatccatctc   | tcaagtagtg  | tatcacagta  | gtagcctcca  | ggtttcctta  | 1380 |
|    | agggacaaca  | tccttaagtc   | aaaagagaga  | agaggcacca  | ctaaaagatc  | gcagtttgcc  | 1440 |
|    | tgggtgcagt  | gctcacacct   | gtaatcccaa  | catttttgga  | acccaaggtg  | ggtagatcac  | 1500 |
|    | gagatcaaga  | gatcaagacc   | atagtgaacca | acatagtga   | accccatctc  | tactgaaagt  | 1560 |
|    | acaaaaatta  | gctgggtgtg   | ttggcacatg  | cctgtagtcc  | cagctacttg  | agaggctgag  | 1620 |
| 15 | gcaagagaat  | tgtttgaacc   | cgggaggcag  | aggttgagc   | gtggtgagat  | catgccacta  | 1680 |
|    | cactccagcc  | tggcgacaga   | gcgagacttg  | gtttcaaaaa  | aaaaaaaaaa  | aaaaacttca  | 1740 |
|    | gtaagtacgt  | gttatTTTTT   | tcaataaaaat | tctattacag  | tatgtcatgt  | ttgctgtagt  | 1800 |
|    | gctcatatTT  | attgttgttt   | ttgttttagt  | actcacttgt  | ttcataatat  | caagattact  | 1860 |
|    | aaaaatgggg  | gaaaagactt   | ctaactcttt  | tttcataata  | tctttgacac  | atattacaga  | 1920 |
| 20 | agaaataaat  | ttcttacttt   | taatttaata  | tga         |             |             | 1953 |
|    | <210>       | 2            |             |             |             |             |      |
|    | <211>       | 1805         |             |             |             |             |      |
|    | <212>       | DNA          |             |             |             |             |      |
|    | <213>       | Homo sapiens |             |             |             |             |      |
| 25 | <400>       | 2            |             |             |             |             |      |
|    | acagaaccca  | gaaaaacaac   | tcattcgctt  | tcattttcctc | actgactata  | aaagaataga  | 60   |
|    | gaaggaaggg  | cttcagtgac   | cggtgcctg   | gctgacttac  | agcagtcaga  | ctctgacagg  | 120  |
|    | atcatggcta  | tgatggaggt   | ccagggggga  | cccagcctgg  | gacagacctg  | cgtgctgac   | 180  |
|    | gtgatcttca  | cagtgtctct   | gcagtctctc  | tgtgtggctg  | taacttacgt  | gtactttacc  | 240  |
| 30 | aacgagctga  | agcagatgca   | ggacaagtac  | tccaaaagtg  | gcattgcttg  | tttcttaaaa  | 300  |
|    | gaagatgaca  | gttattggga   | ccccaatgac  | gaagagagta  | tgaacagccc  | ctgctggcaa  | 360  |
|    | gtcaagtggc  | aactccgtca   | gctcgtaga   | aagactccaa  | gaatgaaaag  | gctctgggcc  | 420  |
|    | gcaaaataaa  | ctcctgggaa   | tcatcaagga  | gtgggcattc  | attcctgagc  | aacttgcaact | 480  |
|    | tgaggaatgg  | tgaactggtc   | atccatgaaa  | aagggtttta  | ctacatctat  | tcccaaacat  | 540  |
| 35 | actttcgatt  | tcaggaggaa   | ataaaaagaaa | acacaaaagaa | cgacaaaacaa | atgggtccaat | 600  |
|    | atattttacaa | atacacaagt   | tatcctgacc  | ctatatgtgt  | gatgaaaagt  | gctagaaaata | 660  |
|    | gttgtttggc  | taaagatgca   | gaatatggac  | tctattccat  | ctatcaaggg  | ggaatatttg  | 720  |
|    | agcttaagga  | aaatgacaga   | atttttgttt  | ctgtaacaaa  | tgagcacttg  | atagacatgg  | 780  |
|    | accatgaagc  | cagttttttt   | ggggcctttt  | tagtttggtc  | actgacctgg  | aaagaaaaag  | 840  |
| 40 | caataacctc  | aaagtgacta   | ttcagttttc  | aggatgatac  | actatgaaga  | tgtttcaaaa  | 900  |
|    | aatctgacca  | aaacaaacaa   | acagaaaaca  | gaaaacaaaa  | aaacctctat  | gcaatctgag  | 960  |
|    | tagagcagcc  | acaacaaaaa   | aattctacaa  | cacacactgt  | tctgaaagtg  | actcacttat  | 1020 |
|    | cccaagagaa  | tgaaattgct   | gaaagatctt  | tcaggactct  | acctcatatc  | agtttgctag  | 1080 |
|    | cagaaatcta  | gaagactgtc   | agcttccaaa  | cattaatgca  | atggttaaca  | tcttctgtct  | 1140 |
| 45 | ttataatcta  | ctccttgtaa   | agactgtaga  | agaaagagca  | acaatccatc  | tctcaagtag  | 1200 |
|    | tgtatcacag  | tagtagcctc   | caggtttctt  | taaggggacaa | catccttaag  | tcaaaagaga  | 1260 |
|    | gaagaggcac  | cactaaaaga   | tcgcagtttg  | cctgggtgcag | tggctcacac  | ctgtaatccc  | 1320 |
|    | aacatTTTtg  | gaacccaagg   | tgggtagatc  | acgagatcaa  | gagatcaaga  | ccatagtgc   | 1380 |

caacatagtg aaaccccatc tctactgaaa gtacaaaaat tagctgggtg tggtggcaca 1440  
 tgccctgtagt cccagctact tgagaggctg aggcaagaga attgtttgaa cccgggaggc 1500  
 agaggttgca gtgtggtgag atcatgccac tacactccag cctggcgaca gagcgagact 1560  
 tgggtttcaaa aaaaaaaaaa aaaaaaactt cagtaagtac gtgttatttt tttcaataaa 1620  
 5 attctattac agtatgtcat gtttgctgta gtgctcatat ttattgttgt ttttgtttta 1680  
 gtactcactt gtttcataat atcaagatta ctaaaaatgg gggaaaagac ttctaattctt 1740  
 tttttcataa tatctttgac acatattaca gaagaaataa atttcttact ttttaatttaa 1800  
 tatga 1805  
 <210> 3  
 10 <211> 1334  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 3  
 atttcctcac tgactataaa agaatagaga aggaagggct tcagtgaccg gctgcctggc 60  
 15 tgacttacag cagtcagact ctgacaggat catggctatg atggagggtcc aggggggacc 120  
 cagcctggga cagacctgcg tgctgatcgt gatcttcaca gtgctcctgc agtctctctg 180  
 tgtggctgta acttacgtgt actttaccaa cgagctgaag cagtttgagc aaaatgattg 240  
 ccagagacta atgtctgggc agcagacagg gtcattgctg ccatcttgaa gtctaccttg 300  
 ctgagtctac cctgctgacc tcaagcccca tcaaggactg gttgaccctg gcctagacaa 360  
 20 ccaccgtggt tgtaacagca ccaagagcag tcaccatgga aatccacttt tcagaaccaa 420  
 gggcttctgg agctgaagaa caggcaccca gtgcaagagc tttcttttca gaggcacgca 480  
 aatgaaaata atccccacac gctaccttct gcccccaatg cccaagtgtg gttagttaga 540  
 gaatatagcc tcagcctatg atatgctgca ggaaactcat attttgaagt ggaaaggatg 600  
 ggaggaggcg ggggagacgt atcgtattaa ttatcattct tggaataacc acagcacctc 660  
 25 acgtcaacc gccatgtgtc tagtcaccag cattggccaa gttctatagg agaaactacc 720  
 aaaattcatg atgcaagaaa catgtgaggg tggagagagt gactggggct tcctctctgg 780  
 atttctattg ttcagaaatc aatatattatg cataaaaagg tctagaaaga gaaacaccaa 840  
 aatgacaatg tgatctctag atggtatgat tatgggtact ttttttcctt tttatttttc 900  
 tatattttac aaatttttcta cagggaatgt tataaaaaata tccatgctat ccatgtataa 960  
 30 ttttcataca gattttaaaga acacagcatt tttatatagt cttatgagaa aacaaccata 1020  
 ctcaaaatta tgcacacaca cagtctgatc tcaccctgt aaacaagaga tatcatccaa 1080  
 aggttaagta ggaggtgaga atatagctgc tattagtggg tgttttggtt tgtttttggt 1140  
 atttacttat ttagtttttg gagggttttt tttttctttt agaaaagtgt tctttacttt 1200  
 tccatgcttc cctgcttgcc tgtgtatcct gaatgtatcc aggctttata aactcctggg 1260  
 35 taataatgta gctacattaa cttgttaacc tcccatccac ttataccag gaccttactc 1320  
 aattttccag gttc 1334  
 <210> 4  
 <211> 281  
 <212> PRT  
 40 <213> Homo sapiens  
 <400> 4  
 Met Ala Met Met Glu Val Gln Gly Gly Pro Ser Leu Gly Gln Thr Cys  
 1 5 10 15  
 Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys Val Ala  
 45 20 25 30  
 Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met Gln Asp Lys  
 35 40 45  
 Tyr Ser Lys Ser Gly Ile Ala Cys Phe Leu Lys Glu Asp Asp Ser Tyr

RU 2 730 836 C2

|    |       |              |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|----|-------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|    | 50    |              | 55  |     | 60  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Trp   | Asp          | Pro | Asn | Asp | Glu | Glu | Ser | Met | Asn | Ser | Pro | Cys | Trp | Gln | Val |
|    | 65    |              |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
|    | Lys   | Trp          | Gln | Leu | Arg | Gln | Leu | Val | Arg | Lys | Met | Ile | Leu | Arg | Thr | Ser |
| 5  |       |              |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
|    | Glu   | Glu          | Thr | Ile | Ser | Thr | Val | Gln | Glu | Lys | Gln | Gln | Asn | Ile | Ser | Pro |
|    |       |              |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
|    | Leu   | Val          | Arg | Glu | Arg | Gly | Pro | Gln | Arg | Val | Ala | Ala | His | Ile | Thr | Gly |
|    |       |              | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| 10 | Thr   | Arg          | Gly | Arg | Ser | Asn | Thr | Leu | Ser | Ser | Pro | Asn | Ser | Lys | Asn | Glu |
|    | 130   |              |     |     |     |     | 135 |     |     |     | 140 |     |     |     |     |     |
|    | Lys   | Ala          | Leu | Gly | Arg | Lys | Ile | Asn | Ser | Trp | Glu | Ser | Ser | Arg | Ser | Gly |
|    | 145   |              |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
|    | His   | Ser          | Phe | Leu | Ser | Asn | Leu | His | Leu | Arg | Asn | Gly | Glu | Leu | Val | Ile |
| 15 |       |              |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
|    | His   | Glu          | Lys | Gly | Phe | Tyr | Tyr | Ile | Tyr | Ser | Gln | Thr | Tyr | Phe | Arg | Phe |
|    |       |              |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
|    | Gln   | Glu          | Glu | Ile | Lys | Glu | Asn | Thr | Lys | Asn | Asp | Lys | Gln | Met | Val | Gln |
|    |       |              | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| 20 | Tyr   | Ile          | Tyr | Lys | Tyr | Thr | Ser | Tyr | Pro | Asp | Pro | Ile | Leu | Leu | Met | Lys |
|    | 210   |              |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
|    | Ser   | Ala          | Arg | Asn | Ser | Cys | Trp | Ser | Lys | Asp | Ala | Glu | Tyr | Gly | Leu | Tyr |
|    | 225   |              |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
|    | Ser   | Ile          | Tyr | Gln | Gly | Gly | Ile | Phe | Glu | Leu | Lys | Glu | Asn | Asp | Arg | Ile |
| 25 |       |              |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
|    | Phe   | Val          | Ser | Val | Thr | Asn | Glu | His | Leu | Ile | Asp | Met | Asp | His | Glu | Ala |
|    |       |              |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
|    | Ser   | Phe          | Phe | Gly | Ala | Phe | Leu | Val | Gly |     |     |     |     |     |     |     |
|    |       |              | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 30 | <210> | 5            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | <211> | 101          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | <212> | PRT          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | <213> | Homo sapiens |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | <400> | 5            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 35 | Met   | Ala          | Met | Met | Glu | Val | Gln | Gly | Gly | Pro | Ser | Leu | Gly | Gln | Thr | Cys |
|    | 1     |              |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
|    | Val   | Leu          | Ile | Val | Ile | Phe | Thr | Val | Leu | Leu | Gln | Ser | Leu | Cys | Val | Ala |
|    |       |              | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
|    | Val   | Thr          | Tyr | Val | Tyr | Phe | Thr | Asn | Glu | Leu | Lys | Gln | Met | Gln | Asp | Lys |
| 40 |       |              | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
|    | Tyr   | Ser          | Lys | Ser | Gly | Ile | Ala | Cys | Phe | Leu | Lys | Glu | Asp | Asp | Ser | Tyr |
|    | 50    |              |     |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
|    | Trp   | Asp          | Pro | Asn | Asp | Glu | Glu | Ser | Met | Asn | Ser | Pro | Cys | Trp | Gln | Val |
|    | 65    |              |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| 45 | Lys   | Trp          | Gln | Leu | Arg | Gln | Leu | Val | Arg | Lys | Thr | Pro | Arg | Met | Lys | Arg |
|    |       |              |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
|    | Leu   | Trp          | Ala | Ala | Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    |       |              |     | 100 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 6  
 <211> 65  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5 <400> 6  
 Met Ala Met Met Glu Val Gln Gly Gly Pro Ser Leu Gly Gln Thr Cys  
 1 5 10 15  
 Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys Val Ala  
 20 25 30  
 10 Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Phe Ala Glu Asn  
 35 40 45  
 Asp Cys Gln Arg Leu Met Ser Gly Gln Gln Thr Gly Ser Leu Leu Pro  
 50 55 60  
 Ser  
 15 65  
 <210> 7  
 <211> 223  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 20 <400> 7  
 Gln Asp His Gly Tyr Asp Gly Gly Pro Gly Gly Thr Gln Pro Gly Thr  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Arg Ala Asp Arg Asp Leu His Ser Ala Pro Ala Val Ser Leu  
 20 25 30  
 25 Cys Gly Cys Asn Leu Arg Val Leu Tyr Gln Arg Ala Glu Ala Glu Lys  
 35 40 45  
 Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val  
 50 55 60  
 Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser  
 30 65 70 75 80  
 Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp  
 85 90 95  
 Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg  
 100 105 110  
 35 Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser  
 115 120 125  
 Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn  
 130 135 140  
 Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp  
 40 145 150 155 160  
 Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp  
 165 170 175  
 Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu  
 180 185 190  
 45 Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile  
 195 200 205  
 Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly  
 210 215 220

<210> 8  
 <211> 178  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 8

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

Val Gly

<210> 9  
 30 <211> 2421  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 9

caccctcatg agccccgggt acgtttaact attgagggcc aggaaattgc cttcctcctg 60  
 35 gacactggcg cagccttctc aggggttaatc tcctgtcctg gatgactgtc ttcaaggtcc 120  
 gttaccaccc gaggaatcct gggacagcct ataaccaggt atttctccca catcctcagt 180  
 tgtaattgag agactttaat cttttcacat gccttttttg ttattcctga aagtcccaca 240  
 cccttattaa ggagggatat attagccaag gctggagcta ttatctacat gaatatgggg 300  
 aaaaagtac ccatttgctg tcccctactt gagggaggaa tcaaccctga agtctgggca 360  
 40 ttggaaggac aatttggaag ggcaaaaaat gcctgcccag tccaaatcag gttaaaagat 420  
 cccaccactt ttccgtatca aaggcaatat cccttaaggc ctgaagctca taaaggatta 480  
 tagaatattg ttaaacattt aaaagctcaa ggcttagtga ggaaatgcag cagtccctgc 540  
 aacaccccag ttctaggagt acaaaaacca aacagtcagt ggagactagt gcaagatctt 600  
 agactcatta atgaggcagt aattcctcta tatccagttg tacccaaccc ctataccctg 660  
 45 ctctctcaaa taccagggga agcagaatgg ttcacggttc tggacctcaa ggatgccttc 720  
 ttctttattc ccctgcactc tgactcccag tttctctttg cttttgagga tcccacagac 780  
 cacacgtccc aacttacaca gatggtcttg cccaagggt ttagggatag ccctcatctg 840  
 tttggtcagg cactggccca agatctatag gccacttctc aagtccaggc actctggtcc 900

|    |             |              |             |             |            |             |      |
|----|-------------|--------------|-------------|-------------|------------|-------------|------|
|    | ttcaatatgt  | ggatgattta   | cttttggcta  | ccagtttggga | agcctcgtgc | cagcaggcta  | 960  |
|    | ctctggatct  | cttgaacttt   | ctggctaatac | aagggtagaa  | ggtgtctagg | tcgaaggccc  | 1020 |
|    | agctttgcct  | acagcagggt   | aaatatctaa  | gcctaatact  | agccaaagg  | accaggggccc | 1080 |
|    | tcagcaagga  | atgaatacag   | cctatactgg  | cttatcctca  | ccctaagaca | ttaaaacagt  | 1140 |
| 5  | tgcggggatt  | ccttggaatt   | actggctttt  | gctgactatg  | gatctccaga | tacagcgaga  | 1200 |
|    | cagccaggcc  | cctctatact   | ctaatacaag  | aaacccagag  | ggcaaatact | catctagtcg  | 1260 |
|    | aaaggggaacc | agaggcagaa   | acagccttca  | aaagcttaaa  | gcaggctcta | gtacaagctc  | 1320 |
|    | cagcttttaag | ccttcccaca   | ggacagaact  | tctctttata  | catcacagag | agagccaaga  | 1380 |
|    | tagctcttgg  | agtccttaga   | ctcgtgggac  | aacccacaaa  | ccagtggcat | acctaagtaa  | 1440 |
| 10 | ggaaattgat  | gtagtagcaa   | aaggctggcc  | tactgtttta  | agggtagttg | cagcagcggc  | 1500 |
|    | cgtcttagcg  | tcagaggcta   | tcagaataat  | acaaggaaag  | gatctcactg | tctggactac  | 1560 |
|    | tcatgatgta  | aatggcatac   | taggtgccaa  | aggaagttaa  | tggctatcag | acaaccgcct  | 1620 |
|    | cttagatgcc  | aggcactact   | ccttgaggga  | ctgggtgcta  | aaatatgcac | gtgcgtggcc  | 1680 |
|    | ctcaaccctg  | ccacttttct   | cccagaggat  | ggggaaccaa  | ttgagcatga | ctgccaacaa  | 1740 |
| 15 | attatagtc   | agacttatgc   | cgcccagagat | gatctcttag  | aagtcctctt | aactaatcct  | 1800 |
|    | gaccttaacc  | tatataccga   | cggaagttca  | tttgtggaga  | atgggatacg | aagggcaggt  | 1860 |
|    | tacgccatag  | tgatgtaacc   | acacttgaaa  | gcaagcctct  | tccccagg   | accagtgcc   | 1920 |
|    | agttagcaga  | actagtggca   | cttaccgcag  | ccttagaact  | gggaaaggga | aaaagaataa  | 1980 |
|    | atgtgtatac  | agataacaag   | tatgcttatc  | taatcctaca  | tgcccatgct | gcaatatgga  | 2040 |
| 20 | aagaatggga  | gttcctaacc   | tctgggaacc  | cccgtggat   | gccacaggga | agttatggag  | 2100 |
|    | ttattgcaca  | tgggtgcagga  | acccaaagag  | gtgggagtct  | tacactacca | aggccatcaa  | 2160 |
|    | aatgggaagg  | agaggggaga   | acagcagcat  | aagcggctgg  | cagaggtagg | gaaagaccag  | 2220 |
|    | caagaaggaa  | agagagaaa    | agaaagtcag  | agaaagagac  | agagagagga | agagacagag  | 2280 |
|    | agacagaacg  | ttaaagagg    | tgtcagaaac  | agagacaaac  | aaaaggagtc | agaaagaagg  | 2340 |
| 25 | acagacacag  | aaagtcaaag   | agagagttaa  | aaagagagga  | agagacaaag | aagtcgaaga  | 2400 |
|    | gagaaagaga  | gagatggaag   | t           |             |            |             | 2421 |
|    | <210>       | 10           |             |             |            |             |      |
|    | <211>       | 2421         |             |             |            |             |      |
|    | <212>       | DNA          |             |             |            |             |      |
| 30 | <213>       | Homo sapiens |             |             |            |             |      |
|    | <400>       | 10           |             |             |            |             |      |
|    | ctttgcagat  | aaatatggca   | cactagcccc  | acgttttctg  | agacattcct | caattgctta  | 60   |
|    | gacatattct  | gagcctacag   | cagaggaacc  | tccagtctca  | gcaccatgaa | tcaaaactgcc | 120  |
|    | attctgattt  | gctgccttat   | ctttctgact  | ctaagtggca  | ttcaaggtaa | ggaacatcaa  | 180  |
| 35 | aggatactta  | atttgtaaaa   | tgagaaatag  | gaataggtat  | aaattctaaa | aatacagaaa  | 240  |
|    | taatgtattt  | gtaaaagttt   | cactgcatgc  | ttataaataa  | gagggaaata | aatagagatt  | 300  |
|    | ccctcagatc  | ataaaaactta  | tatgaattga  | agtgagagaa  | acaaatagaa | taagagaaag  | 360  |
|    | agaaggaaaa  | agggaaggag   | gacagaagag  | atggggaaga  | gggaggatag | agagagaaaa  | 420  |
|    | tgtgagggaa  | tgcgagacaga  | gatgagatac  | agataacttc  | ttacctaact | aagctcaatg  | 480  |
| 40 | aaccacatga  | actgtgctta   | agggtttgac  | tttataatca  | acaagctgca | attcttttct  | 540  |
|    | tccagataat  | caactcttta   | atcattttaca | gttgtgttat  | gatgtgatcc | attcctctct  | 600  |
|    | agattaagtg  | actatttgct   | gatatgggga  | tataggttct  | gctaaatacc | accagtctac  | 660  |
|    | attaaatgcc  | taaaatgaac   | actgtgctaa  | ccttctctgc  | tgcttctctt | ttcctacagg  | 720  |
|    | agtacctctc  | tctagaactg   | tacgctgtac  | ctgcatcagc  | attagtaatc | aacctgttaa  | 780  |
| 45 | tccaaggtct  | ttagaaaaac   | ttgaaattat  | tcctgcaagc  | caattttgtc | cacgtgttga  | 840  |
|    | gatcatgtga  | gtgaaatccc   | atctgattat  | cacttccctg  | gttgtaatta | tatactgtat  | 900  |
|    | taaatatgta  | atgataataa   | aaaaagatca  | gtaaagggtt  | tgtgatgatt | ctaaaactaa  | 960  |
|    | tgtacagcaa  | acaaaaacat   | gcagagtga   | acttaaattgt | ctgacttcag | aactgcgtat  | 1020 |

|    |                                                                     |      |
|----|---------------------------------------------------------------------|------|
|    | gccatctggtt ttattgaccc aacacagttt taaatatattt catccctatt tatttctaca | 1080 |
|    | gtgctacaat gaaaaagaag ggtgagaaga gatgtctgaa tccagaatcg aaggccatca   | 1140 |
|    | agaatttact gaaagcagtt agcaaggaaa ggtaggtttg ctgttgccctg cagaagaatt  | 1200 |
|    | gctcttttagg aaacggcaat cttgggagtc agaaatactt gcattgtggt ttgctgtgca  | 1260 |
| 5  | atcgctgggtt taaaagtatg ttaccaccac gccctcccct acctccattt atttaaagtc  | 1320 |
|    | tgaggcacca tcttggtgtga taagtatcag aagttaccct gattaccagt caaccttgaa  | 1380 |
|    | gtacagctat aactatctaa gcaaaactga caacattttc cccaagtctt tcatgggtga   | 1440 |
|    | aaaaagcaac ccctataatc cataatgaat gcatagcagc aggaaagctc agttatctat   | 1500 |
|    | tctatgaact cgggtactttc caaacacaac ccaatctgaa gccagagtca gactatcaca  | 1560 |
| 10 | cttttatatc ccctttctct tcttacaggt ctaaaaagatc tccttaaaac cagaggggag  | 1620 |
|    | caaaatcgat gcagtgccttc caaggatgga ccacacagag gctgcctctc ccatcacttc  | 1680 |
|    | cctacatgga gtatatgtca agccataatt gttcttagtt tgcagttaca ctaaaagggtg  | 1740 |
|    | accaatgatg gtcaccaaact cagctgctac tactcctgta ggaagggtta tgttcatcat  | 1800 |
|    | cctaagctat tcagtaataa ctctaccctg gcactataat gtaagctcta ctgaggtgct   | 1860 |
| 15 | atgttcttag tggatgttct gaccctgctt caaatatttc cctcaccttt cccatcttcc   | 1920 |
|    | aagggtacta aggaatcttt ctgctttggg gtttatcaga attctcagaa tctcaaataa   | 1980 |
|    | ctaaaaggta tgcaatcaaa tctgctttttt aaagaatgct ctttacttca tggacttcca  | 2040 |
|    | ctgccatcct cccaaggggc ccaaattctt tcagtggcta cctacataca attccaaaca   | 2100 |
|    | catacaggaa ggtagaaata tctgaaaatg tatgtgtaag tattcttatt taatgaaaga   | 2160 |
| 20 | ctgtacaaag tagaagtctt agatgtatat atttcctata ttgttttcag tgtacatgga   | 2220 |
|    | ataacatgta attaagtact atgtatcaat gagtaacagg aaaattttta aaatacagat   | 2280 |
|    | agatatatgc tctgcatggt acataagata aatgtgctga atggttttca aaataaaaaat  | 2340 |
|    | gaggtactct cctggaaata ttaagaaaaga ctatctaaat gttgaaagat caaaagggtta | 2400 |
|    | ataaagtaat tataactaag a                                             | 2421 |
| 25 | <210> 11                                                            |      |
|    | <211> 2421                                                          |      |
|    | <212> DNA                                                           |      |
|    | <213> Homo sapiens                                                  |      |
|    | <400> 11                                                            |      |
| 30 | agatgacttt tttctattta tatttaataa gatgatgaac ctttcttgca ttcccgaat    | 60   |
|    | aaacctcaac tggtacagtg ttttattctt ttaatatgta cgaagtacat gttaagcaag   | 120  |
|    | ttatttccta agcagcccca caaactgggc actactacca tctgctctg cccctccctc    | 180  |
|    | actctacttc agccacttca gccacaatgg cctctcctca ctgcccctct gatgcacaa    | 240  |
|    | gcttggtctc acctcaggaa tgtgcaacac ctgccagact tgctgttccc cggagcctcc   | 300  |
| 35 | atccccagat atcctcatat atcatcctcc tcttcatttg tgtctctgct tacatatgac   | 360  |
|    | ctattttacag aagccttttc tgtctacccc ccatgaaata gaaatcgcat tccaatcttg  | 420  |
|    | tctctacccc aatgctgttt cattttgtct gtagcaattg tcatcatctc atatatattc   | 480  |
|    | acatgtggaa aatacacaaa atgtttaact tcttttaatt tacattccat ttccccatga   | 540  |
|    | attgaagctc catgacagcg gagatttttc tctgctttcc ctgttgctca cttcccagca   | 600  |
| 40 | ccaagagcag gcctggcaca tgggaagtac ttactattta ttgaatggat gaatgaacaa   | 660  |
|    | atgaatgaat ggatacttat ttacacata agaaaactga agcttataga aattaagtaa    | 720  |
|    | ctaaaatcac acagaagcac agctgaaact aaaacctacg tctaactttc aattcctgac   | 780  |
|    | ccttaaccat taaaacaaat gacaggtgac tttaggccac tgaaaatgct catataatct   | 840  |
|    | tatgaattct aaagcacaaag ttaatcacac cattgattga aagtctgagg aatactgtat  | 900  |
| 45 | agacaagccc ctgtacaagg taagcaaaaag aatcagagga tggcctccaa agaattccct  | 960  |
|    | ggacattatg ggaattacat tgtagcctt cctactgata cccataagcc tcacagcaag    | 1020 |
|    | catcatgaag ctgtgacctt catctgcaca tgcccttgta tacccaaaag ataaaactgg   | 1080 |
|    | atgcttcagg gccgaatggc caataaacac gtgtttatta ctggcatggg cagacacaca   | 1140 |



|    |             |              |             |            |             |             |      |
|----|-------------|--------------|-------------|------------|-------------|-------------|------|
|    | tactgaaagt  | accatitccc   | agcggactag  | ccatattatg | atcagtacag  | acactaaaga  | 1200 |
|    | tttagctttg  | aaaaaactat   | ttgctcttcc  | aaagctgaag | aatcttctgt  | gatttcaaca  | 1260 |
|    | ggcaagttac  | agtcaggat    | tcttaatggt  | cttttctctc | tctctcactg  | ggatactttc  | 1320 |
|    | tttctctcag  | acaacgtcaa   | gcgaaaaaca  | aaatttcaca | aatctccatt  | tctgacacta  | 1380 |
| 5  | aacagtacag  | tatctttatt   | ttttttataa  | tttaatacaa | ccctgtattt  | tagaactgtg  | 1440 |
|    | gggctgatcc  | aacattgcaa   | tgtgtcacat  | ttaattccat | caatgtaaag  | cataatgagc  | 1500 |
|    | aaagattaag  | gtagtgaggc   | ataactaaat  | gttttgaacc | tgtgaatttc  | aaaagcaagg  | 1560 |
|    | cccatttgtg  | ttattttcta   | aatagtaaat  | aaaatcattt | tccaacattt  | cactatcaaa  | 1620 |
|    | ttacagtaat  | ttttccacca   | gtacacactt  | gaggaaagcc | acaaaaagac  | ttttccaaca  | 1680 |
| 10 | gttcattctg  | ttattgctca   | taaccttcta  | aatacttctc | ctcattggct  | tctattcaaa  | 1740 |
|    | ggtaaatgga  | aagcagtaaa   | atttatggaa  | aatatattca | actgcttaaa  | atacatcaac  | 1800 |
|    | caaaaaaaag  | atttttagagc  | tgtattatga  | gttgtgaaat | tgcattgcct  | tcacttacct  | 1860 |
|    | ttcagtttca  | ctggtaggta   | acaaaactga  | cagactggct | aagttccaaa  | acatccccta  | 1920 |
|    | tatagagcct  | gactcttcca   | tctcaaattc  | tcaccttggg | caaggccaga  | gtaaacacct  | 1980 |
| 15 | gtccttcaca  | tttttacaca   | acatcacttt  | gtatgctaca | aatataagct  | ttcataccag  | 2040 |
|    | ggaggaagca  | aattccagga   | cactggaaac  | atttctgctc | tcttaaacca  | gtctgttgat  | 2100 |
|    | tgttcccttg  | actttctcag   | ctgtcaggat  | agtgaagga  | ggaaaactgc  | aaaactgtaa  | 2160 |
|    | agtataacct  | gataagtttg   | ccctttaagc  | ttttcacaca | gagagaggta  | aaataaaaact | 2220 |
|    | caagtctaag  | gttttaaaatt  | gagctatgaa  | tattatatct | tagcactaga  | caaaaatggt  | 2280 |
| 20 | gcaagatttt  | aataaaaata   | gattattaaa  | atcaattttt | acatttcatg  | ggccaaggag  | 2340 |
|    | agacatcaaa  | gaatgtttta   | ctaacatttt  | aaagatacta | tactttataa  | agttaagaag  | 2400 |
|    | aaaaatgaca  | actgcaccag   | t           |            |             |             | 2421 |
|    | <210>       | 12           |             |            |             |             |      |
|    | <211>       | 1227         |             |            |             |             |      |
| 25 | <212>       | DNA          |             |            |             |             |      |
|    | <213>       | Homo sapiens |             |            |             |             |      |
|    | <400>       | 12           |             |            |             |             |      |
|    | ctttgcagat  | aaatatggca   | cactagcccc  | acgttttctg | agacattcct  | caattgctta  | 60   |
|    | gacatattct  | gagcctacag   | cagaggaacc  | tccagtctca | gcaccatgaa  | tcaaaactgcc | 120  |
| 30 | attctgattt  | gctgccttat   | ctttctgact  | ctaagtggca | ttcaaggagt  | acctctctct  | 180  |
|    | agaactgtac  | gctgtacctg   | catcagcatt  | agtaatcaac | ctgttaatcc  | aaggctctta  | 240  |
|    | gaaaaacttg  | aaattattcc   | tgcaagccaa  | ttttgtccac | gtgttgagat  | cattgctaca  | 300  |
|    | atgaaaaaga  | agggtgagaa   | gagatgtctg  | aatccagaat | cgaaggccat  | caagaattta  | 360  |
|    | ctgaaagcag  | ttagcaagga   | aagggtctaaa | agatctcctt | aaaaccagag  | gggagcaaaa  | 420  |
| 35 | tcgatgcagt  | gcttccaagg   | atggaccaca  | cagaggctgc | ctctcccatc  | acttccctac  | 480  |
|    | atggagtata  | tgtcaagcca   | taattgttct  | tagtttgtag | ttacactaaa  | aggtgaccaa  | 540  |
|    | tgatgggtcac | caaatcagct   | gctactactc  | ctgtaggaag | gttaatgttc  | atcatcctaa  | 600  |
|    | gctattcagt  | aataactcta   | ccctggcact  | ataatgtaag | ctctactgag  | gtgctatggt  | 660  |
|    | cttagtggat  | gttctgaccc   | tgcttcaaat  | atttccctca | cctttcccat  | cttccaaggg  | 720  |
| 40 | tactaaggaa  | tctttctgct   | ttgggggttta | tcagaattct | cagaatctca  | aataactaaa  | 780  |
|    | aggtatgcaa  | tcaaactctgc  | tttttaaaga  | atgctcttta | cttcatggac  | ttccactgcc  | 840  |
|    | atcctcccaa  | ggggcccaaa   | ttctttcagt  | ggctacctac | atacaattcc  | aaacacatac  | 900  |
|    | aggaaggtag  | aaatatctga   | aaatgtatgt  | gtaagtattc | ttattttaatg | aaagactgta  | 960  |
|    | caaagtagaa  | gtcttagatg   | tatatatttc  | ctatatgtgt | ttcagtgtac  | atggaataac  | 1020 |
| 45 | atgtaattaa  | gtactatgta   | tcaatgagta  | acaggaaaat | tttaaaaata  | cagatagata  | 1080 |
|    | tatgctctgc  | atgttacata   | agataaatgt  | gctgaatggg | tttcaaaaata | aaaatgaggt  | 1140 |
|    | actctcctgg  | aaatattaag   | aaagactatc  | taaatgttga | aagatcaaaa  | ggttaataaa  | 1200 |
|    | gtaattataa  | ctaagaaaaa   | aaaaaaa     |            |             |             | 1227 |

<210> 13  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5 <400> 13  
 Met Asn Gln Thr Ala Ile Leu Ile Cys Cys Leu Ile Phe Leu Thr Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Gly Ile Gln Gly Val Pro Leu Ser Arg Thr Val Arg Cys Thr Cys  
 20 25 30  
 10 Ile Ser Ile Ser Asn Gln Pro Val Asn Pro Arg Ser Leu Glu Lys Leu  
 35 40 45  
 Glu Ile Ile Pro Ala Ser Gln Phe Cys Pro Arg Val Glu Ile Ile Ala  
 50 55 60  
 Thr Met Lys Lys Lys Gly Glu Lys Arg Cys Leu Asn Pro Glu Ser Lys  
 15 65 70 75 80  
 Ala Ile Lys Asn Leu Leu Lys Ala Val Ser Lys Glu Arg Ser Lys Arg  
 85 90 95  
 Ser Pro  
 <210> 14  
 20 <211> 2301  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 14  
 aaggcaagag atctaggact tctagcccct gaactttcag ccgaatacat cttttccaaa 60  
 25 ggagtgaatt caggcccttg tatcactggc agcaggacgt gaccatggag aagctgttgt 120  
 gtttcttggt cttgaccagc ctctctcatg cttttggcca gacaggtaag ggccacccca 180  
 ggctatggga gagatttgat ctgaggtatg ggggtggggt ctaagactgc atgaacagtc 240  
 tcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa ctgtatgaac agaacagtgg agcatccttc atgggtgtgtg 300  
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg ttgtgtgtaa ctggagaagg ggtcagtcctg 360  
 30 tttctcaatc ttaaattcta tacgtaagtg aggggataga tctgtgtgat ctgagaaacc 420  
 tctcacatth gcttgttttt ctggctcaca gacatgtcga ggaaggcttt tgtgtttccc 480  
 aaagagtcgg atacttccta tgtatccctc aaagcaccgt taacgaagcc tctcaaagcc 540  
 ttcactgtgt gcctccactt ctacacggaa ctgtcctcga cccgtgggta cagtattttc 600  
 tcgtatgcca ccaagagaca agacaatgag attctcatat tttgggtctaa ggatatagga 660  
 35 tacagtttta cagtgggtgg gtctgaaata ttattcgagg ttcctgaagt cacagtagct 720  
 ccagtacaca tttgtacaag ctgggagtcc gcctcaggga tcgtggagtt ctgggtagat 780  
 gggaagccca ggggtgaggaa gagtctgaag aagggaataca ctgtgggggc agaagcaagc 840  
 atcatcttgg ggcaggagca ggattccttc ggtgggaact ttgaaggaag ccagtccttg 900  
 gtgggagaca ttggaaatgt gaacatgtgg gactttgtgc tgtcaccaga tgagattaac 960  
 40 accatctatc ttggcgggccc cttcagtcct aatgtcctga actggcgggc actgaagtat 1020  
 gaagtgaag gcgaagtgtt caccaaacc cagctgtggc cctgaggccc agctgtgggt 1080  
 cctgaaggta cctcccgtt ttttacaccg catgggcccc acgtctctgt ctctgggtacc 1140  
 tcccgctttt ttacactgca tggttccac gtctctgtct ctgggccttt gttcccctat 1200  
 atgcattgca ggctgtctcc accctcctca gcgcctgaga atggaggtaa agtgtctggt 1260  
 45 ctgggagctc gttaactatg ctgggaaacg gtccaaaaga atcagaattt gaggtgtttt 1320  
 gttttcattt ttatttcaag ttggacagat cttggagata atttcttacc tcacatagat 1380  
 gagaaaacta acaccagaa aggagaaatg atgttataaa aaactcataa ggcaagagct 1440  
 gagaaggaag cgctgatctt ctattttaatt cccaccccat gacccccaaga aagcaggagg 1500

|    |             |              |             |             |             |             |      |
|----|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
|    | gcattgcccc  | cattcacagg   | gctcttcagt  | ctcagaatca  | ggacactggc  | caggtgtctg  | 1560 |
|    | gtttgggtcc  | agagtgtctc   | tcatcatgtc  | atagaactgc  | tggggccagg  | tctcctgaaa  | 1620 |
|    | tgggaagccc  | agcaatacca   | cgcagtccct  | ccactttctc  | aaagcacact  | ggaaaggcca  | 1680 |
|    | ttagaattgc  | cccagcagag   | cagatctgct  | ttttttccag  | agcaaaatga  | agcactaggt  | 1740 |
| 5  | ataaatatgt  | tgttactgcc   | aagaacttaa  | atgactgggt  | tttgtttgct  | tgcagtgctt  | 1800 |
|    | tcttaatttt  | atggctcttc   | tgggaaaactc | ctcccccttt  | ccacacgaac  | cttggtggggc | 1860 |
|    | tgtgaattct  | ttcttcatcc   | ccgcattccc  | aatataccca  | ggccacaaga  | gtggacgtga  | 1920 |
|    | accacagggg  | gtcctgtcag   | aggagcccat  | ctcccctctc  | cccagctccc  | tatctggagg  | 1980 |
|    | atagttggat  | agttacgtgt   | tcctagcagg  | accaactaca  | gtcttcccaa  | ggattgagtt  | 2040 |
| 10 | atggactttg  | ggagtggagc   | atcttcttgc  | tgctggattt  | ccaagctgag  | aggacgtgaa  | 2100 |
|    | cctgggacca  | ccagtagcca   | tcttgtttgc  | cacatggaga  | gagactgtga  | ggacagaagc  | 2160 |
|    | caaactggaa  | gtggaggagc   | caagggtattg | acaaacaaca  | gagccttgac  | cacgtggagt  | 2220 |
|    | ctctgaatca  | gccttgtctg   | gaaccagatc  | tacacctgga  | ctgcccagggt | ctataagcca  | 2280 |
|    | ataaagcccc  | tgtttacttg   | a           |             |             |             | 2301 |
| 15 | <210>       | 15           |             |             |             |             |      |
|    | <211>       | 2301         |             |             |             |             |      |
|    | <212>       | DNA          |             |             |             |             |      |
|    | <213>       | Homo sapiens |             |             |             |             |      |
|    | <400>       | 15           |             |             |             |             |      |
| 20 | aggaattgaa  | ctcagctctg   | ccccaagcgg  | acctaataga  | catctacaga  | actctccacc  | 60   |
|    | ccaaatcaac  | agaatataca   | ttttttttcag | caccacacca  | cacctattcc  | aaaattgatc  | 120  |
|    | acatagttgg  | cagtaaagct   | ctcctcagca  | aatgtaaagg  | aacagaaatt  | ataacaaact  | 180  |
|    | atctctcaga  | ccacagtgca   | atcaaattag  | aactcagaat  | taagaatctc  | actcaaaacc  | 240  |
|    | gcacaactac  | atggaaaactg  | aacaacctgc  | ttctgaatga  | ctactgggta  | cataatgaaa  | 300  |
| 25 | tgaaggcaga  | aataaagatg   | ttctttgaaa  | tgaacaagaa  | caaacacaca  | acataccaga  | 360  |
|    | atctctggga  | cgcaattcaaa  | gcagtgtgta  | gagggaaatt  | tatagcacta  | aatgcccaca  | 420  |
|    | agagaaagca  | ggaaacatcc   | aaaattgaca  | tcctaacatc  | acagttaaaa  | gaactagaaa  | 480  |
|    | agcaagagca  | aacacattca   | aaagctagca  | gaaggcaaga  | gataactaaa  | atcagagcag  | 540  |
|    | aactgaagga  | aatagagaca   | caaaaaccct  | tcaaaaaaatt | aatgaatcca  | ggagctgggt  | 600  |
| 30 | ttttgaaagg  | atcaacaaaa   | tagatagacc  | actagcaaga  | ctaataaaga  | aaaaaagaga  | 660  |
|    | gaagaatcaa  | atagacacaa   | taaaaaaatg  | ataaagggga  | tatcaccacc  | gatcccacgg  | 720  |
|    | aaatacaaac  | taccatcaga   | gaatactaca  | aacacctcta  | cgcaaataaa  | ctagaaaatc  | 780  |
|    | aagaagaaat  | ggataaattc   | ctcgacacat  | acactctccc  | aagactaaac  | caggaagaag  | 840  |
|    | ttgaatctct  | gaatagacca   | ataacaggat  | atgaaattgt  | ggcaataatc  | aataccttac  | 900  |
| 35 | caacaaaaaa  | gagtccagga   | ccagatggat  | tcacagccga  | attctaccag  | aggtacaagg  | 960  |
|    | aggaactggg  | accattcctt   | ctgaaactat  | tccaatcaat  | agaaaaagag  | ggaatcctcc  | 1020 |
|    | ctaactcatt  | ttatgaggcc   | agcatcatcc  | tgataccaaa  | gccgggcaga  | gacacaacca  | 1080 |
|    | aaaaagagaa  | tttttagacca  | atcaatatcc  | ttgatgaaca  | ttgatgcaaa  | aatcctcaat  | 1140 |
|    | aaaatactgc  | caaaccaaaat  | ccagcagcac  | atcaaaaaagc | ttatccacca  | tgatcaagtg  | 1200 |
| 40 | ggcttcatcc  | ctgggatgca   | aggctgggtc  | aatatacgca  | aatcaataaa  | tgtaatccag  | 1260 |
|    | catataaaca  | gagccaaaaga  | caaaaaccac  | atgattatct  | caatagatgc  | agaaaagacc  | 1320 |
|    | tttgacaaaa  | ttcaacaacc   | cttcatgctc  | aaaactctca  | ataaattagg  | tattgatggg  | 1380 |
|    | acgtattttca | aaataataag   | agctatctat  | gacaaaacca  | cagccaatat  | catactgaat  | 1440 |
|    | gggcaaaaac  | tgggaagtatt  | cactttgaaa  | actggcacaa  | gacaggggatg | ccctctctca  | 1500 |
| 45 | ccactcctat  | tcaacatagt   | gttggaagtt  | ctggccaggg  | caattaggca  | ggagaaggaa  | 1560 |
|    | ataaagggtg  | ttcaattagg   | aaaagaggaa  | gtcaaaattgt | ccctgtttgc  | agacgacatg  | 1620 |
|    | attgtatatc  | tagaaaaccc   | cattgtctca  | gcccaaaatc  | tccttaagca  | gataagcaac  | 1680 |
|    | ttcagcaaaa  | tctcaggata   | caaaatcaat  | gtacaaaaat  | cacaagcatt  | cttatacacc  | 1740 |

|    |             |              |             |             |            |            |      |
|----|-------------|--------------|-------------|-------------|------------|------------|------|
|    | aacaacagac  | aaacagagag   | ccaaatcatg  | agtgaatcc   | cattcacaat | tgctttaag  | 1800 |
|    | agaataaaat  | acctaggaat   | ccaacttaca  | agggatgtga  | aggacctctt | caaggagaac | 1860 |
|    | tacaaaccac  | tgctcaatga   | aataaaaagag | gataaaaaca  | aatggaagaa | cattccatgc | 1920 |
|    | tcatgggtag  | gaagaatcaa   | tatcatgaaa  | atggccatac  | tgcccaaggt | aatttacaga | 1980 |
| 5  | ttcaatgcc   | tccccatcaa   | gctaccaatg  | cctttcttca  | cagaattgga | aaaaactatt | 2040 |
|    | tttagttcat  | atggaaccaa   | aaaagagccc  | gcattgccaa  | gtcaatccta | agccaaaaga | 2100 |
|    | acaagctgg   | aggcatcaca   | ctacctgact  | tcaaaactata | ctacaaggct | acagtaacca | 2160 |
|    | aaacagcatg  | gtactggaac   | caaaacagag  | atatagatca  | atggaacaga | acagagccct | 2220 |
|    | caaaattaat  | gccacatatc   | tacaactatc  | tgatctttga  | caaacctgag | aaaaaccagc | 2280 |
| 10 | aatggggaaa  | ggattcccca   | t           |             |            |            | 2301 |
|    | <210>       | 16           |             |             |            |            |      |
|    | <211>       | 2024         |             |             |            |            |      |
|    | <212>       | DNA          |             |             |            |            |      |
|    | <213>       | Homo sapiens |             |             |            |            |      |
| 15 | <400>       | 16           |             |             |            |            |      |
|    | aaggcaagag  | atctaggact   | tctagcccct  | gaactttcag  | ccgaatacat | cttttccaaa | 60   |
|    | ggagtgaatt  | caggcccttg   | tatcactggc  | agcaggacgt  | gacctgggag | aagctgttgt | 120  |
|    | gtttcttggt  | cttgaccagc   | ctctctcatg  | cttttggcca  | gacagacatg | tcgaggaagg | 180  |
|    | cttttgtggt  | tcccaaagag   | tcggatactt  | cctatgtatc  | cctcaaagca | ccgttaacga | 240  |
| 20 | agcctctcaa  | agccttcaact  | gtgtgcctcc  | acttctacac  | ggaactgtcc | tcgaccctgt | 300  |
|    | ggtacagtat  | tttctcgtat   | gccaccaaga  | gacaagacaa  | tgagattctc | atattttggt | 360  |
|    | ctaaggatat  | aggatacagt   | tttacagtgg  | gtgggtctga  | aatattattc | gaggttcctg | 420  |
|    | aagtcacagt  | agctccagta   | cacatttgta  | caagctggga  | gtccgcctca | gggatcgtgg | 480  |
|    | agttctgggt  | agatgggaag   | cccaggggtga | ggaagagtct  | gaagaaggga | tacactgtgg | 540  |
| 25 | gggcagaagc  | aagcatcatc   | ttggggcagg  | agcaggattc  | cttcggtggg | aactttgaag | 600  |
|    | gaagccagtc  | cctgggtggga  | gacattggaa  | atgtgaacat  | gtgggacttt | gtgctgtcac | 660  |
|    | cagatgagat  | taacaccatc   | tatcttggcg  | ggcccttcag  | tcctaattgc | ctgaactggc | 720  |
|    | gggcactgaa  | gtatgaagtg   | caaggcgaag  | tgttcaccaa  | acccagctg  | tggccctgag | 780  |
|    | gccagctgt   | gggtcctgaa   | ggtacctccc  | ggttttttac  | accgcatggg | ccccacgtct | 840  |
| 30 | ctgtctctgg  | tacctccgc    | ttttttacac  | tgcatggttc  | ccacgtctct | gtctctgggc | 900  |
|    | ctttgttccc  | ctatatgcat   | tgaggcctg   | ctccaccctc  | ctcagcgcct | gagaatggag | 960  |
|    | gtaaagtgtc  | tgggtctggga  | gctcgtaaac  | tatgctggga  | aacggtccaa | agaatcaga  | 1020 |
|    | atgtgaggtg  | ttttgttttc   | atttttatatt | caagttggac  | agatcttggg | gataatttct | 1080 |
|    | tacctcacat  | agatgagaaa   | actaacaccc  | agaaaggaga  | aatgatgtta | taaaaaactc | 1140 |
| 35 | ataaggcaag  | agctgagaag   | gaagcgctga  | tcttctatatt | aattccccac | ccatgacccc | 1200 |
|    | cagaaagcag  | gagggcattg   | cccacattca  | cagggtctct  | cagtctcaga | atcaggacac | 1260 |
|    | tggccagggtg | tctgggtttg   | gtccagagt   | ctcatcatca  | tgtcatagaa | ctgctgggcc | 1320 |
|    | caggtctcct  | gaaatgggaa   | gccagcaat   | accacgcagt  | ccctccactt | tctcaaagca | 1380 |
|    | cactggaaaag | gccattagaa   | ttgccccagc  | agagcagatc  | tgcttttttt | ccagagcaaa | 1440 |
| 40 | atgaagcact  | aggtataaat   | atgttggttac | tgccaagaac  | ttaaataact | ggtttttgtt | 1500 |
|    | tgcttgacagt | gctttcttaa   | ttttatggct  | cttctgggaa  | actcctcccc | ttttccacac | 1560 |
|    | gaaccttggtg | gggctgtgaa   | ttctttcttc  | atccccgcac  | tcccaatata | cccaggccac | 1620 |
|    | aagagtggac  | gtgaaccaca   | gggtgtcctg  | tcagaggagc  | ccatctccca | tctccccagc | 1680 |
|    | tccttatctg  | gaggatagtt   | ggatagttac  | gtgttcctag  | caggaccaac | tacagtcttc | 1740 |
| 45 | ccaaggattg  | agttatggac   | tttgggagtg  | agacatcttc  | ttgctgctgg | atttccaagc | 1800 |
|    | tgagaggacg  | tgaacctggg   | accaccagta  | gccatcttgt  | ttgccacatg | gagagagact | 1860 |
|    | gtgaggacag  | aagccaaact   | ggaagtggag  | gagccaaggg  | attgacaaac | aacagagcct | 1920 |
|    | tgaccacgtg  | gagttctctga  | atcagccttg  | tctggaacca  | gatctacacc | tggactgccc | 1980 |

aggtctataa gccataaaag cccctgttta cttgaaaaaa aaaa  
 <210> 17  
 <211> 224  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens  
 <400> 17  
 Met Glu Lys Leu Leu Cys Phe Leu Val Leu Thr Ser Leu Ser His Ala  
 1 5 10 15  
 Phe Gly Gln Thr Asp Met Ser Arg Lys Ala Phe Val Phe Pro Lys Glu  
 10 20 25 30  
 Ser Asp Thr Ser Tyr Val Ser Leu Lys Ala Pro Leu Thr Lys Pro Leu  
 35 40 45  
 Lys Ala Phe Thr Val Cys Leu His Phe Tyr Thr Glu Leu Ser Ser Thr  
 50 55 60  
 15 Arg Gly Tyr Ser Ile Phe Ser Tyr Ala Thr Lys Arg Gln Asp Asn Glu  
 65 70 75 80  
 Ile Leu Ile Phe Trp Ser Lys Asp Ile Gly Tyr Ser Phe Thr Val Gly  
 85 90 95  
 Gly Ser Glu Ile Leu Phe Glu Val Pro Glu Val Thr Val Ala Pro Val  
 100 105 110  
 20 His Ile Cys Thr Ser Trp Glu Ser Ala Ser Gly Ile Val Glu Phe Trp  
 115 120 125  
 Val Asp Gly Lys Pro Arg Val Arg Lys Ser Leu Lys Lys Gly Tyr Thr  
 130 135 140  
 25 Val Gly Ala Glu Ala Ser Ile Ile Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Phe  
 145 150 155 160  
 Gly Gly Asn Phe Glu Gly Ser Gln Ser Leu Val Gly Asp Ile Gly Asn  
 165 170 175  
 Val Asn Met Trp Asp Phe Val Leu Ser Pro Asp Glu Ile Asn Thr Ile  
 180 185 190  
 30 Tyr Leu Gly Gly Pro Phe Ser Pro Asn Val Leu Asn Trp Arg Ala Leu  
 195 200 205  
 Lys Tyr Glu Val Gln Gly Glu Val Phe Thr Lys Pro Gln Leu Trp Pro  
 210 215 220  
 35 <210> 18  
 <211> 26803  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 18  
 40 cttgctctgt caccaggtt ggagtgcagt gctgtgatca tggttcactg cagccttgaa 60  
 ctcttgggct ctggcaatcc tcctgcctga gccttctgag tagctgagac tatagatatg 120  
 ggccaccaca cctggctaatt ttttaatttt ttttagtaga gatgaagtct tgctatgttg 180  
 accaggttgg tgggagttca gtcaggctgg tggaaaaaat tttaaagata gttataagaa 240  
 atagacacaa accttcttgg aaggctggag agggtttaca ttgcttcagt aacagatttg 300  
 45 gctgaaagca gcctaatacct ctctaccttt agctgatagc aaaaatgaaa ataacaaggg 360  
 aatgtgagga agtttatcta aatagcttgc ttactcatgt ggtcctaaaa ccaactttg 420  
 atcaacctca ggtgcataat tgctctctac tcagggggtg agcaatgtta attaccctct 480  
 agtgggtgtt actcgagacc tttgtcattt aatctgtatt aaataaatgt gaactttgct 540

|    |            |            |             |             |             |             |      |
|----|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
|    | agcttattga | ggtgatgctc | cagatgcaga  | gcagagcccc  | ttagccagac  | tgacaggcaa  | 600  |
|    | aatatctgtg | tcagtgtatg | tctctcatcc  | atcactgggt  | cagggctctgc | gggctggatt  | 660  |
|    | cctgcacagg | ctggtcttga | actcctgggc  | tcaagcaatc  | ctcccgctg   | agccttctga  | 720  |
|    | gtagctgaga | ctacagatat | gggccaccac  | acctggctat  | ttttaacatt  | ttttagtaga  | 780  |
| 5  | gatgaagtct | tgctgtgttg | cccaggctgg  | tcttaaactc  | ctgggctcaa  | gagctcctcc  | 840  |
|    | tgcccttgcc | tcccaaagtg | ctgggagtac  | aggcatgagt  | catggtgccc  | agacggacat  | 900  |
|    | ttttttaaaa | ataaaggaat | actcctgaaa  | cgctgaagtc  | ttctttgtac  | ccctctgtga  | 960  |
|    | taacatgaat | agcctcttaa | tgacaccaag  | gagcaagaca  | agttagtccc  | aaagtagctc  | 1020 |
|    | acatagatga | tgataaagga | atgaggggtg  | ggtgtgatct  | atgcaaaaaa  | cccttactct  | 1080 |
| 10 | ttaatgggtt | gctgtttcta | acataattgc  | aacagtaccc  | tacattgcta  | taatgcatta  | 1140 |
|    | tagttttcaa | agtgcctttg | tggcctccat  | aatagagagg  | ttgtgaggta  | agcttcaacc  | 1200 |
|    | acggctgccc | tactacccaa | gagtggacac  | acaatgatga  | ataggtcaat  | ttctgcctct  | 1260 |
|    | tagtttctta | gctagggagg | ggcacttact  | ggaacagcac  | agaaaacaga  | gtctttggcc  | 1320 |
|    | cagttggaga | atctttatca | ggttatgcta  | cttcaagctt  | tcctcctgtt  | aaatgtgaga  | 1380 |
| 15 | ggaataaatc | cctgttcctt | ggatcagtgt  | gactctgaaa  | cagctggagg  | agagacagct  | 1440 |
|    | ttaggcaggt | tgaaacagag | agctccagca  | tatgtacttt  | tttttttttt  | ttgagatgga  | 1500 |
|    | gtctcgctct | gtctcccagg | ctggagtgca  | gtggctcgat  | cttggctcac  | tgcaagctct  | 1560 |
|    | gcctcccagg | ttcatgccat | tctcccgct   | cagcctccct  | agtagctggg  | actacaggct  | 1620 |
|    | cccgccacca | cgcccggcta | atttttttgt  | atttttagta  | gagacagggg  | ttcaccatgt  | 1680 |
| 20 | tggccaggcc | agtcttgaac | tcctgacctg  | aggtgatcca  | cctgcctcag  | tctcccaaag  | 1740 |
|    | tgctgggatt | acaggcgtga | gccactgaac  | ttggccaagt  | gcactacttt  | taaaagttaa  | 1800 |
|    | agtattatgc | agccatgagg | gaatattgtg  | caagaagaaa  | gcttttataa  | gaaaaacttg  | 1860 |
|    | aaacattggt | atttttgcct | cctttttaac  | aactagagtc  | gttttgggag  | ttgtttcttg  | 1920 |
|    | tcgaagaaac | aacccatgtt | tattttccca  | gtatggcagg  | accatgtagg  | aaagcaaaat  | 1980 |
| 25 | taccctcag  | gagaggaaat | tctctgacac  | tctataaggc  | tccataaccc  | tcctctgaac  | 2040 |
|    | tgtggccaac | aagattgggt | agcacttttt  | aaggtagttt  | aagaaaaata  | ggctgtgcat  | 2100 |
|    | ggtggtttat | gcctgtaatc | ccagcacttt  | gggaggccga  | ggtgagtgga  | tcacctgagg  | 2160 |
|    | tcaggagtgt | gagaccagcc | tgaccaatat  | ggtgaaaccc  | catctctact  | gaaaatacaa  | 2220 |
|    | aaattagccg | ggtgtgggtg | cgggcacctg  | tagtcccagc  | tactcgggag  | gctgaggcag  | 2280 |
| 30 | gagaattgct | tgaacctggg | aggcggagggt | tgcatgtagc  | cgagactgtg  | ccactgcact  | 2340 |
|    | ccagcctggg | tgacagagca | ggactccatc  | tcaaaaaaaaa | aaaaaaaaaa  | aagaaagaaa  | 2400 |
|    | gaaaaatata | tagtgagccc | aataaagctg  | tataatctaa  | atcaaacatg  | acttgcattg  | 2460 |
|    | ctggagactt | tgactagaaa | aaatatattt  | acctaaaaaa  | tcaaatttta  | ttttctttct  | 2520 |
|    | cacaaatatt | caatctgctt | tcatctcagt  | tcttcctacc  | ttgtcaaacc  | tctcccaca   | 2580 |
| 35 | tttctatttc | tttttctctc | cagcctgata  | tctctcatta  | tactgcttaa  | gagaaatgtt  | 2640 |
|    | atgttactat | tcttttctcc | cagaactgtt  | tctctggttc  | tttaagggtg  | ctgagtacac  | 2700 |
|    | actgtgcctt | cttcctttta | gccctctctt  | ctccttggtc  | cctgagcctt  | acctttatga  | 2760 |
|    | ccttagaact | tcaagttccc | actacaattt  | taaatataga  | ctattttgct  | tttcctccta  | 2820 |
|    | ctagggagct | taaattgcct | ctaattacac  | tgttttcccg  | agtccttcct  | ctcctttgca  | 2880 |
| 40 | atttagatat | agcacagaag | cacattttgc  | ttgactgtcc  | tctgaactgt  | catgctgttt  | 2940 |
|    | tgatgtgggt | ctattgtcca | agagtcttgg  | ttaaataata  | gccagcatc   | ccacctgtgt  | 3000 |
|    | ttaaaagaac | tgcttcacag | gcaaatcaaa  | aagcccatgg  | atccgaagtc  | acaatgggag  | 3060 |
|    | ttgctattca | aacagcacca | gattgctatt  | caacgcttgg  | ttgaaaaata  | aatttcagtt  | 3120 |
|    | tcattcacct | aatatatatt | cttctatttt  | gtaggatggg  | atgctcttac  | ttcaatttgg  | 3180 |
| 45 | acttgttcac | aattgaacgt | taacatagcc  | ttatagatta  | gcctgttttc  | attgggtccag | 3240 |
|    | agtattctcc | aaataaagca | gggtctgtgc  | attttaagca  | actcccctga  | acaatttcat  | 3300 |
|    | gggcattctc | aaatttgaga | actacctgaa  | aagctgtgtt  | ggagaaaaga  | acaaccaatg  | 3360 |
|    | aatgtggcag | gacagaatat | tgaacattaa  | cttccctttt  | cctcttctcc  | catctgttct  | 3420 |

|    |             |             |             |             |             |             |      |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
|    | cttccattat  | ccctacccgt  | ccgctcagtc  | tcgttattca  | ggcaacagtt  | attttgccat  | 3480 |
|    | tatttcctca  | agaaaggaac  | aaaagtaaac  | acaattgctt  | tctgattttt  | tttttttttt  | 3540 |
|    | tgcattttta  | aatggacttt  | gaaaccataa  | gcaaagaggt  | gtttaagagt  | ctttccaaag  | 3600 |
|    | ccaaaaatga  | aggttttgaa  | atttcaaaagt | cactgccttg  | aagagactcg  | aggtttgag   | 3660 |
| 5  | tgtgtacagt  | atgtcggagc  | tggacttttc  | tccttcctga  | gactagataa  | cggctctgaat | 3720 |
|    | ccaagacagt  | tttcatgatt  | tcagaggaag  | tgggtcaagt  | gtctgtgagg  | tagaccttct  | 3780 |
|    | gcttaagagc  | agtcaggagg  | ccgggtgccg  | tggctcacgc  | ctgtaatccc  | agcactttgg  | 3840 |
|    | gagaccgagg  | tgggcggatc  | acctgagggtc | aggagttcaa  | gacaagcctg  | accaacatgc  | 3900 |
|    | agaaaccctg  | tctctactaa  | aaatacaaaa  | aattggccgg  | gcacggtggc  | acatgcactc  | 3960 |
| 10 | cagcctgggc  | aacaatagtg  | aaactccatc  | tcaaaaaaaaa | aacaaaaaaaa | agagaagaaa  | 4020 |
|    | agaaaagaaa  | aggagcagtc  | aggatgtgtg  | cctccaaagc  | tgaggtagac  | aaaaagatac  | 4080 |
|    | cagagttcta  | gaggcctgcc  | aggcacagca  | gcagcagcag  | aaggaaggtg  | tgggcgagaa  | 4140 |
|    | cagggcgagc  | aggcgtgtgc  | cacctcccag  | acacaattat  | tgggaatgga  | gggcaagtgg  | 4200 |
|    | tgatgggaga  | aaatcttgac  | ttaattgatg  | tcaagattaa  | agaaatgcca  | cctggtggca  | 4260 |
| 15 | tttaagttca  | cacataggta  | aagaaaagtta | tgcat ttact | gtgaaagtca  | tcccactatt  | 4320 |
|    | tagtagaaac  | aggagatctg  | gattctgggtc | aagagtctct  | tttgccaact  | gtggcaccac  | 4380 |
|    | tgagcagcgg  | cacagctttt  | gtgaatcctg  | ggttcttcat  | tattaaaatg  | gggacattag  | 4440 |
|    | cgttgggttg  | agtataagaa  | atggacattt  | ttgcagggtc  | aaaatgggtg  | aatatttgca  | 4500 |
|    | ttttcatatg  | attcaaccga  | atacttactt  | cacaggcata  | aggaaaaaaaa | tagaataaca  | 4560 |
| 20 | tactaacaac  | tgtccctgga  | gtaagtactt  | aacaaatata  | tgatttataa  | agaagatatg  | 4620 |
|    | tgaaagatat  | ttgtaagtac  | atgatttata  | gaaagatatg  | aaagtatgta  | aacccttggtg | 4680 |
|    | gtctaattgg  | cacagaataa  | tctgagctta  | atatccctgc  | tccctaccat  | acagaaggca  | 4740 |
|    | aaatgcctat  | taggggtttt  | ctttcttcac  | cctctccttc  | tttttctctc  | tcctcttgac  | 4800 |
|    | tcctcctcat  | cctcctcttt  | cttcttcccc  | ttattaatgt  | ctaaaaaggg  | gctgagcatg  | 4860 |
| 25 | gtggctcatg  | cctgtaatcc  | tagcactctg  | ggaagctgcg  | gcagggtggat | cacctgaggc  | 4920 |
|    | caggagtttg  | aaaccagcct  | ggtcaacatg  | gcaaaaacccc | atccctacta  | aaaatacaaa  | 4980 |
|    | aattacccag  | gtgtgggtggc | aggcacctgt  | aattccaact  | acccgggagg  | ctgaggcagg  | 5040 |
|    | agaatcgctt  | aaacccggga  | ggcagagggtt | gcagtgagcc  | aagattgtgc  | cactgttgtc  | 5100 |
|    | catcctgggt  | gacagaggga  | gactctgtct  | caagataaat  | aataataata  | ataataattt  | 5160 |
| 30 | ctaaaaaggt  | aatacatttt  | catagttcaa  | aaaccaaaag  | gtataaaaagg | aaatacagta  | 5220 |
|    | aaaaatttcc  | tatcatatca  | ctgtctagag  | tactattcct  | tatatatttt  | cctgattttt  | 5280 |
|    | gagtatttta  | aaatgtgagt  | gttggtatg   | agtgttggtg  | ttaaaaagtt  | ttatgataat  | 5340 |
|    | ttgtgtatat  | ttgtgtgtgt  | gtgtgtgtgt  | gtgtgtgtgt  | atagtagtcc  | aagactatca  | 5400 |
|    | gtttatgaat  | aataagagga  | gacccatgga  | aaaccagtcc  | ctttgaccaa  | gttcaactcag | 5460 |
| 35 | ataatcagca  | gcagggccttg | gacattaatt  | acagttatcc  | aacatccttt  | gaggctctcac | 5520 |
|    | atgacaaaatt | acaaatatgg  | agtgtaaaatg | taaccctactt | tgctaggcaa  | aaaaagccct  | 5580 |
|    | gtttttttta  | aaaatatata  | tttttggtctt | atgggcaaca  | gaagccaggg  | agacgtacag  | 5640 |
|    | tcaaacctca  | tttctcatgg  | ctttcatatc  | tgcaaatctt  | cctactcatt  | aaaagttatt  | 5700 |
|    | tataactccc  | gaatcaatac  | ccacagcact  | tttgtgatca  | ttggcagaca  | tgtgcagaaa  | 5760 |
| 40 | agaaaaaaaa  | attgagttgt  | tgattgcaca  | cattcccagc  | tgaatttcaa  | caaagcaaca  | 5820 |
|    | ctctgccttc  | ccacttcagc  | tttcttacta  | tatgtgtgtc  | ctttttctgt  | ttatttagta  | 5880 |
|    | ccatgttttt  | cacactttcg  | ttcttttttg  | tgggtgatttt | gctgttttaa  | atggccaaca  | 5940 |
|    | agtgtagtgc  | taagtgtgtc  | gtagggttct  | taagcacaag  | aaggctatga  | tgtgccttat  | 6000 |
|    | ggagaaaata  | cgtgtgttg   | atcagtttca  | ctcaagcatg  | agttagggcg  | ctattagctg  | 6060 |
| 45 | tgagttcaat  | gttaacaaat  | caacaatata  | tgctaaagtg  | tctttaaaaca | gaaacacaca  | 6120 |
|    | taaaacaagg  | ttatatgttt  | ggttggtgaaa | aatgttataa  | ccagaagctt  | gcagaaacct  | 6180 |
|    | aaccctgtat  | ttcccttaag  | agcaatgggtt | cattattcac  | taattcaatg  | tttacagcaa  | 6240 |
|    | ctttataaac  | tataactacc  | atgaataatg  | agaattgact  | atgttttaga  | tcataatacc  | 6300 |

|    |             |             |             |             |             |             |      |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
|    | tgaagtgaag  | ttttccatca  | tggttttttag | ttcttagagat | ccattttaagt | tttttaaaaa  | 6360 |
|    | tatgatagct  | atcctatcac  | atcccacatt  | cttgagatta  | aaaaattaat  | cttttatttg  | 6420 |
|    | gtacagaaaa  | ggctcctgcg  | tgcatTTTTTg | gaggggctgg  | accgctgagg  | aagtcatggt  | 6480 |
|    | tggtcgaagt  | ggTTTTaaatg | catttgcta   | ttcatagcct  | ctgaaccact  | tatgaaacaa  | 6540 |
| 5  | tactgatgat  | atgtcagtag  | ctatgtttgc  | agctccttca  | ggaatgctta  | tatcttttac  | 6600 |
|    | tgctggtaaa  | gaagaaatTT  | atagtaatat  | attttttttt  | tttttagata  | gagtctcact  | 6660 |
|    | ctgtcgccct  | ggctggatta  | cagcggcctg  | atcacgggtt  | actgcagcct  | ggatctccca  | 6720 |
|    | ggctctccta  | ctgtagcctc  | cccagtaact  | agggccccc   | cacaggcatc  | accacaccca  | 6780 |
|    | gctcattttt  | ttatgtttta  | tagagacagg  | gtcttactat  | gttttccagg  | ctggctctcaa | 6840 |
| 10 | acttctgggc  | tcaagcaatc  | ctcctacttt  | ggcctcccaa  | agtgtctgaa  | ttacaggcat  | 6900 |
|    | gaaccactgc  | acctgggttt  | tggtcatctt  | aagtagagac  | ttatgagtgc  | gtatcattgt  | 6960 |
|    | atcaccaatc  | tgagactcaa  | ttttatcttt  | ctgttaatat  | acaatgcagt  | ttttctgtta  | 7020 |
|    | attacaatga  | aaatcaaggg  | ttgcttagca  | agtttttact  | cataactcca  | agttttgtga  | 7080 |
|    | cttatagtga  | gaaatgggta  | taattctttg  | tgatttggtta | aaatgcagta  | tttcgaggag  | 7140 |
| 15 | ggataacata  | taaaatttta  | cagtttccta  | tcattatttt  | tatccttttg  | aaccactgta  | 7200 |
|    | tactacagat  | agacaaaggc  | agctttggcc  | acttactcct  | cagtgtgact  | aagttgacca  | 7260 |
|    | gatgttttcc  | agaccacagg  | ttctgtcaag  | agacagtgtg  | gagagaaatg  | ggtaggcagg  | 7320 |
|    | tatggaaaga  | agagtcagaa  | acagatagtg  | agctaattct  | tacaaatggc  | tcgttatggc  | 7380 |
|    | ctgagctgtg  | ttctcctccc  | cgcaaaaaga  | tatgttgagg  | tcgtaatccc  | cagtacctca  | 7440 |
| 20 | gaatgtggcc  | ttatttgagg  | attcgatatt  | tacagaggta  | agcaagttaa  | aatgagatca  | 7500 |
|    | ctatagtggg  | tcctaattca  | atacgactgg  | tatccttaca  | aaaaagggga  | aatttaacca  | 7560 |
|    | cagatacaga  | cacacacata  | gggagagtgc  | tagtgaagg   | gaagtcagag  | attggaatga  | 7620 |
|    | tgtagcagaa  | gcctaggaat  | gccaaaagatt | gccagcaaac  | caccagaagc  | tgtagagacc  | 7680 |
|    | acatggaaca  | gattctcctt  | cacagtcccc  | tgaaagaacc  | aactctcctg  | acacctcgat  | 7740 |
| 25 | ttcagacttc  | tagcctccag  | agctgggggtc | aatgagcttc  | tctcattaag  | ccatcatcca  | 7800 |
|    | gtgtatggta  | ctttgttaca  | gcagtcttag  | caaatgcatg  | gttcctcact  | ggaaccatga  | 7860 |
|    | atttccatgc  | atttatTTTca | tttaaataat  | aaaacggatc  | ccctttgtgg  | cttgtagttc  | 7920 |
|    | tgttccattt  | caaaaatcca  | gaaaaaagat  | ttgttcagaa  | gctagaaatg  | atgaactgga  | 7980 |
|    | tcttgcccaa  | ggtcataaaa  | ccacaaaacc  | ctttacagag  | cacaaaagtc  | tgatttttca  | 8040 |
| 30 | aagcttctct  | caaaaagatg  | gtcactcctt  | agtcatttag  | gccactgaca  | actgccttgg  | 8100 |
|    | actctttatt  | tattttattta | tttatttatt  | tatttaattt  | ttttgagaca  | gagtcttgct  | 8160 |
|    | ttgtcgccca  | ggctggagtg  | cagtggcgtg  | atctgagctc  | actgcaagcc  | ctgcctccc   | 8220 |
|    | ggttgacgcc  | attctcctgc  | ctcagcctcc  | caagtagctg  | ggactacagg  | caccgccac   | 8280 |
|    | cacgcccggc  | taattttttg  | tattttgttt  | agtagagaca  | gggtttcacc  | atgttagcca  | 8340 |
| 35 | ggatgggtct  | gaggtcctga  | ccttgtgata  | caccgcctt   | ggcctcccaa  | agtgtgggga  | 8400 |
|    | ttacaggcgt  | gagccactgc  | gcctggcctg  | gactcttaca  | tataataagc  | ttgacttatc  | 8460 |
|    | gtacaactta  | taattgatgc  | tttcacgtca  | tgggaagatc  | aaattaatgc  | agagagcgac  | 8520 |
|    | tacgtttctg  | gtgggagagc  | agcaggggtc  | ttgagaggaa  | cagcagtgtt  | gactgtttcg  | 8580 |
|    | ctacctactc  | tgggtgctga  | ttacatcttt  | ctttcgtgca  | ggcaaatacca | cttgagagcta | 8640 |
| 40 | ttttgggctc  | actgtgggca  | tcattctttg  | tatactctgc  | tcctttcccc  | catagtttct  | 8700 |
|    | ctattgatgg  | gggattacta  | aagaatgaag  | aaaagaacaa  | aatgaaagtg  | gcttttgaaa  | 8760 |
|    | aatttttaaat | gactgtcact  | atgtaacata  | ttcattattt  | catgtctcca  | ctggacattt  | 8820 |
|    | tggagatgtg  | agccttgcaa  | tacctacatg  | aatgcttcta  | tgattatgat  | tattgttttg  | 8880 |
|    | ctcttcgcct  | aacaacttgc  | caagtattgt  | caacctcagt  | gtgtgagatg  | gggtccactc  | 8940 |
| 45 | aaacatcagg  | gccgaagtca  | ggtagttcag  | ttaagtgaat  | ttgataccag  | gaactagtta  | 9000 |
|    | caaaggagtt  | ggaagggctg  | gaaagccaaa  | ctggagaaga  | aggggaaccc  | cagagtaaca  | 9060 |
|    | atagcaggaa  | gcctctaccg  | tctacctcta  | gaactgggga  | ggagctgagt  | taacagagtc  | 9120 |
|    | ctggagccat  | tgctggggaa  | gaagaacccc  | aactgcagag  | gaaaagtggc  | cattgtgaag  | 9180 |



|    |            |             |            |             |            |             |       |
|----|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|-------|
|    | aaggtgatgg | tggagaagtc  | gtctgaatca | aaggggagag  | gatatgttgg | ctcctttatc  | 9240  |
|    | tttttatctt | tcattgtcct  | aattccttct | gggcatgggt  | aatgagccc  | aggaaatgca  | 9300  |
|    | gttggcagga | atcagcttcc  | tgtgacatag | acagagtaag  | agaaggacaa | aaataatgaa  | 9360  |
|    | tctgagagca | agcaggcaaa  | tgaccagcac | attaagccta  | gcacacagta | tgttatacgg  | 9420  |
| 5  | gatttggggg | agcaaaagat  | gaaggcaggt | cagagaagcc  | acaactaggg | gatgggcaag  | 9480  |
|    | gtcaatgagg | tatgacgggt  | attgtatata | ggaagagggt  | cataaacagg | agtggagtca  | 9540  |
|    | atacaggaga | ctaacatata  | cacatcataa | atattagtag  | agaagcataa | aatagtctcc  | 9600  |
|    | tgagatcag  | ggaaacagga  | aattataggt | tttcaggata  | attcagccat | atccaggaaa  | 9660  |
|    | cacacacagt | gaagtaacaa  | agagtcaata | ggcttagagt  | ggtacaattc | attatgcaca  | 9720  |
| 10 | tgtaggaatt | cattccaaat  | aataggctga | aatgtagaca  | tgagaatcca | aaaaagatgt  | 9780  |
|    | tttcttagtt | tttgccaata  | tcttagctac | gttttttttg  | gttcaacaaa | gtaagttaac  | 9840  |
|    | agtcatatct | gcttggaat   | tgtatttagg | ccagggtgcag | tgtctcacgc | ctgtaatccc  | 9900  |
|    | agcacttggg | gtggctgagg  | caggaggatc | ccttgagccc  | aggagttaga | ggctgcagtg  | 9960  |
|    | agcgacaact | acaccactgc  | attccagtct | gggtgacaga  | acaaaaactt | attaaaaaaa  | 10020 |
| 15 | gaaaaaaaaa | aggctcgggcg | cggtggctca | cgctgtaat   | cccagcactt | tgaggaggtcg | 10080 |
|    | aggtggggcg | atcacgagtc  | aagagatgga | gaccatcttg  | gtcaacatgg | tgaaacccca  | 10140 |
|    | tctctactaa | aaatacaaaa  | attagctggg | catgggtggca | tgcacctgta | gtcccaccta  | 10200 |
|    | ttcaggaggc | tgaggcagga  | gaatcgcttg | aaccgggaa   | gcggagggtg | cagtgagctg  | 10260 |
|    | agattgcacc | actgcactcc  | atcctgtcga | gactctgtct  | caaaaagaaa | aaaaaggaaa  | 10320 |
| 20 | agaaactatt | gaaatagctg  | atattagttt | gcttacttgt  | cgttactctt | tttcatgatg  | 10380 |
|    | gattataaag | aaaagttata  | actatttgaa | ttttctgctg  | atttgaagtc | tctataaaca  | 10440 |
|    | gtacattcct | ttttggtaca  | cagagggcac | ttatctgcaa  | gaaaggcaaa | gaaaatggaa  | 10500 |
|    | aagttaatga | aagaggaatc  | atccaatcca | cgaacagaat  | gaaaccacat | acacagtga   | 10560 |
|    | gaaacttgct | ttacattttc  | ttccttatat | tacttatcat  | tcatggtagt | gactactttg  | 10620 |
| 25 | gggcttgagt | aaagcttctc  | taattttatt | catgtagcat  | catatgtgaa | aaagacaaat  | 10680 |
|    | agatacttta | gacatgataa  | taacacttta | tttttttatt  | atttgtttat | tttgagacag  | 10740 |
|    | agttttgctc | ttgttgccca  | ggctggagtg | caatggtgca  | atctcagctc | actgcaacct  | 10800 |
|    | ctgcctcctg | ggttcaagcg  | actctcctga | ctcagcctcc  | caagtagctg | ggattacagg  | 10860 |
|    | cacgcatcac | cacgcccagc  | taattttttg | taatttttagt | agagacaggg | tttctccgtg  | 10920 |
| 30 | ttggccgggc | tggcctcaaa  | ctcctgacct | cagggtgatcc | accacacttg | gtctcccga   | 10980 |
|    | gtgctgggat | tatagggtgt  | agccaccatg | cctggcccat  | aacaccttat | ttaaaaataa  | 11040 |
|    | tctgtctgga | tccatacaac  | ttgtctggat | aactaaattg  | gaaattattc | cttgttttta  | 11100 |
|    | agtaattcaa | ttgaaaattt  | ttaaattttt | ttgttaatca  | agcacttttt | ggtggaatct  | 11160 |
|    | aaattaacac | atgtaggaga  | tgctgttttc | actaattaca  | caggcatctt | gcagtaatta  | 11220 |
| 35 | atgtctggga | ggaaggaatg  | tcttttgctt | actctcttct  | tcttcacaaa | aatgtgaatt  | 11280 |
|    | ttggaaagca | ataatggaag  | catgtagaat | tatagaaata  | caaagtata  | taactatcac  | 11340 |
|    | aaaaaaatga | ggccaaagga  | ctattcagat | ataattaggc  | tatggtagct | gtaattatct  | 11400 |
|    | aggaaattaa | taaaattcat  | tcacctagaa | attattagtg  | agcatcaa   | atgtgtcagc  | 11460 |
|    | actaggctag | ggctcagaa   | cgtacagata | aatcatagtt  | ctggcttcag | ggagttatat  | 11520 |
| 40 | agattagaga | taaaacctaa  | ctacaggggc | tgggcacggt  | agctcatacc | tgtaatccca  | 11580 |
|    | ccactttggg | aggccgaggc  | gggtggatcg | cctgaggtca  | aggagtgtga | gaccagcctg  | 11640 |
|    | gccaacatga | taaaatcctg  | tcactactaa | aaatacaaaa  | gttagccggg | aggtagtatg  | 11700 |
|    | tgcacctgta | atcccagcta  | ctcgggaggc | tgaggcagga  | gaatctcttg | agcctgcggt  | 11760 |
|    | ggaggttgtg | gtgagctgag  | atcacgacac | tgactccaa   | tctgggagag | agagtgaac   | 11820 |
| 45 | cctatctcaa | aaccccaa    | aaaacaaaca | aaaaaaccaa  | acctaactac | agggtatga   | 11880 |
|    | gagatgacta | ctggcaagga  | gccacaggta | gaacaaaggg  | gatgtgtccc | caggcaaagg  | 11940 |
|    | gtagtcagca | agcctgcaac  | ctcagggttc | ccgatctga   | gcctctggct | cttggctagg  | 12000 |
|    | caggccccaa | gcgttggcct  | cctgccatgg | caagctccag  | cctggctctc | caccttgagc  | 12060 |

|    |            |             |             |             |             |             |       |
|----|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | taacattcat | atgttgtaga  | cacagccacg  | cttcctgctt  | acctgtcact  | tccagttctc  | 12120 |
|    | gaaggcaccc | ttttcaaagt  | aaaatccgcc  | ccttttcaca  | tcaaacagct  | catctgggtcc | 12180 |
|    | tgtggattac | atttctcaga  | aatgcctctg  | aacattcgcc  | tcctctccac  | ccccactgcc  | 12240 |
|    | tctgctacag | tgcagggtgct | cgccatttct  | gatttgttct  | gtcacacact  | cgtttatcag  | 12300 |
| 5  | gtctctccat | ctcctgtttt  | gacatgctgt  | aaagcaattt  | gccactggaa  | aaaagggctc  | 12360 |
|    | tctttttttt | tttgagacgg  | agtctcgctc  | tgctgcccag  | gctggagtgc  | aatggcatga  | 12420 |
|    | tctcggtcca | ctgcaacctc  | tgccctccaa  | gttcaagtga  | ttctcctgcc  | tcagcctccc  | 12480 |
|    | taaagtctgg | gattacaggt  | gcacgccacc  | aagcccggct  | aatttttgta  | tttttagtag  | 12540 |
|    | acgtgggggt | tcaccatatt  | ggccaagctg  | gtctcgaaact | cctgacctca  | ggatgatccac | 12600 |
| 10 | ccgcctcggc | ctcccaaagt  | gctgggattt  | cagggtgtgag | gcacgtgcc   | cggcctctct  | 12660 |
|    | ttccaaagta | tgttattatt  | tttcccaaga  | ccctttgacg  | gatcctcatt  | tcctacacac  | 12720 |
|    | agtggttctc | aaacttggat  | gtactccaga  | attacatagg  | aaattcttca  | tttttttaga  | 12780 |
|    | cgagggtctg | ctatgtttct  | cagggttggtc | tcaaactctt  | gacctcgtgt  | gatcctccgg  | 12840 |
|    | ccgcagtctc | ccaagtagct  | gagattatag  | gcgtgccact  | gagcccagct  | ggaaattttt  | 12900 |
| 15 | ttaaaacaca | gattcctctg  | aatcaaaaatt | tctagaagtg  | aggtctgagc  | aatctgtatt  | 12960 |
|    | tttaacaagt | tatccagatg  | gctctttact  | gtcagtctgg  | ttccagctga  | gggagtttta  | 13020 |
|    | gaattacaag | gcaaagtcca  | aacttagcac  | acaaagtcac  | tcacatcaac  | tcttcccctg  | 13080 |
|    | tacacaccct | atgtcatagc  | cagagttgta  | accattttct  | taaacaccca  | gggttctttt  | 13140 |
|    | aagtctctgt | gtcattgtat  | gttattttct  | ctagaattgc  | ctttaacctc  | ctttccaccc  | 13200 |
| 20 | tggaaagcat | tcctaagcc   | atctttgaag  | ctttctttga  | tctctaactt  | agagtcctcc  | 13260 |
|    | tctccttcta | aagccctgtg  | ttaatcactt  | gtcatgggtg  | actttaattt  | ttacttgcc   | 13320 |
|    | gtttctcttt | acggtacttt  | gacttcaaag  | gggtgggctg  | caaattagtc  | atctccttag  | 13380 |
|    | agtccagcct | tgttcctagt  | tcctaactgg  | cacttaatat  | aaacgaatga  | atgaatggac  | 13440 |
|    | aaatgaagag | aatgctagtt  | atgataaaga  | attggccgtg  | tatgagacta  | cttctcttta  | 13500 |
| 25 | tgaactaaat | aattatatgc  | ctttcaataa  | aatactagta  | cacgtagcta  | gcacaagctc  | 13560 |
|    | atcagcattt | gagatgatat  | ggaaacaaaa  | ataaacaaat  | gctaccacaa  | aaacataatg  | 13620 |
|    | actgctttcc | ccagtgcagg  | actgatggaa  | tcacaaaca   | ttgagattaa  | tgtaatgttt  | 13680 |
|    | ggcagatgtc | cagtgttttt  | atttttcatt  | tgccctttgtg | ttcatttatg  | gactaacaat  | 13740 |
|    | ataataaaca | cacacatact  | cacagtacat  | cttttttttt  | tttttttttg  | caaagcccag  | 13800 |
| 30 | ttttcttcat | cgcatactt   | tgttttcttc  | aagtatcccc  | ttacttaatg  | ttggtagtat  | 13860 |
|    | tttttttaat | gaaatataaa  | tcctaacca   | ccaagcaaga  | aatgagactc  | ttaattgcat  | 13920 |
|    | cagtttacag | tgcaatgtga  | gtgtaaatag  | tgtaaatgga  | attttttaatg | gacttttttt  | 13980 |
|    | tttcccgttt | ttgcttgcc   | tacattcatt  | atccctccct  | gggtaataaa  | catttatttt  | 14040 |
|    | tccttttgta | accactcctc  | cccttctgtc  | catgtgggtc  | tttttagtgg  | agctgggtgt  | 14100 |
| 35 | agggatgtgg | catgagattc  | aagcttggcc  | acctggagtc  | actgtgttgt  | gctccagaag  | 14160 |
|    | gacacctgat | ccaagtcagc  | cagtaagagt  | gagccccagg  | atttttgctt  | ggaccactga  | 14220 |
|    | ggaaaagtgt | actctgccct  | gtggctgatc  | aaccattagg  | atataagcca  | ttgttgtagc  | 14280 |
|    | tgtgtgagtc | aagctacctg  | agaatgagga  | caacacagtg  | gcaagcaaca  | ccaagagaga  | 14340 |
|    | aaaagaggca | gattctgatg  | acatttttga  | gcctttgcat  | ccagctatgc  | ctgaatccaa  | 14400 |
| 40 | tttatcccct | ggaatttaca  | cttacttgag  | ctccacccac  | ttgaaagaaa  | acatttcttt  | 14460 |
|    | ttattcttag | cctgatttga  | atltggcctc  | tctcatttac  | tacccaaagt  | gtcttgacca  | 14520 |
|    | ctagaatatt | atgccagact  | ttacagcatc  | attgaatttg  | ccactttcca  | gaagagttgt  | 14580 |
|    | gtgaattttc | aatgtagctt  | ttaccttcta  | tgagtatcta  | gagatatatt  | taagtagaag  | 14640 |
|    | tactccacta | gtttgttgtg  | agatcttaag  | tcacttaatt  | tctctgtacc  | ctagttccct  | 14700 |
| 45 | catttgctag | acctagggag  | ctataatgtt  | ccttctgcaa  | aattcttatt  | ttgtgaaata  | 14760 |
|    | ttctagaatg | tctaactgat  | acactgctag  | aacaactgac  | tgctatttaa  | gaagagttga  | 14820 |
|    | ctgctattta | aggatcataa  | ttctctaggc  | ataagtgtgt  | tgacggcaca  | gcgtgtgcat  | 14880 |
|    | cggggctgag | gggtgggggtg | gagcagaaaag | taggaggaga  | aagtttgata  | aacttccttt  | 14940 |

|    |            |             |             |             |             |             |       |
|----|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | tggataaatt | gaaaacagtc  | aaataattta  | taattttctta | tattatcatt  | attagcttct  | 15000 |
|    | tctataatta | ggagacttgt  | tccaaaatgt  | gagaattgtc  | acaagttgtc  | aaattcatca  | 15060 |
|    | aaggaagaaa | atggatgtct  | cacaaaaaag  | tatgctcagt  | ccaatttctt  | ctcgtcacac  | 15120 |
|    | tggaacaaac | tgaacagttt  | tacacagaga  | tgagaagcct  | ggacattttt  | caaatatgtt  | 15180 |
| 5  | ttgaagagaa | tggcaatgcc  | tgagacagaa  | gtaggaaaaa  | gcaatgaata  | tttaaaaaatc | 15240 |
|    | tgagctggtg | taaaactaga  | aatagtttta  | gtaagaacaa  | tgtgatgtgc  | tacactaagt  | 15300 |
|    | gaaatgtata | cattgggccca | cattataatc  | aaaaataaga  | atgtactttt  | attcatcttt  | 15360 |
|    | tatttaaaca | ataatcaagg  | tggcggggcgc | ggtgggtcat  | gcctgtaatc  | ccagcacttt  | 15420 |
|    | gggaggccaa | ggtgggtgga  | tcatgaggtc  | aggagttaa   | gaccagcctg  | gacaacgtgg  | 15480 |
| 10 | tgaaaccccc | tctctactaa  | aaatacaaaa  | attagctggg  | tgggggtggca | tatgcctgta  | 15540 |
|    | ataccagctg | ctcggggggc  | tgaggcagga  | gaatcgcttg  | aacttgggaa  | gtggagggtg  | 15600 |
|    | cagtcagcca | agattgtgcc  | attgcgctcc  | agcctgggtg  | acagagcaag  | agactctgtc  | 15660 |
|    | tcaaaaggaa | aaaagaaaaa  | aaaaaaatca  | aggtaccatt  | tgtaccattt  | cctggaattt  | 15720 |
|    | ctccaaagtg | gcaaggtcac  | atgtttatac  | attagactcc  | cagtttaaca  | cacagcagac  | 15780 |
| 15 | aataactttt | tttttttttt  | tttgagatgg  | agtctcgtc   | tgtcaccag   | gctggagtgc  | 15840 |
|    | agtggcacia | tcttggtgta  | ctgcaacctc  | cgcttcccga  | gttcaagcga  | ttctcctgcc  | 15900 |
|    | tcagcctccc | gagtagctgg  | gattacaggc  | atatgccacc  | atgccagct   | aatttttcta  | 15960 |
|    | tttttagtgg | agatgggggt  | tcaccacatt  | gtccaggctg  | gtctcaaact  | cctgacctca  | 16020 |
|    | taatccagcc | acctcagcct  | cccgaagtgc  | tgggtccaccc | ttccttcttt  | tctcccttcc  | 16080 |
| 20 | atccttctcc | cttttattcc  | atttttctaa  | atattagacc  | atagtacaaa  | tcaaaagtca  | 16140 |
|    | caaactgata | ggctgcaatg  | tagatacagc  | tgggaaaatg  | ttttgtttgc  | agaacactgg  | 16200 |
|    | ggaaatttaa | catgaaaaac  | tggaaagatct | caatccacat  | ggccacatgg  | taatattatt  | 16260 |
|    | aatgttgtag | gggctttcca  | attcaacatg  | tcctctgcat  | ccctactatt  | tatactgcca  | 16320 |
|    | ctcatccacc | tttctgtatt  | actggcctat  | cacctataca  | cgtttgagtt  | tatattcttc  | 16380 |
| 25 | tggctttact | tagcaactta  | ccttttatat  | ttaacattac  | aacatgggat  | tatcaattag  | 16440 |
|    | tattcgattc | agttgcatat  | aacaaaaaat  | gccaaattat  | actggcttaa  | acactaagga  | 16500 |
|    | tttatttttc | tgtcatataa  | aacaagtctg  | gagggtggga  | gtccagggtc  | aatatgacac  | 16560 |
|    | tccagtgtca | caagggtacct | gggctccttc  | tatttatctt  | tttttttttt  | ttttttgaga  | 16620 |
|    | cggagtcttg | ctctgtagcc  | caggctggag  | tgagtggtg   | cgatctgggc  | tcactgcaag  | 16680 |
| 30 | cttcgcctcc | cgggttcaca  | ccattctcct  | gcctcagcct  | ccggagtagc  | tgggactaca  | 16740 |
|    | ggcgcccgcc | accacgcccg  | gctaattttt  | ttgttatttt  | taatagagac  | gaggtttaca  | 16800 |
|    | ccgtgttagc | caggatggtc  | tcgatctcct  | gacctcgtga  | tccactcatc  | tcggcctccc  | 16860 |
|    | aaagtgtctg | gattagaggc  | gtgagccacc  | gcgcctggcc  | ctatttatct  | tttataggac  | 16920 |
|    | atggcttcca | gtctcaagtt  | cagtttgtca  | cccataatgg  | ccaaagagca  | gtagtccact  | 16980 |
| 35 | tacctgtttc | aggcaggaag  | ggcagagggc  | aagaaaacaa  | atggtgctcc  | tcctgattga  | 17040 |
|    | gtcagcgttc | tttaaagatg  | ttttccagat  | gttccaccca  | gccgcgtttt  | tttttttttg  | 17100 |
|    | agagacaggg | tcttgctcct  | gtcaccacag  | ctggagtaca  | gtggcatgat  | catggctcac  | 17160 |
|    | tgaggcctca | atctcccagg  | ctcaagcgat  | ccttccattt  | tagcctccca  | agtagctgga  | 17220 |
|    | agtagctggg | accacaggca  | catgccacca  | taccctgcta  | actttttcat  | tttgtgtaga  | 17280 |
| 40 | gacaagggtg | cactgtgttc  | tccaggctgg  | tctgcagttt  | ccaactcctg  | agtgaagtg   | 17340 |
|    | atcctcctgc | tttggcctcc  | caaagggctg  | ggattacagg  | tgtgagccac  | tgtgtctggc  | 17400 |
|    | caagctactt | ctacttatat  | ctcattgggtc | ataacttgat  | cacacagcca  | catccagcta  | 17460 |
|    | caatggagat | tgagaaatgt  | agtcttttgg  | ctgggtacac  | agcatctgaa  | taaaatccag  | 17520 |
|    | gcattgttac | taagggaagaa | ggagtaagtg  | tcaatctctg  | ctccataact  | ctctaggtta  | 17580 |
| 45 | atacacacag | atggaggaga  | ttgctagtgt  | cccctcaaga  | tccagccttg  | ccttctgggc  | 17640 |
|    | taagaaagcc | cctgagatgt  | acctggccat  | agtggcactg  | ggaacaaaca  | atgtatttct  | 17700 |
|    | aaatcttctg | attttaaaaa  | ctttcagaat  | cacgatttct  | ccgacatcag  | tatttttatg  | 17760 |
|    | tctttagaat | tcaacaaaaa  | gaaattccta  | agtctaatat  | atgtgaatat  | taagttttag  | 17820 |

|    |             |             |             |            |            |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------|
|    | cagatactgc  | tacataactt  | tccagaaggg  | tgtggcaatt | cacatctcca | ccagtgatca  | 17880 |
|    | gcatgttcat  | tttccataca  | gctctggata  | ttttgtctat | tttaaaatat | cttcttctaa  | 17940 |
|    | tctataattt  | aaaaatgtaa  | cttagtagga  | atttaattgt | tcatgtaacc | aaatcttccc  | 18000 |
|    | attaatggct  | atggggttct  | tcttttactt  | cagaaaagtc | tccccacctt | cagagtatat  | 18060 |
| 5  | aaacattttt  | ttctaaattc  | ccttctaatt  | tcttataatt | tatagtttta | tttttgttat  | 18120 |
|    | ttgattcatt  | tattctctca  | acagatat    | attgagcact | tattatacgt | caggctctct  | 18180 |
|    | tcaaaactctg | gtgagagtat  | tttctaactg  | ggagagacaa | ccctagttga | taagaaacaa  | 18240 |
|    | acaaaccaat  | aagtaaataa  | gacatttccc  | ccagataatt | aatacttggg | gacgggggaa  | 18300 |
|    | gacagtgaga  | caggctactt  | tacactggca  | ggtcaggaaa | ggcttctctg | aggaggcaag  | 18360 |
| 10 | tgattcagga  | ttaattgatg  | actggtggag  | aagtccgggg | agtggacaca | ggtgggaaca  | 18420 |
|    | gcctgggtggg | tgtgaacagc  | aacaagaagg  | ttaatgtggc | ttcatggaac | aggggtgaaga | 18480 |
|    | tgagacaagc  | tgaacactga  | ggtgggcacc  | agaacatgga | gggctttgta | ggtcccaata  | 18540 |
|    | aggagtatgg  | attttattgt  | atactggaga  | tttgtcatcc | atctagaatc | tgtttttata  | 18600 |
|    | tataagaaaa  | ggtgtatatg  | tttgcgcaag  | tgtgtgtgtg | tgtgtttggg | ggggcggggt  | 18660 |
| 15 | gggggagagc  | agggcgtaac  | ttttctttta  | attagagtca | aaatttaatt | aaactattca  | 18720 |
|    | ttctttacag  | gcagtgaggg  | gattaggatc  | ttatcccaca | gaatctcacc | tcatttcaaa  | 18780 |
|    | tgttgtacag  | atattatctg  | agatatat    | tcaggccggg | tgcggtggct | cacgcctgta  | 18840 |
|    | atctcagcac  | tttggaagc   | cgaggcgggt  | ggatcatttg | aggtcaggag | ttcaagacca  | 18900 |
|    | tcctggccaa  | catggtgaaa  | ccccatctct  | actaaaaata | caaaaattag | ccgggtgtgg  | 18960 |
| 20 | tggtacacgt  | ctataatccc  | agctacttga  | gaggctgagg | caggagaatc | gcttgaatcc  | 19020 |
|    | aggaggtgga  | gcttgcagtg  | agccgagaaa  | acgccactgc | actccagcct | gggcgacagg  | 19080 |
|    | gcaagactct  | gtctcaaaaa  | aaaaaacgaa  | aaaagaaata | tattttcaat | gaaatcaagc  | 19140 |
|    | atataatgac  | tatttttatc  | ccagcatctt  | ggcttcttca | ggctgctata | acaaagcatc  | 19200 |
|    | cctagtggag  | catcccta    | ctgaaaatcc  | aaaatccaaa | acgttccaaa | atctgaaacc  | 19260 |
| 25 | ttctgaacac  | tgacatgaca  | ccacaaatgg  | aaaattctac | atgtaaatac | acgtaaatac  | 19320 |
|    | aaactttggt  | tcatgcacaa  | attaaaaata  | ttgtataaaa | ttaccttcag | gctatgcata  | 19380 |
|    | taaggcatat  | atgaaatata  | aatgaatttt  | gtgtttaccc | atgggtctca | tccccagat   | 19440 |
|    | gtttcatttt  | gtatatgtgc  | atactcccaa  | atctgaaaaa | atccaaaatc | ttaaataatc  | 19500 |
|    | gtagtcctaa  | gcatttttaga | taagggatat  | tcaatccctt | atccataaac | aattttattta | 19560 |
| 30 | taaacaacac  | aaatttaggc  | tttgtaaaaa  | atagaaat   | ggccgggtgt | ggtggctcac  | 19620 |
|    | gcttgtaatc  | ccagcacttt  | gggaggccga  | ggcaggcaca | tcacttgagc | tcaggagt    | 19680 |
|    | gagaccagcc  | tgggtcaacat | ggtgaaacct  | tgtctctacc | aaaaatacaa | aaattagcag  | 19740 |
|    | ggcttcgtgg  | catgcgcctg  | ttgtcccagc  | tactcgggag | gctgaggcag | gagaattgct  | 19800 |
|    | tgaacccgga  | aggcagaggt  | tgacgtgagc  | caagattgag | ccactgcact | ccagcctggg  | 19860 |
| 35 | ggacaagtga  | gactccacct  | caaaaaacaa  | acaatcaa   | acaatataaa | tttatttctc  | 19920 |
|    | atagttctgc  | aagctgagaa  | gtccaagatc  | aagatgtgag | cagatccacc | tttgggtgaag | 19980 |
|    | ggctgctttc  | catttgatag  | atggctgtct  | tcttgtgtcc | tcacatggtg | gaaaggtgga  | 20040 |
|    | ggcagttttt  | tgagggtctct | tttaaaagag  | aactaatccc | attcatgtgg | gggtctgccc  | 20100 |
|    | tcatgacct   | atcactttcc  | aaaggcccca  | cttcctaata | ccatcacctc | gggggttaaa  | 20160 |
| 40 | ttttcaacac  | acaaattggg  | tggagagtga  | gcgaacatag | acattcagtc | tatagcccc   | 20220 |
|    | agggatgtag  | ccactgaata  | aaataatcta  | gaacttcac  | tagaggcagt | ttataagtca  | 20280 |
|    | cataagaaaa  | ccagttttac  | ttatagtcac  | ataaaacttt | tgataaaaaa | caaccctagt  | 20340 |
|    | tgataagcca  | tttgtttact  | ggacttggct  | ctgaagaaat | gacttttggc | taatcctcaa  | 20400 |
|    | aatgaaatct  | actcacagag  | ggcaagatct  | gccaccagtg | aagatgttta | aaacaatgtg  | 20460 |
| 45 | ctgtaggctt  | tgaaggcaag  | tctaaagaag  | agcttctaaa | aatattttgc | acaatggtag  | 20520 |
|    | cattaaaaga  | gtaggcacat  | gggcccccaag | ataacatctg | tgaagaggag | gaccagtgtg  | 20580 |
|    | tgtttccttt  | tgtatgttta  | agtactaagt  | cagtgattac | tttataatta | aaccatattc  | 20640 |
|    | ctcttgatct  | gtccataata  | aggtcactct  | gtaatttata | ataggcttct | taccaaattc  | 20700 |

|    |             |            |             |             |             |            |       |
|----|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------|
|    | aagctttaca  | acaaccctat | aggttaaaata | ttcctgtgaa  | ttttatagat  | gaagaaacag | 20760 |
|    | agtaagtga   | agagttcata | ctcaattcaa  | gtctcttgag  | tctaaaatca  | gtgctctctc | 20820 |
|    | tacataagaa  | gttagttgct | aagatcacac  | aacttgagaa  | gagagaagac  | agttttcaca | 20880 |
|    | gtccctcccc  | tctgaccact | aggctgcttg  | gggtactttt  | acaacttacc  | tgctctgaat | 20940 |
| 5  | taaggctctc  | tgtgaatctg | attcatctgc  | caatttgcaa  | acagtcagcc  | ctgtagtacg | 21000 |
|    | tacctaagtt  | gattttttaa | atactatttc  | tcatcttaaa  | ataatggaaa  | ttgagtgaca | 21060 |
|    | taaatttcct  | ggacactttt | taagatccaa  | agacaatttg  | ctaatttgct  | gttacaatta | 21120 |
|    | aagagccccc  | caaaaggcgt | aagaactgga  | ttttgacttg  | gacttctgtt  | ccttagtttc | 21180 |
|    | tttaacatat  | tggggggccg | gagtgggtgg  | tcacacctgt  | aatcccagca  | ctttgggagg | 21240 |
| 10 | ccgaggcg    | cagatcacga | ggtcaggaga  | ttgagaccat  | cctggctaac  | acagtgaaac | 21300 |
|    | cccgctctct  | caaaaaatac | aaaaaaaaaa  | aaaaaaaaatt | agccgggtat  | ggtggcgggc | 21360 |
|    | gcctgtagtc  | ccagctactc | aggaggctga  | ggtaggagaa  | tggcatgaac  | ccaggaggca | 21420 |
|    | gagcttgacg  | tgagccgaga | tcgcactaca  | ctgcactcca  | gcctgggcga  | cagagcaaga | 21480 |
|    | ttccatctca  | aaaaaaaaaa | gaaaaagata  | ttgggaaaac  | tcacttaaac  | tctatgggct | 21540 |
| 15 | tctgtaccac  | taaggcttct | caaatttgat  | gcaagtaatg  | ggaacttgct  | gtggctaact | 21600 |
|    | tgagccacag  | gagaaggata | ctgcaagact  | cacaaatgct  | tgaagtttc   | ggaacaggtt | 21660 |
|    | tggaaatggg  | taagaaccaa | ggaccgggtt  | gacctgaact  | gaaaggaaat  | tgaggtgcta | 21720 |
|    | ttagggacaa  | atatgaaatg | aaggatgaac  | tgtctctgac  | atcctttgct  | tctgtgtttg | 21780 |
|    | gagatgagta  | agcagggagt | gggtgcata   | tgcacacagg  | tggtcagaaa  | tgctttggcc | 21840 |
| 20 | ggatgtgtga  | ctgaaggcta | tgtgcagctg  | aggaaggctg  | ggccaccaca  | gtagcagaga | 21900 |
|    | ggctgaccaa  | tttggcatgc | agcaagcagg  | aagtagaagg  | gatcttaagc  | aagcaaagtg | 21960 |
|    | tttgggtaga  | caagattatg | aggaatgagc  | accaatgaca  | tttccaacaa  | gactgaaag  | 22020 |
|    | cttccaaatg  | cttctaacag | ttactgcctg  | tacaaacaca  | ggacagtctt  | gactatgtga | 22080 |
|    | gactgtgaca  | gtttcctcat | gcctatgaaa  | tgagagacag  | tacttagcac  | tgacatgagc | 22140 |
| 25 | ttcatatttg  | aaggcagcaa | actactgaac  | cacatgtagc  | ttccgaaatc  | aaaagatgca | 22200 |
|    | aactggcaga  | ccacaggcta | gatatgacat  | gcagaaaaaa  | attagttact  | atcttagcct | 22260 |
|    | agtttgtgct  | gcttacagaa | tatcagagac  | tgggtacttt  | atagagaaca  | caaattattt | 22320 |
|    | ttcatagttt  | tagaggctgg | gaagtccaa   | atcaaaaggc  | catcatctcg  | tgaaggcgct | 22380 |
|    | cctgctgtgt  | caaaacatgg | tgggaaggcat | cacatgggca  | aaagagagag  | agggaagcgg | 22440 |
| 30 | gggcaaaact  | ctttttatca | ggcaccacgt  | cctgtgattc  | attcatgaag  | acagtgtcct | 22500 |
|    | cctggcctaa  | tcacctctta | aagctccac   | ctctcagcac  | tggtgcactg  | gaaattatat | 22560 |
|    | ttctcacaca  | tgaacttttg | ggaacacatt  | caaaccatta  | cagttacca   | agataaaaat | 22620 |
|    | gcagatttca  | gattttctct | ggggaagaaa  | aaaggctctg  | gcaataccag  | ggctgtattt | 22680 |
|    | ccacatggca  | acagttgtct | gttgcccttct | gttgggttgt  | gggctctcac  | attgccatac | 22740 |
| 35 | cctcctcatg  | gcccccttca | ctcataacag  | tacctgccta  | gacctcgaag  | cactagtttc | 22800 |
|    | caaccctgct  | tgagttaact | acttccatga  | caactgtgca  | aggccagagt  | gtgggcagct | 22860 |
|    | accttgaggg  | ccaccggcat | gggctgcccc  | agtgaccgag  | ggcactaacc  | tctgctctcg | 22920 |
|    | aaacttcttt  | ggtaggatct | cttactcct   | gacttactac  | ttgtaactgc  | tggaacaac  | 22980 |
|    | catttattct  | accctacta  | aaccacatct  | gtcttttctg  | tcagagccaa  | tcttcaagca | 23040 |
| 40 | tatgcttcct  | caaaagactt | taattaccag  | gtagtagaag  | cggcagcaaa  | gagtcccat  | 23100 |
|    | ctagcatctt  | ctaaaatgta | gtggagaaac  | caacgacaac  | gaatctgaga  | caaccagttg | 23160 |
|    | tttgacttct  | ctgaaaacaa | cctctaaaaa  | aagccttctc  | tcgtgaatag  | ctgcagacat | 23220 |
|    | gctgggcact  | aattgatgat | gatgcccttt  | agtgagtctc  | ctctgcacat  | acctgattcc | 23280 |
|    | atttggatgc  | tggccctcac | atacttctat  | ctgcgaactc  | cggaaacacag | aatatcatac | 23340 |
| 45 | aatgtatgat  | tcaatctgga | ctctgctgga  | gccattctct  | acaaagcaga  | cacaactttt | 23400 |
|    | tcttgccctaa | atcctttcaa | gttgctttat  | ttttattttt  | aaactaatta  | ccataaatct | 23460 |
|    | aatttatcaa  | gctgctttta | agataaaact  | taaaatgctt  | agagcagtct  | acaaattctt | 23520 |
|    | gcactgtttc  | actcttctct | atctctcagt  | cttcatctcc  | cattgcatct  | tctctgactc | 23580 |

|    |             |             |             |            |            |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------|
|    | tttcatatgg  | atcttctttc  | aattttgtgga | agaagccaag | cttgttcctg | cctcaggtcc  | 23640 |
|    | ttgacacttg  | ctgttctactc | tcttgggaga  | ctcttcccc  | catcttagct | tttaaatacc  | 23700 |
|    | agctgggtcag | actccttacc  | tgcttccac   | cttctctca  | ttctccact  | cctcgccttc  | 23760 |
|    | atttctcaga  | gtcctccgct  | ctcttctttc  | tattgctctt | aacacaattt | gtctgttttc  | 23820 |
| 5  | cgctaactctg | taaactctac  | aagagcactt  | aactattttg | catcccaccg | aatattcgga  | 23880 |
|    | gtcagcacag  | accccgatc   | aatagagtag  | gtaagcaatg | cttacctgtc | aaatgaatga  | 23940 |
|    | atgaaacacc  | cgattcatcc  | cccaagccag  | cttaatacat | tagatgatct | tatggactga  | 24000 |
|    | ataagacatc  | cctcctttta  | aagaatatatt | ttgttttagc | ttcacatcag | caaaccgccg  | 24060 |
|    | acggttcatc  | ctaagataag  | cctggtagag  | aggaaagata | ctaaccttct | agggtcctaa  | 24120 |
| 10 | agtggaaacta | ggaacttatt  | agatatgcac  | attctcaggc | attatttccg | atagcccagt  | 24180 |
|    | cagagaattc  | tgggggtatg  | gccagcaat   | ctgttttaac | aaacctttca | ggtaattctg  | 24240 |
|    | atacacacta  | aagtttgaaa  | ggtttcttta  | aggctttcca | gttttctttt | cttttttgga  | 24300 |
|    | gggatggggg  | ggggtctccc  | catgttgccc  | aggctggtct | cgaactccta | gcctcaagct  | 24360 |
|    | atcctatcct  | cccacctcgg  | ccttccaaag  | cattgaaatt | acaggcatga | cccactgcgg  | 24420 |
| 15 | ctcgcctccg  | tttctaactt  | aaaaaaattt  | tctttggagg | ggagccttaa | tcctttctat  | 24480 |
|    | tatcctgcta  | gtagaatctt  | actactcctg  | agggtaatct | ttgtcataat | ccaaaagcct  | 24540 |
|    | tgaataaagg  | cctattttgta | tagttatgca  | gaatatattc | ctgggagggt | tgcttcccta  | 24600 |
|    | ggagcacagg  | tcggccctgg  | gaggtggggg  | ttggggggca | gggctgcatt | ctaaagtcct  | 24660 |
|    | gtaacaacgc  | acaagtacaa  | ctgaatagaa  | ctcggaacaa | aggcatcagg | gccacggtgc  | 24720 |
| 20 | aagtctttgt  | tcacccgttc  | ccgactgct   | caccctgtct | gataccgctc | ttttccaccc  | 24780 |
|    | agaaaagcag  | ccactcaagt  | tttaagaatg  | gatgtatgcc | gcggacgttt | tcgattaggc  | 24840 |
|    | cgttttctct  | caggcactgg  | aggatattcg  | tggctgcagg | aggcgcttcc | accctttcct  | 24900 |
|    | caacctagca  | aagaagtaac  | tgaaactaac  | ccaagggtta | caaccgaaaa | gccccttcca  | 24960 |
|    | gcttcagaag  | cagaactgga  | agctcggata  | gacttctccg | cctctacact | cctggaaaac  | 25020 |
| 25 | ccgcagtgga  | tttcaccaac  | ttcaggatcg  | gagcccaggc | aggcgaacgt | accttattgc  | 25080 |
|    | gcatgctcgc  | tagccccctc  | cgctcggagc  | ggaaggggga | gcgctggggg | cctgggcctg  | 25140 |
|    | gcctggccgg  | ggcgctggca  | ccggcgcca   | tcttggttcc | ccggggaaag | gcggcgtgag  | 25200 |
|    | gggaagaagt  | tgtagggtgg  | gggcaggagt  | gaggaggagg | gaagagagag | ggggaggagg  | 25260 |
|    | ccgcggcggg  | gcagggcggg  | gactgcctgc  | ctgcctgggt | tgcggaagtg | atagccgccg  | 25320 |
| 30 | accgagcctg  | ctgctttctt  | gctactgctt  | cggttccccg | gctaccccc  | ggacgggtgaa | 25380 |
|    | ggcgggcccag | ctgtggatgg  | tcagatagcc  | cttgtctccc | gccgccaatc | tctggcccct  | 25440 |
|    | agcagcacgg  | agcagacggc  | ggcagcagca  | gcagcaggcg | aggaggaaga | tggcgggacg  | 25500 |
|    | gctgccggcc  | tgtgtggtgg  | actgtggcac  | ggggtaaagg | ggcttacggg | cgggggtggg  | 25560 |
|    | gaaactgagg  | cggagggaag  | aagatggcgg  | gggaggagg  | aggccgggaa | atgaatggtg  | 25620 |
| 35 | cggcgagggtg | ccgccgccgg  | ctgtcagtcc  | tagaccgcc  | ggccagcgag | gggtggggcc  | 25680 |
|    | cgcagccagg  | gcctcgcggg  | tcccctcggt  | tctccctcct | gggactgggg | cgggggcgcg  | 25740 |
|    | ggccccgagat | tcaaccccc   | accctcccag  | cggttttctc | cgcgcgacct | ctcccgcccc  | 25800 |
|    | ttccccact   | acggtgggca  | gcgccccca   | aagggcgctg | gggacggtcg | tcttgggggt  | 25860 |
|    | gggtccccggg | cccgacccat  | ccggctttcc  | tttccctccg | cgcccgtttt | tgccagtcgg  | 25920 |
| 40 | tttggggacc  | caggggcccga | gctcggggac  | tggcctggca | ggggagctag | aaaagagaag  | 25980 |
|    | cgctcctggt  | aggtttgaca  | agatcgctgt  | gacaacattc | tgcccagggt | gtgggtgggg  | 26040 |
|    | aaagggaaga  | atcggactct  | gaaaatggga  | acctacagtg | gggctttcat | ttgaccaccc  | 26100 |
|    | accttctcct  | ttcgactcct  | ggtcatttcc  | atctccctct | gcgttttaac | cgggtgaacca | 26160 |
|    | agtcacattt  | taattcgagg  | gagaaagatg  | tcatgtgtta | cttctgtagc | ctcaaaaaag  | 26220 |
| 45 | tccccagtg   | agcaagcgcg  | ctgcaacttc  | cttagttttg | tcaaagccgc | ttcctgcttt  | 26280 |
|    | cagtctttta  | tacccttata  | aggtagtttt  | tagtttccaa | cctgagcaca | tcttactaga  | 26340 |
|    | acttttaagc  | aggttttaaa  | gagactgaat  | taccggtgct | tggtgtccat | ttatatgact  | 26400 |
|    | taaaaaatg   | tacttatggt  | tcattggagt  | ggggaaagga | agcacccctg | aaaataaact  | 26460 |

|    |             |              |             |             |             |             |       |
|----|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | aattttaagtt | gtatttcgttc  | attctgtgat  | ggtatcttga  | aggaagcagg  | aaggtataga  | 26520 |
|    | ggtatatagg  | aggggtgttta  | agttgcaaat  | agttactcgt  | agatatgtag  | ggtagtttgc  | 26580 |
|    | gaaaatgtag  | agtggcttta   | aagtgtggtc  | gttcattttg  | tattaataga  | cgtttttagag | 26640 |
|    | agttgtacca  | cactcataac   | tgcatagaga  | atagactacc  | cttatttttta | tgtagaatca  | 26700 |
| 5  | ctgcttcagg  | atgacatata   | ggaaagtgg   | ttttttttct  | gtgctgatga  | catctctcca  | 26760 |
|    | attcccagaa  | cactcccagt   | tttttttttt  | tgagggggaa  | gtc         |             | 26803 |
|    | <210>       | 19           |             |             |             |             |       |
|    | <211>       | 26803        |             |             |             |             |       |
|    | <212>       | DNA          |             |             |             |             |       |
| 10 | <213>       | Homo sapiens |             |             |             |             |       |
|    | <400>       | 19           |             |             |             |             |       |
|    | gccgcaccta  | ccgctggcct   | cagacatcag  | caccccaaaag | ggtatgttgg  | agtcccatgg  | 60    |
|    | tggaggtgcc  | ggccgctcct   | ccacgcactt  | gatgtatacc  | gaggatccca  | tgcttgacgt  | 120   |
|    | cgcagggggc  | attagccagg   | agcacgttgc  | tgggatgcca  | gtccaggctg  | aggatggtgg  | 180   |
| 15 | agccaatggg  | cttcttgatg   | tacttgcaca  | cccaccagtt  | attctcccgc  | tggaaataac  | 240   |
|    | agatggcgat  | gacacacagc   | tgccgcccac  | agcaaacttg  | tcctgtgggc  | ccagcacaca  | 300   |
|    | cagcaggcag  | tgggtgcggg   | cttaccctcc  | tggcccgta   | gcgtccacac  | agaggccttg  | 360   |
|    | tggcctgtgc  | cataggtcac   | gatgaggtta  | ctcttgagg   | cccagttgat  | gccttttacc  | 420   |
|    | tgcccgttgt  | gctccttgag   | ctcgggcacc  | ttggcccact  | tggccccact  | cttacagctt  | 480   |
| 20 | cgtgggttgt  | gaggcagatg   | gtggccatct  | gggtgcggcc  | cttgctccag  | gtttggcagc  | 540   |
|    | aatgggttcc  | tgcagtcagc   | tgtgggaggc  | tgtagtgtct  | ctccttttca  | gagtacccca  | 600   |
|    | gctgcagact  | ctgggcagga   | cgcacccaac  | cagtgtctctg | gttttttgaa  | gtaaaaaatg  | 660   |
|    | cataatgcaa  | ttttaccatc   | ttaaccattt  | tttaattatg  | aatccggta   | gtgttaagta  | 720   |
|    | taattgtgtt  | gttgtgaaac   | agatctccac  | aactttttca  | ttttgcaaaa  | ctaaataact  | 780   |
| 25 | cctctttccc  | cctactccca   | agctccaggc  | agctaccatt  | tctgtttcta  | tgaatttgac  | 840   |
|    | tacttatatt  | acctcatata   | aaggggttca  | taagtatttg  | tcttttcttg  | cttggttaca  | 900   |
|    | tcacttagca  | tgatttctta   | agtttcattc  | atgtttagtc  | acatgtcaag  | atttcctttt  | 960   |
|    | ttttttttta  | aaaaaaggat   | gaagactatt  | cgtttgtatg  | tatatgccac  | attttgttta  | 1020  |
|    | tccatccatt  | tttcttcaaa   | tgtttgagtt  | gtgtgatgtt  | taattatgtg  | tcaccttgac  | 1080  |
| 30 | ggggcaaaag  | gttgcccaga   | cagctggtta  | aacattattt  | ctgggtatgt  | tagtgaggct  | 1140  |
|    | gtttccagaa  | gagattagca   | tttgaattgg  | caggctgaat  | aatgaagatc  | tgccctcatc  | 1200  |
|    | aatgtggatg  | ggccagaaca   | aacaaaaaag  | gtggagaaaag | gaccagttat  | ctccccacca  | 1260  |
|    | cccctgtgcc  | cttttagctgg  | gacatccatc  | ttctgccatc  | agacatcaga  | gcttctgggt  | 1320  |
|    | ctcaggcctt  | cagactccag   | aagttatacc  | agtggcttcc  | ctggcctttg  | gactcagact  | 1380  |
| 35 | gggggtttcac | tgtatgtttc   | cctgattctc  | aggcctttgg  | acttgaattg  | aattacagca  | 1440  |
|    | tgaactttcc  | tagttctcta   | gcttgcatat  | ggcatattgt  | gggacttctt  | gacctccata  | 1500  |
|    | atcatgtgag  | ctaattccca   | taataaatct  | cctcttatgt  | atctataatt  | catatagata  | 1560  |
|    | tgatatctat  | atatcaatcc   | catagataaa  | tagatgtctc  | atatatatat  | caatgtctct  | 1620  |
|    | atatgtagat  | gtctcatata   | tggatatctat | gtatctgtat  | catctctata  | tatctaataca | 1680  |
| 40 | tctaatatag  | atgtctcatg   | atatctatat  | agatatatct  | atatcataga  | tgcagagata  | 1740  |
|    | tcatatatat  | gtctgtttct   | ttggagaatt  | ctgactgata  | caggttgctt  | ccgccttttg  | 1800  |
|    | gctatcatga  | gtaatgccgc   | tgtaaccatg  | ggtatgcaaa  | tacttctttg  | agaccctgct  | 1860  |
|    | ctgagttctt  | ttgggtaaat   | accagaagt   | ggattgctgg  | atgatttggt  | ggttctactt  | 1920  |
|    | ttaatttttt  | gaggaaatgc   | catactgttt  | tccataatgg  | ttgcaccatt  | ttataatctc  | 1980  |
| 45 | accaagagtg  | cacagggttt   | caatttctct  | acatccatac  | caacacttat  | tagtgtgtgt  | 2040  |
|    | gtgtgtgtgt  | gtgtgtgttt   | aatggctgtc  | ctaattgggtg | tgaggtgaca  | tttactgtgt  | 2100  |
|    | gttctgattt  | gcacatctct   | gataattgct  | ggtgttgagc  | atccttccat  | atgcttggtg  | 2160  |
|    | gtcattttata | tatcatcttt   | ggaaaaaatg  | tctattcaag  | tcttttgtct  | attttttttc  | 2220  |

|    |             |             |             |             |            |             |      |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|------|
|    | cttccaactt  | ttattttagg  | tctgggggta  | catgtgcagg  | tttgttacat | ggataaattg  | 2280 |
|    | tgtgtcatgg  | ggggttggtg  | tacagattat  | ttggtcgcct  | aggtaaata  | gcatagtacc  | 2340 |
|    | tgataggtag  | ttttttgacc  | ctcccccttc  | tcccaccctc  | caccctgaag | taggccccag  | 2400 |
|    | tgttttattgt | tcccttctta  | gcatctgtgt  | gtagtcaatg  | tttagctccc | acttataagt  | 2460 |
| 5  | gagaaaaatgt | ggatatttgg  | tttctgttct  | tacattaact  | tgcttagaat | gatggcctcc  | 2520 |
|    | agcagcatcc  | atgttgctgc  | aaaggacatg  | atttcgttct  | tcttatagct | gtgggtgtata | 2580 |
|    | tgtaccacat  | tttctttacc  | cagtccactg  | ctgatgggca  | tctaggttga | ttccatgtct  | 2640 |
|    | ttgatattgt  | gaatagtgt   | atgatgaaca  | tatgtgtgca  | tgtgtctttg | tggcagaaca  | 2700 |
|    | atttacattt  | ctttgggtat  | atatccagta  | atgggggttg  | taggtggaat | gattaattca  | 2760 |
| 10 | cttttaagtt  | cttttaagaaa | tctctaaacc  | tctttcccca  | gtggctgaac | taacttacat  | 2820 |
|    | tcccaccagc  | agtgtccaag  | tgtttccttt  | tctgcacaac  | cttactaaca | tctgttattt  | 2880 |
|    | tttgactttt  | taatgatagc  | cattctgact  | catatgagat  | cgtatctctc | tgtgggtttt  | 2940 |
|    | acttgcat    | ctctgatgat  | tagtgatgta  | gagcattttt  | tcaaagtctt | gttggccgca  | 3000 |
|    | tgtgtcttct  | tttgagaagt  | gtctgtctct  | gtcatttgcc  | cactttttaa | tgggcttggt  | 3060 |
| 15 | tgttttttgc  | ttgttaattt  | aagtttcatg  | tagattctgg  | atattagacc | tttgtcaaat  | 3120 |
|    | gcatagtttg  | tgaatatatt  | ctcccattcc  | ataggttggt  | tactctgttg | atagtttctt  | 3180 |
|    | ttgctatgca  | gaagctcttt  | agtttagtta  | ggtactactt  | gtcaattttt | gtttttgttg  | 3240 |
|    | ctttgtccat  | tttaaaaaat  | agagtaattt  | gattattttt  | ttgttgaatt | gtaggaattc  | 3300 |
|    | tttatatatt  | atggatgcta  | acatcttatc  | aaatatgatt  | tgcaaaacat | tttccctcat  | 3360 |
| 20 | tctgtaggtt  | gccttttcac  | tattgtgtcc  | ttcaatgaac  | aaaagttttt | atgtttgatg  | 3420 |
|    | cagtcccatt  | tgtccatttt  | ttttggttgc  | ctgtgatttt  | ggtgtcatat | ccaagaatgt  | 3480 |
|    | ggaatgtgtc  | atatccacat  | tcaatgtcct  | gacgattttt  | ttctatgttt | tcttcagaa   | 3540 |
|    | gttttattgc  | tttgggtctt  | tggtttaagt  | cttttagtcca | ttttgagtta | atttttgtat  | 3600 |
|    | gtgggtgtaag | aaacagggtcc | aactgcattg  | ttttgcatgt  | aaatatccag | ttttcccagc  | 3660 |
| 25 | atcatttggt  | gaccagactg  | tccttttccc  | atttagtgct  | gttggagctc | ttcttggagg  | 3720 |
|    | tcagttggcc  | atgtgtacac  | aagtttattt  | ctgggtctct  | tattctgttc | tattgatttg  | 3780 |
|    | tatatctgtc  | tttattccag  | taccacactg  | ttttattctt  | ctttttcaaa | attgtttgac  | 3840 |
|    | tcttagggcc  | ctttgagatt  | ccatatcaat  | tttaggatga  | attcttctat | ttctgcaaca  | 3900 |
|    | aatgctattg  | gaattttgat  | aaggattgaa  | ttgaatctgt  | agactgtttt | gagtgatatt  | 3960 |
| 30 | aacatcttaa  | taatattaag  | tctaattccat | gaatgtgaga  | tgtttctatt | tatttatctc  | 4020 |
|    | ttctttgatt  | tctttcagta  | atgttttata  | gttttcatta  | tataagtttt | tacttcctta  | 4080 |
|    | gtcaatttct  | aagaattgtt  | ttctttttga  | tgccattgca  | acgggaatca | ttttcttaat  | 4140 |
|    | tttttcagat  | gctttcacta  | tttgtgtata  | gaaatgtaac  | tgattttttg | tatgtgtgtt  | 4200 |
|    | gattttgtat  | ctggtaactt  | tactgaattt  | ttaaatttgt  | tctaacctgt | tttttttttt  | 4260 |
| 35 | tgggtggaatc | tttaggattt  | tctgcatata  | agatcatgcc  | atctacaaac | agaaattttt  | 4320 |
|    | acttctttct  | tcccattttg  | gatgcctttt  | attgcttttt  | cttgtcta   | tgctttggac  | 4380 |
|    | tggagtcca   | atactctgtt  | gaatagaagt  | gtccagaaca  | gacatttttg | cctgttctt   | 4440 |
|    | aatcttagag  | gaaaagcttc  | cagtttttca  | ctgagtatgc  | cgtagctgt  | ggacttttcc  | 4500 |
|    | taaacaacct  | ttattatgtg  | caggtaattt  | ccttctcttt  | ccacttttga | gtgttttttt  | 4560 |
| 40 | tcttttcttt  | tctttttttg  | tgtgtgaaag  | gatattgaat  | tttgccaaat | gcttttcctg  | 4620 |
|    | catcagtgg   | gatggcatg   | tgggttttgt  | cctttattct  | gtaaatgtgg | tgtactacat  | 4680 |
|    | tgattttcat  | atgttgaacc  | atccttgcat  | cccagggata  | aatcccactt | gatcatgggtg | 4740 |
|    | aatgatcttt  | tgagtgtgt   | gttgaattta  | ttttgctagt  | atttttttga | ctacgttcat  | 4800 |
|    | cagacatatt  | gggtaattat  | ttattttttc  | ttgtagtatt  | tttgcctagc | ttgatataca  | 4860 |
| 45 | cactaatgct  | gcccctcaaa  | gaatgacctt  | ggaagtattc  | ctttctcttc | agtttttggg  | 4920 |
|    | ggattgatgt  | aaattctttt  | tttttttttt  | ttggagacag  | ggtctcactg | tcaccagggc  | 4980 |
|    | tggagtgcag  | cggcacaatc  | atagctcact  | gcagcctcta  | actcctgggc | tcaagcaatt  | 5040 |
|    | ctgcttcagc  | ctcctgagta  | gctgggacta  | taagcatgtg  | ccaccatgca | cagctaattt  | 5100 |



|    |             |             |             |            |             |            |      |
|----|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|------|
|    | atatatatat  | aatataatag  | ataaatatat  | atatatatat | atatatatat  | atatattttt | 5160 |
|    | tttttttttt  | tttttttttt  | tttttttttt  | tgcagagaca | aggtaggtct  | tgctatgttg | 5220 |
|    | cccaggctgg  | tctcagactc  | ctaggctcaa  | gtgaacctct | cacctcagtc  | tcccaaagtt | 5280 |
|    | ctgggattac  | aggcatgagc  | caccacgtct  | ggccagtgtt | aattcttcaa  | tatttggtag | 5340 |
| 5  | aattcttcag  | tgaagtcttc  | tagtcctggg  | cttttctttg | ttgggaggtt  | tttaattacc | 5400 |
|    | aactcaatth  | ccttactagt  | tattggtcta  | tttatatctt | ctatttcttc  | atgattcagt | 5460 |
|    | cttggcaggt  | ttggtgtttc  | tagaaattta  | tccatttctt | ataggtcatc  | cagtttggtg | 5520 |
|    | gtatagttca  | tagtcttctc  | ttataatcct  | ttcttatctg | tagctcagta  | cctcctatct | 5580 |
|    | ggagatgcag  | aattaggaat  | tgaaactata  | ataggcccc  | cttttataat  | ggggtgtcct | 5640 |
| 10 | tattttttacc | ttctcacctt  | gcaataccct  | tgtcttgcta | gtaaagaaag  | aagggaatt  | 5700 |
|    | tgattcagga  | ggtaatcata  | cttttcaatt  | tgtacaagat | ctaatagcca  | tgaactccta | 5760 |
|    | tgtcattcct  | caccatccca  | taattcttag  | cccagccatc | atccttacct  | caatccctgc | 5820 |
|    | tgggtgcagc  | tggttttattc | tgttaatgtg  | ctgtactgca | ttgaggtaag  | gacttctgct | 5880 |
|    | cagctttctt  | cttgatacca  | ttgtaccttg  | attcacactt | cctcttggtga | aataaagttt | 5940 |
| 15 | agcatgaagc  | tgctttctta  | catatttttaa | gttcggctta | aagggtttttc | tgtacatcgt | 6000 |
|    | gaactgtaac  | aagtggaata  | taaccagacc  | gtagcttaca | cttgtgccat  | ttaccaagtt | 6060 |
|    | ttggccaatc  | aaatgtagcc  | aactgtttga  | actgtattca | aataagggaa  | atgctcagct | 6120 |
|    | gtaaccaagc  | caactgtttc  | tgtacctcac  | ttctgttttc | tgtatgtcac  | tttccttttt | 6180 |
|    | ctgtccataa  | atcatcttcc  | atggcgtagg  | tgtgctggag | tctcagagtc  | tattctggct | 6240 |
| 20 | caggaggctg  | cctgattttg  | aatcattcat  | ggctcaatta | aacttcttta  | attttttttt | 6300 |
|    | tttttgagat  | tgagtttcac  | ccttgttgcc  | caagttggag | tgcaatgggtg | cagtctctgc | 6360 |
|    | tactgcagc   | ctctgcctcc  | tgggttcaag  | cgattctcct | gcctcagcct  | cctgagtagc | 6420 |
|    | tgagattaca  | ggcacatgcc  | accatgccc   | gctaattttt | ctatttttag  | tagagacagg | 6480 |
|    | gtttcgccat  | gttgccagc   | ctgggtctga  | actcctgacc | tcagcctccc  | aaagtgtcga | 6540 |
| 25 | gattacagat  | gtgagccact  | gcacctggct  | tactccttc  | aaatttaatt  | cagctaaagt | 6600 |
|    | ttttattttt  | ttctctttct  | tttttttttt  | tttttttgag | acagagtcac  | tgtcacccag | 6660 |
|    | gctgaagtgc  | agtggcacia  | tctcggtca   | ctgcaacctc | cgctcccag   | actcaagcga | 6720 |
|    | tttctggcta  | atttttgtgt  | ttttagtaga  | gatgggtttt | caccatattg  | gccaggctga | 6780 |
|    | tcttgaactc  | ctgacctcag  | gtgatctgcc  | tgccttggtc | tcccaaagtg  | ctaggattac | 6840 |
| 30 | aggcatgagc  | cactgtgccc  | agcctcaaat  | ttaagaagaa | acagttaaca  | tggacttgca | 6900 |
|    | tacctccagg  | atattgtgaa  | tacctctcaa  | tatttttcta | agttctcaaa  | gtcaaattag | 6960 |
|    | actctatgac  | aatcactcaa  | ggttcccttt  | gtttccaata | tgttgatgac  | ctgctacttt | 7020 |
|    | gcaaccaaag  | caaacagggt  | gctcttctg   | actcccttac | tcaccttaag  | gactgactg  | 7080 |
|    | actaaggtta  | taaatcttcc  | aggtccaaat  | gccaacagg  | acaaaaaatt  | cttacctact | 7140 |
| 35 | taggccataa  | aatatttttag | ggtactcaaa  | aactcgtccc | aaaatgcctt  | gaatcaattt | 7200 |
|    | tattcattat  | ctctcaaaga  | caaacaatta  | cgtgaatttt | taggagcaac  | tggatattgc | 7260 |
|    | caatggattc  | ccaattttgc  | tgcccatgtc  | taacctttat | atgctgtcct  | cttagatata | 7320 |
|    | accacagagc  | actttacctg  | gtactctgag  | gcaccagcct | ccttggaagc  | attgtccaca | 7380 |
|    | ccccagccct  | tcgactaccc  | aactttgaca  | atctttttta | cctatattac  | tgtgaaaatg | 7440 |
| 40 | atgggattgt  | tgtgggtatc  | ttaggacaat  | ctttttgtcc | cataacatat  | ttctcatgtc | 7500 |
|    | aacctagata  | tgtcccacag  | tacctttctc  | atgttaagta | gcacaggca   | ttctccatg  | 7560 |
|    | cttatatgca  | atagacttag  | ctgccatcct  | aattgacaaa | gcaagtattc  | ttatactgcc | 7620 |
|    | ccaccattca  | cctctctgtt  | ctccatgctg  | ttcctctaca | ttgggtatccc | tttcaaagtg | 7680 |
|    | gatcttgcct  | caactaacc   | ttaactgttt  | tttttttggt | tttggttttt  | gttttttgac | 7740 |
| 45 | aattctggca  | ctaccccaac  | acctgcttgt  | tccaatcttt | caaagcctgg  | ccaccttaaa | 7800 |
|    | tagttaatct  | ggttactgg   | taggttaaca  | tctacataat | gcagaagagt  | ttttgttcc  | 7860 |
|    | accaatgtaa  | atatacctgg  | tgaaccatt   | ctggacaatg | gatataataa  | agcatatgg  | 7920 |
|    | atccataagc  | aggaagacaa  | agtcactctg  | tctcctcctc | tggtagatta  | atttggcact | 7980 |

|    |             |             |             |             |            |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------|
|    | gggaagcctc  | catggaagct  | caagggtcagt | gctttaccca  | agtaagacta | ttggaaggaa  | 8040  |
|    | atctctctac  | attgaaaata  | aatacagtac  | tggacctttt  | ctgggtaaca | tttcaaaaat  | 8100  |
|    | gtattgcaat  | caaattctgt  | gattttggctt | cacagatggc  | actaaacaac | cctccactgt  | 8160  |
|    | cattgttact  | tggattataa  | ctaagtattt  | caatgtgagt  | gaatgtcaga | ttacaggata  | 8220  |
| 5  | atattcctgg  | tttgtaggaa  | aaagtagtgg  | gatatggaat  | agctcaagtg | ttcccctagt  | 8280  |
|    | tggcttgacc  | agcacccatg  | actatagttg  | gatggatgga  | ccttaacttg | gtcaataaat  | 8340  |
|    | aaaatacatt  | tctatagtaa  | ccaaggctaa  | attaaaggtt  | ttctctgcca | gggtgttcac  | 8400  |
|    | aacctgtttt  | accctcatag  | cctaacagaa  | gcacattgga  | agtgaagatg | tgcagatgcc  | 8460  |
|    | aacatgattg  | atgataaggg  | ttgtgaaaga  | cacagaattc  | caacttggtt | gttcacaggt  | 8520  |
| 10 | tccaccacta  | tgacctgtgc  | tgtaaacaac  | actggctctc  | ctctcttttt | tttttttttt  | 8580  |
|    | agaaggaatc  | tcactctgtt  | accagggctg  | gagggcagtg  | gcacaatctc | agctcactgc  | 8640  |
|    | accctccacc  | ttccggttca  | agcgattctc  | ctgcctcagt  | ctcccgagta | gctgggagta  | 8700  |
|    | caggtgcccc  | ccaccatgcc  | cggcttattt  | ttgtagtttt  | agtagagaca | ggattttctc  | 8760  |
|    | atgttgGCCA  | ggctgggtctt | cacctcaagt  | gatccgccag  | cctcggcctc | ccaaagtgtc  | 8820  |
| 15 | gggattacaa  | gcgtgagcca  | ctgtgcctgg  | cctgggtctca | tttttatgta | gcaataagat  | 8880  |
|    | atataaaaagg | ttcccaccta  | agtggtcaga  | gaaatgtgaa  | gttgatatac | tgggtgccttc | 8940  |
|    | ccttaccaga  | tatcccactt  | tgaatgctag  | ccacattaca  | actggggttc | ttttatatat  | 9000  |
|    | aaattaatgc  | catgtagatg  | cacctgatga  | gacatcatag  | acaacgcact | tatgtattgc  | 9060  |
|    | aaccctaagt  | tctcagtaat  | gagaatgctt  | ttccaaagcc  | tggcaatgta | cgatgtagaa  | 9120  |
| 20 | agaacaatcc  | taagcattcc  | aaagtaatga  | acaagcatct  | ggtgccacta | tacagactgg  | 9180  |
|    | gaagcctgcc  | atttacaagt  | tagcagtgtg  | gcctctgttg  | cactccaaaa | ttgtgtccta  | 9240  |
|    | gatatgctga  | ctgccccaca  | gagaggagct  | tgtacaatca  | ctggcaacaa | tgctacttct  | 9300  |
|    | atataaatta  | gaaaggaaaa  | attgtgtcta  | atctatatca  | tttaaaaaga | aaggttggcc  | 9360  |
|    | gggcacggtg  | gctcacgcct  | gtaatcacag  | cacttcggga  | ggccgaagcg | ggcggatcat  | 9420  |
| 25 | gaggtcaggg  | gatcgagacc  | atcctagcta  | acatggtgaa  | accctgtctc | tactaaaaat  | 9480  |
|    | acaaaaaatt  | agccaggcat  | ggtggcgggc  | acctgtagtc  | ccagctactt | gggaggctga  | 9540  |
|    | ggcaggagaa  | tggcgtgaac  | atgggaggcg  | gagcttgtag  | tgagcagaga | tcacaccact  | 9600  |
|    | gcaccccagc  | ctgggcgaca  | gaacgagact  | ccgtctcaaa  | aaaaaaaaaa | aaaaaaaaaa  | 9660  |
|    | aaaaaaaaaa  | gaaagggtcaa | cattctacgt  | taggttaaata | aggcatagtc | caattaactg  | 9720  |
| 30 | aactgaactg  | acctattccc  | acgactggga  | gactgggttca | acagaatatg | gaccagtgtg  | 9780  |
|    | ttcagatttt  | tctctgttgt  | aatctatgtt  | cttctttcat  | tttgagatc  | tcttacctcc  | 9840  |
|    | cagcacctaa  | tatgagtctt  | ttctacatag  | gaaataatcc  | aaatatttgt | gaaacttcat  | 9900  |
|    | gtgaagtttc  | aaatggggga  | agtgaaggaa  | cgaacaaccc  | acctcctaac | cccaatttat  | 9960  |
|    | accacctgt   | gttagttcat  | ttgtattgct  | atgaagagat  | acctggaggc | tgggaaattt  | 10020 |
| 35 | ataaagaaaa  | gaggcttaat  | tggctcacag  | ttctgcaggg  | tgtataggca | tggcatcagt  | 10080 |
|    | atgtgctcag  | ctcctgggtga | gggcttcagg  | gagcttacaa  | tcatagtgta | aggtgaaggg  | 10140 |
|    | ggagcatgca  | tcttacatgg  | tgatagaggg  | agcaagagag  | agggtcgggg | ggtgccaggc  | 10200 |
|    | tctttaaaca  | accagctctc  | atgtgaaata  | ccagagccag  | aactcactca | tcaccatggg  | 10260 |
|    | gatggcacta  | agccattcat  | gagggatctg  | cctcatcacc  | caaacacttc | ccagtaggcc  | 10320 |
| 40 | ccacctccaa  | cttgggggatt | gtatttcaac  | atgacatttt  | gaggggacag | atatccaata  | 10380 |
|    | ttcaaaccat  | atcaccacca  | gaaaggcata  | aagattactt  | taaactgaaa | atattggaac  | 10440 |
|    | aaacaatcgc  | tgcggaaagc  | agccttatct  | gaccgaaagc  | agacctgtcc | aagagtctctg | 10500 |
|    | ctatcatcaa  | ctccttctga  | gggactttcc  | agacagcgag  | gtgacagatg | tttaciaaacg | 10560 |
|    | tgacgttaaa  | aaataaagtt  | gtgtaaatga  | gtcttatcag  | aaccttttat | actttctcac  | 10620 |
| 45 | tgaagcctca  | gttgggtatat | aaacccttac  | cactggctgt  | ttgggaagtg | actccttaca  | 10680 |
|    | gagtgtctcc  | tcaggcatgg  | agaataaaact | tttctcctgt  | taatgtattt | tcaactaatt  | 10740 |
|    | cgcaggccct  | agaccactca  | gatctaagtt  | gacagatgaa  | atgttttcct | cccaacatga  | 10800 |
|    | ccaagcttat  | agtgcctttta | tgggtatatct | gtagagattg  | cggtcaggga | taacattgtt  | 10860 |

|    |              |             |             |             |            |             |       |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------|
|    | tggttaggggtt | gcagtacctt  | tcaggaaatg  | ctcaaagttt  | aattgattta | ggggactttc  | 10920 |
|    | actggatgag   | atgcctctct  | gagtcacat   | aggttgcaaa  | gtattagttt | tttgccactc  | 10980 |
|    | actgtgtgtt   | gtgatatgac  | atactcataa  | tggggttagga | caagatgtca | gttttgcttc  | 11040 |
|    | caaactttcc   | ttacttggtt  | ccttttttgt  | tcaccactaa  | tgttgaagaa | atgcaagatg  | 11100 |
| 5  | gaaaatctca   | atagttgaca  | ctgattgatt  | gattgagatg  | gagtctcact | ctgtcacctg  | 11160 |
|    | ggctggagtg   | cagtggcgtg  | atatcggtc   | actgcaacct  | ccacctccca | ggttcaagca  | 11220 |
|    | gttctcctgc   | ctcagcctcc  | cgaacagctg  | ggattacagg  | tgcccgccac | tactctcagc  | 11280 |
|    | taattttttg   | tatttttagt  | agagatgggg  | tttcaccatg  | ttggccagac | tagtctcgaa  | 11340 |
|    | ttcctaacct   | tgtgattcgc  | ccgcctcggc  | ctcccaaggt  | gctgggatta | caggcatgag  | 11400 |
| 10 | tagttgacat   | ttattaagtg  | tttatatgtg  | ataagcactg  | ttagattatc | ccatgtaata  | 11460 |
|    | catcacttga   | ttgattttaag | agattgtcat  | ttgaaagatt  | aaagaatatt | tcccagaaaag | 11520 |
|    | gatgcttggt   | caagcctcat  | catcctggga  | tggatgggac  | cttggttttg | ggcaagttta  | 11580 |
|    | ttacaattta   | agactattct  | aggtcattga  | agtgtgtgtt  | aggacatata | agtagttttc  | 11640 |
|    | ttgtccagaa   | tactttgtaa  | taatataccc  | taagtttgat  | cagctttttg | gcattcactt  | 11700 |
| 15 | aattaaatg    | ttcacaagta  | ggtacatttt  | tagaattgtt  | aagtaatata | ctattttagt  | 11760 |
|    | tagcaaaaaca  | ctacaaaaca  | atacctaata  | taataagagg  | gagtgggtga | ataaactagg  | 11820 |
|    | gcatgtcaac   | taaaaaacat  | atgtgaaatg  | cagggaaaat  | gcttactcta | ggcaatagtt  | 11880 |
|    | acaacttttg   | tccattatag  | gtacataaag  | gaaaagagta  | cacaaagaat | tctattaatg  | 11940 |
|    | atgaaattag   | gaacaatgtt  | cccatcccca  | atttataccc  | aaaagaaaat | atgttctggc  | 12000 |
| 20 | tgggcgcggt   | ggctcatgcc  | tgtaatccta  | gcagtttggg  | aggctgagac | aggctgatcg  | 12060 |
|    | cctgagctca   | ggagttcaaa  | accagtctgg  | gcaacatggc  | aaaaccccg  | ctccaccaa   | 12120 |
|    | aatacaaaaa   | attagccagg  | cgtgatggca  | catgcctgta  | ggtccagcta | cttgggaggc  | 12180 |
|    | cgaggtggga   | ggatcgcttg  | agctcgggat  | gtggaggctg  | cagtgagcaa | agctcacacc  | 12240 |
|    | actgcactct   | agcatgggtg  | acagagtggg  | accccgctct  | aaataaataa | ataaataaat  | 12300 |
| 25 | gaaaacttat   | attctataac  | atgtattctt  | atgtcttttg  | ctaaaacaaa | agagaagaaa  | 12360 |
|    | aataagtaga   | gagctaagtg  | aagtgaagtg  | tcttgaaaca  | gataagccat | aaagtggatg  | 12420 |
|    | atatgagtaa   | atgagtagtt  | gctggcctag  | gaattgtttc  | tgatgttttc | acctattgaa  | 12480 |
|    | agaatttttt   | tcttttttga  | aatctttttt  | ttggtttgtt  | aaactgaaaa | ataaaagcaa  | 12540 |
|    | tgaagagata   | atattgctgt  | agtaatgtcc  | cttagtgcat  | ccttggagtt | agttgtcttg  | 12600 |
| 30 | aatttggcct   | gctctgattg  | tcatattgctg | tttgctgcat  | tgaaaaaatt | tcagattttac | 12660 |
|    | aaaaatatgt   | gtgccagggt  | ggaggaaaatt | tttaacttga  | tgaattctca | ccttttaggac | 12720 |
|    | actgtctgct   | cttatatggc  | acttagcaag  | atgctgcaac  | aattgtccct | gtcactactg  | 12780 |
|    | ttggaggaag   | agggtatttt  | cagggtgagat | gctggagtca  | agatgatcca | aattttaaatt | 12840 |
|    | gcagtgggtga  | gcagtggcca  | ctagaggggt  | gtgaagtact  | taattctaaa | atttccacat  | 12900 |
| 35 | tttaatctgg   | agcagaggaa  | actctggaag  | gaccactggg  | actaaggagg | ctcaatccca  | 12960 |
|    | aacatcttta   | tctgagccct  | aaatgtcttc  | tacgttattc  | tttgacaata | ctttgttaca  | 13020 |
|    | tctcagaatt   | tgtagttttg  | agggtggagg  | ttaagttaga  | aatagtttaa | tatattctat  | 13080 |
|    | tccagaatat   | aattcgcttt  | tttccaaatg  | aaactggcac  | taaaagcttt | ttacttgaaa  | 13140 |
|    | gcaaatacac   | ttcatatgct  | ttatgtattt  | ttgtccctat  | atcattgaaa | tagtagattc  | 13200 |
| 40 | aaggctgttt   | gtaaaaataa  | gtgactatac  | tgcataatag  | aatagcccca | ccttaaagac  | 13260 |
|    | tttgattttta  | aggacattaa  | gtgggagggg  | cttttttgcc  | tttttttttt | tgactatcaa  | 13320 |
|    | aatactttca   | cattttcttca | attcaaagaa  | caactgttct  | aaatttagaa | gacagacaag  | 13380 |
|    | tgaagagaaa   | tatgctgcca  | tttccgatgg  | ttctttttta  | ctcttgatcc | atcactctcc  | 13440 |
|    | tgtcttttgg   | tgactctttc  | tccaaaaagt  | accttattat  | tttcctatgc | ctttaacttc  | 13500 |
| 45 | tgttttactt   | actctattgt  | agaactttga  | gaagttgtac  | accacattca | ctgctacctc  | 13560 |
|    | acattaactc   | tgcttactca  | ttgcagtctg  | ccttctgctc  | ctcaatgatt | gtcctgtgta  | 13620 |
|    | aggctcatct   | tggtttagca  | cttgtttgaa  | atctaatagc  | ctaaatgcac | atcgattact  | 13680 |
|    | gtttagaatt   | caaacgacat  | ttattttatt  | actttgagat  | ggagtttcat | tcttgtcgcc  | 13740 |

|    |             |             |             |             |             |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | cagctggagt  | acaatggcat  | gatcttggct  | cactgcaacc  | tccacctccc  | aggttcaagc  | 13800 |
|    | gatttccttg  | cctcagcctc  | ctgagtagct  | gggattacag  | gcaccctcaa  | ccacgcctgg  | 13860 |
|    | ctaagttttg  | tatttttttt  | agtagagatg  | gggtttcgcc  | atcttggcca  | ggctggctctc | 13920 |
|    | gaactcctga  | cctcaggtga  | tctgcctgcc  | tcagccccac  | aaagtgctgg  | gattacaagc  | 13980 |
| 5  | gtgagccacc  | acgcccggcc  | caaatgacat  | ttatttttaa  | aagcaactaa  | accaggaaag  | 14040 |
|    | accttcactc  | attcaatcaa  | aaaacatgca  | ttgaacacgt  | attcttggct  | agatccgggtg | 14100 |
|    | ctgcaaagat  | gaaagacgcc  | actcctagcc  | tcaaggagct  | tgcagtttag  | tggtaggact  | 14160 |
|    | ggatgtaaaa  | taatcataag  | atgtgaggtg  | aagactgatg  | aggtctatct  | tgttgacaca  | 14220 |
|    | ggtaaacatt  | ctcagagaat  | atttaattag  | caacatgaca  | aaaattagtt  | gatttatttg  | 14280 |
| 10 | aaggatattt  | aagtgaattt  | agagatgaga  | tttgttttta  | cttttttaat  | ttcagagagt  | 14340 |
|    | tatgttgggt  | gcaaaaatct  | ttgtttttcta | gtatctatct  | tataagccat  | ctgagaccag  | 14400 |
|    | gatgttttct  | ttttaacatg  | taaacttgat  | gcagtctctt  | tgtaaagtaa  | tgaatcccc   | 14460 |
|    | cgtgaacctc  | aaggagaaga  | aagttttagct | tgaacactta  | atttcaagta  | ccttgagaag  | 14520 |
|    | ggaacaggct  | gtattgctca  | gagaagaagg  | ctctattagc  | taaggtagaa  | ggacaatgta  | 14580 |
| 15 | aaactcttgt  | gaagacacct  | aaatgtcatt  | ccactcaaag  | cccattatta  | ataatttgaa  | 14640 |
|    | actgtctgct  | ctgtgaaggc  | aacgacctat  | ctttactcat  | ttttgactct  | gctaacattt  | 14700 |
|    | ctttttatag  | ttgaactaga  | ggcaaggcaa  | ggaacttgac  | atgcttggtt  | tccctttaga  | 14760 |
|    | ataaagtggc  | cagaagcagt  | ttcttctgtg  | tgatccaaca  | ctttcttctc  | cccagagcaa  | 14820 |
|    | ctctgcatag  | tctagatgta  | ccagagccca  | gcagcctgtg  | aggtgatgtg  | atgtgatgtg  | 14880 |
| 20 | atgtgaacag  | aaaggctcca  | tgttggatga  | tgccatgtaa  | tctaatacaga | ttctctttct  | 14940 |
|    | tggtcatttt  | gatttccaga  | gaaggcagta  | gaagcagggt  | ctgtgtgtat  | aaccagagac  | 15000 |
|    | tagagggagg  | aactgacagg  | gaagctgggt  | catgagagtg  | gtgtgctcag  | cagagtaggg  | 15060 |
|    | agtaagagag  | agctggctcc  | agagaggatg  | acaaaatgcc  | catgtctcca  | gcacttcttt  | 15120 |
|    | agcattctga  | gttcccatcc  | tatcatgaat  | aggaagagtt  | ttctagctct  | ccatgaagcc  | 15180 |
| 25 | gaaatagggt  | tcagactttc  | ctttctttcc  | cacacacata  | ataaataccc  | atcaggtaac  | 15240 |
|    | ctgggcatgg  | cctttttatt  | aggcactaac  | aattctaaaa  | ggaattaata  | aatgcttcac  | 15300 |
|    | tgccattttca | cagtgttaaca | gcatgccagt  | ttaccatacc  | attaacattt  | agcctcgtgg  | 15360 |
|    | tatttctgtg  | ttttttcagt  | cagtaatgat  | ggcatttttg  | ccaagataat  | atagtgttaa  | 15420 |
|    | actgtattgg  | ttgaaatcct  | aggcttttta  | aatgtaaaact | agcactttac  | aaagtattac  | 15480 |
| 30 | aaaggaaacg  | aaccagggaa  | acttgagaag  | gaactttctt  | atccacattg  | ttatagggtta | 15540 |
|    | taaaatagtt  | cctattttaa  | ttaaataacc  | tactgttgca  | cttttatgtg  | tgtttttata  | 15600 |
|    | tataaataac  | atctgggttg  | gcaaataatgt | gattttcgtc  | aaataggctt  | tgattgaaga  | 15660 |
|    | tgaaatatatt | ttgtaaaact  | agtccttttt  | taaagttaaa  | attttatgtt  | accacatgaa  | 15720 |
|    | ttgatcagca  | gaaatttatt  | tacattatgt  | aaattgattt  | ttaagagtat  | ccacaagggt  | 15780 |
| 35 | ttagctatta  | tttttgaact  | tgcttcctag  | cccacacaa   | taagtaataa  | gagtaagaaa  | 15840 |
|    | aaagaaagca  | cacatccaaa  | tcatctatca  | aaaccagct   | tctacccaat  | gacacatcat  | 15900 |
|    | tttatttctt  | gatcttgtaa  | tggtgagcac  | atgccttgga  | catattccta  | tatgtgggct  | 15960 |
|    | ctattctctg  | cagcacgtca  | ctccctcttt  | tatccgcccc  | tcttatgtgc  | tcccactcct  | 16020 |
|    | atcctcttca  | attaaaaatg  | cctctttctt  | ttttttttaa  | gttaattaat  | taattaattt  | 16080 |
| 40 | ttttttattg  | atcattcttg  | ggtgtttctc  | gcagaggggg  | atttggcagg  | gtcataggat  | 16140 |
|    | aatagtggag  | ggaaggtcag  | cagataaaca  | agtgaacaaa  | ggtctctggg  | tttcttaggc  | 16200 |
|    | agaggaccct  | gcgggcttcc  | acagtatttg  | tgtccctggg  | tacttgagat  | tagggagtgg  | 16260 |
|    | tgatgactct  | taacgagtct  | gctgccttca  | agcatctgtt  | taacaaagca  | catcttgcat  | 16320 |
|    | ggcccttaat  | ccatttaacc  | ctgagtggac  | acagcacatg  | tttcagagag  | cacagggttg  | 16380 |
| 45 | ggggtaagg   | catagatcaa  | cagcatccca  | aggcacagga  | atttttctta  | gtacagaaca  | 16440 |
|    | aaatgaagtc  | tcccatgtct  | acttctttct  | acacagacac  | agcaacaatc  | tgatttctct  | 16500 |
|    | atcctttccc  | cacctttccc  | cctttcttat  | tccacaaaaa  | ccgccatcgt  | catcatggcc  | 16560 |
|    | cgttctcaat  | gagctgttgg  | gtacacctcc  | cagacggggg  | ggtggccggg  | cagaggggct  | 16620 |

|    |             |             |            |             |             |             |       |
|----|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | cctcacttcc  | cagaaggggc  | ggccgggag  | aggtgcccc   | cacctcccgg  | atggggcggc  | 16680 |
|    | ggctgggtgg  | aggcggggcc  | ccacctccct | cccagacggg  | gcggctggcc  | gggcgggggc  | 16740 |
|    | tgacccccca  | cctgcctctg  | ggacggggcg | gctggccggg  | cgggggctga  | ccccccacct  | 16800 |
|    | gcctccggga  | caggggtggct | gctgggcaga | ggggctcctc  | acttctcaga  | cggggcagct  | 16860 |
| 5  | gccgggcgga  | ggggctcctc  | acttctcaga | cggggtggcc  | gggcagagac  | gctcctcacc  | 16920 |
|    | tcccagacgg  | ggtcgcggct  | gggcagaggc | gctcctcaca  | tcccagacgg  | ggcggcgggg  | 16980 |
|    | cagaggcgct  | tcccgcctct  | cagacgatgg | gcggccgggc  | agagacgctc  | ctcacttccct | 17040 |
|    | agacgtgatg  | gtggccggga  | agaggcgctc | ctcacttccc  | agactgggca  | gccaggcaga  | 17100 |
|    | ggggctcctc  | acatcccaga  | cgatgggcgg | ccaggcagag  | acgctcctca  | cttcccagac  | 17160 |
| 10 | gggggtggcg  | ccaggcagag  | gctgcaatct | cggcactttg  | ggaggccaag  | gcaggctgct  | 17220 |
|    | gggaggtgga  | ggttgtagct  | agccgagatc | acgccactgc  | actccagcct  | gggcaacatt  | 17280 |
|    | gagcactgag  | tgaaccagac  | tccgtctgca | atcccggcac  | ctcgggaggc  | cgaggctggc  | 17340 |
|    | ggatcactcg  | cggttaggag  | ctggagacca | gcccggccaa  | cacagcgaaa  | ccctgtctcc  | 17400 |
|    | acaaaaaaaa  | tacgaaaacc  | agtcaggcgt | ggcggcgcg   | acctgcaatc  | ccaggcactc  | 17460 |
| 15 | ggcaggctga  | ggcaggagaa  | tcaggcaggg | aggttgacgt  | gagccgcgat  | ggcagcagta  | 17520 |
|    | cagtccagct  | ttggctcggc  | atcagaggga | taccgtggaa  | agagagggag  | agggagactg  | 17580 |
|    | tggggagagg  | gagagggaga  | gaaaaatgcc | tctttcaata  | tgttaaggtaa | gattgataga  | 17640 |
|    | tgattgcctt  | ccgtagtctc  | tcccaaaatt | catagggtga  | aatcttagcc  | ctcagagtgg  | 17700 |
|    | tgggtattagg | aagtatggag  | cctttgggag | ataattagct  | caggagggtg  | gagccctccc  | 17760 |
| 20 | gaataaattt  | aatgccttta  | taagcaagac | cccagagagc  | cctttcaccc  | ttttctaccc  | 17820 |
|    | tatgaggaca  | cagcgagaag  | acagctgtct | gtgaaccagg  | aagcaggccc  | tcactacata  | 17880 |
|    | ccgaatctac  | aagcaacttg  | atctcagact | tcccagtctc  | ctgaactgcg  | agatataaat  | 17940 |
|    | gtttgctggt  | taagtcaccc  | agtctaagg  | atttttggtta | tagcagcctg  | aatggactca  | 18000 |
|    | ggcggtaggc  | aagaggagga  | cagtgcacct | gagttataca  | ttgggcaagt  | catttacctt  | 18060 |
| 25 | cattggagcc  | tcggtttact  | tgtgttagat | atgggaataa  | tgatagttac  | actgcagggt  | 18120 |
|    | ggttggtgaag | attagagaaa  | gtgcatatac | tctgatcagc  | acagtgcagc  | gtacttcagt  | 18180 |
|    | acacagtgtt  | aactgaagac  | acagtgttaa | ctgaagacac  | agttgaaaac  | taaagatagc  | 18240 |
|    | tagtgaaaca  | catgttctct  | gcacatcata | cagtttcttg  | ggcagttttc  | aaagtgtgac  | 18300 |
|    | tctgcagttc  | ataccacccat | tatcacttag | tctctaacaa  | ataatcatat  | ttgacacatt  | 18360 |
| 30 | tggctgggac  | ttaataattt  | tatttgggca | gcagctgggt  | tctggaagtg  | ttcatgggaa  | 18420 |
|    | gaaaatgtat  | attaataaag  | ttagcaggta | atgttctttg  | ttgaaatgtt  | ggatattgtg  | 18480 |
|    | ggacacaaaa  | gagtcagggt  | aaatgtacat | ttacagaatt  | gagcgtcaga  | gtgtcatagt  | 18540 |
|    | tctctaataga | tttacaaga   | aagaattcct | ggaacaagtg  | aaataactta  | taattaattc  | 18600 |
|    | agcctgtatt  | tctgcaggta  | atcaactgca | gtgataaaaa  | aataaaaaatg | gaactgtctt  | 18660 |
| 35 | ttgctcattg  | gaaagatat   | tgtgcattc  | aaagtcacat  | aaaaggcgaa  | gcaatgaaac  | 18720 |
|    | ttaagacttt  | tgggttttaa  | taattaaaaa | tccatcttaa  | agagaacctt  | gggctctggc  | 18780 |
|    | acgggtggctc | attcttgtaa  | tcctagcact | ttcggaggcc  | cagggtggcg  | gatcacttga  | 18840 |
|    | ggtcaggagt  | ttgagaccag  | cctgggtaac | atggtgaaac  | cccatctcta  | ctaaaaatac  | 18900 |
|    | aaaaattagc  | tgggtgtggt  | ggtgtgcgcc | tgtaatccca  | gctacttggg  | aggctgaggc  | 18960 |
| 40 | acgagaatca  | cttgaacctg  | ggagatggag | gttgacagtga | gccaagattg  | tgccactgca  | 19020 |
|    | ttccagcctg  | ggtgacacag  | tgagactctg | tcttgaaaaa  | aaaaaaaaga  | gagagagacc  | 19080 |
|    | gtttgtgaag  | gtgtgttaca  | cagagaattc | ctgattccta  | atctccagaa  | tagaaaaatt  | 19140 |
|    | caaaggctca  | gaatcatccc  | aaatcaatta | tccagtggca  | tctgcatttt  | ccgatttcat  | 19200 |
|    | tctcactagc  | cgtgtgaaca  | tgggcatgac | cccaggagcc  | aagggaattct | ctaatgccta  | 19260 |
| 45 | aggacagcca  | tgagggtcaat | gaataacatg | tgtcagggtt  | ccctggcaca  | gaggagcttc  | 19320 |
|    | ccagtaaatg  | ttattttcct  | tagctatttc | ccatttaaca  | tgtcaattat  | tcttagtgag  | 19380 |
|    | tttccattca  | atatgagagt  | ttatataatt | tgtcatattg  | aataggaact  | tgctaaggaa  | 19440 |
|    | agctgtgtag  | cagaggaagc  | agccccaagt | gacaggacat  | aaactttaaa  | ttcacaagat  | 19500 |

|    |             |             |             |             |             |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | gcttgtatgt  | gaattatgat  | ggtatctgaa  | ttaacagtga  | tatttacagt  | ttagtaatac  | 19560 |
|    | atTTTTcttc  | ccttgtcttg  | ggctttataa  | aaaccctgta  | agtcagtgtat | gtcaggaatt  | 19620 |
|    | ttatcctcat  | aattgagaga  | aaaatactcc  | atatttttatt | ggaaataaga  | tcagtagatt  | 19680 |
|    | ctctgtatat  | catacaatgt  | cttgcctact  | taaattatca  | cccccttcc   | tatttcaaca  | 19740 |
| 5  | aagactttct  | ctaagtaccc  | ctggcctctt  | gccctgatcc  | atactgttct  | ccttggtaat  | 19800 |
|    | ggagtgtagt  | tcctgcctgg  | tgggtgcagc  | cattggccac  | atttctctag  | tgtatggaac  | 19860 |
|    | tcaccggata  | aaaggcctca  | gatgtaggtc  | tctttctgct  | gtcttcaccc  | aggtgttgtg  | 19920 |
|    | gagtgtgtct  | gtccttgagc  | actagctttc  | ccctgtgtgg  | gctgcctcaa  | ggcctgcatt  | 19980 |
|    | catcaggtag  | ggactgttag  | ctggtagacc  | taagccacca  | ctccagtact  | gactgtcagt  | 20040 |
| 10 | aaggaagggtg | acatgctgac  | ctccatctgc  | tacatcattg  | tgtatatgtc  | ttcattagtt  | 20100 |
|    | ctgcatattg  | gtgagaaaat  | ggatgctctg  | attcctcttg  | aacccaaga   | gaatgaaggt  | 20160 |
|    | aaaaaaattg  | aggtccta    | gcaaattttc  | ttagtacacc  | caaactcttg  | gatagagtcc  | 20220 |
|    | tgcactcttt  | gagatatata  | acacaatctg  | tctcactttc  | tttctgcata  | tgttatatat  | 20280 |
|    | tttaaaactt  | ttgttttttg  | ggccaccact  | tactggctct  | gtgatttttag | gaaagctttt  | 20340 |
| 15 | cagaccctca  | gaacccagct  | ctcttcatct  | ctaaagtaat  | aaaatatatg  | taaagaacct  | 20400 |
|    | atttcagcat  | gtgaattctg  | ttttcctttt  | tcctctagat  | gtatcataatc | cagttaaaaa  | 20460 |
|    | aaaatctact  | tgaactttgc  | aggtatcttc  | agtgtttatt  | acttctcatt  | tttaacattt  | 20520 |
|    | attggaaatt  | agcatattgt  | cagaattgat  | ataatacaat  | atgtaacctc  | tttcattaag  | 20580 |
|    | cttatcattt  | ttaaaataca  | aataactatt  | ctttacttaa  | atttttattt  | ctagacacag  | 20640 |
| 20 | ggctctgctc  | tctcgaaccc  | aggctggagt  | gcagtggcac  | aatcatagct  | cactgcagcc  | 20700 |
|    | tcaaaactctt | gggtcttaagt | gatcctcctg  | cctcacactc  | tggagttagct | gggattatag  | 20760 |
|    | acctgagcca  | tgggtgtccag | catgacttaa  | attttgaata  | agttgcactt  | actaattaca  | 20820 |
|    | cttactctgc  | tgcactctgaa | agagtaatac  | aacaatagaa  | gccttttata  | gtaattattt  | 20880 |
|    | gtggcaggta  | gactcctaaa  | atgactccca  | aatgacccac  | acccttgtac  | aatcaatacc  | 20940 |
| 25 | ctgtcccttg  | agtgcagctg  | acttgctcta  | atcagttggc  | tttcagttaa  | tcaaaagaga  | 21000 |
|    | gattatcttg  | ggctgaacta  | aactaatccc  | agcaagataa  | cagggacttc  | agtcttgcaa  | 21060 |
|    | acagatatca  | tataaaggga  | atcataatctg | cacatttgat  | tcttggaccc  | tgggtaggaa  | 21120 |
|    | tttgtttagag | agcaaggatg  | tgaataaaagg | tgggaaataa  | aggtgtatct  | ggtgtctctg  | 21180 |
|    | ctcaaaagct  | cacatgtagc  | tacaaggcag  | agatttaggg  | gagtggtagc  | cacagtcaag  | 21240 |
| 30 | aagaattaat  | acatagtgtt  | tgagtctggc  | ttcttccaat  | tagcataatg  | cttttgagggt | 21300 |
|    | tcattccatat | tgttgcatta  | ccagtgtttt  | ttatttattt  | attttatcag  | tagtttctaa  | 21360 |
|    | attgttgagt  | agtatattac  | attgtgtaga  | tatatcctgt  | gtgtttatcc  | atacacattt  | 21420 |
|    | atggatattt  | gggagttgct  | agtttttagc  | tattctatga  | gcattcacat  | acatgtcttt  | 21480 |
|    | gtgtggaaat  | aggttttcat  | atctcttggg  | taaatatacg  | ggagtggaaat | tgctagatca  | 21540 |
| 35 | tatggtaaat  | actctgtata  | cttaaaatga  | agagaaactg  | tcaaactatt  | ttccataatg  | 21600 |
|    | gctctacat   | acttgatgtt  | ttagaaaaga  | ggaaaaacac  | tagcaatttt  | gatgctgtat  | 21660 |
|    | gtctacaacc  | taagagaatc  | taataatagc  | gtcctgggtc  | gtcagtgtag  | gaattgccta  | 21720 |
|    | ggtaatacat  | ggaagggtg   | gagggagcag  | gtacacagaa  | aatgtgcgtc  | agaaagtttt  | 21780 |
|    | gcttttctta  | tcccacgtca  | tttctgagtc  | tgatcctccc  | tactcctcac  | aaataaattg  | 21840 |
| 40 | gtagattcat  | ctgttttttg  | acccttttct  | gctctagtta  | ctgaactatc  | agagacttca  | 21900 |
|    | ggaagagctt  | aagctaagct  | attccagggg  | agttttggtg  | ttactctgta  | cttacggact  | 21960 |
|    | cctgcgtgtc  | tgtctctgtc  | acccagctg   | ccaactcaac  | ttagagttaa  | ttagcctggc  | 22020 |
|    | attgaccagc  | acactgtgat  | attctctgag  | gcacactgca  | tgctgctagt  | gtgccctggt  | 22080 |
|    | tcataaagct  | gggccttcag  | cattgatccc  | actccaagtt  | ccttgctctg  | tcttcccaca  | 22140 |
| 45 | gctgtcccct  | tgggggatgt  | ggggggtctg  | acatcatttg  | cattattagt  | ctattccaag  | 22200 |
|    | aaatgcacct  | gtgcactaat  | cagttcactt  | tttctgtctt  | agtcggcaga  | tctagccata  | 22260 |
|    | gccaatccc   | tcaatttcta  | tactaagcct  | tttatattag  | taaaactgtt  | atgttatcta  | 22320 |
|    | gaaattcatc  | agtgggaaaa  | ctacttcaag  | ggaggtagtt  | agaggctgca  | aggtgctaaa  | 22380 |

|    |             |             |             |             |             |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | tattttttctt | tcttttctttt | taaatgtaac  | ttggatctaa  | agtaaggacg  | aatttcctttt | 22440 |
|    | tattattttgt | tcagaatata  | ccagctgggtc | ctgtgggcag  | aagtttggtta | agggggcctgg | 22500 |
|    | atgtgaaata  | acagtgtatc  | tcgtgtctct  | gctcaagagc  | tcacatgtag  | ctacaaggca  | 22560 |
|    | gagatttagg  | ggagtggcat  | atacggccaa  | ctgagaaaata | acaatattgt  | cagggactcc  | 22620 |
| 5  | aaggcacttt  | ggaagatata  | aagaattttct | taaatttttct | tgtagaattg  | ttgcaaaagg  | 22680 |
|    | cagacatgct  | taaatgttta  | aataagcttc  | ttgaaaactc  | atggaacatt  | caatcacaaac | 22740 |
|    | tccaacagtt  | ctccaaaatt  | tgattttattc | tggccatatt  | atgcagcaaa  | gaaacacttg  | 22800 |
|    | gctattttatc | taaatctctt  | ctgtcttgta  | aatgatccta  | gaaaataatc  | tagaaataca  | 22860 |
|    | ttttattaaa  | gtaatgcatg  | aggtacatat  | cgattaccag  | ccaatagttg  | aacttaaaca  | 22920 |
| 10 | taatgcatgg  | gtgtgagggc  | tggcattgat  | gattcacaaat | gaacacagtt  | gaatatcact  | 22980 |
|    | tccctgctga  | gactcgggta  | tcatcgcaaa  | accacagtga  | gcatcagtgg  | ggatctgcat  | 23040 |
|    | gctctgggtca | agacagatct  | ccatgctgag  | tgtctgtttg  | ccatgatgaa  | gagaacagtc  | 23100 |
|    | aacaggagtg  | tttgccatga  | tgtagagaac  | agtccgggag  | gagtgaatgg  | aggatggggg  | 23160 |
|    | catgaggaaa  | gatgaggctt  | tctctagtta  | tgaccctttg  | tgtagaagtt  | aggagtaggg  | 23220 |
| 15 | gataaatggt  | tctgcctaata | atttaacttg  | gaagagaaga  | tgtccatgtg  | aaaaactgct  | 23280 |
|    | aaatactgaa  | acaagagagc  | atgtgactaa  | gcaataccat  | gtgtggcaca  | gaaaacaagt  | 23340 |
|    | gcaatagcag  | tttagcaaaag | tgagttcagt  | gtaggctgaa  | ctgggttagag | caggtttccg  | 23400 |
|    | ggtgaagggtg | aggattgggtg | agggttttga  | ttggtagaaa  | gagacgggga  | ggacatctca  | 23460 |
|    | catcaagaag  | ttatgccagt  | ggatttcagg  | agaattgagt  | gtttgtgtct  | gaaaagcctg  | 23520 |
| 20 | taagaatagg  | gcatgacagt  | gtggagaaaat | gcatgaaaagt | atgaaggatc  | gtgatatcca  | 23580 |
|    | gtttgaggag  | tgctaactag  | aggctctgaa  | gattttgagaa | gaaacataat  | gaaagggtgtt | 23640 |
|    | ctcagcctga  | tcttggtatg  | caggactgggt | aaaccccaaa  | caccttacca  | ttctattacc  | 23700 |
|    | tctccctcaa  | ggaatgggtc  | ccttgataag  | aatttagtgt  | aaaaaagatt  | gtcaattcag  | 23760 |
|    | tgctgctgct  | gagtgtctagt | ttcttttaaac | acacacagtt  | ttcttttgag  | aattttttttt | 23820 |
| 25 | ctattagata  | gacgaactgt  | tattttaaatg | aaaaaggcac  | atagtcccat  | aaaacaatta  | 23880 |
|    | cacattcggg  | tgataacttc  | aaaaggagaa  | attaaaaatgt | tcttatgttt  | tgagcaagca  | 23940 |
|    | tttccacttc  | cagactttgc  | tgcataaaca  | tctgtggtca  | tctagggaaat | gcctgacctg  | 24000 |
|    | gttcagagggt | gtcagagcaa  | tgtaaaagtca | cggaaagtgt  | gcagttctat  | tctgggctct  | 24060 |
|    | catctttttg  | cagcgggtcca | ttctctaatt  | ttcaaccaca  | tattaccaga  | caatctctta  | 24120 |
| 30 | agtcatacac  | aacaaactga  | ttctgtttca  | atgcttagaa  | ttagaataaa  | aaagcctaag  | 24180 |
|    | caaaaatagc  | acaaacattt  | gaaaaacact  | ccttttttct  | accactccct  | tcttagaaca  | 24240 |
|    | gaaataaaaag | ccctgtactt  | taagaaaaatg | gatggaagaa  | ttttctttgt  | acttcttatt  | 24300 |
|    | ctccaagtta  | cattttactac | ctgatagtgt  | taataccttt  | ttgtagtacc  | tttctttaaa  | 24360 |
|    | atatacaggg  | aatgatctg   | ttccaagaaa  | ctgtgttttt  | aaatttaatt  | atagtgtgct  | 24420 |
| 35 | atgatgattt  | aaaaaatggc  | cttttgagta  | aaggacacga  | acaagttatt  | taaaaagtga  | 24480 |
|    | gcagtaagtg  | tggtcagtaa  | acacatcaaa  | aagttccctt  | cactaatatt  | caaagaaatg  | 24540 |
|    | caaattagaa  | taataataacc | cttggttgctt | gtcaaaattaa | tactttaaca  | attattatgt  | 24600 |
|    | aaattttatg  | gataggattg  | caaatacaaca | caccttttct  | ggccactgggt | gtacataata  | 24660 |
|    | gaaattctaa  | aatgtttctt  | aggcttgacc  | aagcattttcc | acttctagac  | tttgctgcac  | 24720 |
| 40 | aaagatctgt  | ggatcatctag | gagaaggctt  | gacctgggtc  | agaggtatca  | gagcaatgca  | 24780 |
|    | aagtcatgaa  | aatgctgcaa  | ttctatcctg  | gactgtcatc  | ttttttgtag  | tgggtccattc | 24840 |
|    | tctaattttt  | caatgacgta  | gtaccagaca  | gtctcttaag  | tcaaagtgtat | ttgtagggct  | 24900 |
|    | ctggatttga  | aattcaatct  | ggcttttcagc | cttgatgtgg  | ccactcccaa  | cttgtaaagg  | 24960 |
|    | acctgtgaag  | acttagacac  | agaataaaac  | acagaagata  | agaaaaccaa  | ctttgaaaga  | 25020 |
| 45 | aaattttattg | tcaaaattgt  | actgggtcaa  | ttgagcaaaa  | acttcaaaga  | gcgttttcat  | 25080 |
|    | attaaccaaa  | gcatccctcc  | tcaattgaaa  | catataaaga  | tattgttcac  | ccctatcctg  | 25140 |
|    | actcagagat  | ccacaaatct  | gggcattcat  | catcaccata  | ttctgctggc  | aatagtttta  | 25200 |
|    | agcagctaaa  | ttactgttct  | ctactcttga  | gtttcctcca  | tctcttcaga  | tacagaaagt  | 25260 |

|    |             |              |             |             |             |             |       |
|----|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | tctagaatat  | attcaaataa   | tcaaattcttt | aatttcattcc | atataatctgg | ctcaagacag  | 25320 |
|    | tgtcccaata  | accttattct   | agagaaagtc  | agatttagac  | ttgtgctcat  | catcatactc  | 25380 |
|    | atgttcttga  | catcatttta   | agctctgagg  | agacatctca  | cataactctc  | attgatacgt  | 25440 |
|    | gtatacatct  | gtcactctgt   | gtttgtgctg  | tgatggatgg  | acttgatgt   | agatatgcat  | 25500 |
| 5  | agatgatgaa  | gcagatagct   | atataatagg  | tattgatgta  | gattcagtac  | agctgtataa  | 25560 |
|    | ttgcatctgt  | gtttcacata   | tcttgtgtac  | tgtatcttga  | ctgtatctgt  | gtcaataacct | 25620 |
|    | aattgagtta  | taaggcataa   | atatgtggag  | ctcttagcac  | aatacctggc  | acactgcaat  | 25680 |
|    | cagtcgatgt  | atgtgtttgt   | gtgtgtgctg  | gtgtgtgtgt  | gtgatacaga  | cagaacctgc  | 25740 |
|    | taatatgcat  | aatagtcagg   | ttgggttggt  | ataacaaaat  | actatagact  | gtgtggctta  | 25800 |
| 10 | aacggcgagc  | atttgtttct   | cacagttctg  | gagtctggga  | aatccaaggt  | caagattagt  | 25860 |
|    | ttctgggtgag | agcagtcttc   | ctcttttgca  | gctcccatg   | gtttgcaaat  | cacagatttc  | 25920 |
|    | tcgctgtatt  | ctcacatagt   | gtaggaggaa  | cagagggagg  | gaagggagga  | agtgccctaa  | 25980 |
|    | gacactaatc  | ccatgatgag   | agttctatcc  | accatgacct  | aattacctcc  | taatgccacc  | 26040 |
|    | atctccaaat  | actatcacac   | tgggaattag  | gtctttaaca  | tgtgaatcat  | ttgggggtgga | 26100 |
| 15 | gaagacaaac  | attcagctca   | taacaggtaa  | ggtagaaaat  | ctcaagaatt  | tatatattgt  | 26160 |
|    | atatgaaaga  | tcattaatga   | gcagaatttt  | aagtttaatg  | ccaattttta  | tctattttta  | 26220 |
|    | tcttttctac  | gattcttttt   | tactttttta  | tttttaaaact | ttcatataca  | aagggataat  | 26280 |
|    | atgttgctaa  | atgttctctt   | ctttttgagc  | tctggatcat  | tgttacgatc  | accccataat  | 26340 |
|    | tgtatgtgtg  | cagagatagt   | gctttataca  | tttttaaaaac | aattttatat  | acagtattaa  | 26400 |
| 20 | attttatttt  | tcaataaaca   | atccatgaga  | tagaaagaac  | atataatttg  | ttttacagat  | 26460 |
|    | aagctccagg  | gagagtctag   | ggtaccttag  | attgtatggg  | taaaacatgg  | tttattttaa  | 26520 |
|    | tcataaataa  | acagtcttat   | ttccctaaat  | gcacatacag  | gcatccacat  | caaatgaaat  | 26580 |
|    | cacatcacat  | gaattgaaca   | ggcagttact  | gacttagaac  | tttgactca   | caaaagacac  | 26640 |
|    | actctcctaa  | atgtctccat   | catactatac  | tttttgtccc  | caaatgccta  | atcactgaag  | 26700 |
| 25 | cttcagactt  | tggtgctttg   | attcccttag  | gaaaaattcc  | tggtgtttca  | gaaaaaaaga  | 26760 |
|    | gccatttaac  | tacattagaa   | gttaaccctc  | ctttaaaaaat | gtg         |             | 26803 |
|    | <210>       | 20           |             |             |             |             |       |
|    | <211>       | 26803        |             |             |             |             |       |
|    | <212>       | DNA          |             |             |             |             |       |
| 30 | <213>       | Homo sapiens |             |             |             |             |       |
|    | <400>       | 20           |             |             |             |             |       |
|    | cagttaagggt | ggggcaggaa   | taaatcacaa  | tggtggaatg  | tcatcagtta  | aggcaggaaac | 60    |
|    | tggccattttt | cacttctttt   | gtgattcttc  | acttgcttca  | ggccatctgg  | atgtatatgt  | 120   |
|    | gcaggtcaca  | gggcatacat   | tggcttagct  | tgggctcaga  | ggcctgacaa  | ggcacagaag  | 180   |
| 35 | gagctgggat  | agagggtgcaa  | agtactcatg  | ctgacctgac  | atcccatgcc  | cacggcgagc  | 240   |
|    | atgactactt  | gatcggacaa   | tactttcttg  | gaatcaaaga  | cacaacttca  | cagtcctcag  | 300   |
|    | catcatagtt  | caggcagcct   | gtatcagtag  | atcagagtgg  | gcacatggcc  | tggtgctatc  | 360   |
|    | actccatcct  | gtgaggggag   | atgggattgg  | aatggagggt  | gaggagtcac  | aggtggctct  | 420   |
|    | gatatcacag  | gcctgggagt   | ctgaaagaag  | tgtagtaggt  | agtattatgg  | ccctcaaaga  | 480   |
| 40 | catctgtgtc  | ctactgtcta   | gagtcaatta  | aagtgttacc  | taacatagaa  | aaaaggattt  | 540   |
|    | tgcagggtggg | attaaactaa   | ggatctcaag  | atagaaagac  | tctcctggag  | tatccagttg  | 600   |
|    | tgtccaatgt  | aagaacaagc   | gttctcaaaa  | tagggacaca  | ggagattgaa  | ttgcaaagga  | 660   |
|    | gatgtgctga  | taaacggaga   | ggttggagtg  | atgccgccat  | gaggcaagga  | atgtgggtgg  | 720   |
|    | cctctagcag  | ctagcaatga   | ttcggaaatg  | gattctcccc  | cagagtccag  | aaagatcaca  | 780   |
| 45 | gcagtgtctga | caccttgatt   | tgagcccagt  | gtcacctctg  | tcagacttct  | gccctataga  | 840   |
|    | actgtaagag  | gataaatttg   | tgtttttaagg | cacaaaagttt | atggtaattt  | gttatagcag  | 900   |
|    | caatgggaaa  | ctaatacaag   | aagggttggtg | ttatcaacag  | aaatacagca  | atcagaagaa  | 960   |
|    | agatgggttg  | ggagagcaga   | gggtgggggtg | ggaagggtgat | ggattctgtt  | tgggacattc  | 1020  |



|    |             |             |             |            |             |            |      |
|----|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|------|
|    | tgggtgtcat  | atgaatatta  | ttgggggaact | gtccatcaaa | agctcagact  | tcaaagaaag | 1080 |
|    | aaaggaagga  | gcaacaatat  | tttgaaagg   | agaaagtagg | taatattcaa  | tatgtgttga | 1140 |
|    | gtacctacaa  | ggtttttagt  | tctttcacca  | agttatttta | tttaattttt  | atggcatcaa | 1200 |
|    | ggggtgtttt  | ttttttttct  | taaaccaa    | tttctcagtt | aagcatccca  | tgtaagtggc | 1260 |
| 5  | caggggttaa  | gagatgtgac  | taagactaga  | cagagtgatt | ttcatcatta  | catggacta  | 1320 |
|    | tggttctact  | gaagcactga  | ggaagggaag  | caagagagtt | cctgagaaat  | gtctggagtc | 1380 |
|    | ttagtaacat  | gcaaagtga   | gcagaggat   | tgtagtggt  | agctgggtcac | tttgaaagg  | 1440 |
|    | tagaggtaaa  | taaagttcag  | ggcaatggta  | cttgagagag | agtgaatctt  | tggtaacctg | 1500 |
|    | gaggagatgc  | ttctcagagg  | aaaatttctt  | cacagcatga | agtcaccagc  | tctaagacta | 1560 |
| 10 | gtgggtgttc  | tgggggatgt  | tagcagtgac  | tactgactg  | ttggcccagt  | gaggggaggg | 1620 |
|    | atgaaaggct  | gggtagtggg  | tagagaatct  | gactcctcct | gccccacat   | gtctattcct | 1680 |
|    | gggccttctc  | ttggtggggg  | caaaaggat   | gcaaagggt  | ttccgcagt   | tctgagtgt  | 1740 |
|    | cccaggagac  | ggaaaagtaa  | ctgatgactt  | ggagtgtggg | tctgtgtggc  | tcaggcagct | 1800 |
|    | ggggcgtttt  | gggatttcaa  | cacctccctt  | tagtttctat | gtatgggtgt  | gagcaagtag | 1860 |
| 15 | tcaaagactt  | tgggtcttgct | ttaccccagt  | agcccacaag | cctgagtaca  | tggttaacat | 1920 |
|    | ttattgggca  | cttagtgtgt  | gccaaagagc  | tttatgagac | aggttctttt  | tgagtcccat | 1980 |
|    | tatactgata  | atgggactga  | taagaaacag  | aaggtcagaa | aggcccagta  | acttgggcaa | 2040 |
|    | ggtcatgtag  | ctagtaagt   | gtccagctga  | aatttaaaac | caggtttatc  | caactccaaa | 2100 |
|    | ttccacatct  | gatttatatt  | gccatgaatt  | aaaacatagt | tctgattttg  | agaaactccc | 2160 |
| 20 | agtcccagt   | ggaaaacaga  | tggaatcaca  | aattaccata | acacagtgt   | gtgatgtaga | 2220 |
|    | tataaaaaca  | aagacatggg  | aaccctgaaa  | ggaagttgta | acaccaatag  | aggaatgcat | 2280 |
|    | ggaggagatc  | tttcagagga  | ggtagcctcg  | tagctgggct | caggggtgga  | tgagtctctg | 2340 |
|    | gctagaagcg  | cattgtgggt  | agagggagaa  | catatataga | aaggcatgaa  | gatgggtggc | 2400 |
|    | atgtttggaa  | agagtgaag   | ctagactgat  | gaacacgat  | agtcaggagc  | ttatgacgtc | 2460 |
| 25 | aggggctact  | gctagcctag  | ctaagtactg  | aagattctgt | gaaaagaaaa  | ccctaacatt | 2520 |
|    | tccagctgag  | tactagggcc  | atggtgatta  | tatatcatct | ctcatgacaa  | cacaaatgtt | 2580 |
|    | tgggcttact  | tatcatcctg  | ctcagtaatc  | attatgtcac | tcattaaaga  | tgtatcaggg | 2640 |
|    | taaatttttag | gtgagaattg  | attagaaatg  | taaactctat | atatgtagtt  | acaggcttca | 2700 |
|    | cagtttgcca  | ctcaaacaat  | atggtcatcc  | aatcatgagg | cacaaccttc  | tgctcagaac | 2760 |
| 30 | ttttttataa  | ttgggagaaa  | gtgacatccg  | agttccatct | cttctgagaa  | ctgtgcagct | 2820 |
|    | cagaaatctt  | cttccctttt  | ttgatcccc   | agttgggtga | gatgacatta  | acagtgtgtt | 2880 |
|    | ataagcactt  | ttcatgttta  | ctaccccata  | ttcaaaatta | agcatttcaa  | acaactgtat | 2940 |
|    | aattgtctat  | aaatgtagca  | ttattagtta  | attttccttt | taacacattg  | aggttacctc | 3000 |
|    | taatgttttg  | ctatttttta  | ctatgttgaa  | ataatcatgt | ggttttttatt | ctttgaatta | 3060 |
| 35 | ttttatattg  | taatgttccc  | tgaaatgaaa  | ttagttgatc | aaaagatgag  | taatcttttc | 3120 |
|    | atgacttttg  | atacatgtca  | ctcaatcacc  | ttctggaaga | ggtggaacaa  | gagcctattg | 3180 |
|    | ctggcatccc  | atttcatagc  | catctcacca  | atgttggaag | atgggctttt  | cctattttct | 3240 |
|    | gctaattcat  | tagttgttaa  | tggtttattt  | taactattaa | tcccttggtt  | ttgatgaaag | 3300 |
|    | ttaagcattt  | tctgtatttt  | tattttctgt  | ctaaattcta | ctttttgcac  | aatttccttt | 3360 |
| 40 | gctcacttct  | tactggaat   | ttagtatttt  | tctttccaat | ttgtatgact  | ccaaaatcag | 3420 |
|    | tgataaaaata | agcaaagggt  | ctttcttaga  | ggctaaacaa | gggaatgaat  | aaggaacaag | 3480 |
|    | aacagcaaag  | ggatagtga   | taaagataca  | aaataataac | ttatttttat  | ttttgaagct | 3540 |
|    | ttccccaggc  | agtaattctt  | gaccttttta  | agattataaa | ttattttgag  | atatgcattc | 3600 |
|    | ttatcctcaa  | aatgaattag  | tacataaaat  | ttaaatgggt | tgatagatcc  | cctgaagtgt | 3660 |
| 45 | atccacaaaa  | tgctctcagg  | ttaagcaaca  | ttgttctata | ataactgctt  | taacccaaat | 3720 |
|    | gtttaattat  | tgcttgtgtt  | tacctgtcct  | agcaaagagc | taattgttaa  | attttgtgtt | 3780 |
|    | agaggggtcaa | tattataaat  | aacttaaatgt | ggcctctctt | tcctttcctt  | tttttgagag | 3840 |
|    | ttttgagggt  | atcactaagt  | gggcttttaga | gtaccagggt | ggaatctgac  | ctcactgctc | 3900 |

|    |             |             |             |             |             |             |      |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
|    | aaactttcaa  | cttcaggcat  | gaagtgggtcc | cagtgatgtg  | ggaacctcag  | agtctaaaac  | 3960 |
|    | aaaaatagta  | gactgaggcc  | ctcagaaacc  | agacttatca  | gattcagaat  | ttaatataac  | 4020 |
|    | tatgtttgaa  | agattttaaag | aaaataaatc  | aaattaaaaa  | gtgagcaaga  | agcaagaata  | 4080 |
|    | acaaatgaac  | tggcatat    | gagaaagaat  | tttgagcttt  | tagaaataat  | acatacactt  | 4140 |
| 5  | attgaaataa  | aaactcaagt  | caataggttt  | aaacagcaaa  | atgaatatag  | ttaaagaaaa  | 4200 |
|    | ctattgtgct  | gaaagattta  | aaaaactatt  | acacagaatg  | caaatgatg   | aaatagggtta | 4260 |
|    | atttaataata | tggcagatat  | gttaagacac  | tatgaggata  | gtatgagaag  | acctgataga  | 4320 |
|    | catctaataca | cagcacctta  | aggtgaaaat  | agagagagtg  | caccaatatt  | gaggagttaa  | 4380 |
|    | tgtctgagac  | tattccagaa  | ctgataaata  | gatgaatcta  | cagatctcag  | aaacacagct  | 4440 |
| 10 | tttaciaaagg | ataaatgaag  | agaaattcac  | cagagataca  | ttgtaatgaa  | tctgtaaatc  | 4500 |
|    | accaaagcta  | aagatattat  | ttcacaagt   | gaatgacagc  | tgacttctca  | acaacaacga  | 4560 |
|    | aagcaaggag  | acagttgaaa  | gacatcttga  | aaatgggtgag | agaaaaacta  | actgttaata  | 4620 |
|    | taaaattgtg  | tacctatcaa  | aaatatcttt  | tggccaggcg  | tgggtggctca | cgcctataat  | 4680 |
|    | cctagcactt  | tgggaagcca  | aggaacgtgg  | atcacttgag  | gtcaggagtt  | tgagaccgag  | 4740 |
| 15 | accgtcctgg  | ccaacatggt  | gaaaccccat  | ctctactaaa  | aatacaaaaa  | aaaaaaaaaa  | 4800 |
|    | atagccatgt  | gtggtggtgt  | gcacctgtaa  | tcccagctac  | ttgggagggt  | gaggcaggag  | 4860 |
|    | aatcgcttga  | acccaggagg  | tagaggttgc  | agtgagctga  | gatcatgctg  | ctgcactcca  | 4920 |
|    | gtctgggtga  | cagagtga    | ctgcctcaaa  | accaaacc    | accaaacc    | accaatcttt  | 4980 |
|    | caagaagtac  | accataaaga  | catttccgga  | taaacagtga  | atgagattac  | ttcctaaacg  | 5040 |
| 20 | aatatgtaag  | gatgtttctt  | tttaaaattt  | tttttgggtg  | tattcatcac  | ctcaagcatt  | 5100 |
|    | tattcttttg  | tgttggtaca  | actgataaga  | atatctaagg  | atgtttcaaa  | aggaagaaaa  | 5160 |
|    | atgatcccta  | aagtctggta  | tattagtttc  | ttattagtgt  | ctctaagaaa  | ttactgcaaa  | 5220 |
|    | cttagtggt   | ttaaaaaaca  | cgaaattatc  | tttcagttct  | gtaggtcaga  | aatttaacct  | 5280 |
|    | cctgatttct  | ggtcagaagt  | cttactgggc  | taaaatcagg  | gtatcagcag  | ggctgctgga  | 5340 |
| 25 | ggctctggag  | atgatgtttc  | tctaatttct  | agaggcattt  | gcattcctta  | gctagtggct  | 5400 |
|    | tcttcccaca  | tcttcaaagc  | taacagtggc  | agtcgagtcc  | ttctcttatc  | tttttttttt  | 5460 |
|    | gggggggggt  | ataaattttt  | tttattatta  | ttatacttta  | agttttagg   | tacatgtgca  | 5520 |
|    | caacgtgcag  | gtttgttaca  | tatgtatata  | tgtgccacat  | tgggtgtgctg | caccatttaa  | 5580 |
|    | ctcatcattt  | agcattaggt  | atatctccta  | atgctatccg  | tccccctcc   | cccacccac   | 5640 |
| 30 | aacagtcccc  | agtgtgtgat  | gttccccctt  | ccttctctta  | tcttatcact  | ctgacctctt  | 5700 |
|    | ctgcctcctt  | tctctacttt  | taaggaccct  | tgtgattaga  | ttgggtccac  | ctaaataatc  | 5760 |
|    | caggataatc  | tctttatttt  | aaggtttagct | gattagcaac  | ctcaattcca  | tctgtaacct  | 5820 |
|    | taatttcttt  | tttgccatgt  | aacctaacat  | agtcacaggc  | ccaagggaat  | aataggatgt  | 5880 |
|    | gggaattg    | gggtggtggag | taggggcatt  | attctgctta  | ccacagggga  | ccttggtatgt | 5940 |
| 35 | cagtaaaaaa  | tgggtgaggaa | gaaaacagga  | aacgtagaat  | aatctaaaca  | aatctttgaa  | 6000 |
|    | aaataagttg  | aaatgtgggg  | ttagaaaaag  | ggcagaacta  | aaatgttaag  | acaaattaaa  | 6060 |
|    | atgttaagcc  | tataagttga  | gagggagatg  | atcaagggtta | aaaataacta  | taaatcatat  | 6120 |
|    | ttttttgggt  | aggggggttag | atatttatta  | atttttagacc | ctgagaagta  | aaatagtcac  | 6180 |
|    | gacaaaaatt  | taatagtaac  | cactaaaaaca | agagaaaacag | agtatataac  | ttctaaatca  | 6240 |
| 40 | atatgggaag  | gggaatggaa  | taagaaaaca  | atagcaacca  | ccaacacccc  | acccaaaata  | 6300 |
|    | aataataagg  | tgagagagaa  | aaagaagcat  | tgaaaagggtg | ctaaaataaa  | ataaaaaatt  | 6360 |
|    | aagtcatgcc  | cgtaatccca  | gcactttgag  | aggccaagat  | gggtggatca  | cctgagggtca | 6420 |
|    | ggagttcgag  | accagcctga  | ccaacatggg  | gaaaccccat  | ctctactaaa  | aattcaaaat  | 6480 |
|    | tagctgggtg  | tgggggtgca  | tgccctgtaat | cccagctact  | ctggagggtg  | aggcaggaga  | 6540 |
| 45 | atcgcttgaa  | cccaggaggc  | agaggttggtg | gtgagcagag  | attgtgccat  | tgcatccag   | 6600 |
|    | cctgggcagc  | aagagcgaaa  | cgccatctaa  | aaaaaaaaaa  | aaaaaaatta  | agatagtaaa  | 6660 |
|    | acaaatccaa  | atacatataa  | gattacaaaa  | aatgaaaatg  | aactaaactt  | cctagttgaa  | 6720 |
|    | agacatatgt  | tcagattgga  | ttttaaaatc  | tggcaatgat  | atttccagga  | cacagtccta  | 6780 |

|    |            |             |             |             |            |             |      |
|----|------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|------|
|    | aaatattaaa | cacagaaaag  | ttgaaagtaa  | agggatggaa  | gaacacagtc | aaactaacta  | 6840 |
|    | gaagagagct | gggttcaccc  | ttttatatca  | gagcagaatt  | tcactgagaa | aacactaaca  | 6900 |
|    | ggaaggggga | aaggcacaac  | atagtgatga  | agcacttaat  | tctcaacaaa | tgtatgacac  | 6960 |
|    | ttctaaacta | ttatgactgc  | aaaaaaaaaa  | aaaacctcag  | catatataaa | atthttggaag | 7020 |
| 5  | agccatggct | atcagctgac  | atgcacttac  | catatthtgca | ttgtcctact | acaaacttta  | 7080 |
|    | cccatatgac | caaggtgctg  | tcttcatccc  | cattthtacag | atggggaaat | ttccccatag  | 7140 |
|    | agaaaaagat | ttgggccatg  | ccttggtttc  | ttcttgactc  | tgcttcctgc | tgattgatcc  | 7200 |
|    | tcacacctca | cctggagacc  | tacttcacat  | tatccatcag  | gatgagaact | ggtgtgcctt  | 7260 |
|    | taccaaagga | ccacagtcac  | cttcaaaacg  | tgtttagata  | gatctggatg | gagacttatg  | 7320 |
| 10 | tggttgcaga | tgaaaaaaaa  | gtccccatgg  | tatatctgac  | tccatgtcat | tcactgcatg  | 7380 |
|    | aacactcaca | cacatgcaca  | cgtacacagg  | caaacacaat  | cctgttctgg | tccggcagta  | 7440 |
|    | gtgccaacac | tcaaattccca | ggtcctactc  | tgaagccttt  | gaggaaacca | ttgtcattct  | 7500 |
|    | ggggtttatg | ggaatattht  | ttcttggtgc  | cccttggttc  | tcacagaagc | ttttttctg   | 7560 |
|    | tgctgtgggc | ttgctatcct  | agctthccaa  | gctatcctag  | ttthgcaa   | ttctctgatc  | 7620 |
| 15 | aatcacatca | ggttcttgga  | tcatcccaaa  | attaaagagg  | tacgtthtg  | tgcaagagac  | 7680 |
|    | aaagacattc | acctctcaca  | cagthtgaat  | tcctgggtag  | aaacagattt | caatgctggc  | 7740 |
|    | cagcctctgt | agctcccagt  | gccccctcaa  | ttatgactcc  | cgaggcattg | gagcaggatc  | 7800 |
|    | ctcaccttgc | gcaaagataa  | ttaggtgtgc  | tgaagaaagc  | cagacactgc | tctthcttag  | 7860 |
|    | ctctgcatcc | ttaaaaagtt  | accactactc  | cttctctthg  | aatctthgac | ttgtcaatgg  | 7920 |
| 20 | taaagtgcct | atgattctta  | aagggataaa  | aacgcaacct  | atataaagca | cctggcatag  | 7980 |
|    | tgcttgccac | aggtgggtgt  | ttaacaaatg  | ttactcctt   | tctatcccac | tgtgggtgtc  | 8040 |
|    | catatcctct | tgggtaggct  | gcctctggtt  | tccattgtgt  | catcagagcc | atactaaatc  | 8100 |
|    | gatgtgttgg | acatggatcc  | caagaactaa  | thtctggaat  | gagttatgcc | taccaacttc  | 8160 |
|    | cctgatactt | acttctgtct  | ctccatttat  | caaattggaa  | tgthtgcat  | tggcctctgc  | 8220 |
| 25 | cagttggagt | aaccaaagg   | cttagaggth  | ttggagaggt  | cctacactgc | catctgtthg  | 8280 |
|    | accacatact | gcctthtcag  | tgtataaagc  | attgtthctt  | acatttgtct | aggaattagc  | 8340 |
|    | agttcacaaa | gcacattcgc  | atataagggc  | ttgtthtgaa  | ttgatcttgg | cagcaattct  | 8400 |
|    | atgagacaag | taaaaggtag  | gtcaagcatt  | ataatcctca  | thttaaattc | gggaaactg   | 8460 |
|    | aatctcaaaa | aggttgaaag  | acttgtctag  | gggacagtgt  | gtgggtaaat | gagaagthaa  | 8520 |
| 30 | gatttgctga | actggcattt  | cctgactaca  | tatctagtgt  | ttatttatgg | agaaggcact  | 8580 |
|    | acggtggcca | agtggctcag  | agtcacacag  | ctctgtgcct  | cagthtattt | gtctgtaaaa  | 8640 |
|    | tgaagataat | aatatattct  | gaatactgtt  | gtggaatttc  | attgagatag | ttcacataat  | 8700 |
|    | ggcatggata | ctgtagtaca  | ccgcctagat  | tcacaacccc  | acgactatcc | atgagaatgg  | 8760 |
|    | cccatagctc | aagaggtcac  | attctthtcc  | caggtgaagc  | ccgcatccaa | tgactgtcca  | 8820 |
| 35 | gtgtgggtat | ataaaggcct  | ggctcccttg  | ccagtgccac  | cctacctcct | ggcgaatgga  | 8880 |
|    | ctgaggcttg | cattatgact  | gcattgcagc  | tcaactgttc  | thtccattca | gtctthcctt  | 8940 |
|    | tacactcaca | caggtgagga  | cccagccatt  | aatgcctca   | catgatgacc | tctattgcat  | 9000 |
|    | gctaggcttc | gtgtgcacac  | acaaaaacca  | tcctctatca  | gtcaggcccc | ttacttgcat  | 9060 |
|    | aggcaaagag | gccagtctgg  | gttagatgtg  | caccctgtth  | ttacaacaga | acgagacaaa  | 9120 |
| 40 | caggtcctcc | ttaggtgtaa  | gttcatggcc  | ttggccccac  | ccctgaaact | cagccatctg  | 9180 |
|    | agacagthtt | aggactgagg  | caaccccaga  | ctthgggttg  | ttgtthgctg | ggcacagcct  | 9240 |
|    | cctthtgcca | atgthtgcaat | cctthtgtaag | agaccacagg  | ttgatcacc  | gttctgttta  | 9300 |
|    | ctgagcacag | agaggtthgt  | aggccagtct  | ctccaggaat  | tctgacgcac | tgcaaaatcc  | 9360 |
|    | catggtctga | atgcttctac  | cttccctgtg  | aaagcccctg  | gcctcagaaa | aggaagctgg  | 9420 |
| 45 | thtaagtga  | caacattthg  | ggtggagctt  | ccgaggcccc  | agccaccgtg | ttacatgcaa  | 9480 |
|    | caatcaacag | agatattctt  | tggctagagt  | tgtthtctg   | ggtataggac | cctataatta  | 9540 |
|    | aatcagctc  | tccaacttcc  | cttctctcaa  | aaagtataca  | atgtaaggag | gaaaatgcaa  | 9600 |
|    | attgaaaagt | tgctagccct  | tcccgccaga  | atgccacccc  | aagcctcccc | tgcaggaagt  | 9660 |

|    |             |             |             |             |             |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | tctggagtgcc | ccaactctgc  | cccaagcctg  | aggcccttga  | taaggtaaag  | ggatgtgagt  | 9720  |
|    | gtggaggccg  | gagccccct   | cgccctgtag  | gctgctcccc  | ttgcttttcc  | ctttgaatgt  | 9780  |
|    | tacagtttag  | ttctgtgact  | tacttataat  | tgccctgaatt | ccccgcccac  | gctttctctt  | 9840  |
|    | actttggggc  | ttctcaccgt  | tctcttctct  | ccatcttctc  | cctctgaccc  | cactcccaag  | 9900  |
| 5  | cctgaatggg  | gtgttctct   | tccgtgctcc  | cacaaaaccc  | tgtgcctctt  | tcacgttgct  | 9960  |
|    | atatattatg  | ctgtaatgta  | gttttctgga  | ggtgtgaaga  | ctatgaatcc  | tatgaagaca  | 10020 |
|    | aatacacacc  | taccttgctg  | accgttgat   | cctcagaatc  | taatactgca  | cttggcacac  | 10080 |
|    | agtggttggg  | agtaaatatt  | catgaggcaa  | acacacagga  | aggactcttt  | tgttatggtt  | 10140 |
|    | gtttgttggt  | gttgcaagta  | acataacccc  | accttgatct  | agctgactga  | cggctctacc  | 10200 |
| 10 | accttgtctt  | ttgcagcaca  | agaggaatat  | gaactgcacc  | tcttccttca  | gtttcagctt  | 10260 |
|    | gaataatatc  | aggaagattc  | gtatcggctc  | gagttgggtc  | acgtacccga  | cgtgctatag  | 10320 |
|    | ctgaggatgg  | ggtaagctga  | ttggagtttg  | caacactggt  | cacatagcca  | agatatggaa  | 10380 |
|    | agaacctaaa  | tgtcaactgg  | tggatgaatg  | gataaagaaa  | ttgtggtata  | tacatacact  | 10440 |
|    | ggaatattat  | tcaaccttaa  | aaagaaggaa  | atcctaacat  | ttgtgacaac  | atggatggac  | 10500 |
| 15 | ctggaggggaa | ttatgctgag  | tgaataaaga  | cagacacaaa  | aagacatttc  | ttgcaggagc  | 10560 |
|    | tcacttatat  | gtggaatcta  | aaatagtcaa  | gcttaaagaa  | gagagtagac  | tactggttgt  | 10620 |
|    | caggagcagg  | agaaaagtgg  | aaatgaagag  | gtgatagtta  | aagggtagaa  | agtttcagtt  | 10680 |
|    | atacaagata  | aataagttct  | ggaggtttac  | tattaatata  | tcacatagta  | cctataagta  | 10740 |
|    | acaatactgt  | attgtatact  | taaaattgct  | aagaggggtat | atcttatatg  | ttcttaccaa  | 10800 |
| 20 | taataataat  | aatggtaata  | attaaggggc  | aggaggacac  | ttcaaaagg   | gatggatatg  | 10860 |
|    | tttatggcct  | tgatggtggt  | gatggtttca  | tgagagtata  | cttatcccca  | aactaattga  | 10920 |
|    | gatgtaaata  | ttaaatatgt  | acagcttttt  | gtatgtcaat  | cgtacctcag  | taaagtagtt  | 10980 |
|    | taaaaatggt  | tggactgaga  | aaaggaggag  | ctgctcagca  | acatgaggct  | gggtgctggg  | 11040 |
|    | cagacaaaac  | ctcacacatg  | cattactgaa  | cccacggact  | catgtctgtg  | agctttgtgg  | 11100 |
| 25 | ctgtggatgc  | accatgccaa  | tgtagtcaag  | gattcttcaa  | tgtgtacctt  | actggattag  | 11160 |
|    | ttccctctgt  | ttatttgtat  | tgactcctca  | gttcccttat  | gggttgcttg  | ttggctcttg  | 11220 |
|    | tggaattatt  | taagtaaggc  | tttggttgca  | ggagtcagac  | atgcttaagc  | tggttttggc  | 11280 |
|    | tgtaatgggg  | aatttgtgag  | atgtgacaca  | gtgacaggaa  | gtgcagccag  | acgttgtgag  | 11340 |
|    | aggcagtaac  | tgggaatagg  | aaagtatatga | gaagttaagg  | cagtagtaat  | tgtttctcta  | 11400 |
| 30 | tcgaaggcca  | taatgttatc  | attcctgcct  | ctatctgttt  | gcttgttctt  | ctctctcagc  | 11460 |
|    | agaatggtct  | tctctgcttc  | tctgtgcacc  | tgcaagaagg  | gaccacccta  | aggcttatgg  | 11520 |
|    | attcaggagt  | cctcagtttg  | agagcagtta  | ccaaatgcct  | cgccctgtg   | aactctagtc  | 11580 |
|    | ccagtttctt  | attcctggta  | ctggcttagt  | ttgaggcagc  | tgcccaccgt  | aagtccagtg  | 11640 |
|    | agccatggcc  | tggggacaag  | gtcagggtaca | tgtgtaatca  | gctgggtcta  | tgagttgtgg  | 11700 |
| 35 | tgggtggcgat | ggaggtagct  | cccagaaaaa  | tggattacag  | gttaagaaga  | gtctatatat  | 11760 |
|    | cttgaccaca  | tttgatgtga  | cttggaagtt  | tcaatgtgtg  | accacttaca  | aagttatgat  | 11820 |
|    | cagggtgtctc | atttatattat | ggtgatgtat  | gagtcctgtg  | gtgagtgtgt  | gtgtgtctgt  | 11880 |
|    | gtttgtgtgt  | gtgtgtgaga  | gagagagaga  | gaatgagaat  | atgagtgggtg | gtttccatt   | 11940 |
|    | tatttttcta  | tggggccaaat | cctgggctat  | gagctggaga  | tataagagta  | aacaaaatag  | 12000 |
| 40 | acacggtgct  | tgctgtgacc  | tgccctggga  | gacagatatt  | acacggagga  | tcacataaat  | 12060 |
|    | gcagagtctg  | agctgaggtc  | ttaaggggtga | ggataagtaa  | ctagtcagtg  | gagcagggga  | 12120 |
|    | gggaagggtg  | ttccatgcct  | gtgtcaagggt | cctgagggtga | gagaaagagg  | tgaatttgag  | 12180 |
|    | gaacccaaaag | gagttcaggg  | aacaagaggg  | gctgtttcac  | aagctgagtc  | tggaaagctga | 12240 |
|    | gcaggctgag  | cagattctta  | ggaactctgc  | aaaaacttaa  | gggcttgtct  | atgaccgtaa  | 12300 |
| 45 | acaactacgg  | tcgtagataa  | acaagttggc  | aaacaactca  | aggatttaca  | gtcatcagaa  | 12360 |
|    | ttgtaaaact  | gatcccatgt  | attttcaaac  | ctcaaatccc  | ttgctctgac  | cttgtgtgtc  | 12420 |
|    | taagctagaa  | ggaagcagga  | tgacacctc   | ccctggctgg  | aatgaaggga  | ttcacccaag  | 12480 |
|    | ctctcagtct  | tctcacggca  | tccagggccc  | ccctgcttgt  | gtgtgggtcta | gatttccatt  | 12540 |

|    |             |             |            |             |            |             |       |
|----|-------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|-------|
|    | cccatagtag  | gaattcccttt | gggagccttg | gggtctctcc  | tgctagaggg | cttcacctgt  | 12600 |
|    | gactgtctca  | attcaaggga  | ggggttctaa | taacattaaa  | cctcaatatc | ttgctcttcc  | 12660 |
|    | attcctgatg  | cctccctttc  | cttctaccct | tcccctacct  | ccttctttcc | tatgccacag  | 12720 |
|    | gctggcaggt  | tagtgccaga  | gcaagtggcc | agtcaccatc  | attgggggtg | tggatcctca  | 12780 |
| 5  | gggttcttca  | gaagcccctt  | caccatgatc | aagagtctcc  | agtcactcag | aattccacgg  | 12840 |
|    | ttcccaaagt  | ccagctctcc  | cactactccc | agcgttctcc  | atctctggga | tgttgggctc  | 12900 |
|    | caggcttctc  | agatgcactg  | agtaccctag | gctaagccac  | tgatccatca | gaacttcata  | 12960 |
|    | gcctgagagg  | agagggagac  | aggcttgcaa | aggagagttc  | tgactagaca | ctgggggtgct | 13020 |
|    | acagatgccc  | gtaagtgtgc  | cctttaccct | cgatgtcccc  | agtgttggga | ccacctggga  | 13080 |
| 10 | atgcccagcc  | ttgtgtgctg  | attgacttgt | agtcccctgg  | ccctgactgg | aagcctagtt  | 13140 |
|    | ttctctctca  | tgaccagcta  | ggcccctagc | tcccagggga  | agaaatccaa | tctatttccct | 13200 |
|    | ctgatagtaa  | tggctaatac  | ttaaataatg | ccaaccacat  | gccaagcact | ttacagttgt  | 13260 |
|    | tagcccagtc  | ttcacaagca  | ccttgtgagg | tgggcaagag  | tcttatctta | ctctcatttt  | 13320 |
|    | atagatgtgg  | cccaggatcc  | cacagctata | gttcatgggtg | ctgggatttg | aacctctggc  | 13380 |
| 15 | caccagagcc  | caccttaatg  | tgtcctcctc | ctgttgtcat  | aacagaaaag | tacaacacca  | 13440 |
|    | tgatgacaca  | tcaggctatc  | ctggcaggtt | cccaggctgc  | cccaatgccc | aactttctag  | 13500 |
|    | gtttacaaag  | ttgacattta  | cgaagtttcc | aggtttacaa  | atctagtttc | tgattcttta  | 13560 |
|    | gtcagcagga  | atttctctac  | aaaagctgct | tcgaaaatth  | ccagccaaac | cttacacacc  | 13620 |
|    | ttggcattac  | atcttgggtga | gccaaaggcg | aagagaacag  | gaagtgaagg | ccccatggga  | 13680 |
| 20 | agtccttgcg  | gtcgggagca  | cccaggcggg | gcgggggggtg | gggggctttc | ctgtggccgg  | 13740 |
|    | ctccctgccc  | ctcccacccc  | cattcaggcc | ctgtgagttg  | aatgaagaga | ccctgggaat  | 13800 |
|    | gagtcacagg  | ctgcagggtt  | agaggaaatt | gaaggccctt  | accagatccc | tgttgagaag  | 13860 |
|    | tttatgaatt  | atgagccctt  | ctgcaaatga | gagggttctt  | ccctgtcagg | agggacagat  | 13920 |
|    | tgtagggtgg  | aagattgggtg | gcagccagta | ggctgggtctg | ctccttcctc | tctatttcat  | 13980 |
| 25 | atgtgtatga  | aggcattacc  | tgcagcaagg | gcctgtgtaa  | atgcatgtga | tttacagagc  | 14040 |
|    | attttatgta  | ctgcgtgtca  | ttcatgcttc | cggtgagccc  | taagtctaag | atagggcaga  | 14100 |
|    | tagcatcagg  | tccattttgc  | agctgtcaaa | atgaggtctg  | aagggcagaa | gtgggtgtgc  | 14160 |
|    | cacacacaca  | caactgggtg  | gctgcagacc | tggggactag  | acccgggact | tcgtcctgcc  | 14220 |
|    | caggggtctc  | ttgccactgc  | tcccacatca | cttggtatgg  | tttaagcatt | tgtgagttgt  | 14280 |
| 30 | ctgctccctg  | atggcagaat  | gcagagacat | gaagctacaa  | gcaggttcgc | tcccaacggc  | 14340 |
|    | aaaaaggagg  | aggggtgttc  | agaacatcag | gtgcttctag  | agaaagcagg | gagagagtat  | 14400 |
|    | ctggccttgt  | ggacaatgtc  | acggcagagg | ccaggtatag  | ggcatggggg | taactggaag  | 14460 |
|    | cgggatggac  | cctgttattc  | cctaagacat | ggcttccacg  | tagtgctcaa | acaaggcctt  | 14520 |
|    | tgcccttgct  | gttccctcca  | cctggaatat | tcttcccctt  | ccttgacatt | gctcaggtct  | 14580 |
| 35 | ccactcttat  | gtcacccctc  | cagagagggc | ttccctggcc  | actttcccta | aaatagccac  | 14640 |
|    | ccactcctag  | gtccctcaaa  | agcatatcct | gctttggatt  | ttccctatag | caatatgccc  | 14700 |
|    | tatgaagtta  | ttttatttgc  | taacttgttt | cttgctgtgt  | ttcctttgtt | agagcgttgg  | 14760 |
|    | ggaccttgct  | tggcttggtc  | ccaatgcctg | gaagagtgc   | tggcacacag | gattaagcca  | 14820 |
|    | acacatatgt  | tttgaatgaa  | tgtgtgcaca | catgcatgag  | ctggcggcag | tcgggggttgg | 14880 |
| 40 | ggtaagcacg  | aaggcccagc  | tcagttctct | gcatgtgacc  | tcccatctta | cgcagataag  | 14940 |
|    | aaccagtttg  | gtttctgcta  | gcctgagtca | ccctcctgga  | aactgggcct | gcttggcatc  | 15000 |
|    | aagtacagcca | tcagccggcc  | catctcctca | tgctggccaa  | ccctctgtga | gtgtgtggga  | 15060 |
|    | ggggaggctg  | ggctcctcct  | tgtactctct | gaggtgctct  | ggaaggaggg | gcagctccac  | 15120 |
|    | cctgggaggg  | actgtggccc  | aggtaactgc | cgggtgctac  | tttatgggca | gcagctcagt  | 15180 |
| 45 | tgagttagag  | tctggaagac  | ctcagaagac | ctcctgtcct  | atgagggcct | ccccatggct  | 15240 |
|    | ttaggtaagc  | tccttccact  | ctcatttttt | cacctgagaa  | atgagagagg | aaaatgtcta  | 15300 |
|    | caattgggtg  | ttatcaaatg  | ctttcaggct | ctggtgagca  | agcgtccagg | aaaatgtcaa  | 15360 |
|    | gcgcattggag | ctccaggcct  | gtctggggga | tctgggcacg  | gggaggcatc | catgggagac  | 15420 |

|    |             |             |             |             |             |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | catgcaggca  | ctctgaggca  | ggggctgcaa  | gcctagtgcc  | tgctggggca  | gcagggtgaac | 15480 |
|    | agagaggtgt  | aactgctgtg  | acagaagtca  | tggagtcctt  | ggagtgtgag  | ggtcattttc  | 15540 |
|    | cactgttgat  | agaataggga  | aattggtgaa  | atagccctgt  | taaatgagag  | aaagaacagt  | 15600 |
|    | gtgagctcaa  | tgagaaatac  | taatagaatg  | tggcactgag  | ccacaaggctc | tgaggccttga | 15660 |
| 5  | ttgataagga  | aggggtgggga | ctgtggagaa  | ttaagggtctt | ggcacaggctc | agttccacca  | 15720 |
|    | gttgtcacaa  | gagaatgcag  | gctcagggtg  | ccagaacttc  | tcgcttttcc  | agaagagtcc  | 15780 |
|    | gatatctctga | tttcattata  | tatagtattc  | tgattaaacc  | agacaataaa  | gcaagcagat  | 15840 |
|    | aaaatatttta | aagtataagc  | tgccagtttg  | caacctccgg  | ttaggatttg  | tgtggggcaa  | 15900 |
|    | agaaaaaac   | tctcaggatc  | attgggtatgt | agactctaata | tttaagtttc  | taatttaaaa  | 15960 |
| 10 | ttggccccctg | aggctgggag  | tggtgggtca  | cacctgtaata | cccagcattt  | tgaggaggcca | 16020 |
|    | aggtgggtgg  | atctcttgag  | gtcaagaggtt | caaggcctgc  | ctggccaaca  | tggtgaaacc  | 16080 |
|    | ctgtctctat  | taaaaataca  | aaaattagct  | gggcatgggtg | gtgcatgtct  | gcaatcttag  | 16140 |
|    | ctacttgggt  | agctaaggca  | ggagaattgc  | tggaaacccg  | gaggtagagg  | ttgcagtga   | 16200 |
|    | tggagatcac  | accactgcac  | tccagtctgg  | gcaatagaga  | gagacgctct  | ctctaaaaaa  | 16260 |
| 15 | aaatatgtaa  | agataaataa  | aatgaaataa  | aataggcctc  | taatgagcag  | gccattctcc  | 16320 |
|    | tttctgggtc  | ttacttttct  | tgcactcctt  | tctgggtgtt  | aagaggaggt  | ctagaggaag  | 16380 |
|    | ctggacaact  | cttagcttgt  | agtaagcaca  | gtggaagtat  | cagctcttaa  | tggtcatgg   | 16440 |
|    | acacgttaca  | agctaggcgc  | cgtgctgagc  | actttacatg  | gtttatccca  | ctgaaccctc  | 16500 |
|    | tcaataaccc  | tatgaggaag  | ggctattatt  | gctcacattt  | tcagaagagg  | aaatggatat  | 16560 |
| 20 | agagagatta  | gataatttgc  | ccatggccag  | acagctagta  | taagaggagg  | aggtggattg  | 16620 |
|    | actgcagaca  | ttctgtcttc  | aaaccactac  | actatgctat  | ggaggcacag  | agacttaatg  | 16680 |
|    | aaatcatgga  | gaggggaatt  | gctttgtcaa  | ccacaagcag  | ttattccggg  | ggcagcagat  | 16740 |
|    | cctccccctgt | cccccagtg   | gtacaatggt  | ccctgggtgg  | ttgtgctaca  | atgttagccc  | 16800 |
|    | atgggtcttat | gtgtttttca  | aatgtgtaaa  | gtaggatgct  | ggaaccactc  | ttagaaccag  | 16860 |
| 25 | ataccaatac  | attgtgaaga  | aataaatctc  | tgtgcttaaa  | actggttcat  | cccaaaatat  | 16920 |
|    | tttgaactga  | cacacaatag  | gtgctaaata  | aatgtgtgtt  | aacttgaatt  | ggattgaatt  | 16980 |
|    | cgggaaaaaaa | gtgcaataag  | cttagtgaag  | acaccatgtt  | ccctgggtag  | aggaaccaca  | 17040 |
|    | ttctccatct  | aaggccagga  | gtatgggagg  | tatcaatgtt  | tgcccagcac  | agaacagggt  | 17100 |
|    | gccaagaaga  | gaaaagttga  | cggggtgcat  | actctgactg  | gaaactggaa  | gggtgagaac  | 17160 |
| 30 | agagggtaaa  | ggatagagat  | ggaaccatgt  | gcatacactt  | tgtgttacct  | tggaacaagtc | 17220 |
|    | attcatttct  | ctggacctct  | gctttctctc  | tacacaatgg  | ggtcccacca  | cttcccttac  | 17280 |
|    | agctgacttg  | tatgaagaag  | gaggtggagg  | aggaggagaa  | ggtgaagaca  | atgctgactc  | 17340 |
|    | aaagggtaaa  | ttattttttag | gatccaagt   | tgaaaacaat  | tttaggctac  | tagatatgaa  | 17400 |
|    | caacatcttg  | attatgtagt  | tgaaggaaat  | taaagatgaa  | tggtttaatt  | aaaaattaat  | 17460 |
| 35 | cagaatgaaa  | acgattgatt  | actaatatat  | ctgcaatggt  | ttatttttct  | gagtggcaga  | 17520 |
|    | ctcactaagg  | tttttgaata  | ctcctgtgtg  | attgctctat  | gtatgtatgt  | atgtatgtat  | 17580 |
|    | gtatgcatgt  | atctatctat  | ctgttgtcta  | ataaaatgga  | tcacatctct  | gctaataaaa  | 17640 |
|    | acactacact  | ggcagggtac  | aattataatc  | attaactgtg  | cctggaattt  | gcagcagcag  | 17700 |
|    | ccaccagagg  | taccagtgcc  | ctttaagggt  | tcataattta  | gaataatcca  | attatctgag  | 17760 |
| 40 | tttttcaggg  | actgaggggt  | ttggcaagg   | gtagaacttt  | cagtaataaa  | gtcaagaaag  | 17820 |
|    | tcttgacaa   | accaaggtag  | ttgggtcactc | tagtccataa  | ccaggtaaag  | agctttccct  | 17880 |
|    | gtaacctgtg  | taaggtttta  | gaatcatttc  | tttcttatt   | accaaaaatc  | ctccccaaat  | 17940 |
|    | tttcaagaaa  | ttatgaacta  | aatagttact  | ctatgagata  | ggagttcagc  | ccaaaagaaa  | 18000 |
|    | caccataaga  | acaaatataa  | ttcttgctta  | tgttaacat   | gcaatgaagc  | agagagaaaa  | 18060 |
| 45 | agtcagtggc  | ctcttttagga | ggactgtagt  | gtgggaagaa  | ataactaaac  | tggttttcaa  | 18120 |
|    | tcttggcctg  | gccaggatct  | ggagcaagt   | agttaatctt  | tctaagcctt  | gagtagtttc  | 18180 |
|    | ttcttcttct  | tcttcttctt  | cctccccctt  | ctcctcttct  | tcttcttctt  | ccttcttctt  | 18240 |
|    | ttcttcttct  | tcttcttctt  | ccttcttctt  | ttcttcttct  | tccttcttct  | ccttcttctt  | 18300 |

|    |             |             |             |             |             |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|    | ttcttctctct | tcctctttcct | cttcctcttct | ttcctctttcc | tcttattcttt | cttcgtcgtc  | 18360 |
|    | ttcgtcttct  | ttttatttttc | aaagtgaag   | caagtttatt  | aagaaagtaa  | aggaataaaa  | 18420 |
|    | gaatggccac  | tccatagaca  | gagtagcctg  | aaccttgagt  | tcttctataa  | agtcactatg  | 18480 |
|    | aatttatact  | catttttgaag | gtgggtgtca  | atatgtctgt  | ccactttgca  | cagctgttat  | 18540 |
| 5  | gtggacaaaa  | ggagatctgt  | gtgaaagtgt  | aacacagagc  | ctaaactata  | acaggtaagc  | 18600 |
|    | aacacagttg  | tccccttccc  | catggtgtct  | gttcttctcc  | atttcctcct  | gtctgcaggg  | 18660 |
|    | ggattataaa  | actaatcatc  | aaagccaaga  | aggcaagagc  | aagcatgtac  | cgctgaaaac  | 18720 |
|    | acaagataac  | tgcataagta  | atgactttca  | gtgcagattc  | atagctaacc  | cataaactgc  | 18780 |
|    | tggggcaaaa  | atcatcttgg  | aaggctctga  | acctcagaaa  | ggattcacag  | taagttaacc  | 18840 |
| 10 | atgtagatct  | gagaggagag  | tagcttcttg  | tagataaacag | ttggattata  | taccatgtcc  | 18900 |
|    | tgatccccct  | catcatccag  | gagagcagag  | gtggtcaccc  | tgatagcagc  | aagcctgggg  | 18960 |
|    | gctgcagctt  | ggtgggtaga  | ggtactcagg  | ggtacagatg  | tctccaaacc  | tgtcctgctg  | 19020 |
|    | ccttagggag  | cttctaataa  | gttgatggat  | ttggttaaaa  | ttaacttggc  | tacttggcag  | 19080 |
|    | gactgggtca  | gtgaggacca  | acaaaaagaa  | gacatcagat  | tataccctgg  | gggtttgtat  | 19140 |
| 15 | ttcttgtgtt  | tctttctctt  | ctttgtacta  | aaatattttac | ccatgactgg  | gaaagagcaa  | 19200 |
|    | ctggagtctt  | tgtagcatta  | tcttagcaaa  | aattttacaaa | gtttggaaaa  | caatattgcc  | 19260 |
|    | catattgtgt  | ggtgtgtcct  | gtgacactca  | ggattcaagt  | gttggccgaa  | gccactaaat  | 19320 |
|    | gtgagatgaa  | gccattacaa  | ggcagtgtgc  | acatctgtcc  | acccaagctg  | gatgccaaca  | 19380 |
|    | tttcacaaat  | agtgtttgcg  | tgacacaaat  | gcagttccag  | gaggcccaaa  | tgaaaatgtt  | 19440 |
| 20 | tgtactgaaa  | tttgttaaag  | cttcccgcga  | aactagattt  | atcagtaagg  | attgttttct  | 19500 |
|    | gcaaggggga  | tgaaacttgt  | ggggtgagcc  | atthgggctg  | aggaggaggg  | aggttggagc  | 19560 |
|    | tgagaaatgt  | ggagacaatt  | tccctttaga  | aggactgaat  | ctccctgcct  | ctctgggggtg | 19620 |
|    | cggcagccag  | caggatccaa  | tggtgtatat  | gtctccccag  | ctccccattc  | agtgatatca  | 19680 |
|    | tgctcagtagc | ttgaaattat  | ccgtgggtgg  | agtattatgt  | catggaaatt  | ggcaaatgga  | 19740 |
| 25 | aacttttatt  | ggagattcaa  | ttgttaaact  | tttaccagca  | caacactgcc  | ctgccttcag  | 19800 |
|    | agtcaatgac  | cctatccaag  | tttaatccat  | ctgtccactg  | tctccaacac  | gatctttata  | 19860 |
|    | aaacacacct  | gacaacatta  | cccttttatt  | cagtttttta  | aaagataagt  | ttccagctca  | 19920 |
|    | tcgggggtggc | tttaaaggcc  | atthctcctc  | tggacctcac  | ccaacttttc  | aaatcacttt  | 19980 |
|    | tcctaccctt  | acctctaaat  | gctactcaaa  | ctccagccat  | cctgaataat  | aagacttttg  | 20040 |
| 30 | aaaagtagat  | tatgggctgg  | gcacagtggc  | tcacacctgt  | aatcccagca  | ctttgggagg  | 20100 |
|    | ccaagatggg  | tggatcacct  | gaggtcggga  | gttcgagacc  | agcctgacta  | acatagtga   | 20160 |
|    | accctgtctc  | tactaaaaat  | acaaaattag  | ttgggggtgg  | tggcacaagc  | ctgtaatccc  | 20220 |
|    | agctactcag  | gaggttgagg  | caggggaatt  | gcttgaacct  | gggaggcgga  | ggttgcggtg  | 20280 |
|    | agcctagatt  | gctccactgc  | actccagcct  | gggcaacaag  | agcgaaactc  | catctcaaaa  | 20340 |
| 35 | aaataaataa  | ataaataaag  | tagattacat  | cagatacctc  | tggcctaggt  | tgtttatgac  | 20400 |
|    | caactctcct  | gctgagaata  | actagaaaag  | ctagacaaaa  | catatttcca  | aaagatctct  | 20460 |
|    | ttggaggcat  | cagagaatgg  | ccaaggctgt  | aaggaaactgc | ctgagcccag  | agagggtggag | 20520 |
|    | cccagcactg  | gtgcccttta  | ctcctgggga  | catgtgctgg  | tttcaaaaac  | ttcagctgag  | 20580 |
|    | cttttgagca  | ttcatggaac  | ttggtggggg  | agatgaaatt  | tgtaccttaa  | atcctgccta  | 20640 |
| 40 | cagggagggt  | ccctgataat  | ccccacccaa  | tttggaatc   | tgggtcagcc  | ttcacaggta  | 20700 |
|    | ctgaagccct  | cctctgaatg  | atctcaagtc  | ctgctagggt  | agaggttacc  | tgcttttgaa  | 20760 |
|    | aggctccttg  | cctacctgtg  | cagcaggagc  | aaaagtgaac  | catctcaggg  | tacagataac  | 20820 |
|    | aatcatccag  | agccttgaat  | gacctctact  | gtgcttaata  | tatagtattc  | agcagtcagt  | 20880 |
|    | aaaaaggatt  | taggcacatg  | caagatgacc  | tgtgtatcag  | ggagaaatag  | gcaataaatt  | 20940 |
| 45 | gagatccagc  | agggatttga  | atcatggatt  | tgaatcaggg  | gcagccttcg  | aaagaactat  | 21000 |
|    | ggagaaatata | ctcagattta  | aaacataaga  | ttggaatttt  | tggcagagaa  | ctaacaactg  | 21060 |
|    | tacaaaaaag  | gaaccaaag   | gaaatcctag  | aactgaaaga  | tgcaattaac  | cgatgttgag  | 21120 |
|    | aaatagccaa  | catctattga  | acacttccca  | tgtggacagc  | tgtgctaaac  | actttacagg  | 21180 |

|    |             |            |             |            |            |             |       |
|----|-------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|-------|
|    | catcaacata  | agatgtgtcc | ccttacagca  | gtgcagtgtc | cctcctaaga | catggacagc  | 21240 |
|    | ctgggtttccc | tatctctctg | cttcatcaaa  | acccctttac | gtggggctta | gacactcctg  | 21300 |
|    | ttgtctctag  | tgtctagtag | cacagggctc  | agcacatgga | agccactaga | tacaatttga  | 21360 |
|    | tgaccaggac  | ctccgatgaa | agccatgggt  | gctgattggg | aaggcattgt | cttttatgtg  | 21420 |
| 5  | ctatggtcct  | aaagcttcat | ccaggaagca  | gaactcgggg | ggtgctgagg | accagaacc   | 21480 |
|    | gagaataaga  | ttagtcagag | atttcctgtg  | ggcagaaaac | ataaggacgc | caactgtttg  | 21540 |
|    | ggtgagataa  | gacgaaacca | agagtggact  | tgtggccaga | agcgtgagga | agagggagag  | 21600 |
|    | agcttccctt  | gtcccttttc | ttcctctccc  | taagccacag | tgattgacag | ccccccct    | 21660 |
|    | ttggagtcag  | agcaggcttg | agactggact  | gggaaaggag | ggtgggtcag | gatacagagc  | 21720 |
| 10 | aggaaggctg  | ggagtgcagg | gcaggagcaa  | ggggctgggg | cattcattgt | gcctgatctc  | 21780 |
|    | tcccacttta  | cctggggtaa | agaagcatat  | gcaaaagcca | cgggtgtgag | atttcccaag  | 21840 |
|    | tgccagggtc  | agggcatgat | tcatcacgtg  | cagcatttca | ttcaatcctt | atagtaaccg  | 21900 |
|    | atgatgtggc  | ttctattatt | agctctatca  | gataatgaaa | ctgagaccaa | gacaggctct  | 21960 |
|    | gcacattgtg  | tggggtaatg | acacaggggg  | attcagacct | agactccata | actcctgccc  | 22020 |
| 15 | cagggaccac  | ccccaccctc | accctgtgca  | tgtcgacaaa | ggacagactg | ggccacttct  | 22080 |
|    | caggacacag  | cggggaaatg | acacagagca  | gggaggttcc | aggagccccg | agcgtctttt  | 22140 |
|    | ctccaggaga  | atactctctg | aattcagact  | gggtcagag  | aaacatttac | ccaggagccg  | 22200 |
|    | cagtgtgggt  | ggggcttttt | acttgaaacg  | ctgtctgaag | gcagtggcca | ggatggaact  | 22260 |
|    | ctccacccta  | ccttggcaag | ccacttctct  | tctgcaatct | gtaaggacat | tgttgagaga  | 22320 |
| 20 | attatggtct  | tccaattccg | gagggttgaa  | gaaagacaaa | taggagagaa | cctatcatag  | 22380 |
|    | tcagggtgcta | gctgccttct | ctttcagaga  | gtgtgagaat | aaagtgatac | acttgattat  | 22440 |
|    | tagcaaatac  | tttgaaatt  | ttaaacgcta  | atattcaaca | cactctggaa | gaggcaaata  | 22500 |
|    | agtagacagg  | ttcatataca | tcatctcctt  | cagctagtcc | tcacaaaaac | aaacaaatga  | 22560 |
|    | ataaacaana  | ttcttctttg | gccctcatag  | gaagacactg | tttcttgaac | gtgtttcaaa  | 22620 |
| 25 | aaggatgggt  | gactcactca | aggtcacact  | gtttatgagg | acagtacagg | aatacagaca  | 22680 |
|    | tgccattttg  | cctgaaaaaa | tccatcaccc  | aggagagtga | cacaattttg | cagaaatgtt  | 22740 |
|    | ctatttcctc  | tgaaggatac | attctttaaa  | cctttgggaa | attcattcat | agtcttcctc  | 22800 |
|    | ctttgaagga  | ttaactctct | ggacacaaaag | tgtttgattc | tgatttggtg | gttggaagat  | 22860 |
|    | gtgttggttg  | agagaaagat | tctgatttgt  | tgggtgaaaa | tagactcatc | aagatcaact  | 22920 |
| 30 | gctgtagtag  | taaatatatt | gacattttgt  | ctgtattcct | gtgctgccct | cacaagctgc  | 22980 |
|    | atcaccttga  | gtgagtcatt | catacttttt  | tgtttgtttt | tgttttggag | atggagtctt  | 23040 |
|    | actctgttgc  | ctaggctgga | gtgcggtggc  | gtgatcttgg | ctcactgcga | cctccatctc  | 23100 |
|    | ctgggttcaa  | gtgatccctc | tgccctcagcc | tcccagtag  | ctgggattac | aggcacatgc  | 23160 |
|    | caccatccct  | gctaattttt | gcattttcag  | tagagacgga | gtttcaccat | gttggtcagg  | 23220 |
| 35 | ttgggtcttga | actcctgacc | tcagggtgatc | cgcccacctc | agcctcccca | agtgtctggga | 23280 |
|    | ttacagggtgt | gagccaccgt | gccagccca   | gccatcattt | ttgaaacacg | tttgagaaac  | 23340 |
|    | agtgtcttcc  | tttgagggcc | aaggagacat  | ttttttgttt | tatttggttg | ttttgtgag   | 23400 |
|    | gactagctga  | agggggtgat | gtatattaac  | ctgcctactt | atttgccctc | tcccagagt   | 23460 |
|    | tgatgaatat  | taggggttaa | agtttctgaa  | gcatttggtt | ataaagcccc | gggctggagg  | 23520 |
| 40 | tcagaagacc  | tggatttctc | tgcatacttt  | tgccatcagc | aagctgtgtg | accttgagca  | 23580 |
|    | gatccctttt  | ttgtctaaat | ctttctgagt  | cttcttgaaa | acaatgccag | gttgggacag  | 23640 |
|    | gatgattgcc  | aagctcccgt | ccagctctaa  | aacactgcaa | cgtatgcttc | tgaccagca   | 23700 |
|    | ctgtccatcc  | tgtagatcat | gcagaaattc  | tcttcaactt | tttctaccc  | ataaaatagg  | 23760 |
|    | agcatgctta  | cctttttcct | aatgttccag  | gccccgggtc | tagaatattg | taagtaagga  | 23820 |
| 45 | agttaatgtg  | tatcagagcc | cattatgggc  | cagaagttct | cctcttcctt | cctacacctg  | 23880 |
|    | cttctccct   | ccctccctcc | ctctttccct  | tccttccttc | catccatttg | tgaagaagac  | 23940 |
|    | atgatcacc   | tcattctgag | agtgaagaga  | cagaggctca | actaatgaaa | tgatttggtc  | 24000 |
|    | aaggtcacac  | gggtggcaca | aggcaagtgg  | cagagggtga | atttagaccc | attcctgtcc  | 24060 |



|    |             |             |             |            |             |             |       |
|----|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------|
|    | aaatgctgag  | tttatgtcat  | cgtccccgaga | ccataacttt | aaagatgtaa  | gatagtggga  | 24120 |
|    | aaagagttga  | tttcaaagca  | cctctcagaa  | ggactcactt | tacatcaggg  | gtcagcagac  | 24180 |
|    | tcaggccaaa  | tccggtccat  | tccccgcttt  | tgcaaagaaa | gttgtagtgg  | aacacagcta  | 24240 |
|    | ggcttattga  | tttatggatt  | gccaacgtcc  | ttttgtgaaa | cagacagctg  | agctgagtaa  | 24300 |
| 5  | tcgtggcgca  | caaaaccta   | aatatcttact | atctcgtcct | ttacagaatg  | tttgccaatc  | 24360 |
|    | tatgggtccg  | agtccaaggc  | tgtccatttt  | tcaaagaaca | caaagtgaca  | tgagactgtc  | 24420 |
|    | ccatgtgcag  | ggagccctat  | catttttatta | tgaaaaaacg | gcctttctgc  | tcaaactctgt | 24480 |
|    | tttttaaaaa  | gtcaacaaac  | agactctggg  | tacctgtcag | gaacagtagg  | gagtttggtt  | 24540 |
|    | tccattgtgc  | tcttcttccc  | aggaactcaa  | tgaaggggaa | atagaaatct  | taattttggg  | 24600 |
| 10 | gaaattgcac  | aggggaaaaa  | ggggagggaa  | tcagttacaa | cactccattg  | cgacacttag  | 24660 |
|    | tgggggtgaa  | agtgacaaca  | gcaaggggtt  | ctcttttttg | aaatgagagg  | agggtatttc  | 24720 |
|    | cgcttctcgc  | agtggggcag  | ggtggcagac  | gcctagcttg | ggtgagtgac  | tatttcttta  | 24780 |
|    | taaaccacaa  | ctctgggccc  | gcaatggcag  | tccactgcct | tgctgcagtc  | acagaatgga  | 24840 |
|    | aatctgcaga  | ggcctccgca  | gtcaccta    | cactctcctc | ctcttcctgt  | tccattcaga  | 24900 |
| 15 | gacgatctgc  | cgaccctctg  | ggagaaaatc  | cagcaagatg | caagccttca  | ggtaaggcta  | 24960 |
|    | ccccaaaggag | gagaagggtga | gggtggatca  | gctggagact | gaaacatat   | cacagctgcc  | 25020 |
|    | aggggctgcc  | aggccccaga  | gggcctgaga  | actgggtttg | ggctggagag  | gatgtccatt  | 25080 |
|    | attcaagaaa  | gaggctgtta  | catgcatggg  | cttcaggact | tgtgtttcaa  | aatatcccag  | 25140 |
|    | atgtggatag  | tgcgaccgga  | gggctgtctt  | actttcccag | agactcagga  | accagtgag   | 25200 |
| 20 | taatagatgc  | atgccaagga  | gtgggactgc  | gattcaggcc | tagttgaatg  | tgctgacaga  | 25260 |
|    | gaagcagaga  | ggggcaccag  | gggcacagcc  | cgaaggccca | gactgatatg  | ggcaaggcct  | 25320 |
|    | gtctgtgctg  | acatgtcgga  | gggtcccact  | ctccagggac | cttggtttcc  | ccgtctgtga  | 25380 |
|    | catctgtgac  | atgagagtca  | cgataactcc  | ttgtgtgcct | tacaggggtg  | ttgtgaaaat  | 25440 |
|    | taaatgcaca  | gataatagcg  | taacagtatt  | ccgtgcattg | taaagagcct  | gaaaaccatt  | 25500 |
| 25 | atgatttgaa  | aatggaatcg  | gctttgtgag  | accatcacta | ttgtaaaagat | gtgatgctga  | 25560 |
|    | tagaaatgac  | aggactgctt  | gtgcatgccc  | tctgcagtgt | gacattccag  | cagtgaatc   | 25620 |
|    | atgttggggg  | gacttctccc  | ccactctgac  | ctttatgttt | gtctgggccg  | aggctgcaag  | 25680 |
|    | tcgggctctg  | tgggtgtatg  | agtgacaagt  | ctctcccttc | cagatatggg  | gactgtctgc  | 25740 |
|    | ttccctaggt  | tgcctctccc  | tgctctgatc  | agctagaagc | tccaggagat  | cctcctggag  | 25800 |
| 30 | gccccagcag  | gtgatgttta  | tccctccaga  | ctgaggctaa | atctagaaac  | taggataatc  | 25860 |
|    | acaaacaggc  | caatgctgcc  | atatgcaaag  | cacttttggt | tgcttgcca   | cccctcgtcg  | 25920 |
|    | agcatgtggg  | ctcttcagag  | ccacctgatg  | aggtgggtac | agttagccac  | acttcacagg  | 25980 |
|    | tgaagaggtg  | aggcacagg   | cccaggctcag | gctggccgga | gctctgttta  | ttacgtctca  | 26040 |
|    | cagctttgag  | tcctgtcttc  | aaccagagag  | gccctttacc | aagaagaaa   | gattgggacc  | 26100 |
| 35 | cagaatcagg  | tcactggctg  | aggtagagag  | gaagccgggt | tgttcccaag  | ggtagctgct  | 26160 |
|    | cctgcaggac  | tctgagcagg  | tcaccagcta  | atggaggaaa | ggctctaggg  | aaagaccctt  | 26220 |
|    | ctgggtctcag | actcagagcg  | agttagctgc  | aagggtgtcc | gtctcttgaa  | acttctacct  | 26280 |
|    | aggtgctatg  | gtagccacta  | gtctcagggtg | gctattttaa | tttatactta  | aatgaatgaa  | 26340 |
|    | aatagaagaa  | aattttaa    | ccagaccctt  | ggtcacacta | tccacattta  | aagaggtcaa  | 26400 |
| 40 | tagccacatg  | tgggttagtg  | ccaccctatt  | gggcagtgc  | gctacagaac  | atttttgcat  | 26460 |
|    | cccagaaagt  | tcttttggtg  | gttgtgtctc  | tacagcatgc | tttgtctgaa  | cagaagtgcc  | 26520 |
|    | ttccctggga  | atctcagatg  | ggaagcaagt  | aaggagggga | gtcaaagtgt  | ggctcactgc  | 26580 |
|    | tcaccagctg  | tgagggttg   | gcctgcctct  | taaccattgt | cagcctcagt  | cttctcatcc  | 26640 |
|    | atgcatgccg  | tgggtatact  | aaaatactat  | accctggaa  | gagctggatg  | caaatttgac  | 26700 |
| 45 | aagttctggg  | ggacacagga  | aggtgccaa   | cacaaggctg | ggcacatggg  | ggctgtgcac  | 26760 |
|    | tacagctgag  | tccttttcct  | tttcagaatc  | tgggatgtta | acc         |             | 26803 |
|    | <210>       | 21          |             |            |             |             |       |
|    | <211>       | 177         |             |            |             |             |       |

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 21

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

Glu

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 159

&lt;212&gt; PRT

30 <213> Homo sapiens  
 <400> 22

Met Ala Leu Glu Thr Ile Cys Arg Pro Ser Gly Arg Lys Ser Ser Lys  
 1 5 10 15  
 Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr Phe Tyr Leu  
 35 20 25 30  
 Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Gly Pro Asn Val Asn  
 35 40 45  
 Leu Glu Glu Lys Ile Asp Val Val Pro Ile Glu Pro His Ala Leu Phe  
 50 55 60  
 40 Leu Gly Ile His Gly Gly Lys Met Cys Leu Ser Cys Val Lys Ser Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Thr Arg Leu Gln Leu Glu Ala Val Asn Ile Thr Asp Leu Ser  
 85 90 95  
 Glu Asn Arg Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ala Phe Ile Arg Ser Asp Ser  
 45 100 105 110  
 Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys Pro Gly Trp Phe Leu  
 115 120 125  
 Cys Thr Ala Met Glu Ala Asp Gln Pro Val Ser Leu Thr Asn Met Pro

RU 2 730 836 C2

|    |                                                                 |  |     |  |     |  |
|----|-----------------------------------------------------------------|--|-----|--|-----|--|
|    | 130                                                             |  | 135 |  | 140 |  |
|    | Asp Glu Gly Val Met Val Thr Lys Phe Tyr Phe Gln Glu Asp Glu     |  |     |  |     |  |
|    | 145                                                             |  | 150 |  | 155 |  |
|    | <210> 23                                                        |  |     |  |     |  |
| 5  | <211> 180                                                       |  |     |  |     |  |
|    | <212> PRT                                                       |  |     |  |     |  |
|    | <213> Homo sapiens                                              |  |     |  |     |  |
|    | <400> 23                                                        |  |     |  |     |  |
| 10 | Met Ala Leu Ala Asp Leu Tyr Glu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Glu     |  |     |  |     |  |
|    | 1 5 10 15                                                       |  |     |  |     |  |
|    | Gly Glu Asp Asn Ala Asp Ser Lys Glu Thr Ile Cys Arg Pro Ser Gly |  |     |  |     |  |
|    | 20 25 30                                                        |  |     |  |     |  |
|    | Arg Lys Ser Ser Lys Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln |  |     |  |     |  |
|    | 35 40 45                                                        |  |     |  |     |  |
| 15 | Lys Thr Phe Tyr Leu Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln |  |     |  |     |  |
|    | 50 55 60                                                        |  |     |  |     |  |
|    | Gly Pro Asn Val Asn Leu Glu Glu Lys Ile Asp Val Val Pro Ile Glu |  |     |  |     |  |
|    | 65 70 75 80                                                     |  |     |  |     |  |
|    | Pro His Ala Leu Phe Leu Gly Ile His Gly Gly Lys Met Cys Leu Ser |  |     |  |     |  |
| 20 | 85 90 95                                                        |  |     |  |     |  |
|    | Cys Val Lys Ser Gly Asp Glu Thr Arg Leu Gln Leu Glu Ala Val Asn |  |     |  |     |  |
|    | 100 105 110                                                     |  |     |  |     |  |
|    | Ile Thr Asp Leu Ser Glu Asn Arg Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ala Phe |  |     |  |     |  |
|    | 115 120 125                                                     |  |     |  |     |  |
| 25 | Ile Arg Ser Asp Ser Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys |  |     |  |     |  |
|    | 130 135 140                                                     |  |     |  |     |  |
|    | Pro Gly Trp Phe Leu Cys Thr Ala Met Glu Ala Asp Gln Pro Val Ser |  |     |  |     |  |
|    | 145 150 155 160                                                 |  |     |  |     |  |
|    | Leu Thr Asn Met Pro Asp Glu Gly Val Met Val Thr Lys Phe Tyr Phe |  |     |  |     |  |
| 30 | 165 170 175                                                     |  |     |  |     |  |
|    | Gln Glu Asp Glu                                                 |  |     |  |     |  |
|    | 180                                                             |  |     |  |     |  |
|    | <210> 24                                                        |  |     |  |     |  |
|    | <211> 143                                                       |  |     |  |     |  |
| 35 | <212> PRT                                                       |  |     |  |     |  |
|    | <213> Homo sapiens                                              |  |     |  |     |  |
|    | <400> 24                                                        |  |     |  |     |  |
| 40 | Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr Phe Tyr Leu |  |     |  |     |  |
|    | 1 5 10 15                                                       |  |     |  |     |  |
|    | Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Gly Pro Asn Val Asn |  |     |  |     |  |
|    | 20 25 30                                                        |  |     |  |     |  |
|    | Leu Glu Glu Lys Ile Asp Val Val Pro Ile Glu Pro His Ala Leu Phe |  |     |  |     |  |
|    | 35 40 45                                                        |  |     |  |     |  |
|    | Leu Gly Ile His Gly Gly Lys Met Cys Leu Ser Cys Val Lys Ser Gly |  |     |  |     |  |
| 45 | 50 55 60                                                        |  |     |  |     |  |
|    | Asp Glu Thr Arg Leu Gln Leu Glu Ala Val Asn Ile Thr Asp Leu Ser |  |     |  |     |  |
|    | 65 70 75 80                                                     |  |     |  |     |  |
|    | Glu Asn Arg Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ala Phe Ile Arg Ser Asp Ser |  |     |  |     |  |

## RU 2 730 836 C2

|    |  |             |              |             |             |             |             |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|----|--|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|    |  |             |              |             | 85          |             |             |      |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |     |  |
|    |  | Gly         | Pro          | Thr         | Thr         | Ser         | Phe         | Glu  | Ser | Ala | Ala | Cys | Pro | Gly | Trp | Phe | Leu |     |  |
|    |  |             |              |             | 100         |             |             |      |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |  |
|    |  | Cys         | Thr          | Ala         | Met         | Glu         | Ala         | Asp  | Gln | Pro | Val | Ser | Leu | Thr | Asn | Met | Pro |     |  |
|    |  |             |              | 115         |             |             |             |      | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |     |  |
| 5  |  | Asp         | Glu          | Gly         | Val         | Met         | Val         | Thr  | Lys | Phe | Tyr | Phe | Gln | Glu | Asp | Glu |     |     |  |
|    |  |             | 130          |             |             |             |             | 135  |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |     |  |
|    |  | <210>       | 25           |             |             |             |             |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    |  | <211>       | 3804         |             |             |             |             |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| 10 |  | <212>       | DNA          |             |             |             |             |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    |  | <213>       | Homo sapiens |             |             |             |             |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    |  | <400>       | 25           |             |             |             |             |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    |  | taattttcagt | gaaattatat   | aactttggtta | catttaggtt  | acttattaca  | aatgaaaata  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 60  |  |
|    |  | aatatactaa  | cagaagctgc   | ctcatatgca  | aatgagtaac  | atggttagaga | ctaaaataca  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 120 |  |
| 15 |  | caaaaaaatg  | catgtgcttt   | agctcatata  | aacaatatac  | aggacaactt  | accgggtagc  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 180 |  |
|    |  | ataaacaacc  | aacaacggac   | tatcaaaagg  | aacctcgta   | tctagtaact  | ttaaccttgt  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 240 |  |
|    |  | tggtagatct  | cctttttcca   | tctccatata  | cacaggattg  | gaacttgcca  | tttctgaaat  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 300 |  |
|    |  | ataaagcata  | tcctttttcca  | aactttatct  | cttaggcgga  | aatattcaat  | ttatgaacat  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 360 |  |
|    |  | gttcattcag  | caatcattag   | tcacgtacct  | actgtgtgga  | cctattatgt  | gcaaggccca  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 420 |  |
| 20 |  | atattaagca  | ttacaagaga   | aacaaataaa  | agtacaagag  | atgtaatttc  | tactttttaag |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 480 |  |
|    |  | aaccttaaaa  | tctaattggg   | aggcaaagca  | tattaaaagt  | tttaaaataag | acgaaggaac  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 540 |  |
|    |  | atataattaa  | tacatcagtg   | actattactc  | ttaaaataat  | gagtatctag  | gcctatatat  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 600 |  |
|    |  | agcaactgtc  | catataagca   | cacatcaaaa  | accaatatac  | atagctatca  | tcaatgccaa  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 660 |  |
|    |  | gttgctcagt  | ttttttctaga  | actagtattc  | ctactccatc  | ttttagaatt  | aaattcaatg  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 720 |  |
| 25 |  | aaattaattt  | taaaatatatt  | gacctttttt  | taaagttacc  | agtatagcaa  | atactcattc  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 780 |  |
|    |  | tctgaagaac  | agaagatttg   | acttttttgg  | atagccaaaa  | gtcacttaaa  | atcaagtctg  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 840 |  |
|    |  | gtgaaaggag  | tgatgatcta   | aaactatttg  | tggttttaaaa | aaaaaaagta  | tgaatctaaa  |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 900 |  |
|    |  | gtaaagtggg  | ttttttttcca  | agtagttttc  | tttttttagtt | tttttagaaac | aggggtctcat |      |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 960 |  |
|    |  | tctgttgccc  | aggctggagt   | gcagtgggtga | tcaactgcaac | cttgaactcc  | tggtgtgtgtg | 1020 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| 30 |  | tgtgtgtgtg  | tgtgtgtgtg   | gcgcaggggt  | cttccctacgt | tgccctagctg | cagtgcctgt  | 1080 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    |  | gtgcacacat  | gcgcacatgc   | gtgtgtgtgg  | agacagggtc  | ttgtctacgtt | gcctagctgc  | 1140 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    |  | aatacctggg  | tgtgtgtcatg  | tgtgtgtgtg  | tagagacaag  | gtccttgaaac | gttgtctagg  | 1200 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    |  | ctggcatgtg  | tgtgtgtgtt   | tatatgtatg  | tgtgtgttag  | cagggctcttg | ctacattgca  | 1260 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    |  | taggctggtg  | tgtgtgtttt   | tgtgtgtgtg  | gagacgggggt | cttgctacgt  | tgccctaaagt | 1320 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| 35 |  | gggcaagtat  | ttttcaactg   | cctctgaaga  | caaatcccaa  | ataacagttc  | caaaagctgt  | 1380 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    |  | ttcccataat  | tatcacatca   | ttagaagggt  | gaggcctact  | caccagggtc  | taagagccaa  | 1    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

|    |             |                    |             |              |             |             |      |
|----|-------------|--------------------|-------------|--------------|-------------|-------------|------|
|    | gtcaggatga  | catatgcgac         | cttccgccaa  | ggtagatact   | gcgggctatg  | caccaaagtc  | 2220 |
|    | tctgaggcag  | acatgtaagc         | gagctcttca  | cctatatattca | ttctttttcct | cctggacagg  | 2280 |
|    | ttacattttcc | cagttttcctt        | tgcagtttagt | tgtgggtata   | tgacagaatt  | ctcatcaatg  | 2340 |
|    | gaaatgtaca  | cagaagagag         | gtaagccact  | accaggccag   | gcctataaga  | cagcactttc  | 2400 |
| 5  | tacatgcttt  | ccccagacat         | agcaacccaa  | acatgaccac   | atcccttaag  | ggaagatgga  | 2460 |
|    | gctgaaaata  | atggaaggaa         | cttggaatgc  | tagaatgctg   | aattaccacc  | tgggagacag  | 2520 |
|    | ctaccactg   | acctggaata         | cctgtcctgg  | actgttacat   | gagcaagaaa  | tacacttcta  | 2580 |
|    | tttatgtatg  | agttacttca         | ttatcagata  | tttattacag   | cagtttagct  | acctaagatc  | 2640 |
|    | tctctctgcc  | tcagactgct         | tatctataaa  | atggaataac   | accatctact  | ccaaacatta  | 2700 |
| 10 | ttgtaaggat  | gaaatgagac         | aatgctgaaa  | agtgtttacc   | ataatatctg  | ccacacaata  | 2760 |
|    | agtaccccat  | atagtattttc        | tgtatttagta | agttacatga   | gagatttttct | tctttttaata | 2820 |
|    | catctgcatt  | tataaacatt         | ttacttttaac | ctcaacttcc   | ccagcactgc  | tctaccattt  | 2880 |
|    | tctgaatgtc  | attatgagag         | aaataaaaact | aattttctagg  | gccaggcatg  | gtggctcaca  | 2940 |
|    | cctataatcc  | cagcatttttg        | ggaggccaag  | gtgggaagac   | tgctttgagg  | tcaggatttc  | 3000 |
| 15 | aagaccaacc  | tgggcaacac         | agtaagaccc  | catctctata   | aaaaaatgaa  | gaaatcagag  | 3060 |
|    | ggtacagtgg  | cacatgcctg         | taatcccacg  | actcagaaaa   | ctgaggcagg  | aggatcgctt  | 3120 |
|    | gaaccaaggg  | gatcaaggct         | acagtgcagc  | atgatcacac   | cactgcattc  | cagcctgggc  | 3180 |
|    | acagagtgcg  | accctgtctc         | taaaaataaa  | aaatagggcc   | aggcacagtg  | gttgatgcct  | 3240 |
|    | gtgatcccaa  | cactttggga         | ggccaaggca  | ggtagatcac   | ttgaggtcag  | gcgtttgaga  | 3300 |
| 20 | ccagcttggc  | cgacatggca         | aaaccctgtc  | tctactaaaa   | tacaaaaatt  | agctgggcgt  | 3360 |
|    | ggtggtgcac  | gcctgcagtc         | ccagctactt  | gggaggctga   | ggcaagacaa  | tcacttgaac  | 3420 |
|    | ccaggaggcg  | gagggttcag         | tgagccaaga  | tggcgccact   | gcactcaaac  | agaatgaaac  | 3480 |
|    | tctgtctcaa  | aaaaaataaa         | ataaaataaaa | atttaaaaaac  | taattttcta  | taatccagtt  | 3540 |
|    | gtgaatttaa  | ccaatgtctg         | aaagaactat  | taaaagttaa   | aatgaatgga  | aaacagaata  | 3600 |
| 25 | aaggggtgac  | cagaacagat         | gtgatttttct | acttaaatct   | ttttttttaa  | ccccaaaatt  | 3660 |
|    | caaaactgct  | aatgtttttt         | aatacgaatt  | tctatctttg   | ataaggcaat  | ctgagtatta  | 3720 |
|    | cctttcaatc  | cttcaataaa         | agtatcccaa  | acagaagggc   | tattactgta  | actaagcttg  | 3780 |
|    | atactctcct  | tcgctctttt         | caag        |              |             |             | 3804 |
|    | <210>       | 26                 |             |              |             |             |      |
| 30 | <211>       | 3804               |             |              |             |             |      |
|    | <212>       | DNA                |             |              |             |             |      |
|    | <213>       | Homo sapiens       |             |              |             |             |      |
|    | <220>       |                    |             |              |             |             |      |
|    | <221>       | misc_feature       |             |              |             |             |      |
| 35 | <222>       | (2122)..(2131)     |             |              |             |             |      |
|    | <223>       | n is a, c, g, or t |             |              |             |             |      |
|    | <400>       | 26                 |             |              |             |             |      |
|    | ggcttctggc  | tctgagtgcg         | gtcctgctgc  | aaggtttcct   | agatgagcca  | ctgagactct  | 60   |
|    | aataagatcc  | agtggaaata         | accaggctct  | cgtcggaata   | taagtcccaa  | gggaagctgt  | 120  |
| 40 | gccagtcttg  | tgggcgactg         | cctgacttct  | cctttcattt   | cagcaccatg  | aagcttctca  | 180  |
|    | cgggcctggg  | tttctgctcc         | ttggctcctg  | gtgtcagcag   | ccgaagcttc  | ttttcgttcc  | 240  |
|    | ttggcgaggc  | ttttgatggg         | aaggcttcag  | aaggtttgca   | ggatttctga  | agagaaacat  | 300  |
|    | caccctggac  | ctgataaaact        | ggggaaaaatg | atgcttttcg   | aaggctgctt  | ttgaaccaca  | 360  |
|    | gagttgctag  | tgtctgcgtt         | gctgaggcct  | gccaggaaact  | agggtttgct  | gggttgcttg  | 420  |
| 45 | tctcgagtct  | ttcagagctg         | ctgggaatat  | cccctttccc   | cgtagtgcag  | cttctcagga  | 480  |
|    | tgtgttaagt  | ggatggatca         | catttcagaa  | gccgctgcaa   | ggtgtatcaa  | aaacacatct  | 540  |
|    | cctgagccgt  | aagggcaggg         | gcattccagta | acaacgcaca   | cgggggtattt | ttgggcttcc  | 600  |
|    | ttaagatttg  | agccgctgcc         | ttaggttgtg  | ctgccaatg    | tgctggggga  | gctgctaaac  | 660  |

|    |             |             |            |             |              |              |      |
|----|-------------|-------------|------------|-------------|--------------|--------------|------|
|    | agattagaga  | gtcagaggatt | gttgtcagtt | actcagagaa  | agaacaatca   | tcctttccag   | 720  |
|    | gagcacctga  | gctgtttgtt  | ttgcgtagaa | gatgcaaaat  | aaggcctgca   | atgggtataa   | 780  |
|    | aatgtccctc  | agcataaatc  | gcataggagt | atgactaagg  | ctgttgactc   | ttctgtcttc   | 840  |
|    | tttctccttc  | ctccttcgat  | ttcctagtgt | gataatgtac  | agggctcttt   | agcctcgctc   | 900  |
| 5  | tgtcaggggc  | tcccttcctg  | gtttgttctg | tttccattct  | tccttctcca   | gccttcttga   | 960  |
|    | caagagctgg  | gaactaacgt  | gcctcaagcc | cccacaagga  | ccacagcatt   | ttctcattta   | 1020 |
|    | gtttcagaat  | gactctgtga  | cgcaatcttc | ctctcttgga  | aggtgagaaa   | gctgatcttg   | 1080 |
|    | gaaggtgaga  | aagctgagac  | ttagagcagc | tgaagccaat  | gccaggggac   | ttactgccag   | 1140 |
|    | tcagcaggtg  | gcagggcaga  | ggtttgagcc | cggctgtgct  | tgaggtcagg   | gctcttgcca   | 1200 |
| 10 | ggtagacgca  | tcactgacca  | cctcctagag | gttgatgggt  | atgaatctca   | ggcacacctt   | 1260 |
|    | ggcatcacct  | gaaataccca  | tgccttcaac | tcccacagcag | agtctgcaga   | aactggcctg   | 1320 |
|    | gggtgtggcc  | tgggcactgg  | gactttcagt | ttctctctgg  | gtgattagaa   | agtgcagcca   | 1380 |
|    | aggctcacgc  | ctgtaattcc  | agcactttgg | gaggccaagg  | tggatgaatc   | acttgaggtc   | 1440 |
|    | atgagttccg  | gagcagcctg  | gccaacatgg | tgaacccccg  | tctctactaa   | aaatactaaa   | 1500 |
| 15 | atgtagccag  | gcgtggtggc  | aggcacctgt | aatcccagct  | actcaggagg   | ctgaagcacg   | 1560 |
|    | agaatcactt  | gaacccgaga  | agcagaggtt | gcagtgacta  | gagatcgcac   | cagtgtcctc   | 1620 |
|    | caacctgggt  | gacagagcga  | gactccatct | aaaaaaaaatg | aaaaagaaaag  | tgcagccaag   | 1680 |
|    | gcagagcacc  | actgccctat  | tgcttcctca | agcaaccac   | agcatcagta   | cagcctacta   | 1740 |
|    | agaaagtatt  | tagggacttt  | tatgctccta | acagtcactg  | gaactcacgt   | cacaatgacg   | 1800 |
| 20 | tgtattccat  | ttgcaagaat  | atatacttta | ggtcgggggtg | cggtggtctca  | cgctgtaat    | 1860 |
|    | cccagcactt  | tgggaggcca  | aggcaggggg | atcacgaggt  | caggagtctg   | agaccagcct   | 1920 |
|    | gaccaacatg  | gtgaaatccc  | cgtctctact | aaaaatacaa  | aaattagcca   | ggcgtgatgg   | 1980 |
|    | cgcatgcctg  | taatctcagc  | tactcaggag | gctgaggcag  | aagaatctct   | tgaacctggg   | 2040 |
|    | aggtggagggt | tgcgatgagc  | tgagatagca | ccactgcact  | ccagcctggg   | cgacagagca   | 2100 |
| 25 | agactctgtc  | taaaaaaaaa  | annnnnnnnn | naaaaaaaaaa | aaaaaaaaaaaa | aaaaaaaaaaaa | 2160 |
|    | aaagaatata  | aacttttagta | gtcagggcag | aagtactctg  | tgtctgccac   | ctttctcagc   | 2220 |
|    | atcagtattc  | catgtcacta  | cctcattcat | acacactcct  | ggatcttatc   | ataggcagct   | 2280 |
|    | tcattctata  | gcagtggctc  | ttcaccaggg | cacttgaaga  | agccaactag   | gataaaggaa   | 2340 |
|    | tgtgcttctc  | aacccatggg  | atccaaggct | gctatgatca  | caggctgaaa   | gcttgaagtc   | 2400 |
| 30 | agtggaagat  | ttgtccttcc  | tcattcccct | ctaagggtgt  | gttgaggctc   | ttatgttctc   | 2460 |
|    | ctgatgtccc  | ttctgccttt  | cctttccttt | ccaggggctc  | gggacatgtg   | gagagcctac   | 2520 |
|    | tctgacatga  | gagaagccaa  | ttacatcggc | tcagacaaat  | acttccatgc   | tcgggggaac   | 2580 |
|    | tatgatgctg  | ccaaaagggg  | acctgggggt | gcctgggctg  | cagaagtgat   | caggtaactg   | 2640 |
|    | gagctcctgg  | gacgttaggg  | ctgggtgagc | agagcttgcc  | tgccttggaac  | agtcaggagg   | 2700 |
| 35 | gagacgagct  | ccttgtggag  | aagttagagg | ctgcggcccc  | tcctcctctt   | gccctctctc   | 2760 |
|    | tgcctctgtg  | ctcagtgtga  | ggtctgagtg | gatggtagga  | gtgagtgatt   | cctcatcctc   | 2820 |
|    | cctctctggg  | tgctgttcat  | ccagcctagg | ggtgccagc   | ctggctgaat   | ggggtggtgc   | 2880 |
|    | ccagtgtttt  | catccctcct  | tccttggcct | ttctgggctc  | ctctctgagc   | cctcccttgg   | 2940 |
|    | aacagggaga  | atgggagggt  | gggctattgc | tactggcct   | gattattaat   | ctccttcttg   | 3000 |
| 40 | cctgccttga  | ttacagcgat  | gccagagaga | atatccagag  | attctttggc   | catggtgcgg   | 3060 |
|    | aggactcgct  | ggctgatcag  | gctgccaatg | aatggggcag  | gagtggcaaa   | gaccccaatc   | 3120 |
|    | acttccgacc  | tgctggcctg  | cctgagaaat | actgagcttc  | ctcttcactc   | tgctctcagg   | 3180 |
|    | agatctggct  | gtgaggccct  | cagggcaggg | atacaaagcg  | gggagagggg   | acacaatggg   | 3240 |
|    | tatctaataa  | atacttaaga  | ggtggaattt | gtggaaactg  | ggtgttatac   | tttgtggtat   | 3300 |
| 45 | agactgcctg  | tttagtatga  | aggggcgatc | catgcacatc  | taagtgaacg   | tggaggctgg   | 3360 |
|    | gtgggtggga  | gacgactcct  | gggcacacag | ggcatcctgg  | gcatccctga   | ggcaaggaca   | 3420 |
|    | tgatgagttc  | agtggccacc  | cccacaggat | cccaggggct  | tcagcagatc   | ccacccttta   | 3480 |
|    | cccatgtga   | gcagctgccc  | agtgagtctg | taggaaccgc  | agccacattc   | ccagtgagtt   | 3540 |

|    |             |              |            |             |             |             |      |
|----|-------------|--------------|------------|-------------|-------------|-------------|------|
|    | caactgcacc  | cgggcacggt   | ttgctagcac | ctcaatggag  | agctccttgc  | ttgcagcttt  | 3600 |
|    | ggcttgtggc  | acccagcaaa   | agcttcctgc | cacccagtgg  | ctacagccac  | acactctcca  | 3660 |
|    | gcaagattta  | atctcagcct   | tgtgaggagc | cctttcccaa  | atttatttct  | ttctgtgttt  | 3720 |
|    | tttatccctt  | agtagcta     | ctcatgttag | ccattaataa  | ctctctatgt  | taaacccttc  | 3780 |
| 5  | cttttgtatc  | tgcggctaca   | ttga       |             |             |             | 3804 |
|    | <210>       | 27           |            |             |             |             |      |
|    | <211>       | 3804         |            |             |             |             |      |
|    | <212>       | DNA          |            |             |             |             |      |
|    | <213>       | Homo sapiens |            |             |             |             |      |
| 10 | <400>       | 27           |            |             |             |             |      |
|    | gtataaatgc  | agaggtgcag   | taactgggct | tttcaggata  | tccagatgga  | gttgtgggtg  | 60   |
|    | tgttttgctt  | gtggttttta   | acgttaactt | ttttttcccc  | tttattttta  | gagaagcaca  | 120  |
|    | aaatgaacaa  | actagtggc    | ccagcaacat | ggatggaaat  | tccggagatg  | cagactgctt  | 180  |
|    | tcagccagca  | gtcaaaaggg   | tatgggcaaa | aaaatatgaa  | ccatttgggg  | ctcaagtttc  | 240  |
| 15 | tccaaatact  | ttatgtgact   | gcaagtactg | tatacgctta  | tttctgtgta  | ctcagttctt  | 300  |
|    | ctaactaaga  | tgttaagcat   | ttggcttaaa | gtgtatagca  | ttacaaagag  | tatttcccca  | 360  |
|    | gctttggctt  | gccagccaac   | tttccattga | ctctagcctg  | ttagccattt  | ttattgtttt  | 420  |
|    | ttgtttgttt  | gtttgtttgt   | tttcttcaca | tgtacacata  | catacagatt  | gttcttatat  | 480  |
|    | gtgattttgt  | tctctgggaa   | taaaatcttc | attcaacaga  | ggcaatatga  | cagaaaaacc  | 540  |
| 20 | gaagtttcat  | gtatatgatt   | tttcaaagaa | agtgaattgg  | ccctcatgtt  | aaacctagca  | 600  |
|    | tttcagagct  | gaaagtgtct   | tctcattaaa | tattgaagaa  | atcatttgag  | gggtgtggaga | 660  |
|    | aggatggaca  | gaattagctg   | cttgtgtatt | tattcttctc  | ctgcaacttt  | gccacgctat  | 720  |
|    | tttgtacctc  | ccttccta     | tatgataaag | ccttcttaga  | gagcagtcag  | gcaatgtgta  | 780  |
|    | ttaaatgttt  | aaagctttac   | acccttagtt | ctacttgtgg  | acattttattt | cttaagaaag  | 840  |
| 25 | atgtatacta  | agatttagat   | agaaatattc | attacagtat  | cataataaag  | acagtagcaa  | 900  |
|    | ggattctgtt  | atctgtgttg   | cattaataca | atagagattg  | atgcaactgt  | tcattatttt  | 960  |
|    | gaaagcatta  | atgataatat   | tgcacaaag  | agttcactga  | acagattgta  | cagtacagtt  | 1020 |
|    | ttacacacaa  | aaaaaatagt   | ttgtgagctt | taaaagggcc  | ttcaaatgaa  | tatgctaaac  | 1080 |
|    | ggttatcttt  | caataaagag   | agtatgggta | agtccttaatt | tctttcattt  | atttcagtaa  | 1140 |
| 30 | tttaatgttt  | ttgttgttgt   | tattgtttgt | ttttttgaga  | cagagtcttg  | ctctgtcacc  | 1200 |
|    | caggctggag  | tgcagtgggtg  | caatctcagc | tactgcaat   | ctcggctcac  | tgcaacgtct  | 1260 |
|    | gcctcctgga  | ttcaagcaat   | tcttctgcct | cagcctccgg  | agtagctggg  | attacaggcg  | 1320 |
|    | tgcaccacca  | tacctagcta   | atttttgtat | tttttagtaga | gacggagttt  | tgccatattg  | 1380 |
|    | gccaggtgg   | tgttgaaactc  | ctggcctcat | gtgatccgcc  | catctcagcc  | tcccaaagtg  | 1440 |
| 35 | ctgggggttac | aggcatgagc   | cactgtgcca | gcctatttca  | gtaacttaat  | gtttttacag  | 1500 |
|    | gcatgtatta  | cctataaaat   | taataaagcc | agtgaggat   | ttcttttttg  | aactaaagca  | 1560 |
|    | aagctaataa  | taagttatag   | agaagttaga | gaagaaatct  | attaagtgat  | actttctttg  | 1620 |
|    | tatactgttg  | ggctgagtag   | ccttgattct | tgggtgtgaa  | caagttatca  | gaaatttctt  | 1680 |
|    | ggccaggagc  | cgtggctcac   | acctgtagtc | ccagcacttt  | gggagtccaa  | gggtgggtgga | 1740 |
| 40 | tcacttgagg  | tcagaatttc   | tagatcagcc | tggccagcat  | ggtgaaaccc  | tgtctctatt  | 1800 |
|    | aaaaatacag  | aaattagcca   | ggcatggtga | cgtgcgcctg  | taattccagc  | tacctgggag  | 1860 |
|    | gctgaggcag  | caaaatcact   | tgaacctggc | aggcggagtt  | cgagtgagc   | tgggatcgcg  | 1920 |
|    | tcgctgcact  | ccagcctgga   | tgacagagca | agactccatc  | tcaaagaaaa  | aataaaaaag  | 1980 |
|    | aaatttattt  | acttgtgtga   | attttttaca | tacagatgct  | tctcgactta  | aatggggcta  | 2040 |
| 45 | catcccaata  | aactcataag   | ttgcaaatac | tgtaaatcaa  | aaatgcattg  | aatacaccta  | 2100 |
|    | atgtatggaa  | caccatagtt   | tagcctatcc | tactttaaat  | gtgttccgaa  | cacttagatt  | 2160 |
|    | agcctgtagt  | tgggcagcat   | tacctactat | aaagtgtatt  | ttctaataaa  | atgttgaata  | 2220 |
|    | tctcatgtaa  | ctcattgaat   | actgaaagtg | aaaaacaatg  | tatgggtact  | caaaatatgg  | 2280 |

tttctctact gaatgtgaat cactttgaca ccatcataaa gttgaaaaat tccaagtcaa 2340  
 accattgtaa gtcaggggct atcagtattc agtggtaa at gctggctcta actattcttc 2400  
 caagtcagt gttgactgct gtttattcta taaagggtta caatttatag attctctcac 2460  
 ttgtagaatg agagattcag aattaatagc agacagagtc cctaccttga tggagctttc 2520  
 5 atttaagtgt gaaagtcagg tgacctaa ca aggccttggc ataagtttag gatttggatt 2580  
 gttatgggag cttgggtagg gacatgtcat aggtaaggca acagcagggg tagagataag 2640  
 cttgacatat gtcaaaaatc atgaagacat cagtaatcct tgaagttggc tgaaaggtat 2700  
 agagttgaga aagtagtta aaaaaaaaaa gtcaggctga gtctaggtaa ggatgtgttt 2760  
 ctctgaggtc agatttggtc ctgtaccata aagggactat ttagaatctt aaagctggag 2820  
 10 caatttataa cgttaagttt tcagattgag gtcagatttg tgacttcatg tgaggtcaga 2880  
 tttgttcctg taccataaag ggactattta gaatcttaaa gctggagcaa tttaaaacgt 2940  
 taagttttca gattgacgtt ttttgaggta tagttaataa cctgaatgtt ctgattctag 3000  
 tcttggtagt caataagagt tgaccagatg aatttcatag cttttagtag gatgaaatat 3060  
 ttcaaggctg atttgcacaa atgtttacat agatcatgta tctttcataa gtaatatgtt 3120  
 15 tgtattatta caaggctgta aaaatttaag cagggttgta atagcacagg gggtaacaga 3180  
 ttaataaaat taatgaataa aattactaaa agagtccaga agtaaacc ca aatacgtgga 3240  
 ggaattaagc atatgtatga tacacatgac attttaaaaa tcagtgggaa aaggtaaatt 3300  
 attttacaaa tgggtgttaga agcactgatt gataattttg ttaaaagaaa cttagattcc 3360  
 ctattttact cctaatacaa aataaattct gagtggatct aagattaagc aaaaattaag 3420  
 20 ccggaagctg agcatggtag catgtgtctg taatctccgc aatttaggag actgagtttg 3480  
 gctggggagg tgggtgatatg cgcctagaaa aaaaaaattt ttaagccac agatgtataa 3540  
 gcaaaaagcg ggcaaagagg cggaattttt tttttttttt ttgatgaagt ctacttgctc 3600  
 gcccgagctg gaacgcagtg gcgtgatctc agctcactgc aacctctgcc tcccgggttc 3660  
 aagcgattct cctgcctcag cctcccaagt agctgggatt acaggcacct gccgaggaga 3720  
 25 ggattttttt ataattaaaa caaaacaaaa caaaaaaaca ccaaactgga agataaagta 3780  
 tttacaacat gtaaaagact gttt 3804

<210> 28

<211> 122

<212> PRT

30 <213> Homo sapiens

<400> 28

Met Lys Leu Leu Thr Gly Leu Val Phe Cys Ser Leu Val Leu Gly Val  
 1 5 10 15

35 Ser Ser Arg Ser Phe Phe Ser Phe Leu Gly Glu Ala Phe Asp Gly Ala  
 20 25 30

Arg Asp Met Trp Arg Ala Tyr Ser Asp Met Arg Glu Ala Asn Tyr Ile  
 35 40 45

Gly Ser Asp Lys Tyr Phe His Ala Arg Gly Asn Tyr Asp Ala Ala Lys  
 50 55 60

40 Arg Gly Pro Gly Gly Ala Trp Ala Ala Glu Val Ile Ser Asp Ala Arg  
 65 70 75 80

Glu Asn Ile Gln Arg Phe Phe Gly His Gly Ala Glu Asp Ser Leu Ala  
 85 90 95

45 Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys Asp Pro Asn His  
 100 105 110

Phe Arg Pro Ala Gly Leu Pro Glu Lys Tyr  
 115 120

<210> 29



<211> 122  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 29

5 Met Lys Leu Leu Thr Gly Leu Val Phe Cys Ser Leu Val Leu Gly Val  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Arg Ser Phe Phe Ser Phe Leu Gly Glu Ala Phe Asp Gly Ala  
 20 25 30  
 Arg Asp Met Trp Arg Ala Tyr Ser Asp Met Arg Glu Ala Asn Tyr Ile  
 10 35 40 45  
 Gly Ser Asp Lys Tyr Phe His Ala Arg Gly Asn Tyr Asp Ala Ala Lys  
 50 55 60  
 Arg Gly Pro Gly Gly Ala Trp Ala Ala Glu Val Ile Ser Asp Ala Arg  
 65 70 75 80  
 15 Glu Asn Ile Gln Arg Phe Phe Gly His Gly Ala Glu Asp Ser Leu Ala  
 85 90 95  
 Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys Asp Pro Asn His  
 100 105 110  
 Phe Arg Pro Ala Gly Leu Pro Glu Lys Tyr  
 20 115 120

<210> 30  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 30

25 Met Lys Leu Leu Thr Gly Leu Val Phe Cys Ser Leu Val Leu Gly Val  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Arg Ser Phe Phe Ser Phe Leu Gly Glu Ala Phe Asp Gly Ala  
 20 25 30  
 30 Arg Asp Met Trp Arg Ala Tyr Ser Asp Met Arg Glu Ala Asn Tyr Ile  
 35 40 45  
 Gly Ser Asp Lys Tyr Phe His Ala Arg Gly Asn Tyr Asp Ala Ala Lys  
 50 55 60  
 Arg Gly Pro Gly Gly Ala Trp Ala Ala Glu Val Ile Ser Asp Ala Arg  
 35 65 70 75 80  
 Glu Asn Ile Gln Arg Phe Phe Gly His Gly Ala Glu Asp Ser Leu Ala  
 85 90 95  
 Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys Asp Pro Asn His  
 100 105 110  
 40 Phe Arg Pro Ala Gly Leu Pro Glu Lys Tyr  
 115 120

<210> 31  
 <211> 5687  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 31

ctctctgggtt gcccttaaca ttttttcctt catttcaact ttggtgggtc tgatgattat 60  
 gtgtcttggg gttgctcttc tcgaggagta tcttagtagt attctctgta tttcctgaat 120

|    |             |            |             |             |            |            |      |
|----|-------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|------|
|    | ttgaatgttg  | gcctgtcttt | ctaggttggg  | gaagttctcc  | tggataatat | cctgaagagt | 180  |
|    | atTTTTcaac  | ttggTtctat | tctccttggt  | actttcaggt  | acaccaatca | aacgtagatt | 240  |
|    | tggtcttgtc  | acatagtccc | atatttcttg  | gaggTtttat  | tcgttccttt | ttattctttt | 300  |
|    | ttctctagtt  | ttgtcttctc | gctttatttc  | actaagttga  | tcttcaatct | ctgatatcct | 360  |
| 5  | tgttctgct   | tgattgattc | agctatcccc  | cgctcgatat  | tacaaacct  | gtcacgaggc | 420  |
|    | gtggacaccc  | cccatgatat | ggggaggtatt | atcaccccc   | tcttccccca | ctggatatta | 480  |
|    | caaacctatg  | catagggagg | tgacatccc   | ccacaatatg  | aggagtaata | tcacaccct  | 540  |
|    | ttccccgcag  | tgatattat  | gaacctatgtc | acaggcggtt  | aaacaccccc | aacgatatgg | 600  |
|    | ggagtaatat  | cacactctc  | tccccctgg   | atattacgaa  | ccatgtcatg | gggggtggac | 660  |
| 10 | accctttgca  | atatggggag | taaaatcacc  | cccctctccc  | ccaactggat | attatgaacc | 720  |
|    | atgtcacagt  | gggggaaaaa | tcctctgtga  | tatgcagagt  | aatatcacc  | cactctcacc | 780  |
|    | acctggatat  | tacgaacct  | gtcacagggg  | ggtggacacc  | ccccaagatg | ggggagtaat | 840  |
|    | atcacctcac  | tctctgccac | cagatattac  | aaactgtgtc  | acaggggggt | gaacaacccc | 900  |
|    | cacaatatgg  | ggagcactat | cacccccctc  | ccccagggta  | ttatgatcca | gtcacaggg  | 960  |
| 15 | gggtggatac  | cacccactat | atggggagta  | atatcacctt  | tctctccgc  | cctggttttt | 1020 |
|    | atgaaccgtg  | tcacaggggg | gtggacaccc  | cttgcgatat  | ggggagtaat | atcaccccc  | 1080 |
|    | tctccaccat  | ctggatatta | cgaacctatg  | cacagggggg  | tgacacccc  | tgcatatgg  | 1140 |
|    | ggaggaatat  | gccccctctc | ccacctggat  | attacaaatc  | atgtcacggg | ggacggacat | 1200 |
|    | ccccacaaat  | atggggagta | atatcaccac  | actctcccc   | gctggatatt | acgaaccata | 1260 |
| 20 | tcacaggcgg  | ctggagacac | aaggcattaa  | caatatttcg  | agtaatatta | tctttccctt | 1320 |
|    | tgaacattat  | gaacaatatg | acagaggggt  | gtacacctcc  | tgcatattg  | ggagtaatgt | 1380 |
|    | catccccctc  | ccactggat  | attaggaacc  | atattactgg  | gggatgtatt | cccccttcta | 1440 |
|    | gattgggagg  | aagatcatac | ttgccctccc  | tgaatatattg | aaacaatatc | ataggggttt | 1500 |
|    | gtacactttt  | acgatattgg | gagtaatatc  | atcctttctc  | cccctggaaa | ttaggaacaa | 1560 |
| 25 | tatcacaggg  | gtggtgtaca | cccctgcaat  | atttagggta  | atattattgt | cttctccct  | 1620 |
|    | cgatattagg  | aacaatatta | caaggacggg  | gtaaagtacc  | tgccaaattg | ggaaaaatac | 1680 |
|    | tatcctctcc  | ctcttgata  | ttagaaacaa  | taacacaggg  | ggaatgtaca | ccactgcca  | 1740 |
|    | tattgggagt  | aatatcatac | tcgccccatc  | ccccagatat  | taggaacaat | atcacagcag | 1800 |
|    | gggtgtacac  | ttttacgata | ttggggagtaa | tatcatactc  | tctccccctg | gaaattagga | 1860 |
| 30 | ataatatcac  | agagatggtg | tagacctct   | gcaatactta  | ggataatatt | atcatctccc | 1920 |
|    | ccctcgatat  | taggaacaat | attacgggga  | gtgtaaatta  | cctgccaaat | tgagggtaat | 1980 |
|    | cctctcctct  | ctctccctgt | atttttagaaa | atataacaca  | caggaaatgt | acaacactgc | 2040 |
|    | gatattcgga  | gtaatatctt | cttctcccca  | cctggatatt  | aggaacaata | acacggacgg | 2100 |
|    | ggcgtacacc  | cctcgcgata | ttgaatgtaa  | tgcatcctc   | tccctccctt | tatattacga | 2160 |
| 35 | acaatatcac  | aggggggtgt | acaaccctg   | caatattgga  | agtagtatca | tccattctcc | 2220 |
|    | catgaatatt  | aggaacaata | tcacaggggt  | agagtacacc  | ctctgcaatt | tcgggagtaa | 2280 |
|    | catcatcctc  | tcgttccctg | gatattataa  | acaacaccac  | gggggggtgg | gggtgtacac | 2340 |
|    | acccttcgat  | attgggagta | atataatcct  | ttccctccct  | atatattaga | agcaatatca | 2400 |
|    | caggggttgg  | tgtaaacttc | ttgcgatatg  | gggattaata  | tcacccccct | ctctgcct   | 2460 |
| 40 | ggatattatg  | aaccatatca | cagggaggtg  | gacacacttt  | gcgatatggg | gagtaatatc | 2520 |
|    | acgccccctc  | cccccccgat | attacgaacc  | atatcacaag  | ggagtggacc | ccccccacga | 2580 |
|    | tatggggagt  | aatatcacc  | ccctctcccg  | ccctggatat  | tacgaacct  | atcacagggg | 2640 |
|    | gatggacacc  | ccccgcgatg | cggggagtaa  | tgacaccccc  | ttctgcccc  | taggatatta | 2700 |
|    | cgaacctatat | catggacacc | ctccacgata  | ttggaaataa  | tatcatcctc | ttccccttgg | 2760 |
| 45 | atattaggaa  | caatatcaca | gggggttgta  | cacctcctat  | gatattggaa | gtaatatcat | 2820 |
|    | cctctccctc  | ctggatatta | gcaacaatat  | cacagggagt  | gtgtacaacc | ccagcgatat | 2880 |
|    | ttggagtaat  | atcacccctc | caccccatgg  | atatgagaaa  | caatatcaca | ggggaggtgt | 2940 |
|    | acatcccacg  | tgatattgtg | tgtaatatca  | ttcttcccca  | accctgcaa  | tattgtggtg | 3000 |

|    |             |             |             |             |             |             |      |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
|    | taatataatt  | ctctcccttc  | ctggacatta  | tgaacaatat  | cactactagg  | tgatacatta  | 3060 |
|    | ggagtaaatgt | atccatagga  | tattatgagg  | aatatcacag  | ggtgtacacc  | cactgtgata  | 3120 |
|    | ttagaggtaa  | tatctcccta  | aaatattaag  | aagaatatct  | tacacccact  | gtgactttag  | 3180 |
|    | aagtaatatc  | tccctaatac  | gttacaaata  | acatcgcagg  | gtgtacactc  | acagtgatat  | 3240 |
| 5  | taggagtaat  | atctccctag  | aatattacaa  | atacacatgg  | tgtaaaccce  | ctgtgacttt  | 3300 |
|    | agaagaacta  | tctccctaata | ataatacaaa  | aatatcgcag  | tgtataccat  | aatatcccct  | 3360 |
|    | agaatatcat  | aaataaatatc | acaggggtgta | caccactgtg  | gataatagga  | ataataccac  | 3420 |
|    | cccaggatat  | tatgaataat  | gtcacagggt  | gtacacccac  | tatgacatta  | ggagtaatat  | 3480 |
|    | ctccctagga  | cactatgaat  | aacatcacag  | attttacacc  | catgggtgtg  | accactatg   | 3540 |
| 10 | atattaggag  | taatatctgc  | acaggatata  | acaaataata  | gtacaggggtg | tacacatatg  | 3600 |
|    | atatacaccc  | actgtgatat  | taggagaaat  | atatccctag  | gatattatga  | ataacctctc  | 3660 |
|    | agagtacaca  | cacatgggtat | acaccctctg  | tggcattagg  | aacaataact  | ttctaaaaca  | 3720 |
|    | ttacgaataa  | catcacagaa  | tgtacacaca  | tggtttacac  | ccactgtgac  | aggtgcaata  | 3780 |
|    | tctcccttgg  | atattatgaa  | taacaacaaa  | ctatcactgt  | catattagga  | gtaatttctc  | 3840 |
| 15 | cctagaatat  | tacaaataac  | atcacagggt  | gttcattttat | ggtgcacacc  | cactgtgata  | 3900 |
|    | ttaggagtaa  | tatctcccta  | ggatattact  | tttcatataa  | aagtgtgtac  | atccactgtg  | 3960 |
|    | atattgggaa  | aaatattttct | ctaggatatt  | atgaataata  | tcacagagcg  | tacacccact  | 4020 |
|    | gtgatattag  | gagtaataat  | tccctggggt  | attatgaata  | atatcacagg  | atgtacaacc  | 4080 |
|    | actgtgatat  | taggagcaat  | atcttcctag  | gatattacaa  | ataatatcac  | aggggtgtaca | 4140 |
| 20 | cccactgtga  | tattaaagta  | atttttaggt  | tattgtgaat  | aatatcacca  | agtgtacaaa  | 4200 |
|    | catgggtgtac | actcactgtg  | atatcaggag  | taatatctca  | gtaaaatatt  | atgaataata  | 4260 |
|    | tcacagggtg  | tacacccact  | gtgatattag  | cagtagtatc  | tttgtaggat  | attacaaata  | 4320 |
|    | atatcacagg  | gtgtatgccc  | actatgacat  | tagaagcaat  | atctccctag  | gatatcaaaa  | 4380 |
|    | ataatatcac  | aggggtgtaca | acttctacat  | cccagggttct | aagggtattct | cctgcttcag  | 4440 |
| 25 | cctcctgagt  | ggctgggatt  | acagatgccc  | accaccacac  | ctgggctaatt | tcgtatttttc | 4500 |
|    | agtagagatg  | gggtatcacc  | atgctggtca  | ggctggtctg  | gaacttctga  | cctcagggtga | 4560 |
|    | tccaccagcc  | tccgcccctcc | aaagtgtctg  | gaatacagg   | gtgagccaac  | gtgcttgcca  | 4620 |
|    | gagagttata  | tattaaataa  | atctggaaac  | atagctccca  | tgtttgagt   | tgcatcttact | 4680 |
|    | tttatgaaga  | aattatgtca  | gaaaacctaa  | ggatgataat  | aaatatgaaa  | agtaactggc  | 4740 |
| 30 | atgtaaaaag  | gtcttttgat  | taagaactat  | aagggttcgat | ttcatttttta | gataacgtga  | 4800 |
|    | tcctagctct  | tgtatagtgc  | ttataaatat  | tctacatcaa  | aggaatttgt  | tgacacagtgt | 4860 |
|    | cagaataaaa  | taaagtgtat  | ttcactgctt  | cttaattttt  | aaattagact  | gagtttgttt  | 4920 |
|    | tcctagagag  | agaagaacat  | tttttatttt  | ttctgaaaag  | agtaggcat   | attttactga  | 4980 |
|    | gatcttagat  | ttgttatata  | ttagggtttt  | gtcttctaac  | attctccagt  | ggattttctc  | 5040 |
| 35 | taaagtaggt  | atgcacagaa  | agagttgaat  | agcaaaaaag  | taaatcatgt  | aataattctg  | 5100 |
|    | agatttttgg  | gtttgtcaca  | actgagaaat  | attgctgagg  | gtgtatggc   | ctcaagtgtg  | 5160 |
|    | aaaatgttcc  | ttgtgaattg  | cttgtatccg  | aaatatacac  | acaacattaa  | gtcctggttt  | 5220 |
|    | ttatctttta  | ttttttccaa  | tccttttttc  | ttctcaagg   | gtccaagtca  | cacagagcca  | 5280 |
|    | cagaatctca  | cagggtgtct  | agaattcctc  | ctcctgggac  | tctcagagga  | tccagaactg  | 5340 |
| 40 | cagccactcc  | ttgctgggct  | gttcctatcc  | atgtgcctgg  | tcacgatgct  | ggggaacctg  | 5400 |
|    | ctcatcatcc  | tggccgtcag  | ccctgactcc  | cacctccaca  | tccccatgta  | cttcttctct  | 5460 |
|    | tccaacctgt  | ccttgccctga | cattgggtttc | accttgccca  | cgggtcccaa  | gatgattgta  | 5520 |
|    | gacatgcaat  | cacatagcag  | agtcacatcc  | catgcaggct  | gtctgacaca  | gatacctttc  | 5580 |
|    | tttgtccttt  | ttgtatgtat  | agatgacatg  | ctcctgactg  | tgatggccta  | tgactgattt  | 5640 |
| 45 | gtggccatct  | gtcaccctcc  | gcactaccca  | gtcatcatga  | atcctca     |             | 5687 |
|    | <210>       | 32          |             |             |             |             |      |
|    | <211>       | 5687        |             |             |             |             |      |
|    | <212>       | DNA         |             |             |             |             |      |

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 32

|    |            |            |             |             |             |            |      |
|----|------------|------------|-------------|-------------|-------------|------------|------|
|    | attgaatttt | atctcagagc | ccacatgaag  | caggatcaaa  | gtcagtacac  | atgaaaacta | 60   |
|    | gagcccaaag | actataaagc | atgaaataag  | gattttaagct | aaccctatct  | tgtaaggggt | 120  |
| 5  | ttgtaaagcc | cagcttgcat | ctgagctaca  | ctagcaccag  | gacagccact  | cagtaatggg | 180  |
|    | gtttctcaag | gttattgctt | ttcattcagt  | tgaaatgaga  | gtcatttctt  | acccttatgc | 240  |
|    | cctgtgagat | ttcactggag | gttgttcact  | gaaacatttt  | catatcattg  | catcaaccct | 300  |
|    | cttgaactca | ctgtgcctgc | ccccagttca  | gtctgtgact  | cacaagtacc  | ctgcagcaaa | 360  |
|    | agaaatccaa | tagagggcaa | atccctcacc  | ttaccttctt  | ttctaagacc  | tttgatgttc | 420  |
| 10 | tcatgtgtca | tttcataatt | gggattgtca  | attagtcgcc  | tcatctctgg  | tcctcacttt | 480  |
|    | cctctctccc | agccaaactc | aaccttcagc  | ccacacaatg  | gaattcaaca  | aaatgaggta | 540  |
|    | acagttttct | gtgtgagtca | ctctgggcaa  | ctctgttcac  | agagcactgt  | gaggtgagca | 600  |
|    | gccagaaccc | aggcaagtgt | ttcagccatc  | caagaactgg  | caggcagccc  | aagagacact | 660  |
|    | ctcacctgat | gacagactag | caggatgagt  | cctggaggaa  | atggttccca  | acagctgcag | 720  |
| 15 | aaggagtctc | ttggctcatg | cacagcaatg  | ctcttctcaa  | ttaaaaacgt  | tgctattatt | 780  |
|    | gacactgcag | tgtaaaatcc | ttttacactg  | tgctcacatt  | tctacaggcc  | ttcacctgct | 840  |
|    | ctgcccatta | aagacaagac | ccttccatga  | gatgatgaca  | tctctaagtt  | actgttccac | 900  |
|    | ccaaacagtc | ctatataatg | aagagaaaaa  | ttttgctggc  | cctcaaaagg  | caaacacaag | 960  |
|    | gagaaagatt | tccacaagct | gtttctcttt  | gctgagcact  | tagaggaaaa  | ctgtaagtgg | 1020 |
| 20 | ttggaagaag | gctttgtttt | ctacaagact  | tttagttatt  | cctcagaaat  | tttcctgctt | 1080 |
|    | attcccagag | gaggtcatct | cttagatgct  | gtcagtcaga  | tagggattgg  | cagccaagca | 1140 |
|    | gaggtgctca | gagaggtttc | caactaatgt  | ggccagcgga  | aaactgcaa   | agaagcaggg | 1200 |
|    | atccttagga | caaataaact | ggaagatatt  | ttggggataa  | aaataaatcc  | ttttgaaaat | 1260 |
|    | gaaagatgga | gagatgctgt | atatacaaat  | tgccctgttc  | tgaacaatgt  | tgctactagg | 1320 |
| 25 | actggccctg | gagaccaatg | atacaaacca  | aaatgttctc  | agacatgctt  | tgatggctct | 1380 |
|    | tttctccaaa | gttatctatt | ctgtttccat  | ttcattctca  | caggacttgc  | catggggttc | 1440 |
|    | tcataagatt | tcacattggg | cataatccag  | gtggccctgg  | actgcaacct  | ctgagttggc | 1500 |
|    | aacatcagaa | taggaattac | gaaaaaccaa  | tttaaagtta  | aatacagaca  | caggcaaaag | 1560 |
|    | agagatgggt | tgtcgaagct | agtgcctagg  | tggacactgc  | ctcacatttt  | taattccaga | 1620 |
| 30 | agccatcagt | actgagtgtc | agatctcatt  | agtcaaacac  | agtgatcagg  | aatcctgttt | 1680 |
|    | tcctggagga | tttccttgag | ggaggggacca | ctcaagagtc  | tgaaatattt  | cacgtcatag | 1740 |
|    | agtatggatc | tcaccccaac | acccaatcag  | aaaataggga  | gaactggaaa  | ccaaaattcc | 1800 |
|    | ccctcccgtc | gtggaaggat | gaaaaccaga  | gtgttggagt  | tctgtcctga  | taatggagca | 1860 |
|    | gacagctagg | cagcaatcaa | tgaggggccag | tacaggaatt  | cagtgtctag  | tattgggtca | 1920 |
| 35 | taacagaagt | agggaaggta | ttaatccagt  | gctatatgag  | gatcctggga  | cactggctcc | 1980 |
|    | tagtaatcta | gttataacta | ttagcaaaaa  | agaaaaaaa   | aatcagtgat  | gtgaagagat | 2040 |
|    | ggcctaaagg | agctccagca | atatagctaa  | gcagctggca  | agtggctctga | ggagcattgc | 2100 |
|    | aattccaggc | ctcctaaggt | ggcagtacgg  | gcactggtaa  | gacattctgc  | tgtgggtgaa | 2160 |
|    | ctagtttacc | atagaggatt | cacaattaaa  | ataggcaaac  | aggaaatgca  | agacagaggc | 2220 |
| 40 | taacaaaggg | tttttttttt | ggtggggggg  | agttgtttgt  | ttgtttgttt  | gttttctgag | 2280 |
|    | acggagtctt | cctctgttgc | ccaggctgga  | atgcagtggc  | acgatctcag  | ctcactacaa | 2340 |
|    | cctctgcctc | ccaggttcaa | gcagttcttc  | tgccctcagc  | tcccaggttc  | aagcagttct | 2400 |
|    | tctgcctcag | cctcccaagt | acctgggact  | atagctgtgt  | gccaccacat  | tgactaatth | 2460 |
|    | ttgtactttt | agtacagact | gggtttcacc  | atgttggcca  | ggctggtgtc  | gaactcctga | 2520 |
| 45 | cctcaagtaa | tcccccgcc  | ttggcctccc  | aaagtgtctg  | aattacaggc  | atgagccacc | 2580 |
|    | acacctggcc | agtttttggg | aattcttaaa  | gaactcaatg  | agcaacactc  | aaacaacat  | 2640 |
|    | aaagactata | gagctcatgg | ttgaatttta  | gatagctaaa  | cagacaggag  | tttttgtaag | 2700 |
|    | ttttgtaagt | cttgctcatc | cttccctctt  | ccatcctcta  | tctcaactat  | tctgtctacc | 2760 |

|    |             |             |             |            |            |             |      |
|----|-------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|------|
|    | attaaagcac  | cttagacctt  | gagtttggca  | atgcaacaag | tgtgtgctca | acacgaaata  | 2820 |
|    | ggtaattcaa  | tagcaaagcc  | ctaaaacagc  | ctggcttgat | tatttctcag | ggcatgcagt  | 2880 |
|    | tcctttgaag  | caggatcatt  | ttaataataa  | taataataga | aataataata | gaaattgaag  | 2940 |
|    | acaattat    | cacaatttcc  | atacacctaa  | gagctataca | tatgaatgat | aatgcataat  | 3000 |
| 5  | tgtaaagcat  | gcatattaca  | ggtaataaat  | atgttagcta | attataaaca | atgcccattt  | 3060 |
|    | tcatatagtt  | tatccttgcc  | aaataaaaact | gtaaaaaaa  | gacacctttc | aaatgctgct  | 3120 |
|    | aaggagtaat  | acctgaatga  | ggttgattta  | atggagtcct | agttcctgca | tgtgttctaa  | 3180 |
|    | ttgaatagac  | tatgtagtaa  | ttcccttaca  | tacctatcca | tgtccaagaa | cagtgaagat  | 3240 |
|    | ctttatttta  | tatgaattat  | tgcagatgat  | tagcacagtc | tagccaaacc | attccagtaa  | 3300 |
| 10 | ttgtttttac  | ttgttatatt  | aatatataaa  | ttctcaaagg | atataacagt | gatgttgggt  | 3360 |
|    | gaatttcact  | gaatgatagc  | tcaaacacct  | gaaatattga | ctaagaaaac | taatttatca  | 3420 |
|    | atactgataa  | tcaattttta  | tatgttaatt  | gattgtaata | caggattctg | tgggttcaaaa | 3480 |
|    | aaaaagaaca  | agcaaaaaaa  | ctttcttcca  | tttccaaata | ccaattaata | gatctctact  | 3540 |
|    | tccccttgga  | tttcttctta  | ccacctacca  | cctccaatct | tcattctttc | ctcacaaact  | 3600 |
| 15 | aaacataaaa  | gttacctaca  | aagcatagaa  | tctgtgttaa | aggatattct | tgcttgtttt  | 3660 |
|    | aagtccaaaa  | ttaaacagct  | ctgaattatt  | aaaaagcaca | tgaattcaaa | tgtcctattc  | 3720 |
|    | taataagaaa  | atgggtttaca | tttctctatg  | ttcaaggaaa | aaaatagtca | aggggtgtaca | 3780 |
|    | agtggggtaa  | aaattatttc  | cagtaggtta  | tgtgatttaa | gttatagaaa | cgaaccaggc  | 3840 |
|    | aattcaatta  | aatgtcatgg  | aaagtaggtt  | ttttcttttc | ctcttttttt | ctaatatgta  | 3900 |
| 20 | cactttgtga  | gaagataaat  | ccatagtgtg  | ataatttgct | cactgggtcc | atcagacact  | 3960 |
|    | ggagacagct  | tcctaagaat  | tataaggctt  | ctaaaggctt | ctaaagccta | aattgcctag  | 4020 |
|    | agcattttgt  | gtgccaggca  | ctttgctagg  | tgccctaggg | atgcaagaag | tataaatggt  | 4080 |
|    | ttatgagaat  | acaggctgga  | aatgtattct  | tgattattcc | tgtggaattt | ctaggcagaa  | 4140 |
|    | aagagtctaa  | tgggggtatag | gtatattttc  | tcaacacaat | tttctgagcc | tttaccagat  | 4200 |
| 25 | gcagttctat  | ggtttgatg   | tgtccctcag  | agtttggtg  | ttggaaactt | aatccccaat  | 4260 |
|    | gcaataatgt  | tgggtgaggcc | taatgaaagc  | ctaataatgt | aggtgaggcc | taatgagagc  | 4320 |
|    | tgttttagacc | atgaaggctc  | ttccctcatg  | gatggattaa | tgctgttatg | gtgggaatgg  | 4380 |
|    | gttcattatt  | actgggggtg  | gttcataata  | aaaagatgag | tttggcctgc | tattctctct  | 4440 |
|    | ctttctcatc  | ctctcttcca  | ccatgggatg  | acacagcaag | aaggcccctg | caagatgccc  | 4500 |
| 30 | tcccctcagt  | attggacttc  | acagcctcca  | ggaccataag | ccaataaatt | tttgttcatt  | 4560 |
|    | ataaatttcc  | cagtctgtgg  | tattctgtta  | tagcaacact | caatttatgc | attacttcca  | 4620 |
|    | gattcttatg  | gctataccta  | cttctcacag  | tttgtattca | cccctccttc | aaccaagtac  | 4680 |
|    | ccttaacaca  | gttcccatag  | tcacaaagcc  | aggtcactga | agctgccctc | tctccaacca  | 4740 |
|    | cacacatata  | gatcaaata   | ccccagacat  | agagctgatt | gagaaggagg | gaccagtacg  | 4800 |
| 35 | agctctgctt  | ccccagcagc  | ttcctggaaa  | gaagaggcaa | tacaacccaa | cccaaaagtg  | 4860 |
|    | caagagaagt  | aacacctcat  | gggatgagct  | taattaatca | atgggagagg | acactagaag  | 4920 |
|    | acactagagg  | atctcccttc  | ctccctttct  | ttcccacttc | accccctcca | gtctctgaac  | 4980 |
|    | catgagctat  | ttcaaagggtg | cagtaatgct  | atatttggct | tctctgaaga | tatcctatga  | 5040 |
|    | ggccaagtca  | tcagctttgt  | tcattatcta  | agagtgggtg | ccagctcacc | agcacttccc  | 5100 |
| 40 | atcatgtttg  | ccctccctct  | ttcccttggtg | ttacttccca | ttttccctta | cttctgcttt  | 5160 |
|    | cttggcatta  | aattctactc  | tgcaatgtta  | ggatataagt | ttttgcttca | gattctgttt  | 5220 |
|    | tctaggaaac  | ccatgctaag  | acaacactgg  | cagtggccct | ggaaaagtaa | acctcatgat  | 5280 |
|    | ggatttggag  | ttggattgtt  | cactgatctg  | aaggacagag | gactccactt | aagtggtaag  | 5340 |
|    | cagtgtagct  | atgaactctg  | ccacgcaggc  | ctcacaatta | ctgaggcttc | ttttacctgt  | 5400 |
| 45 | ggttaactgg  | gacacagaac  | agcaggaaat  | tgagtgtaga | ggttatcaag | tagctgcttc  | 5460 |
|    | acttaattgg  | tataatttta  | tggagttaac  | ctggtttaga | gtccagagaa | cattccacat  | 5520 |
|    | agcctagaaa  | gggtagttat  | ttgtccttac  | cataatcaag | tcatactttg | aatatgagtt  | 5580 |
|    | ttccttccct  | gttcagcacc  | acttctctta  | gacttaagaa | tgctgatct  | gttgatatta  | 5640 |

tgtcccatgt aacattgcct gagacaaaga tatccatgta ccttaaa

<210> 33

<211> 140

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 33

Met Gly Phe Gln Lys Phe Ser Pro Phe Leu Ala Leu Ser Ile Leu Val

1 5 10 15

Leu Leu Gln Ala Gly Ser Leu His Ala Ala Pro Phe Arg Ser Ala Leu

10 20 25 30

Glu Ser Ser Pro Ala Asp Pro Ala Thr Leu Ser Glu Asp Glu Ala Arg

35 40 45

Leu Leu Leu Ala Ala Leu Val Gln Asp Tyr Val Gln Met Lys Ala Ser

50 55 60

15 Glu Leu Glu Gln Glu Gln Glu Arg Glu Gly Ser Ser Leu Asp Ser Pro

65 70 75 80

Arg Ser Lys Arg Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr

85 90 95

Thr Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly

20 100 105 110

Val Gly Ala Pro Gly Lys Lys Arg Asp Met Ser Ser Asp Leu Glu Arg

115 120 125

Asp His Arg Pro His Val Ser Met Pro Gln Asn Ala

130 135 140

25 <210> 34

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

30 Met Gly Phe Gln Lys Phe Ser Pro Phe Leu Ala Leu Ser Ile Leu Val

1 5 10 15

Leu Leu Gln Ala Gly Ser Leu His Ala Ala Pro Phe Arg Ser Ala Leu

20 25 30

Glu Ser Ser Pro Ala Asp Pro Ala Thr Leu Ser Glu Asp Glu Ala Arg

35 35 40 45

Leu Leu Leu Ala Ala Leu Val Gln Asp Tyr Val Gln Met Lys Ala Ser

50 55 60

Glu Leu Glu Gln Glu Gln Glu Arg Glu Gly Ser Arg Ile Ile Ala Gln

65 70 75 80

40 Lys Arg Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly

85 90 95

Leu Leu Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr

100 105 110

Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe Gly Arg Arg Arg Arg Asp Leu Gln Ala

45 115 120 125

<210> 35

<211> 141

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Met Gly Phe Gln Lys Phe Ser Pro Phe Leu Ala Leu Ser Ile Leu Val  
1 5 10 15

5 Leu Leu Gln Ala Gly Ser Leu His Ala Ala Pro Phe Arg Ser Ala Leu  
20 25 30

Glu Ser Ser Pro Ala Asp Pro Ala Thr Leu Ser Glu Asp Glu Ala Arg  
35 40 45

10 Leu Leu Leu Ala Ala Leu Val Gln Asp Tyr Val Gln Met Lys Ala Ser  
50 55 60

Glu Leu Glu Gln Glu Gln Glu Arg Glu Gly Ser Ser Leu Asp Ser Pro  
65 70 75 80

Arg Ser Lys Arg Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr  
85 90 95

15 Thr Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly  
100 105 110

Val Gly Ala Pro Gly Lys Lys Arg Asp Met Ser Ser Asp Leu Glu Arg  
115 120 125

Asp His Arg Pro His Val Ser Met Pro Gln Asn Ala Asn

20 130 135 140

<210> 36

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

25 <400> 36

Ala Pro Phe Arg Ser Ala Leu Glu Ser Ser Pro Ala Asp Pro Ala Thr  
1 5 10 15

Leu Ser Glu Asp Glu Ala Arg Leu Leu Leu Ala Ala Leu Val Gln Asp  
20 25 30

30 Tyr Val Gln Met Lys Ala Ser Glu Leu Glu Gln Glu Gln Glu Arg Glu  
35 40 45

Gly Ser Ser Leu Asp Ser Pro Arg Ser Lys Arg Cys Gly Asn Leu Ser  
50 55 60

35 Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr  
65 70 75 80

Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro Gly Lys Lys Arg Asp  
85 90 95

Met Ser Ser Asp Leu Glu Arg Asp His Arg Pro His Val Ser Met Pro  
100 105 110

40 Gln Asn Ala Asn  
115

<210> 37

<211> 187

<212> PRT

45 <213> Homo sapiens

<400> 37

Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile  
1 5 10 15

RU 2 730 836 C2

Ser Pro Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile  
20 25 30  
Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys  
35 40 45  
5 Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg  
50 55 60  
Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu  
65 70 75 80  
Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe  
10 85 90 95  
Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met  
100 105 110  
Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu  
115 120 125  
15 Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly  
130 135 140  
Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp  
145 150 155 160  
Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His  
20 165 170 175  
Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly  
180 185  
<210> 38  
<211> 168  
25 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 38  
Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr  
1 5 10 15  
30 Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys  
20 25 30  
Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His  
35 40 45  
Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His  
50 55 60  
Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln  
65 70 75 80  
Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr  
85 90 95  
40 Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser  
100 105 110  
Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser  
115 120 125  
Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe  
45 130 135 140  
Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser  
145 150 155 160  
Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly



## (57) Формула изобретения

1. Способ определения бактериальной инфекции на основании биологических данных, содержащих значения экспрессии множества полипептидов в крови субъекта, где значения экспрессии вводят в память аппаратного обрабатывающего устройства, при этом способ включает:

использование аппаратного обрабатывающего устройства для выполнения компьютерных программных инструкций, хранимых на машиночитаемом носителе, при этом указанные компьютерные программные инструкции включают:

компьютерные программные инструкции для вычисления расстояния  $d$  между сегментом  $S_{ROI}$  кривой  $S$  и осью  $\pi$ , образованной направлением, при этом указанное расстояние  $d$ , вычисляемое, перпендикулярно указанной оси  $\pi$ , между точкой  $P$  на указанной оси  $\pi$  и соответствующей точкой на указанной кривой, при этом указанные точки образованы координатой  $\delta_1$  вдоль указанного направления; и

компьютерные программные инструкции для коррелирования указанного расстояния  $d$  с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет бактериальную инфекцию, и для генерирования на графическом пользовательском интерфейсе выходных данных указанного присутствия, отсутствия или вероятности, при этом если указанное расстояние  $d$  выше предварительно определенного уровня  $\omega_B$ , то указанные компьютерные программные инструкции определяют, что субъект вероятно имеет бактериальную инфекцию;

при этом указанная координата  $\delta_1$  образована комбинацией указанных значений экспрессии, причем указанная комбинация включает линейную комбинацию указанных значений экспрессии, при этом по меньшей мере 90% указанного сегмента заключено между нижней ограничивающей прямой  $f(\delta_1) - \epsilon_0$  и верхней ограничивающей прямой  $f(\delta_1) + \epsilon_1$ , при этом указанный  $f(\delta_1)$  равняется  $1/(1 + \exp(\delta_1))$ , и при этом каждый из указанных  $\epsilon_0$  и  $\epsilon_1$  составляет менее 0,5.

2. Способ по п. 1, в котором указанные значения экспрессии измеряют с помощью измерительной системы, выполняющей по меньшей мере один вид автоматизированного анализа, выбранный из группы, состоящей из автоматизированного анализа ELISA, автоматизированного иммуноанализа и автоматизированного функционального анализа, при этом способ включает получение указанных биологических данных от указанной измерительной системы.

3. Способ по п. 1, дополнительно включающий получение указанной вероятности на основе указанного расстояния  $d$ , сравнение указанной вероятности с предварительно определенным пороговым значением и лечение указанной бактериальной инфекции у субъекта, если указанная вероятность превышает указанное предварительно определенное пороговое значение.

4. Способ определения бактериальной инфекции на основании биологических данных содержащих значения экспрессии множества полипептидов в крови субъекта, где значения экспрессии вводят в память аппаратного обрабатывающего устройства, при этом способ включает:

использование аппаратного обрабатывающего устройства для выполнения компьютерных программных инструкций, хранимых на машиночитаемом носителе, при этом указанные компьютерные программные инструкции включают:

компьютерные программные инструкции для вычисления первого расстояния  $d$

между сегментом  $S_{ROI}$  кривой поверхности  $S$  и плоскостью  $\pi$ , образованной первым направлением и вторым направлением, при этом указанное первое расстояние  $d$  вычисляют, перпендикулярно указанной плоскости  $\pi$ , между точкой  $P$  на указанной плоскости  $\pi$  и соответствующей точкой на указанной поверхности  $S$ , причем указанная точка образована первой координатой  $\delta_0$  вдоль указанного первого направления и второй координатой  $\delta_1$  вдоль указанного второго направления; и

компьютерные программные инструкции для коррелирования указанного первого расстояния  $d$  с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет бактериальную инфекцию, и для генерирования на графическом пользовательском интерфейсе выходных данных указанного присутствия, отсутствия или вероятности, причем когда указанное первое расстояние  $d$  выше предварительно определенного уровня  $\omega_B$ , то указанные компьютерные программные инструкции определяют, что субъект вероятно имеет бактериальную инфекцию;

при этом каждая из указанной первой координаты  $\delta_0$  и указанной второй координаты  $\delta_1$  образована различной комбинацией указанных значений экспрессии причем каждая комбинация включает линейную комбинацию указанных значений экспрессии, при этом по меньшей мере 90% указанного сегмента заключено между нижней ограничивающей поверхностью  $f(\delta_0, \delta_1) - \epsilon_0$  и верхней ограничивающей поверхностью  $f(\delta_0, \delta_1) + \epsilon_1$ , при этом указанная  $f(\delta_0, \delta_1)$  равняется  $\exp(\delta_1)/(1 + \exp(\delta_0) + \exp(\delta_1))$ , и при этом каждый из указанных  $\epsilon_0$  и  $\epsilon_1$  составляет менее 0,5.

5. Способ по п. 4, в котором указанные значения экспрессии измеряют с помощью измерительной системы, выполняющей по меньшей мере один вид автоматизированного анализа, выбранный из группы, состоящей из автоматизированного анализа ELISA, автоматизированного иммуноанализа и автоматизированного функционального анализа, при этом способ включает получение указанных биологических данных от указанной измерительной системы.

6. Способ по п. 4, дополнительно включающий получение указанной вероятности на основе указанного первого расстояния  $d$ , сравнение указанной вероятности с предварительно определенным пороговым значением и лечение указанной бактериальной инфекции у субъекта, если указанная вероятность превышает указанное предварительно определенное пороговое значение.

7. Способ по п. 4, дополнительно включающий вычисление второго расстояния между сегментом второй кривой поверхности и указанной плоскости, причем указанное второе расстояние перпендикулярно указанной плоскости  $\pi$ , между указанной точкой  $P$  на указанной плоскости  $\pi$  и в соответствующей точке на указанной второй кривой поверхности; и

определение корреляции указанного второго расстояния с присутствием, отсутствием или вероятностью того, что субъект имеет вирусную инфекцию, причем когда указанное второе расстояние выше предварительно определенного уровня  $\omega_v$ , то указанные компьютерные программные инструкции определяют, что субъект вероятно имеет вирусную инфекцию;

при этом по меньшей мере 90% указанного сегмента указанной второй поверхности заключено между второй нижней ограничивающей поверхностью  $g(\delta_0, \delta_1) - \epsilon_2$  и второй верхней ограничивающей поверхностью  $g(\delta_0, \delta_1) + \epsilon_3$ , при этом указанная  $g(\delta_0, \delta_1)$  равняется  $\exp(\delta_0)/(1 + \exp(\delta_0) + \exp(\delta_1))$ , и при этом каждый из  $\epsilon_2$  и  $\epsilon_3$  составляет менее 0,5.

8. Способ по п. 7, дополнительно включающий получение указанной вероятности на основе указанного второго расстояния, сравнение указанной вероятности со вторым предварительно определенным пороговым значением и лечение у субъекта указанной вирусной инфекции, если указанная вероятность превышает указанное второе  
5 предварительно определенное пороговое значение.

9. Способ по п. 7, дополнительно включающий получение указанной вероятности того, что субъект имеет бактериальную инфекцию, на основе указанного первого расстояния d, получение указанной вероятности того, что субъект имеет вирусную инфекцию, на основе указанного второго расстояния, сравнение каждой из указанных  
10 вероятностей с соответствующим предварительно определенным пороговым значением и, если каждая из указанных вероятностей находится ниже указанного соответствующего предварительно определенного порогового значения, определение того, что пациент, вероятно, имеет неинфекционное заболевание.

10. Способ по любому из пп. 1-9, в котором каждое из указанных множеств  
15 полипептидов выбрано из группы, состоящей из CRP, IP-10, TRAIL, IL1ra, PCT и SAA.

11. Способ по любому из пп. 1-9, в котором указанное множество полипептидов включает по меньшей мере три полипептида.

12. Способ по любому из пп. 1-9, в котором указанное множество полипептидов включает по меньшей мере три полипептида, выбранных из группы, состоящей из CRP,  
20 IP-10, TRAIL, IL1ra, PCT и SAA

13. Способ по любому из пп. 1-9, в котором указанное множество полипептидов включает по меньшей мере CRP и TRAIL.

14. Способ по любому из пп. 1-9, в котором указанное множество полипептидов включает по меньшей мере CRP, TRAIL и IP-10

15. Способ по любому из пп. 1-9, дополнительно включающий генерирование  
25 выходных данных по указанной вероятности, при этом указанные выходные данные представлены графически.

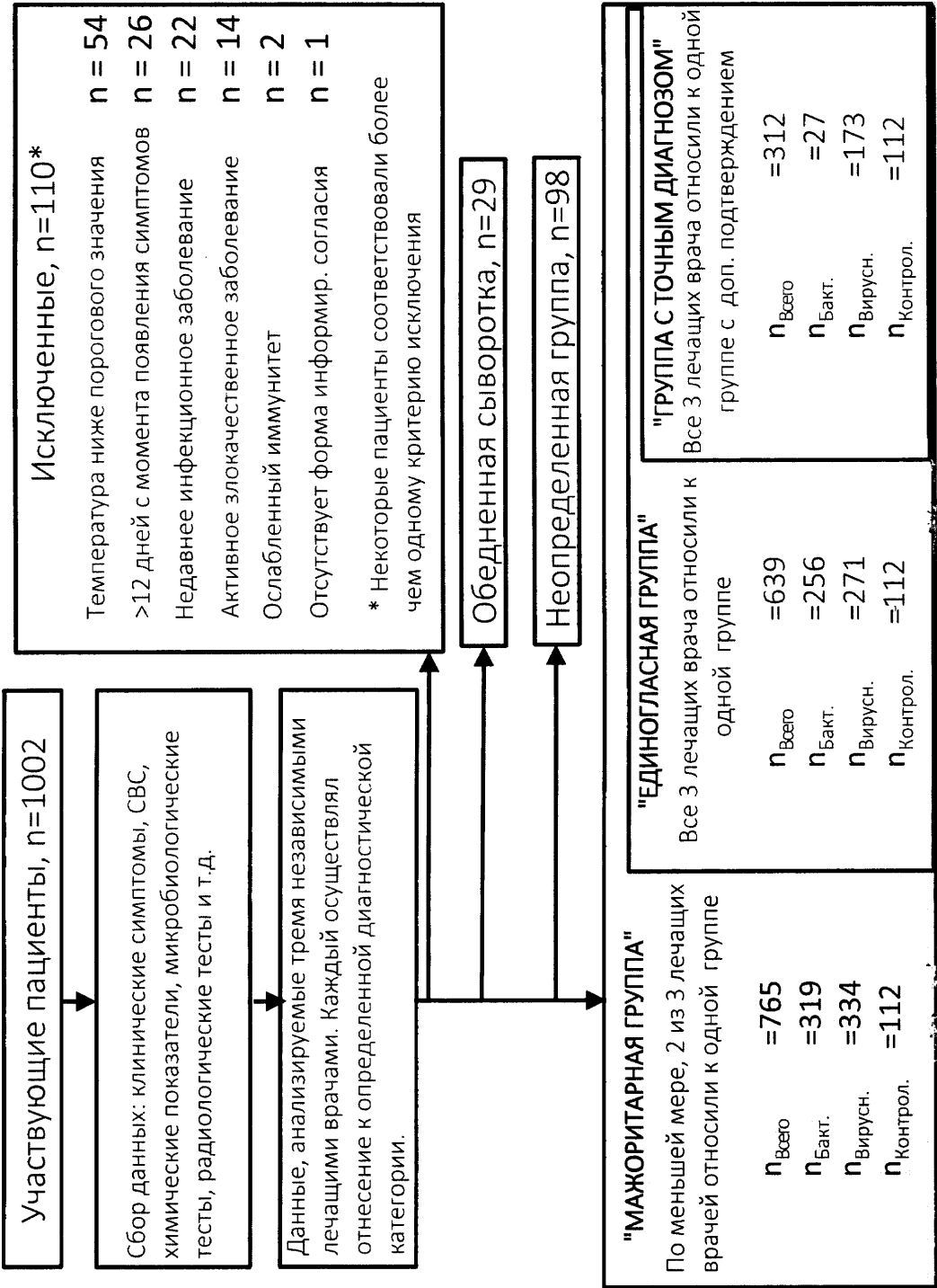
16. Способ по любому из пп. 1-9, дополнительно включающий определение указанных значений экспрессии, и при этом по меньшей мере одно из указанных значений  
30 экспрессии определяется с помощью электрофореза или иммунохимического анализа.

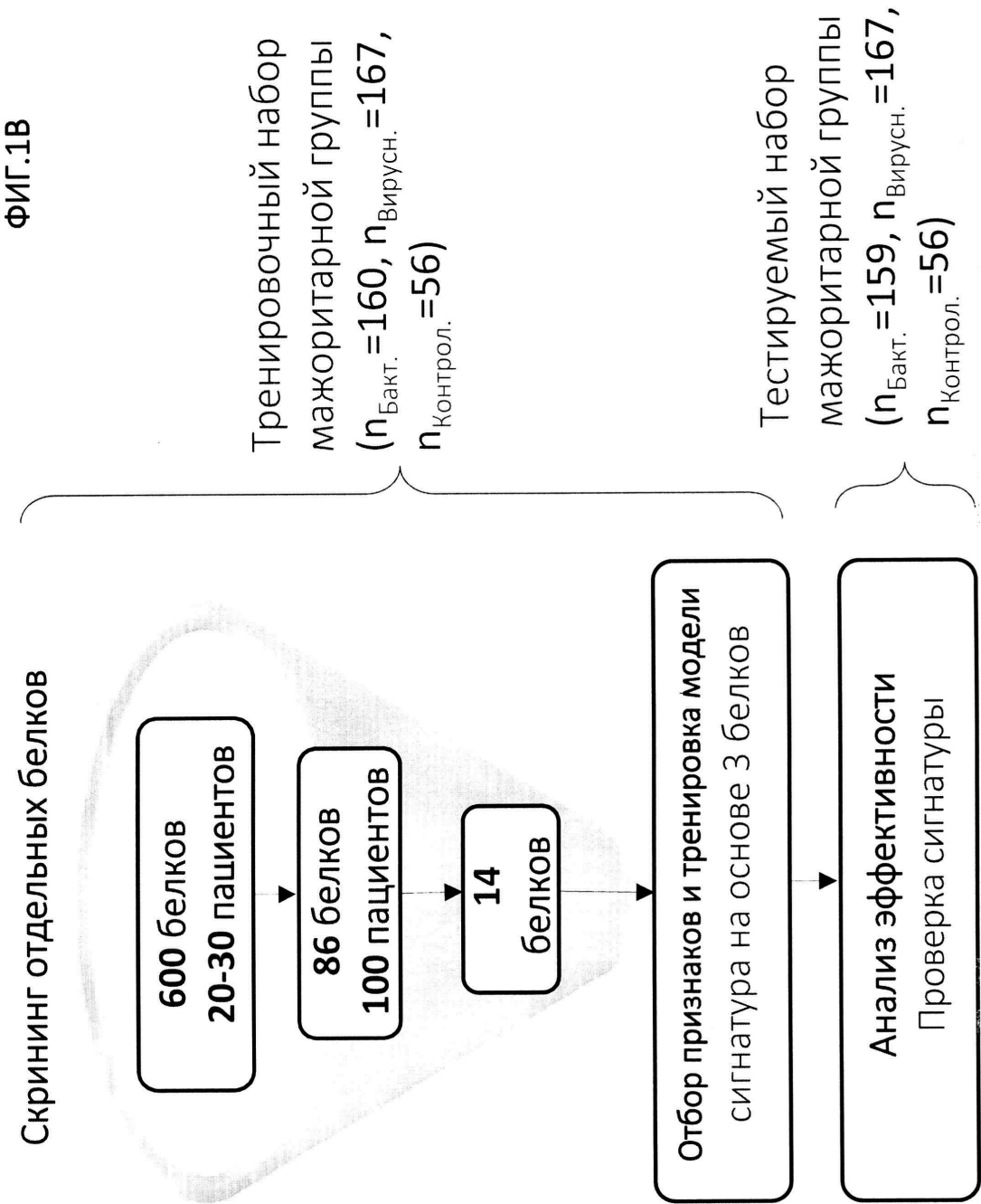
17. Машиночитаемый носитель данных, на котором хранятся программные инструкции, которые при чтении аппаратным обрабатывающим устройством заставляют  
аппаратное обрабатывающее устройство получать значения экспрессии множества полипептидов в крови субъекта, который имеет неизвестное заболевание, и выполнять  
35 способ по любому из пп. 1, 2, 4, 5, 7 и 9.

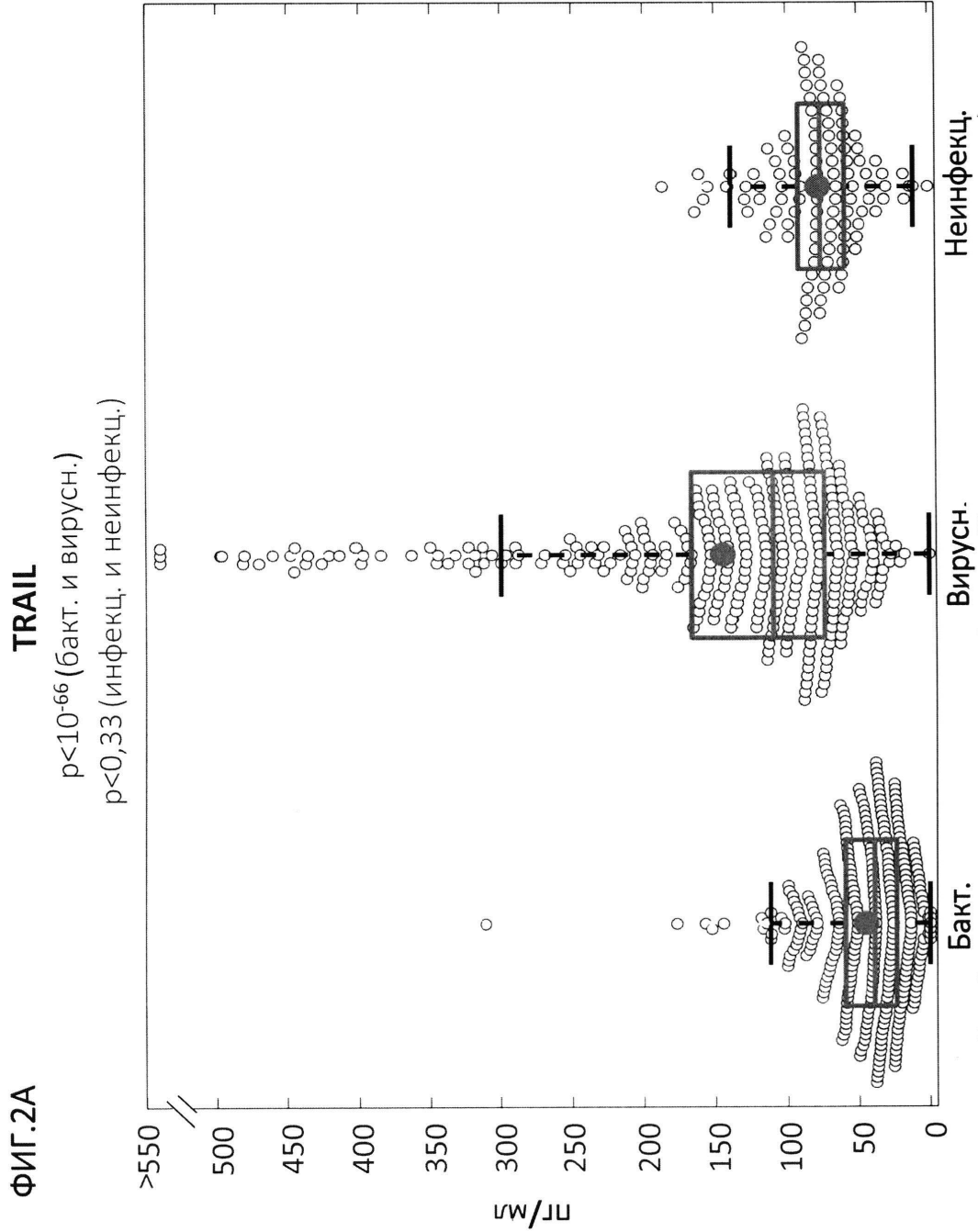
40

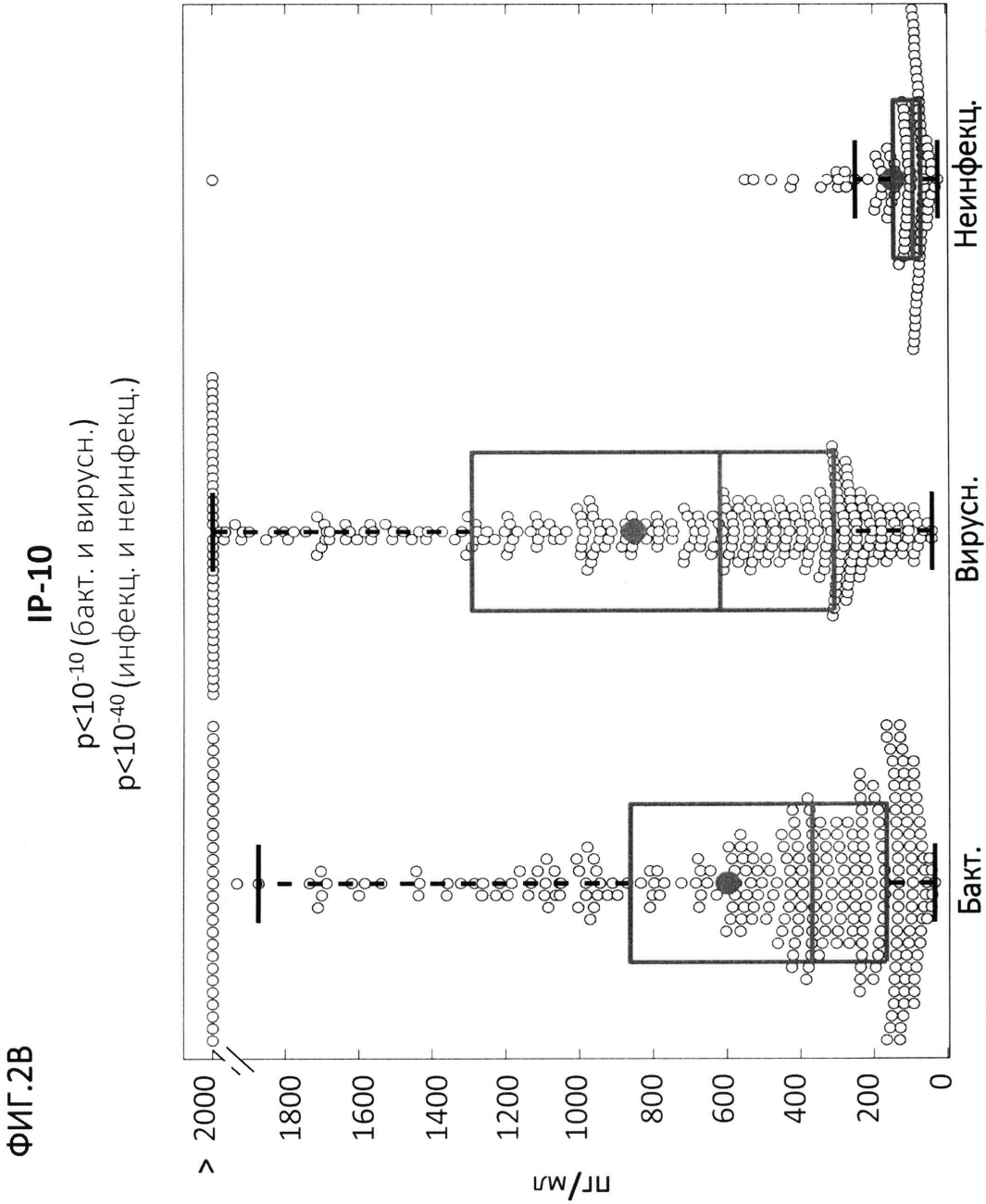
45

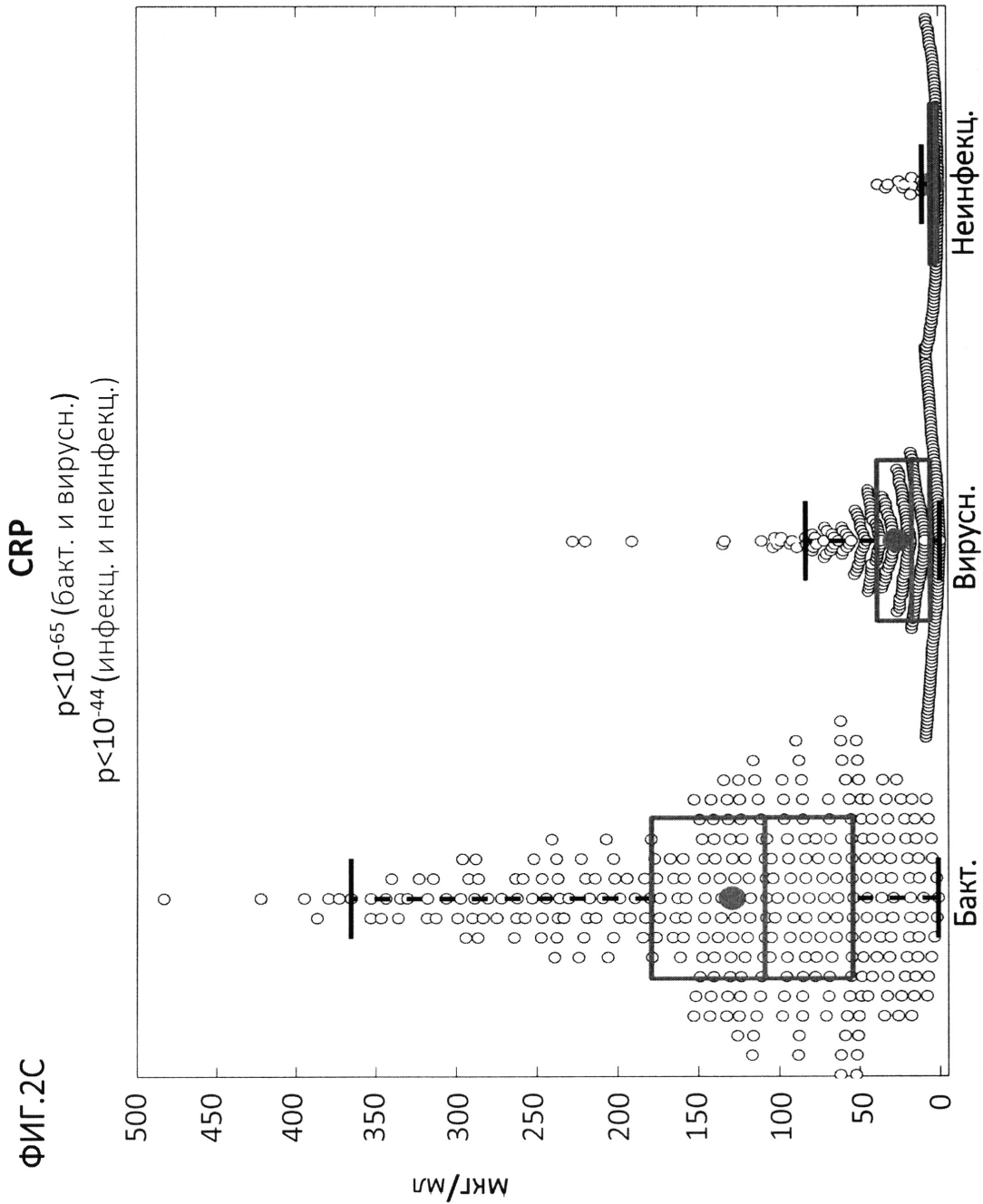
ФИГ.1А



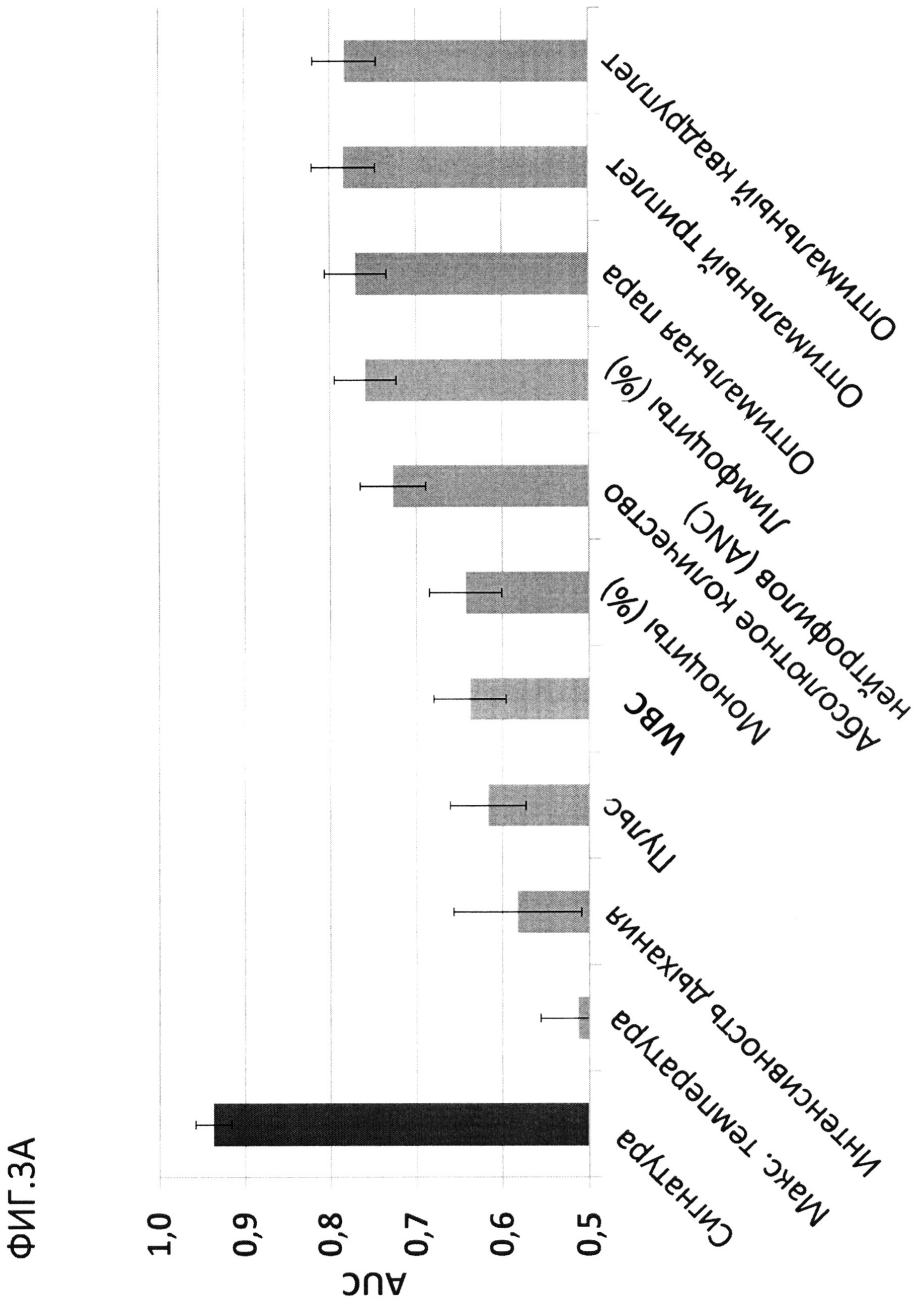


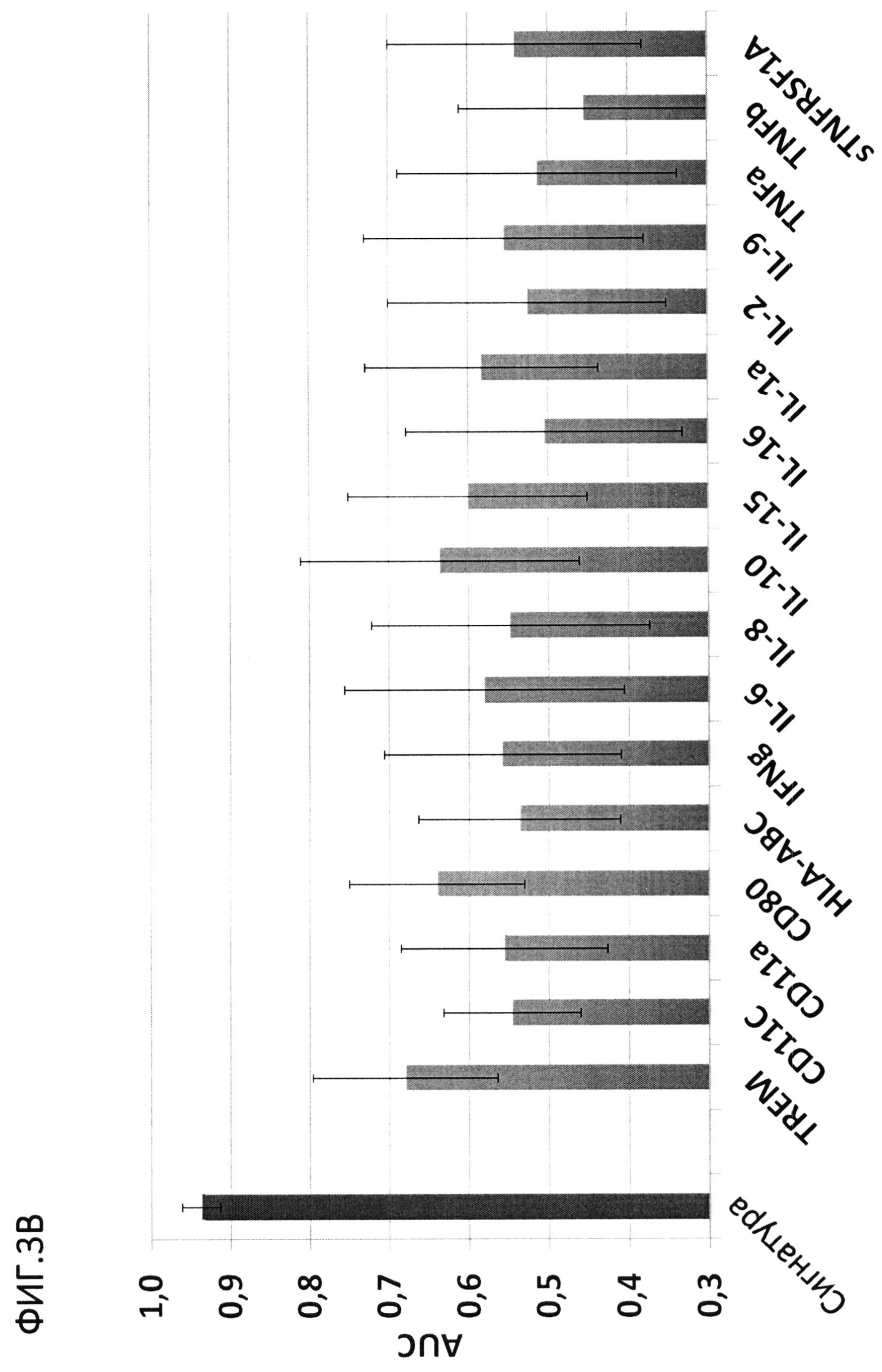




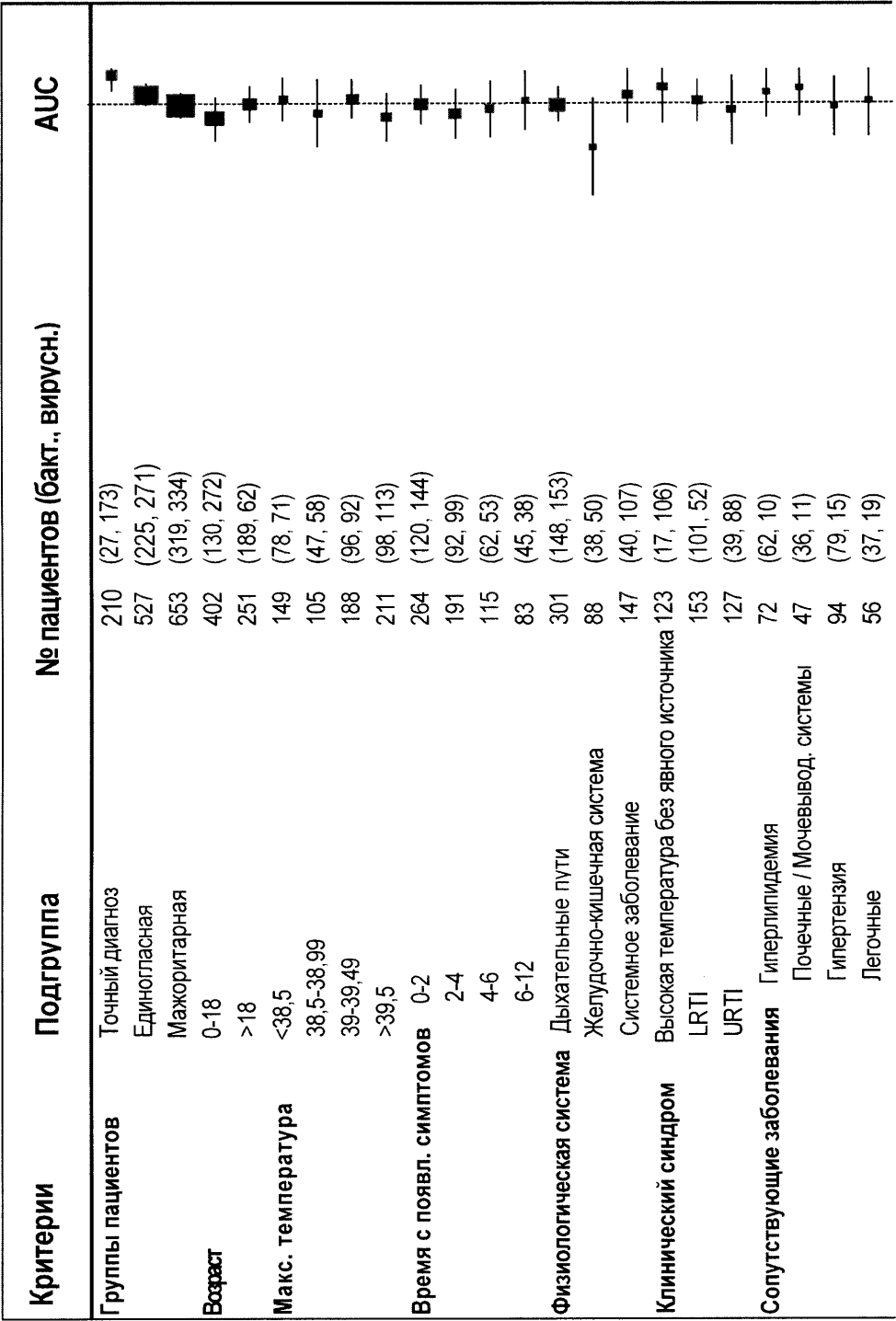




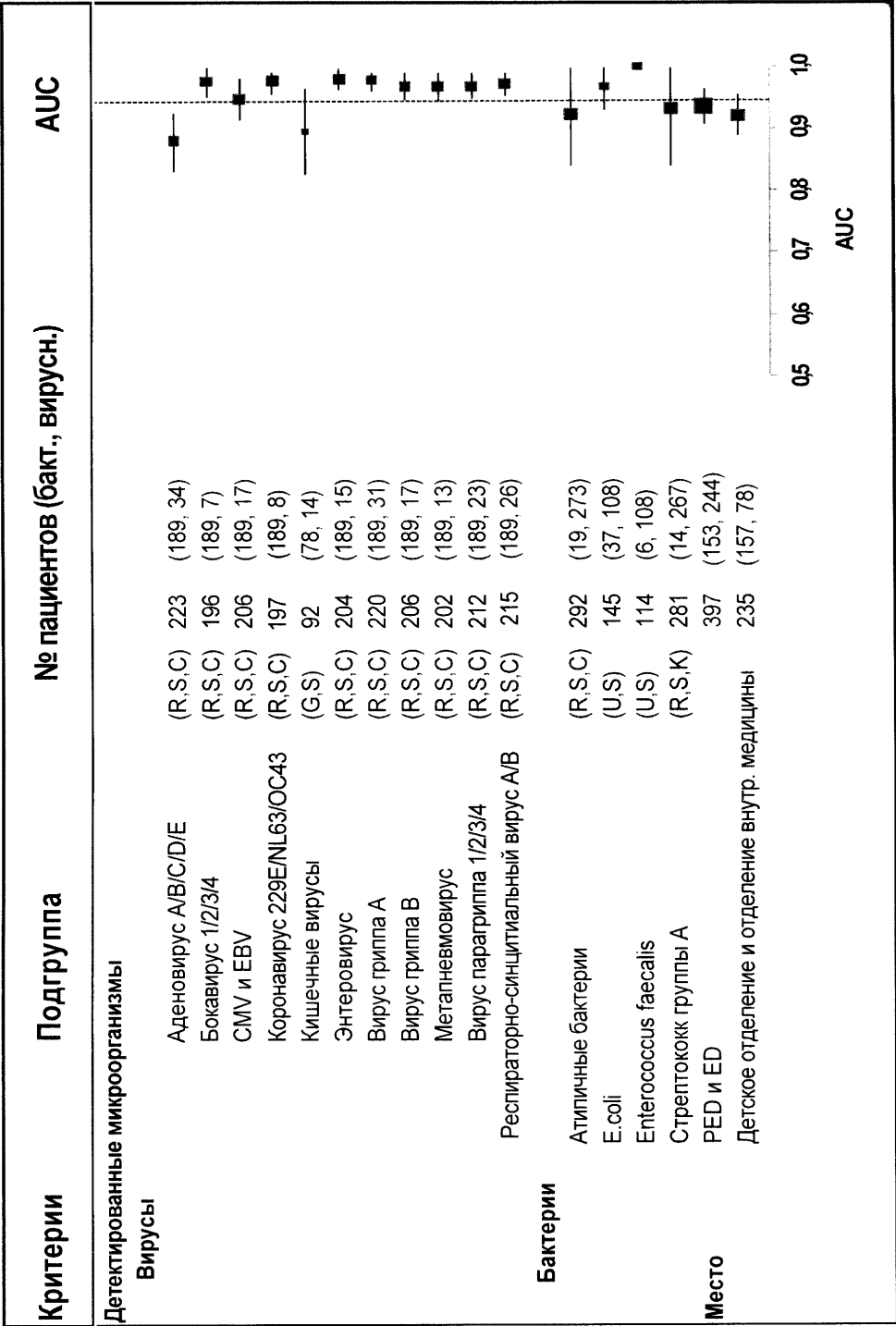


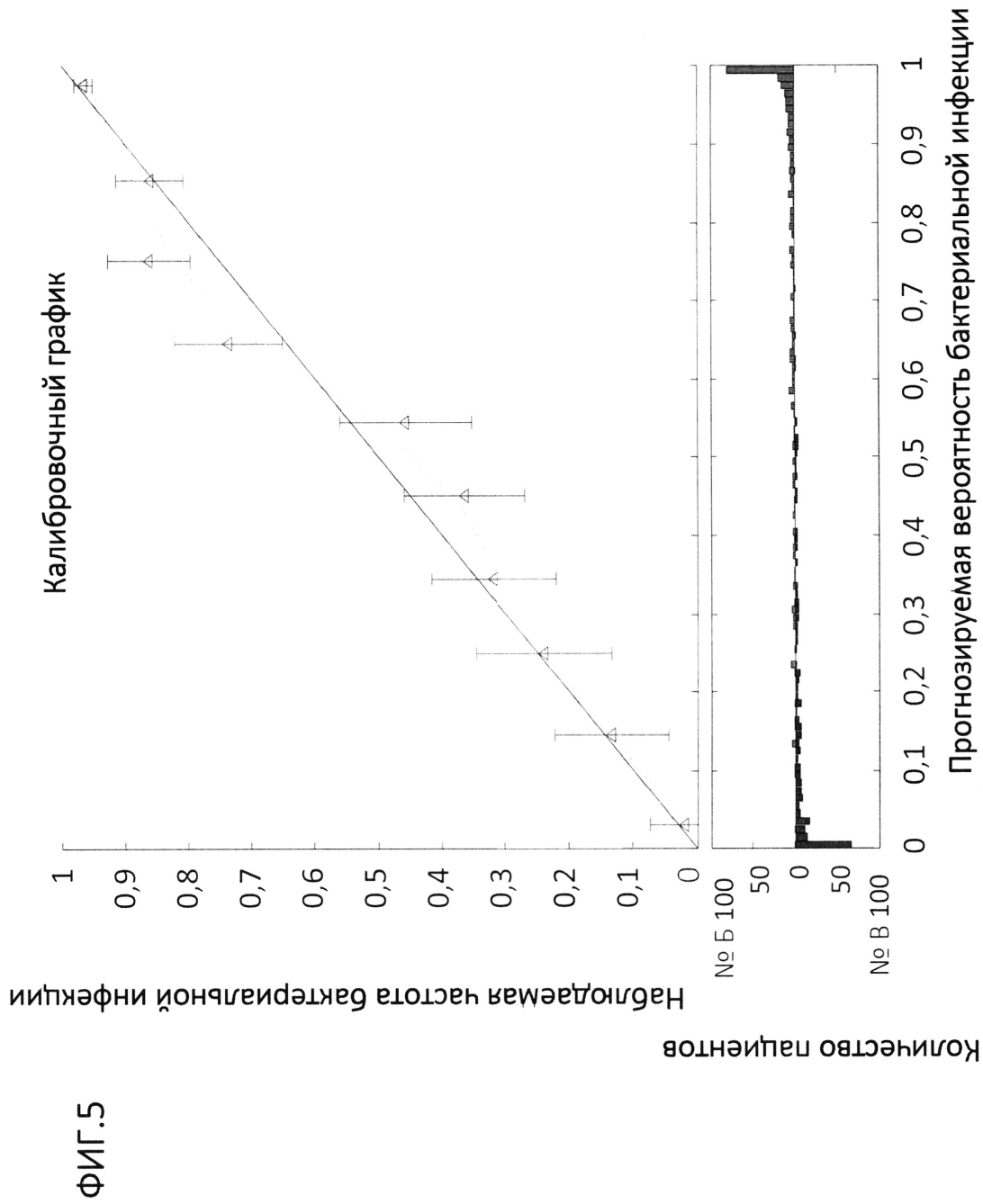


ФИГ.4

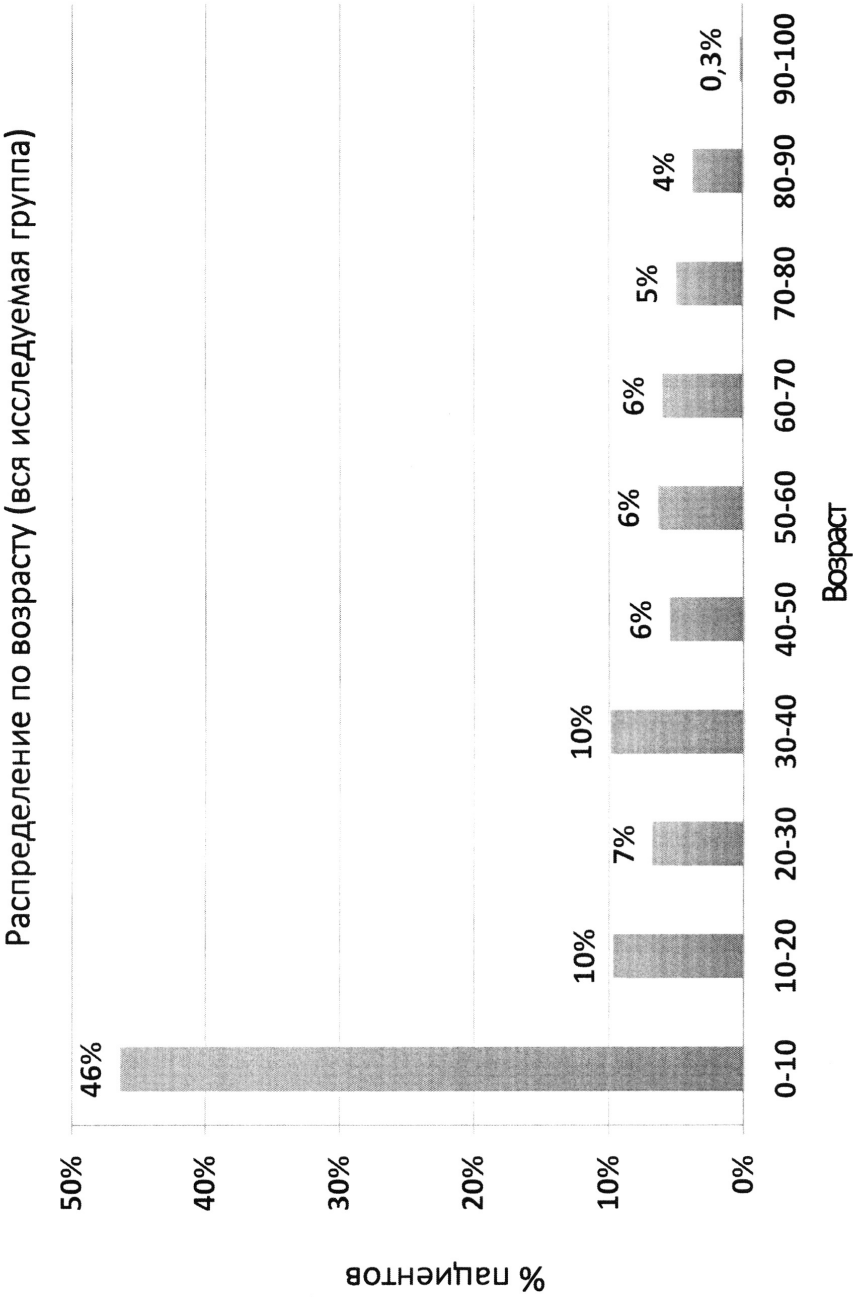


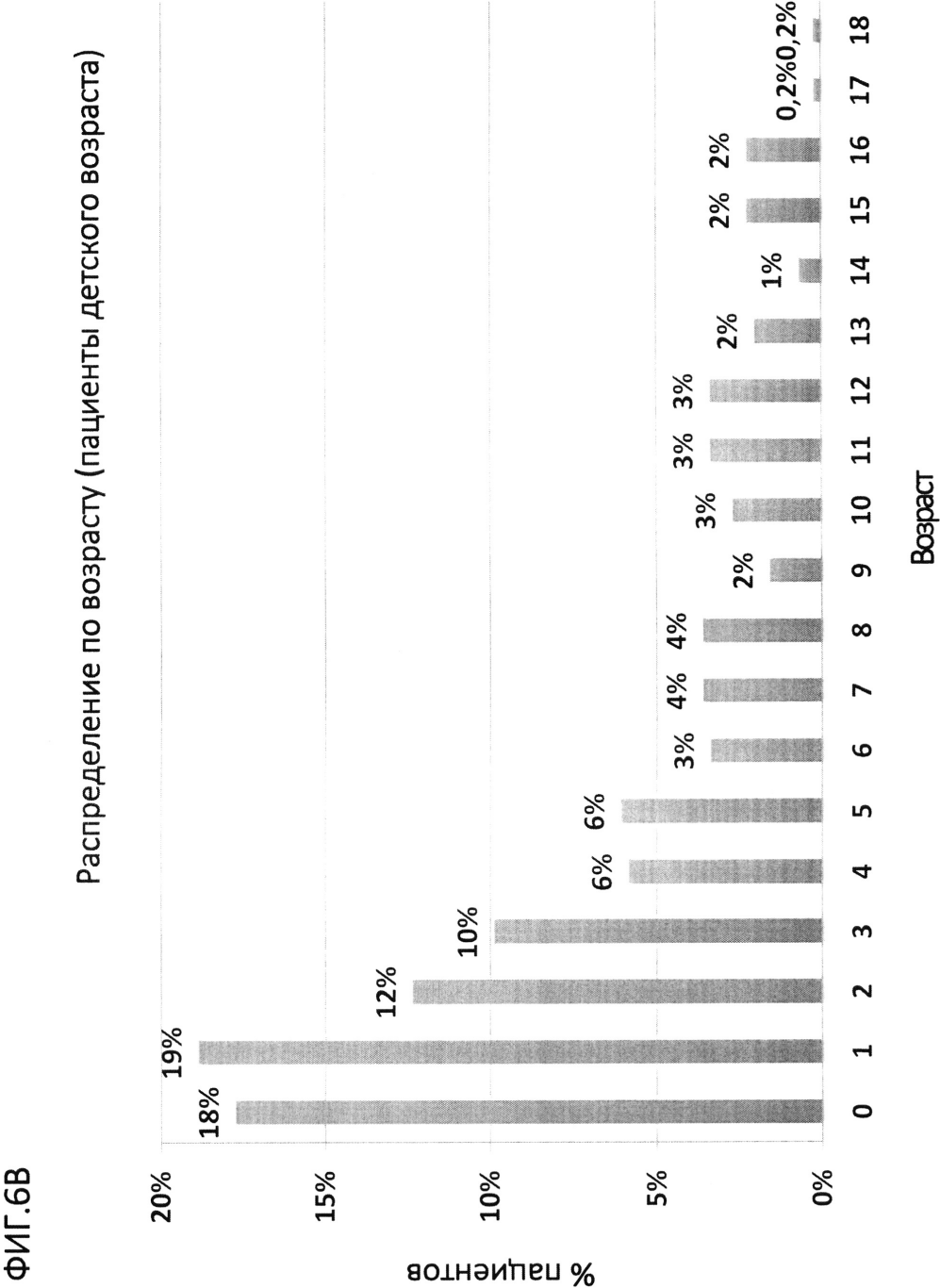
ФИГ.4 - Продолжение



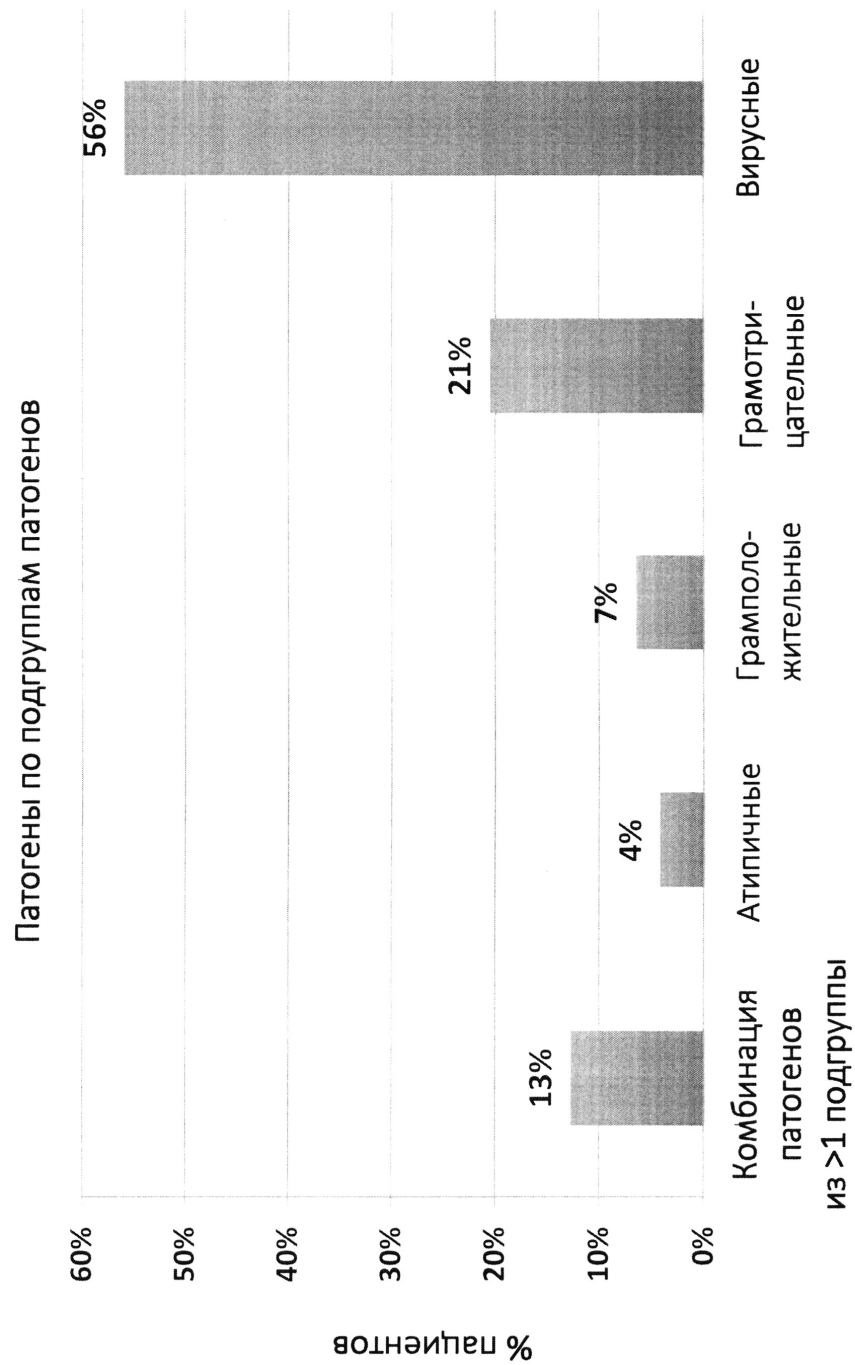


ФИГ.6А

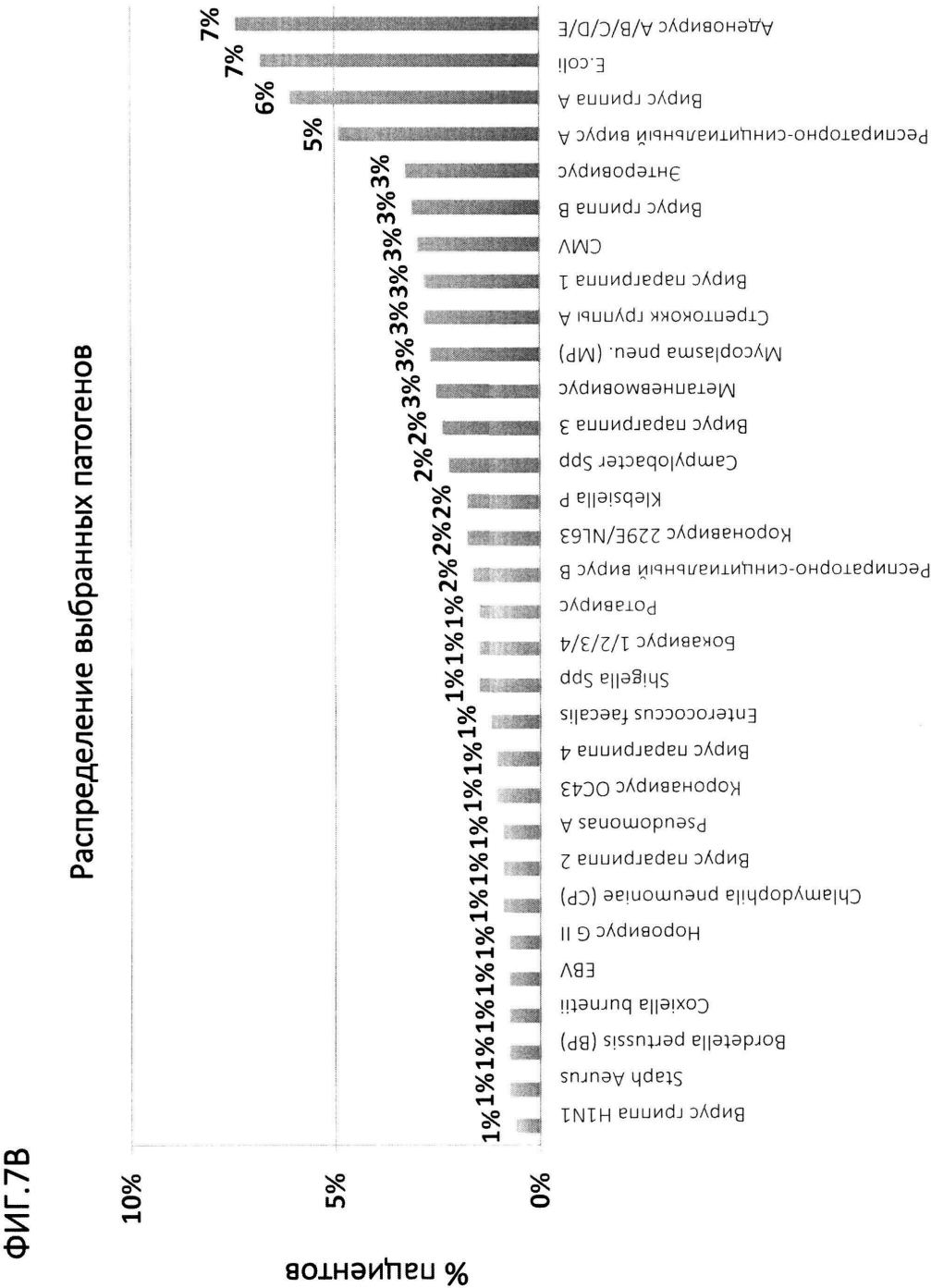


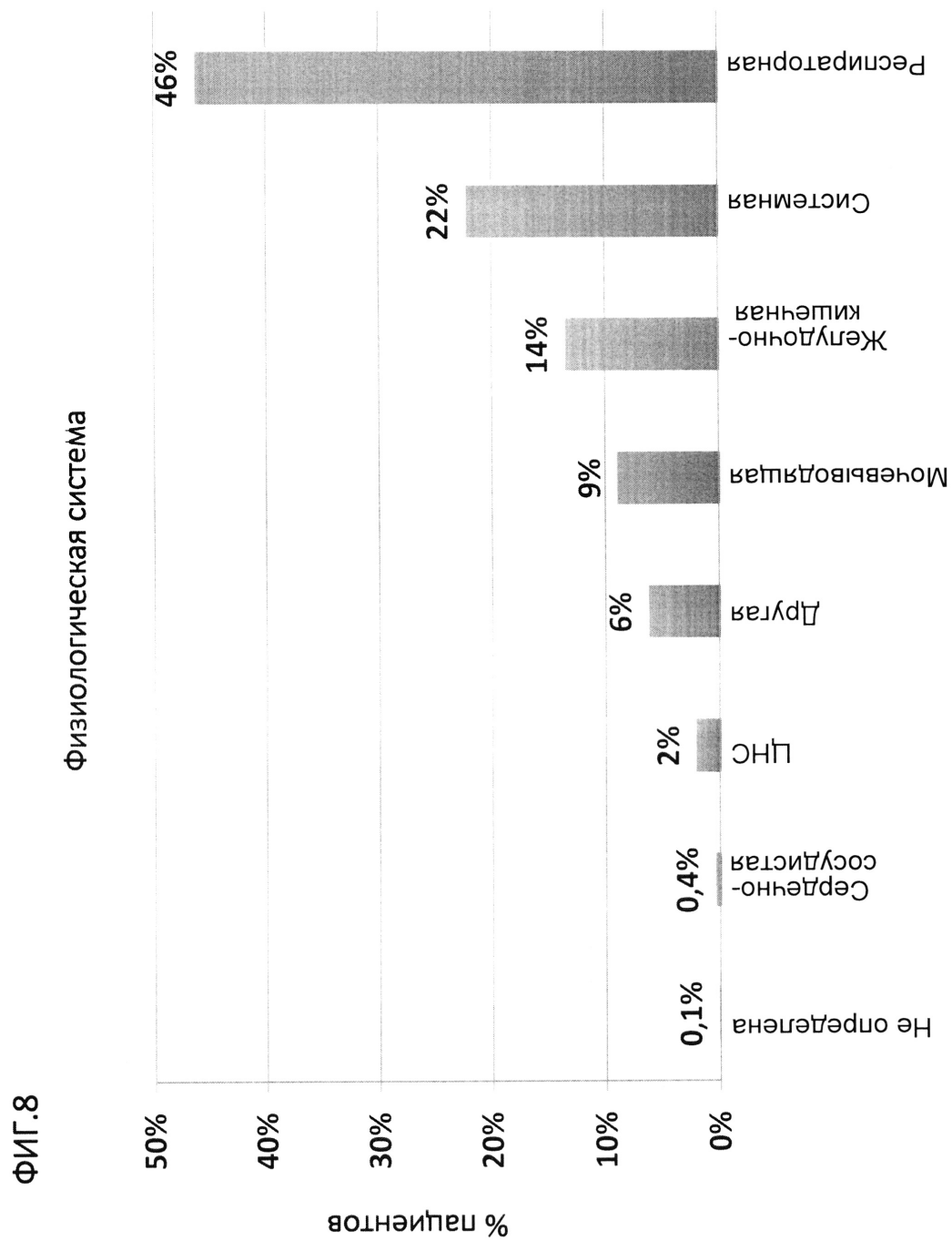


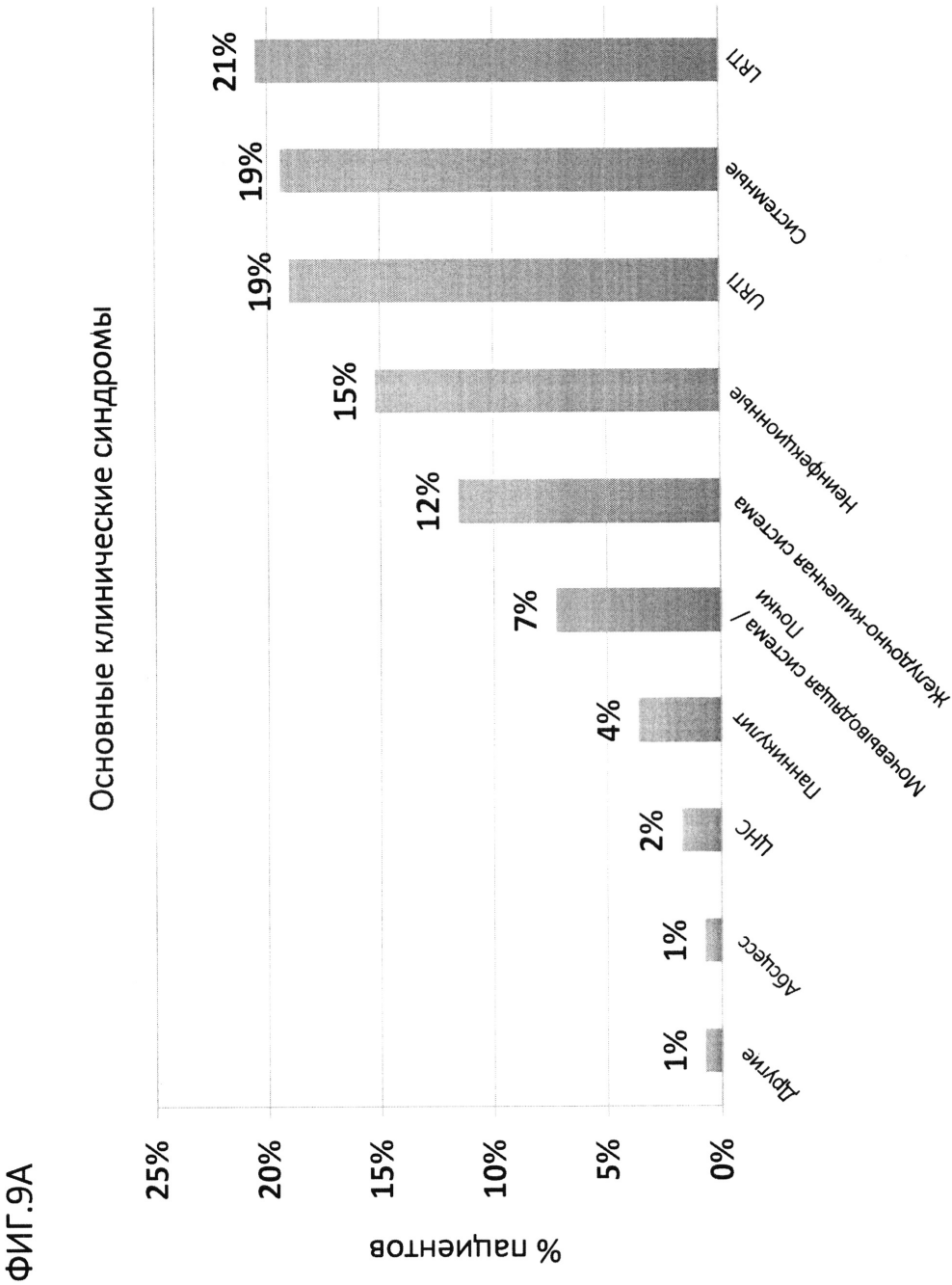
ФИГ.7А

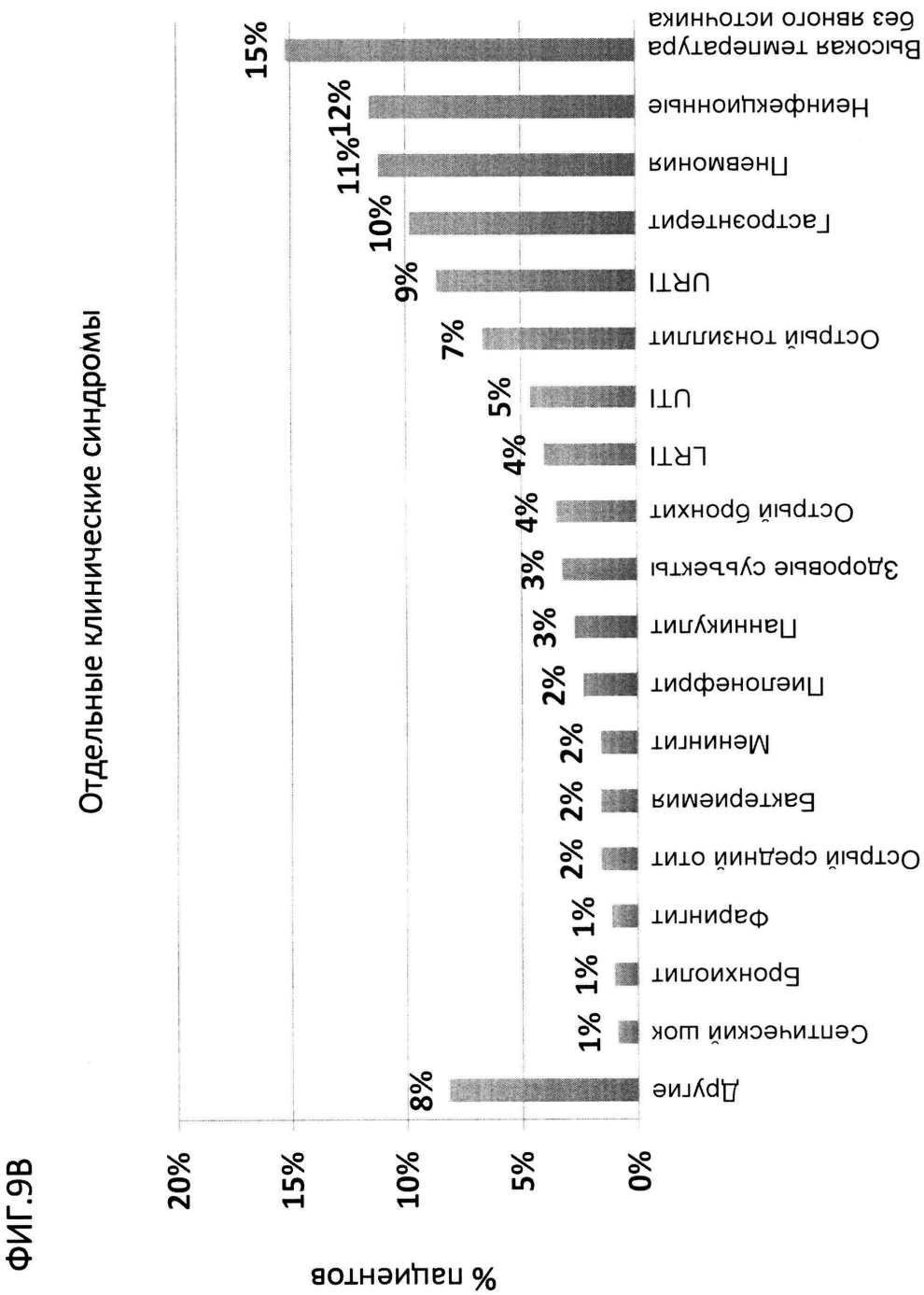


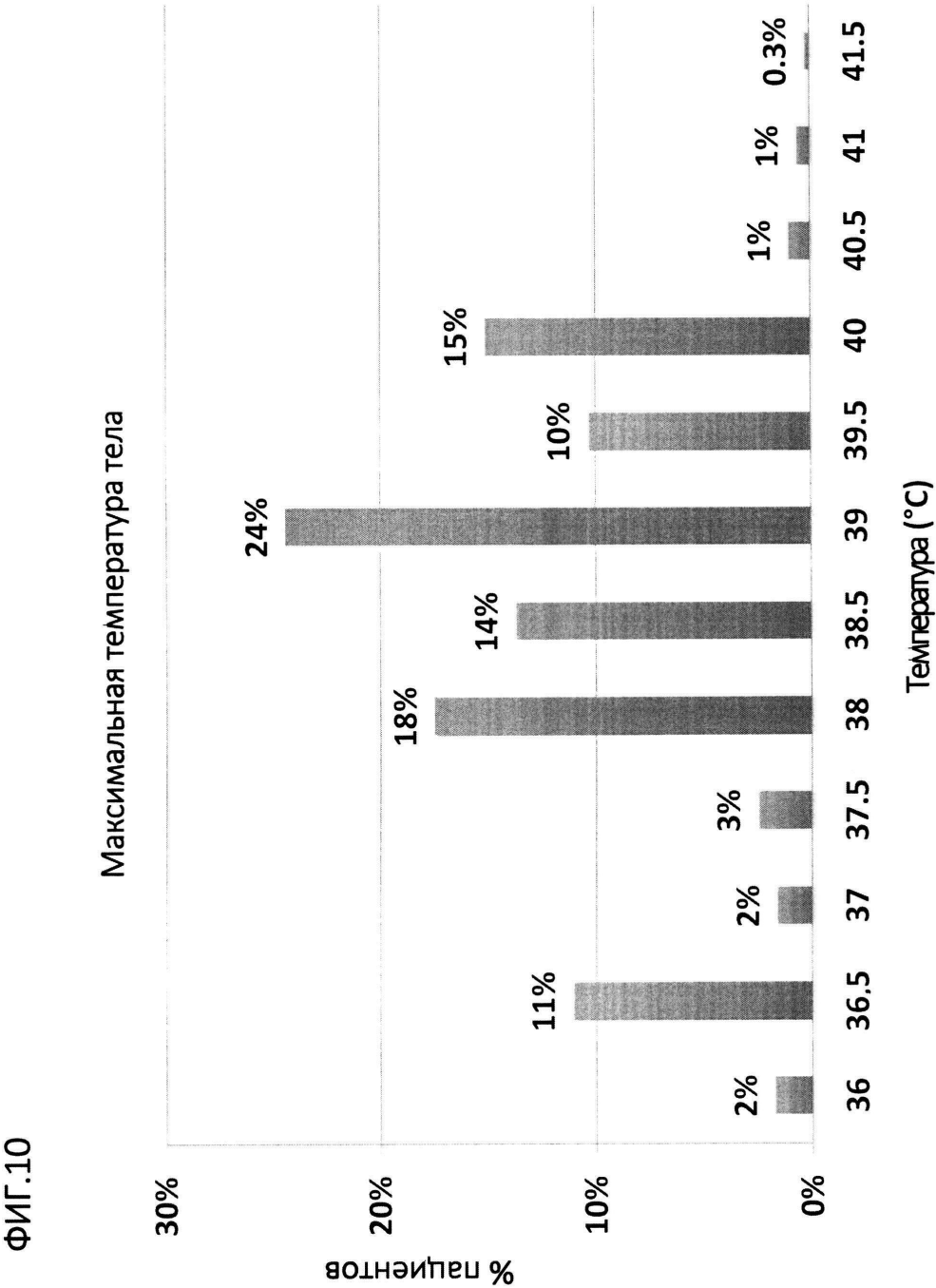






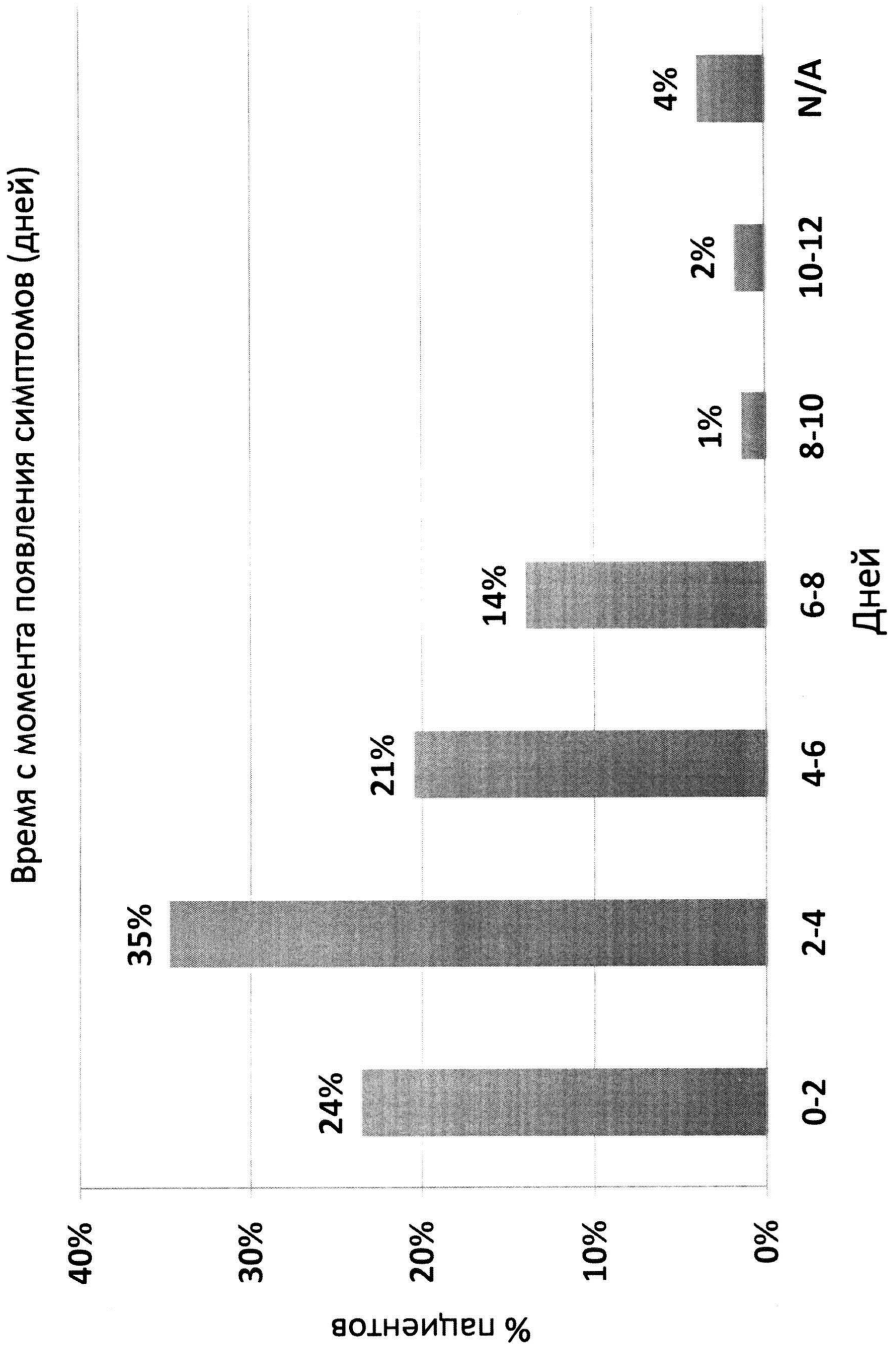


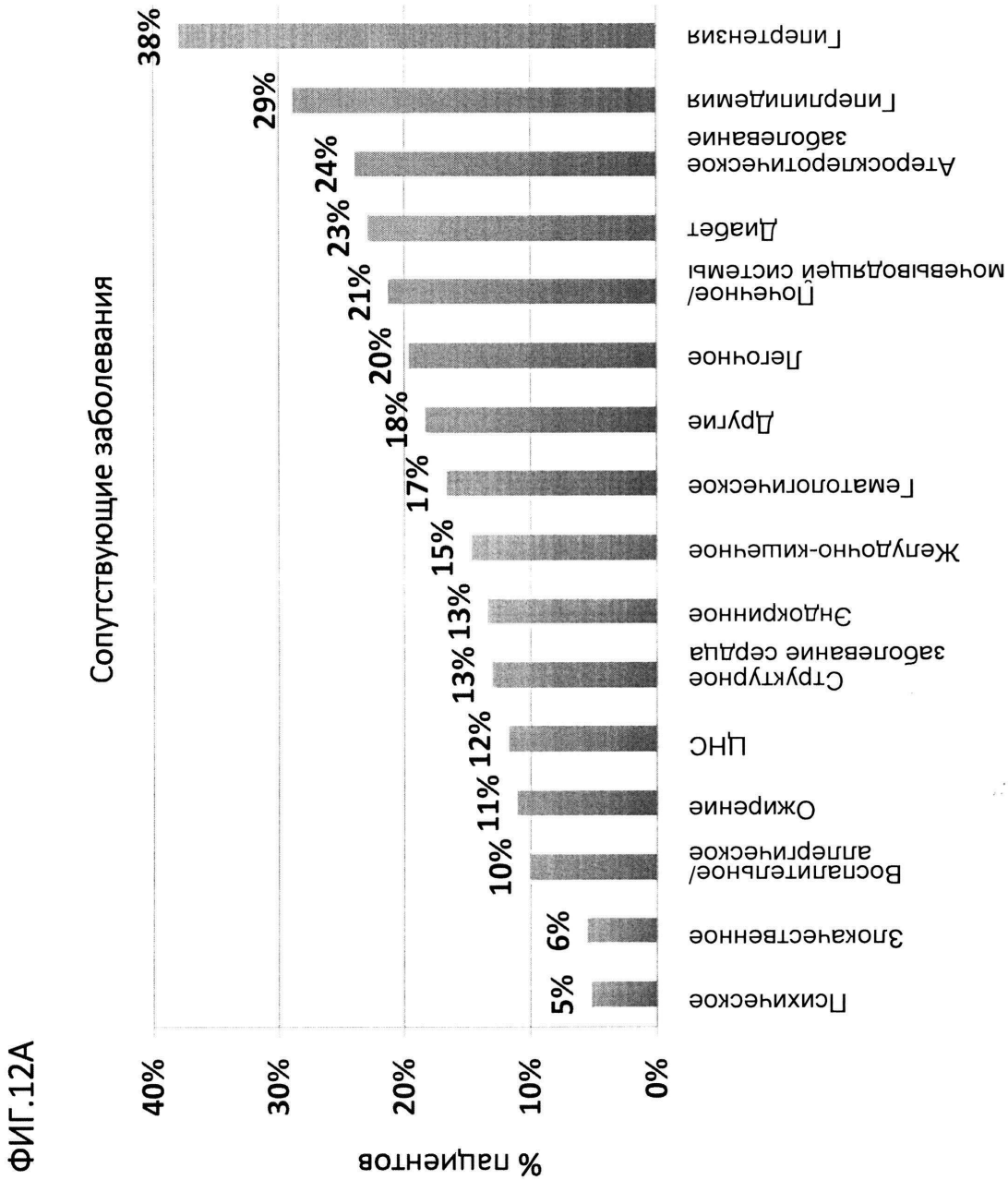




19/66

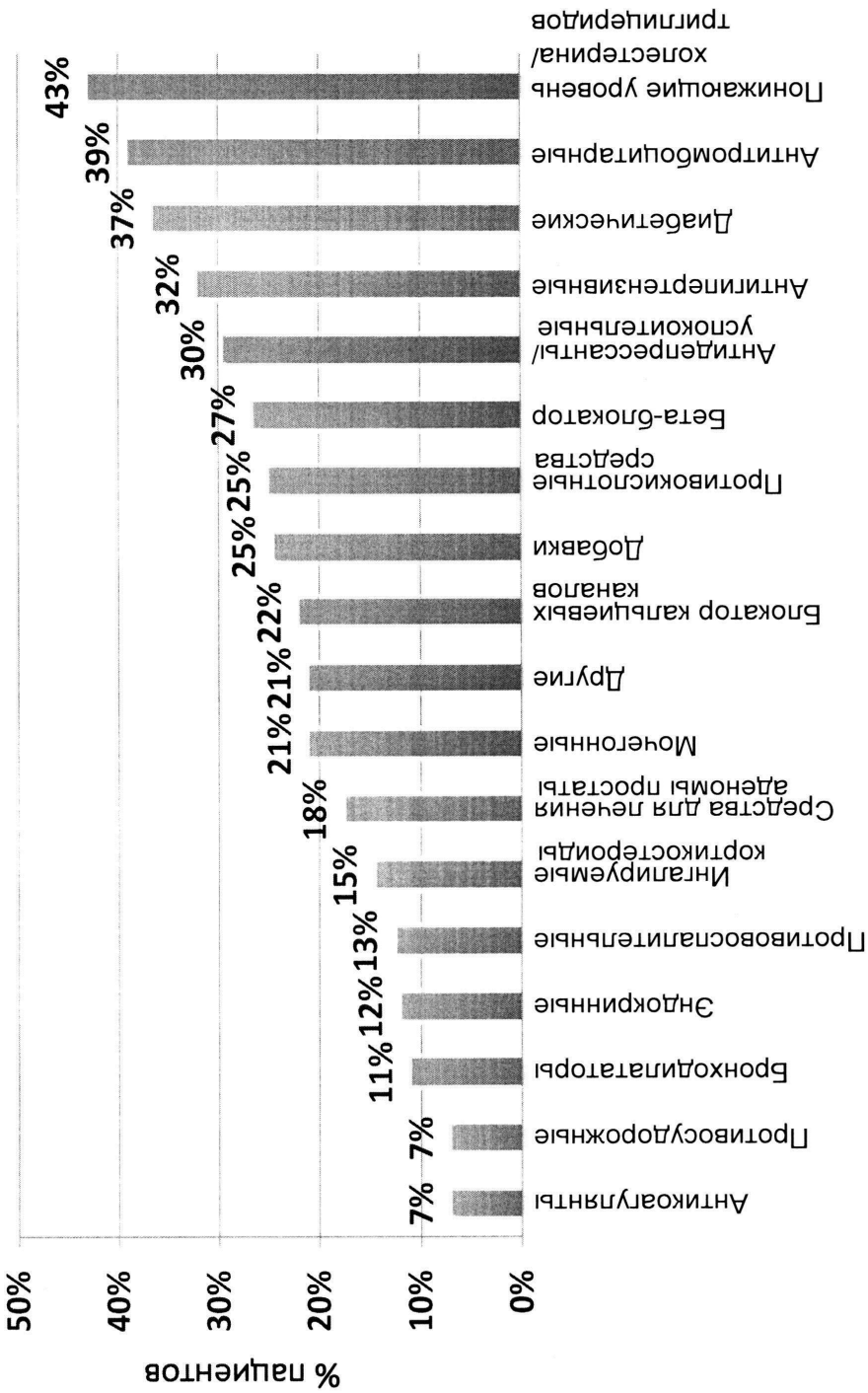
ФИГ.11





ФИГ.12В

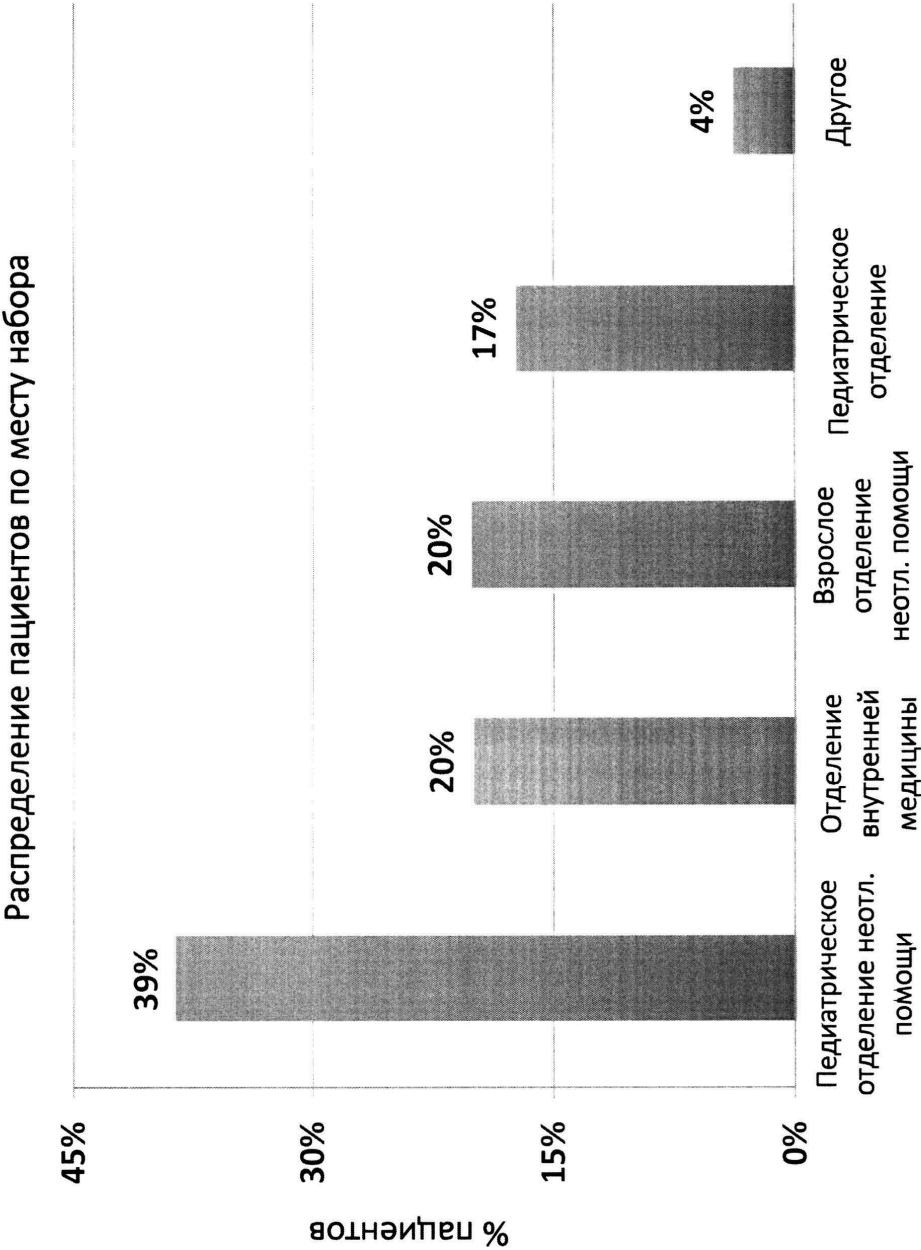
Постоянно принимаемые лекарственные средства

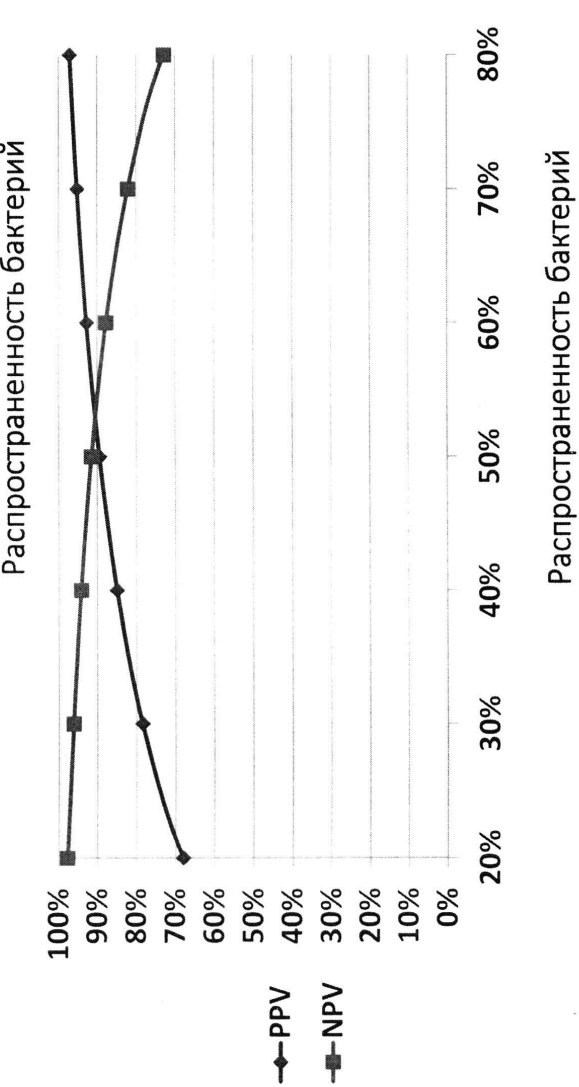
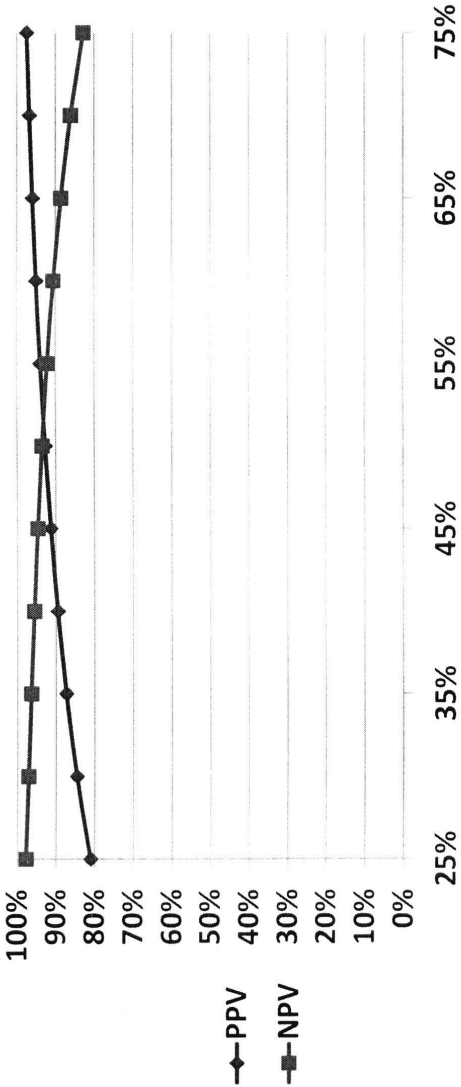


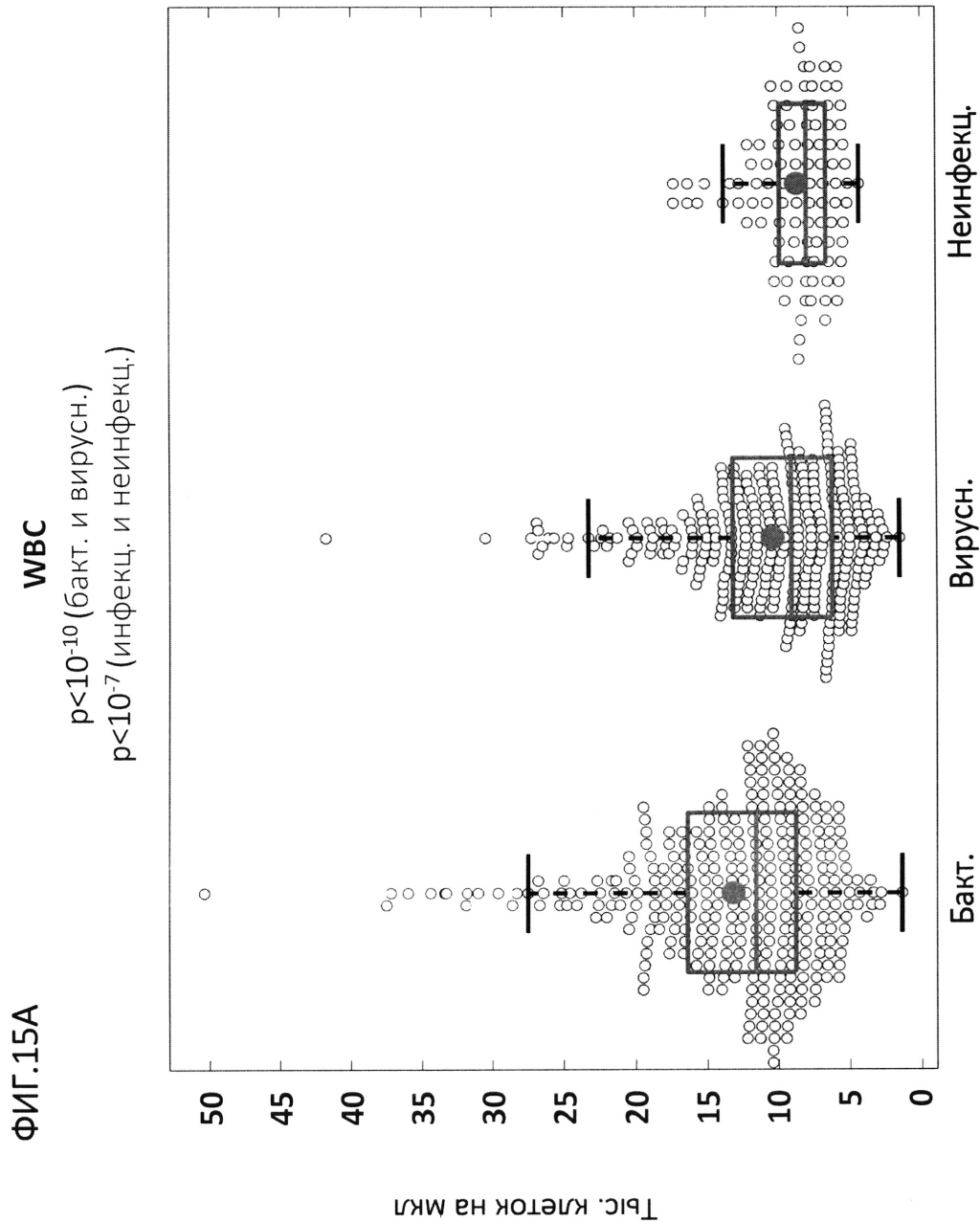


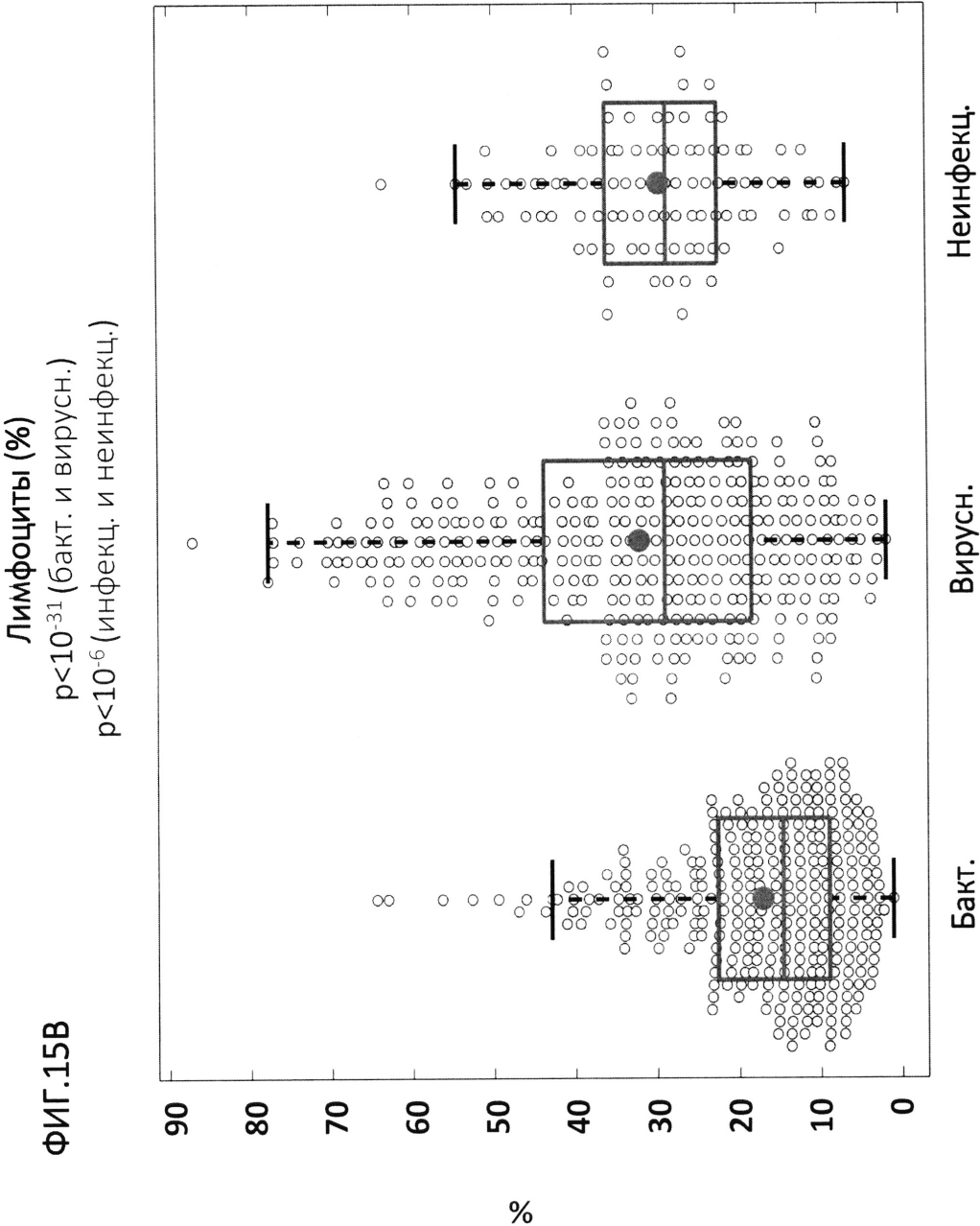
22/66

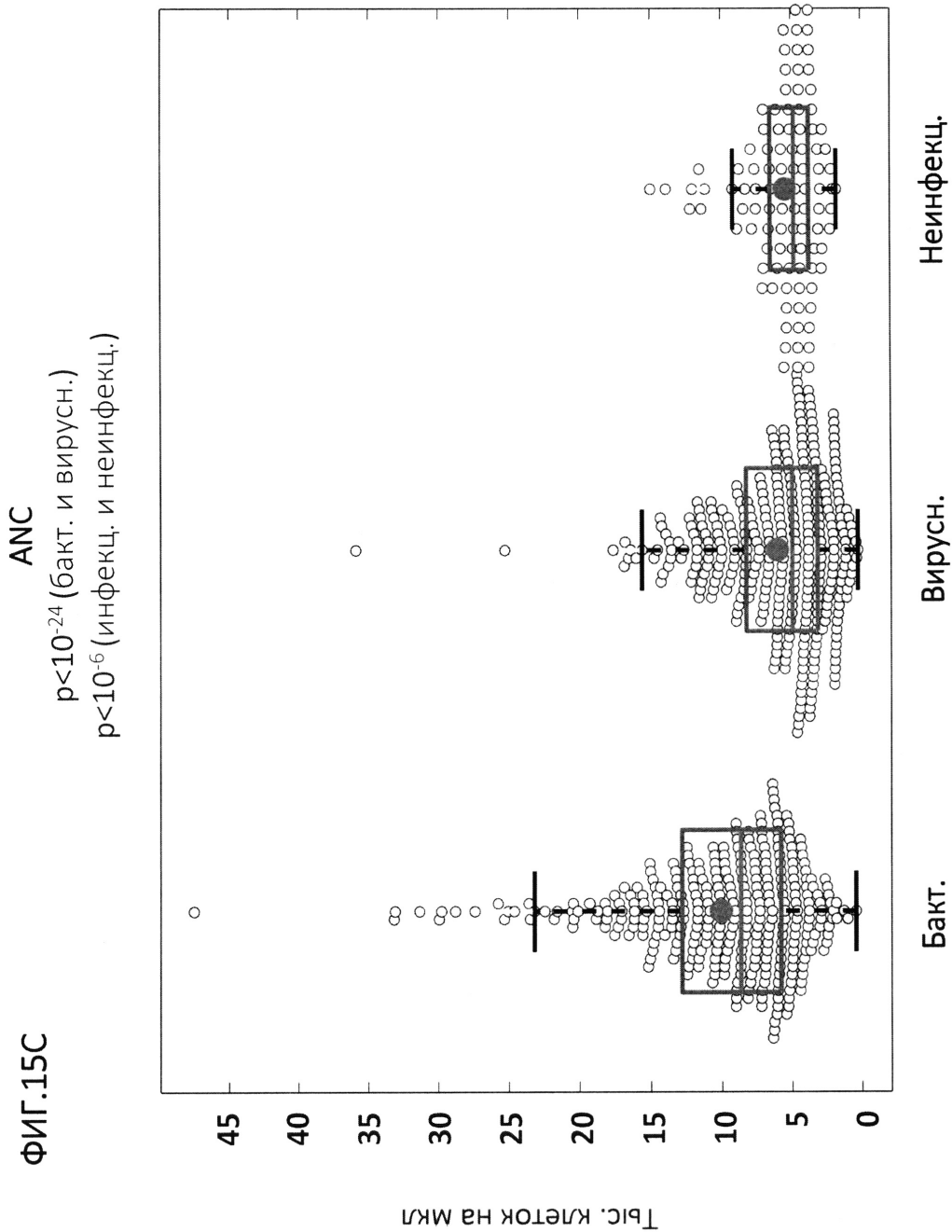
ФИГ.13



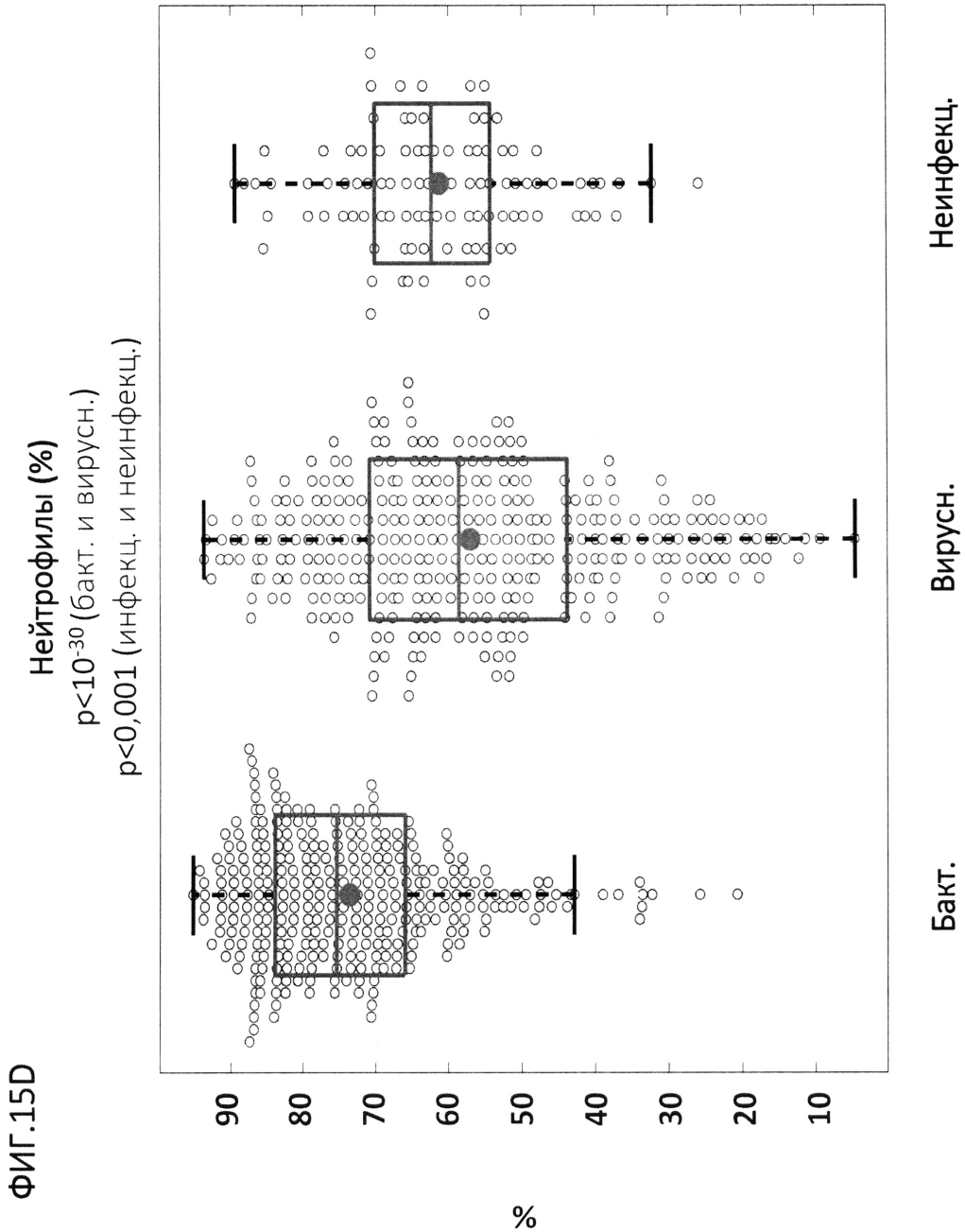


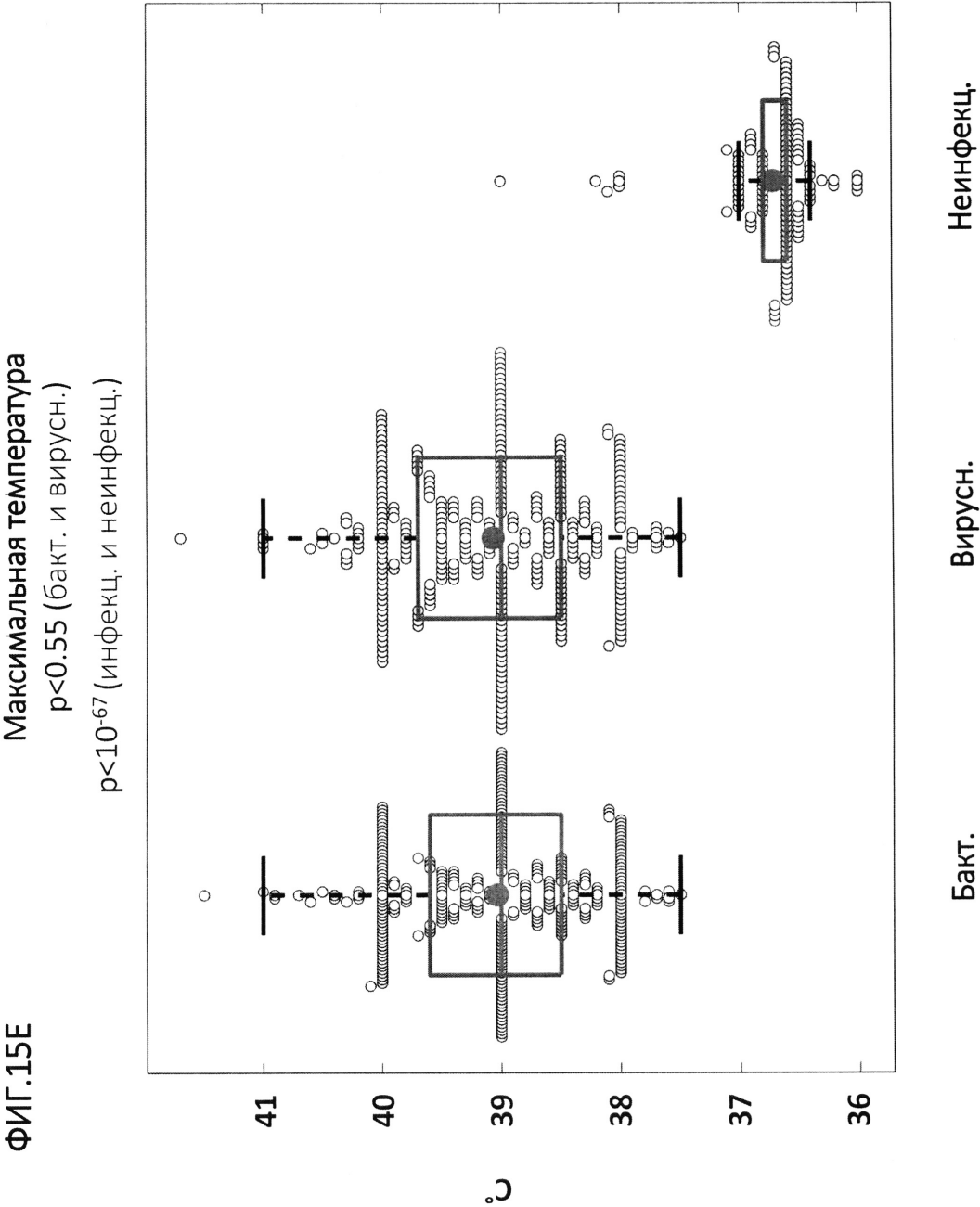






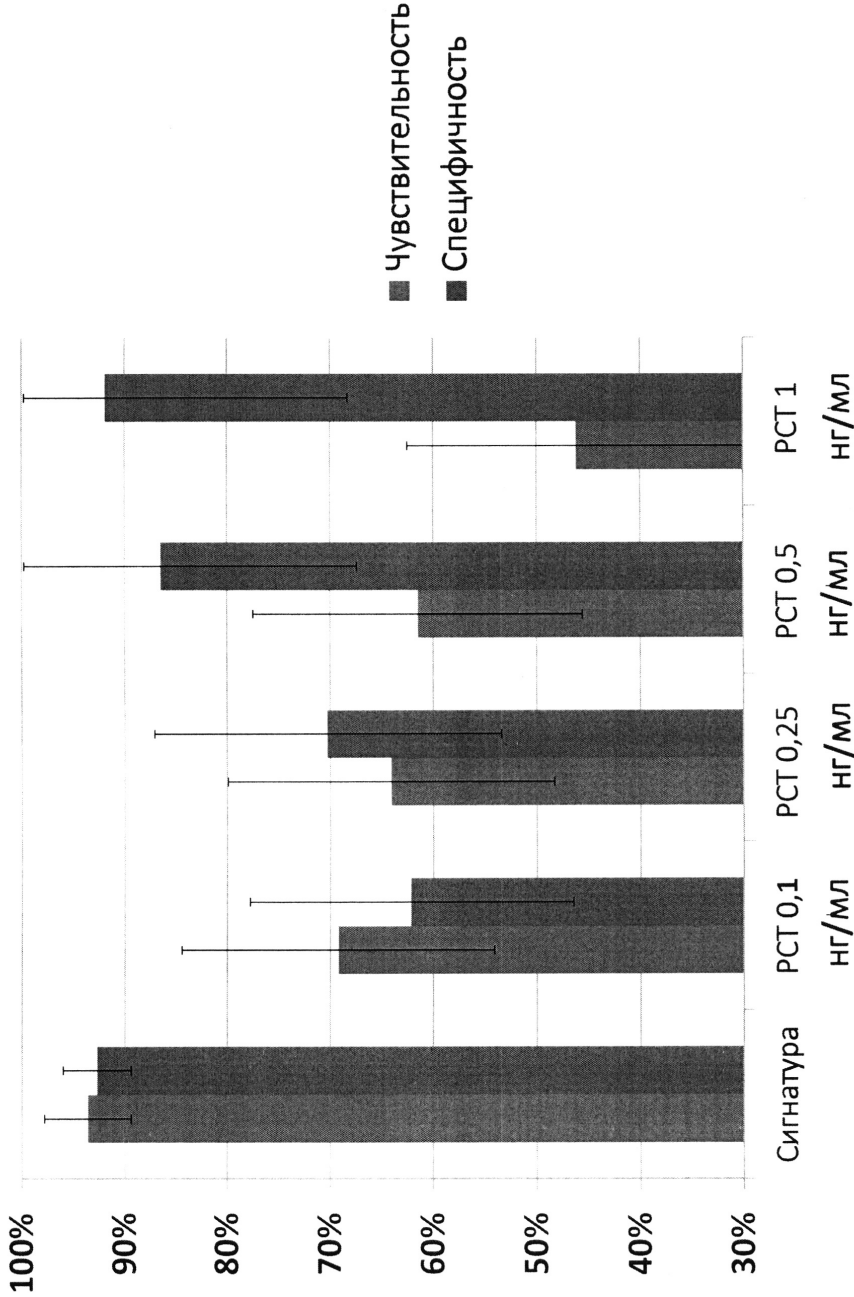
27/66





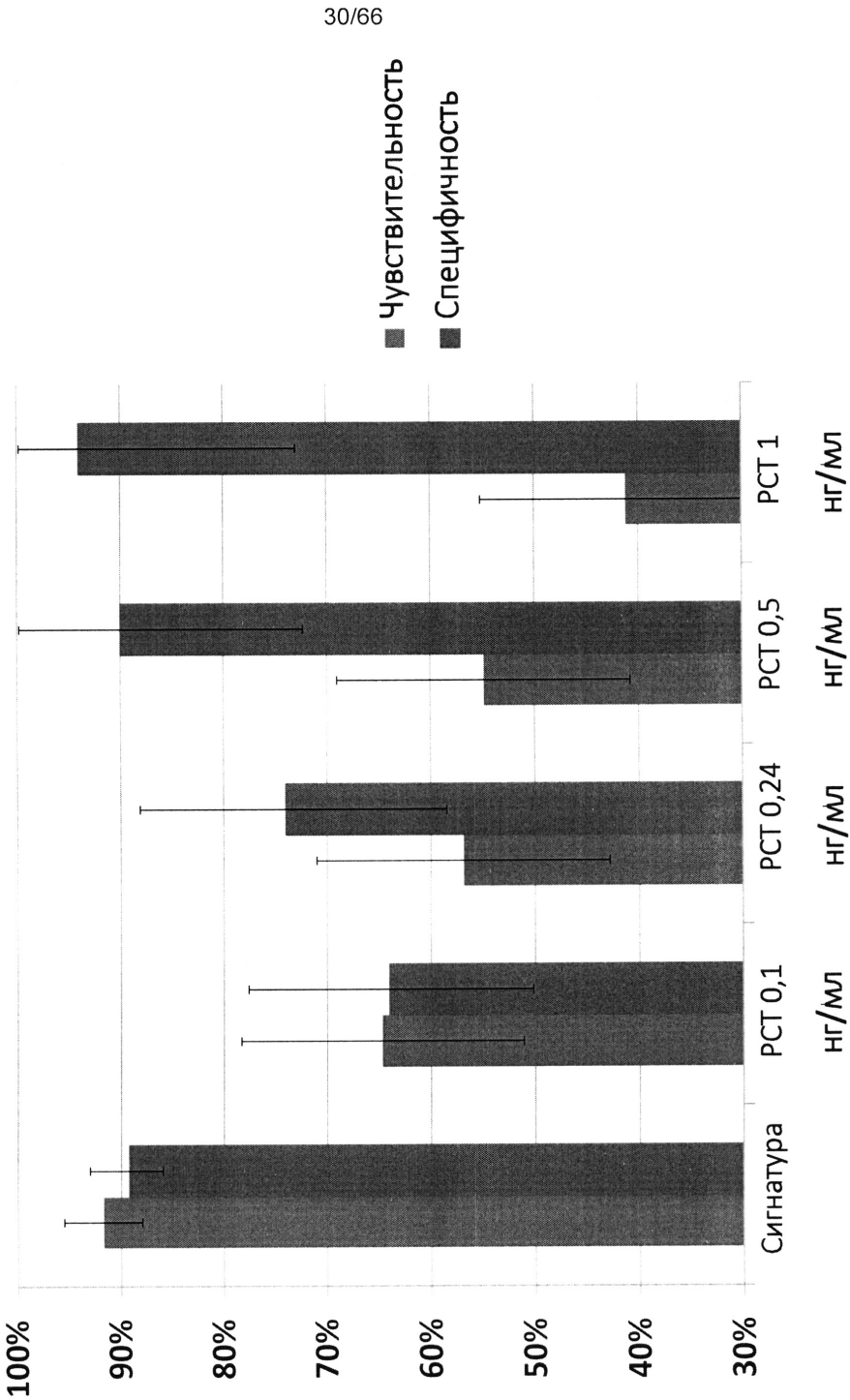
29/66

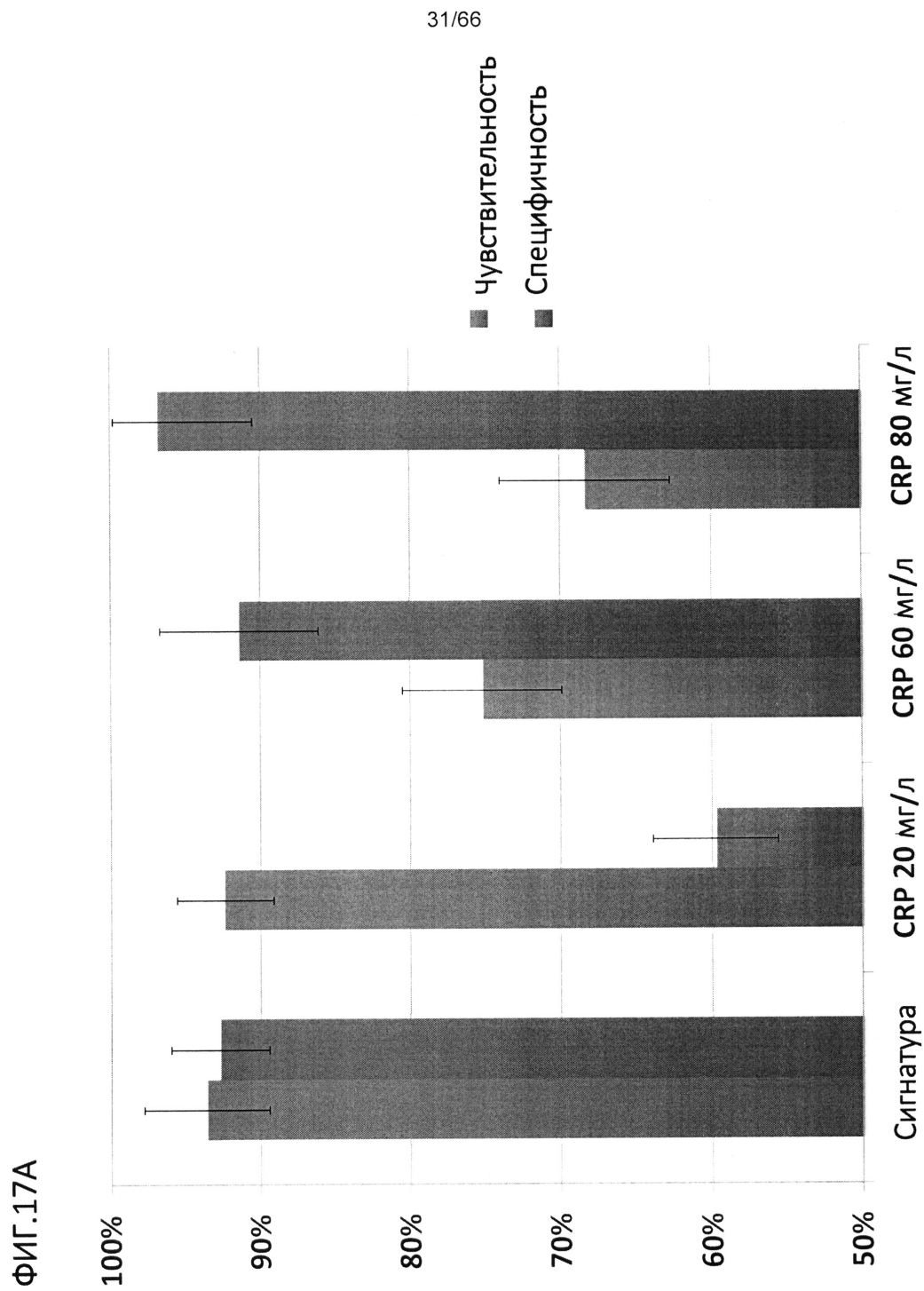
ФИГ.16А

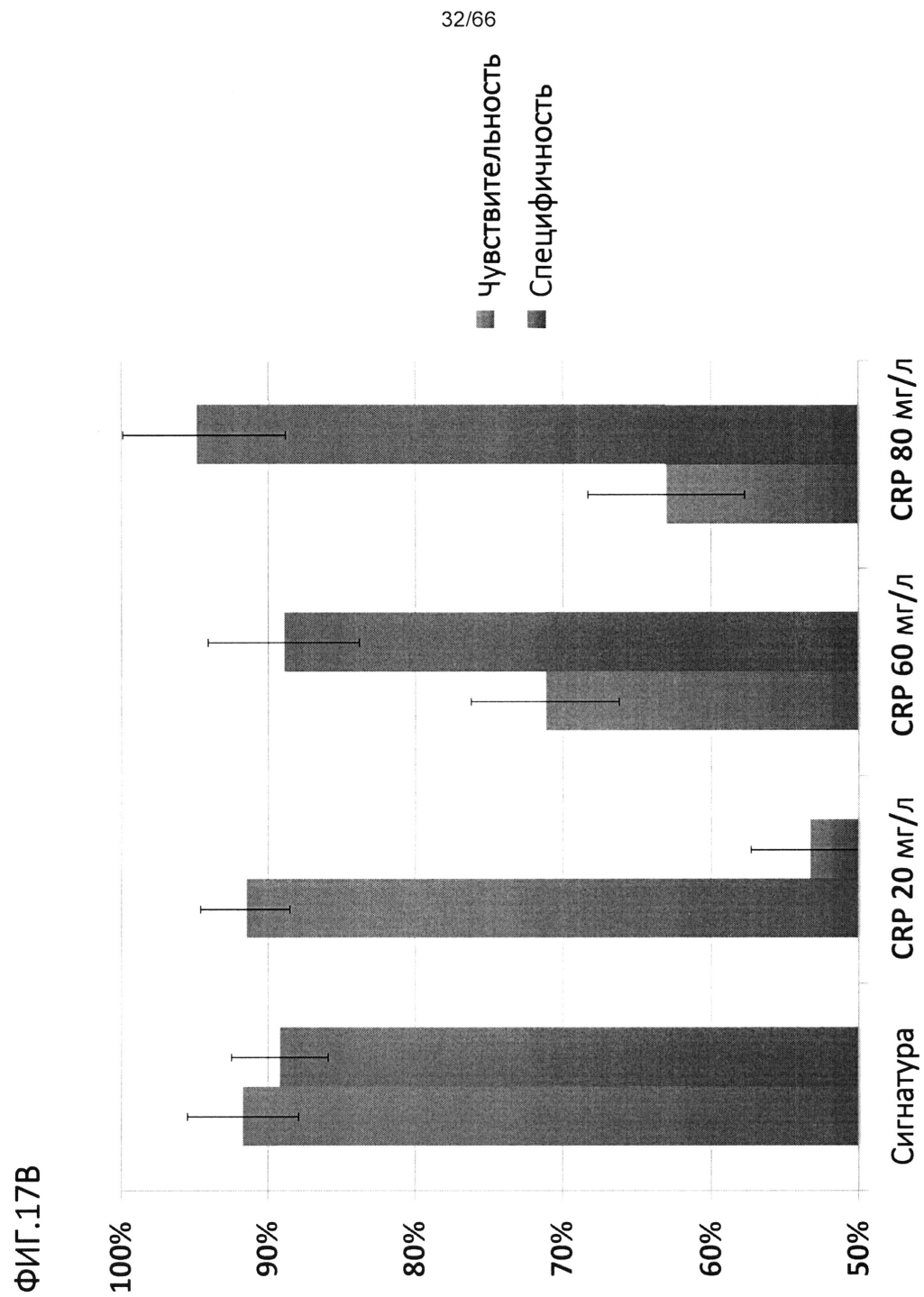




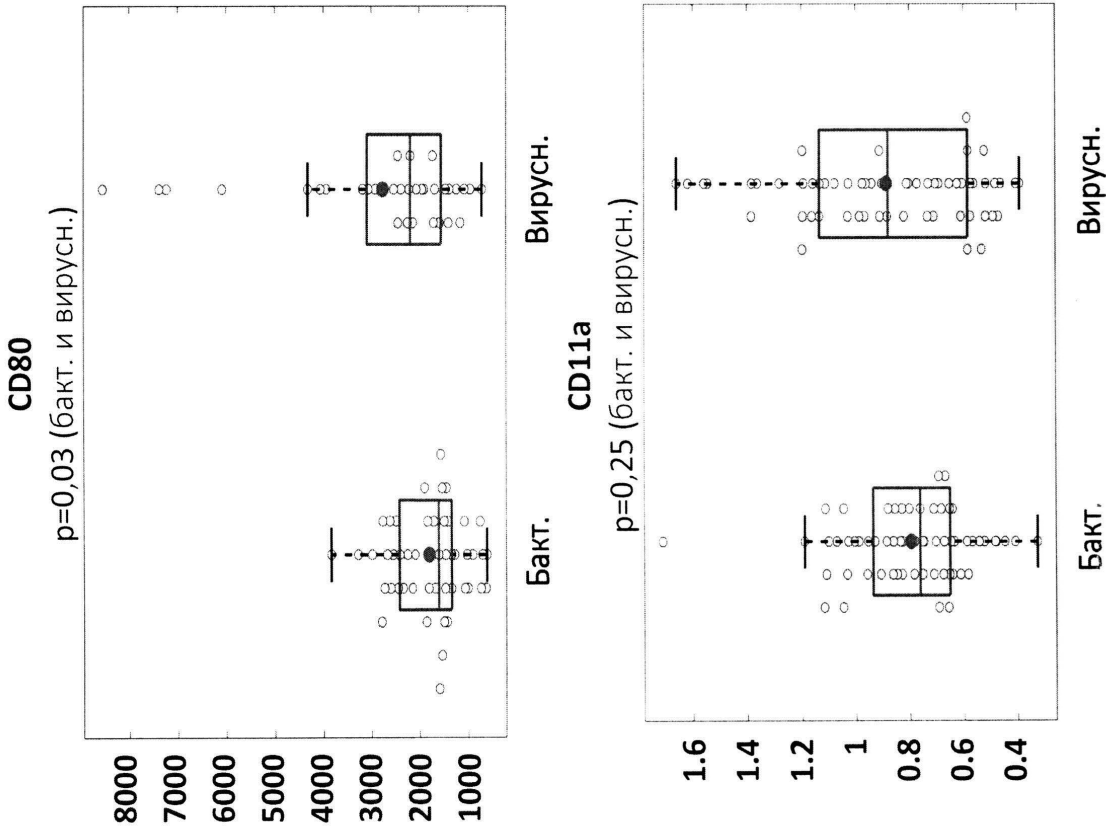
ФИГ.16В





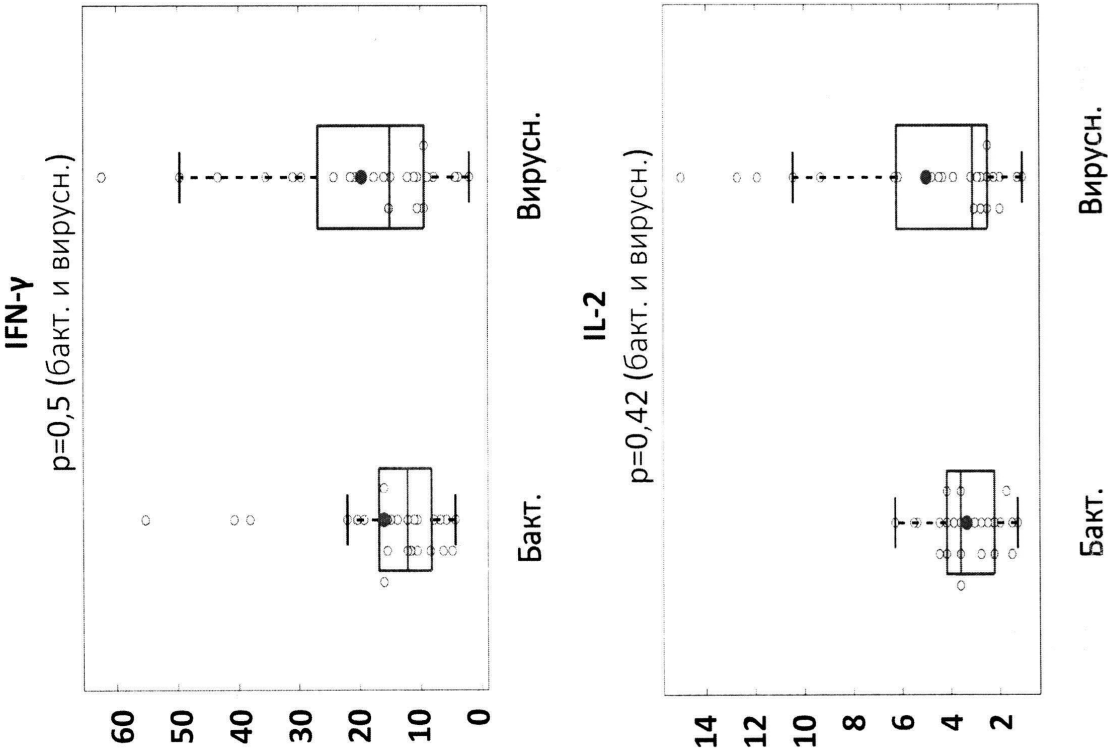


33/66



ФИГ.18А

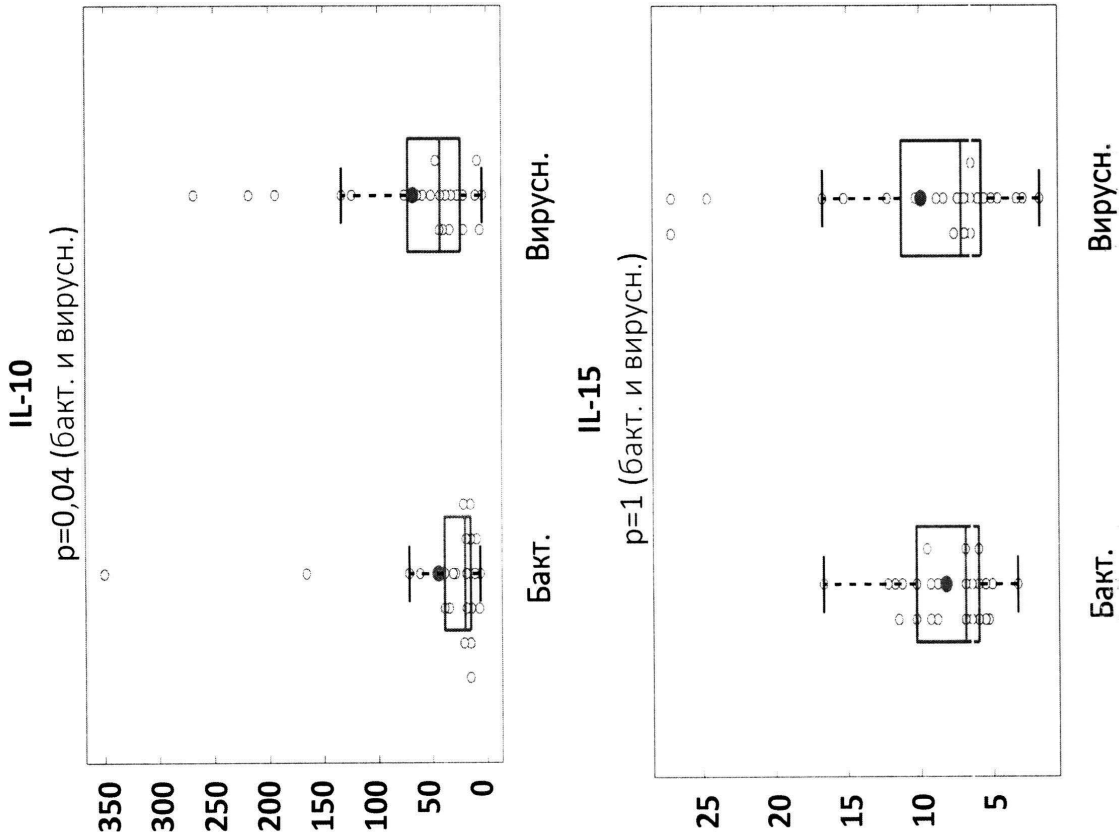
ФИГ.18В



ФИГ.18С

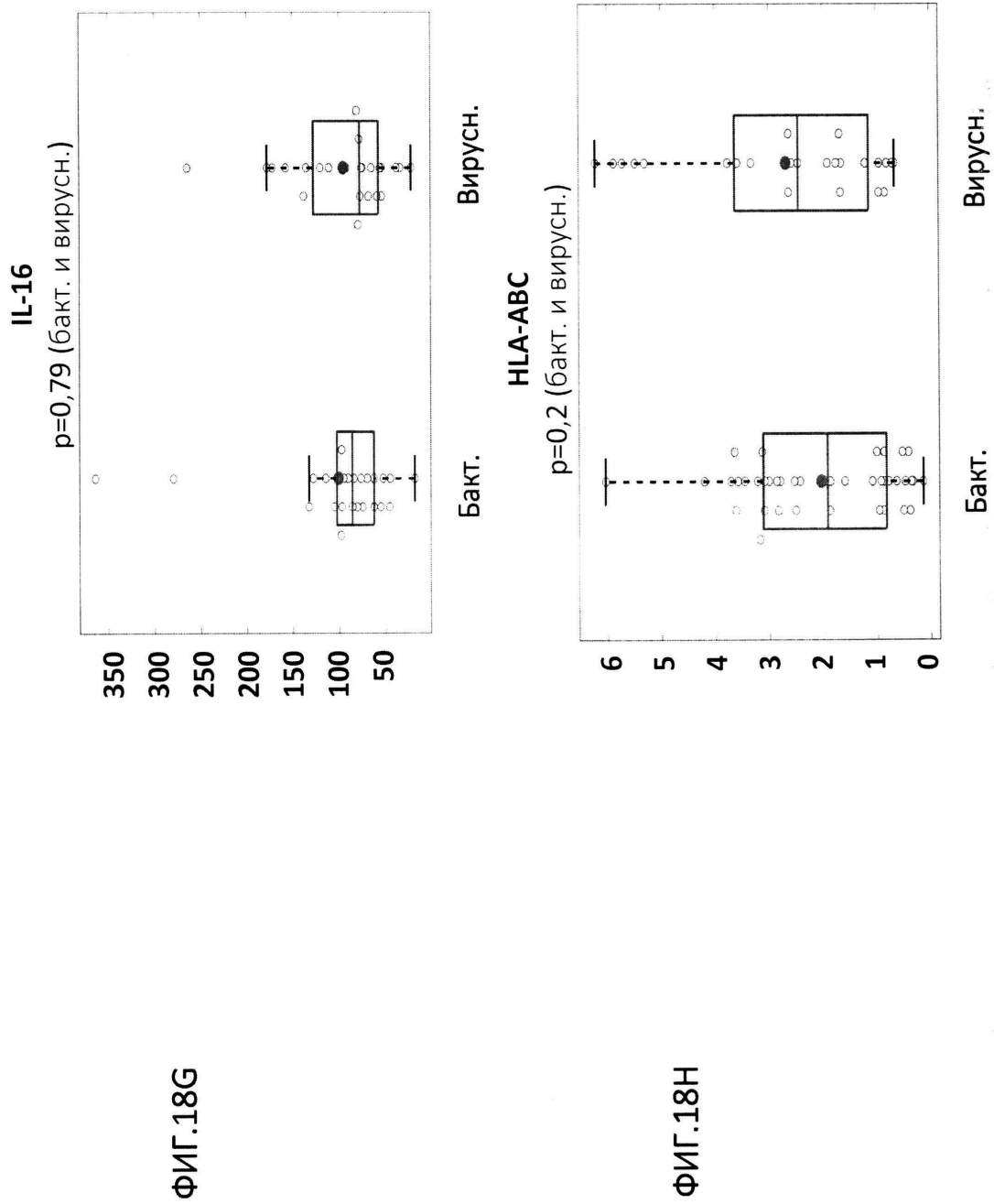
ФИГ.18D

35/66

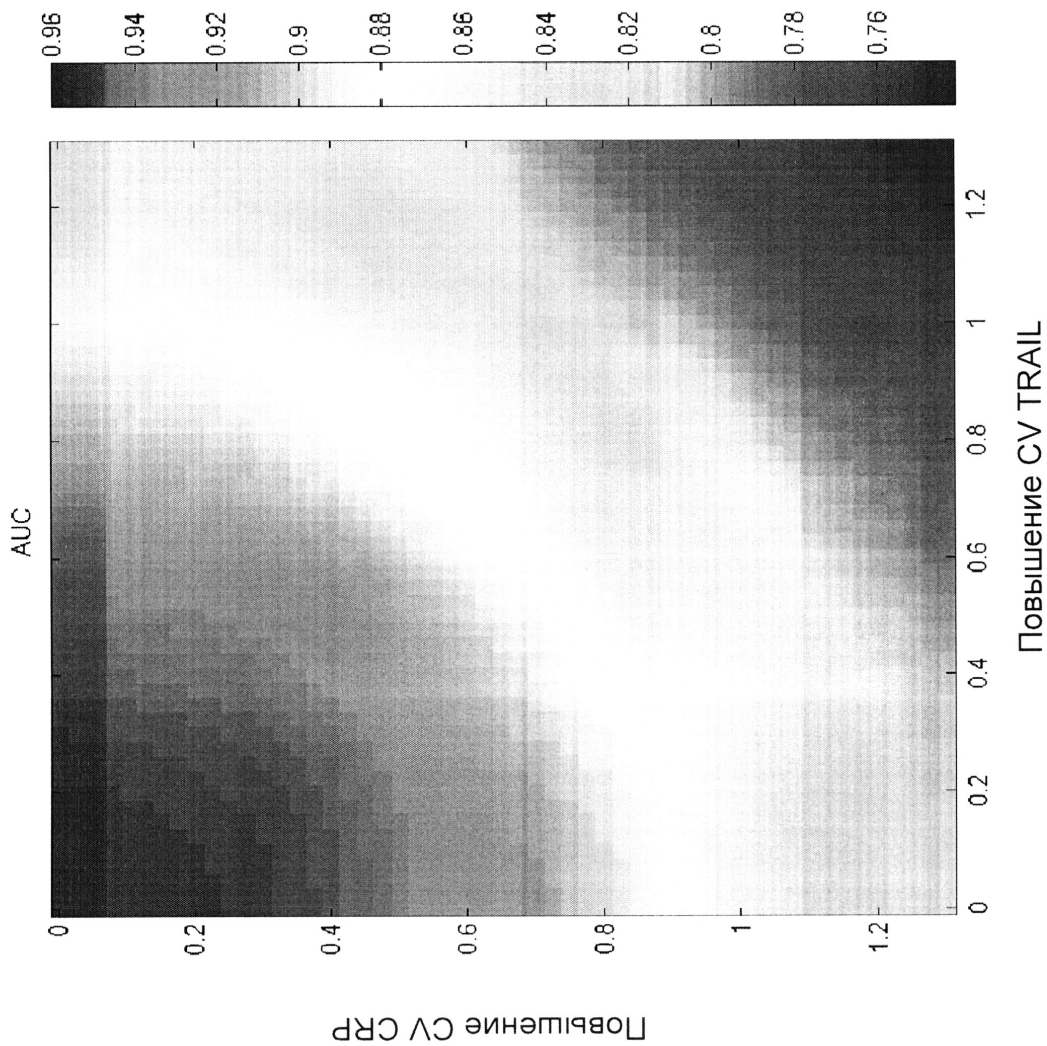


ФИГ.18Е

ФИГ.18F



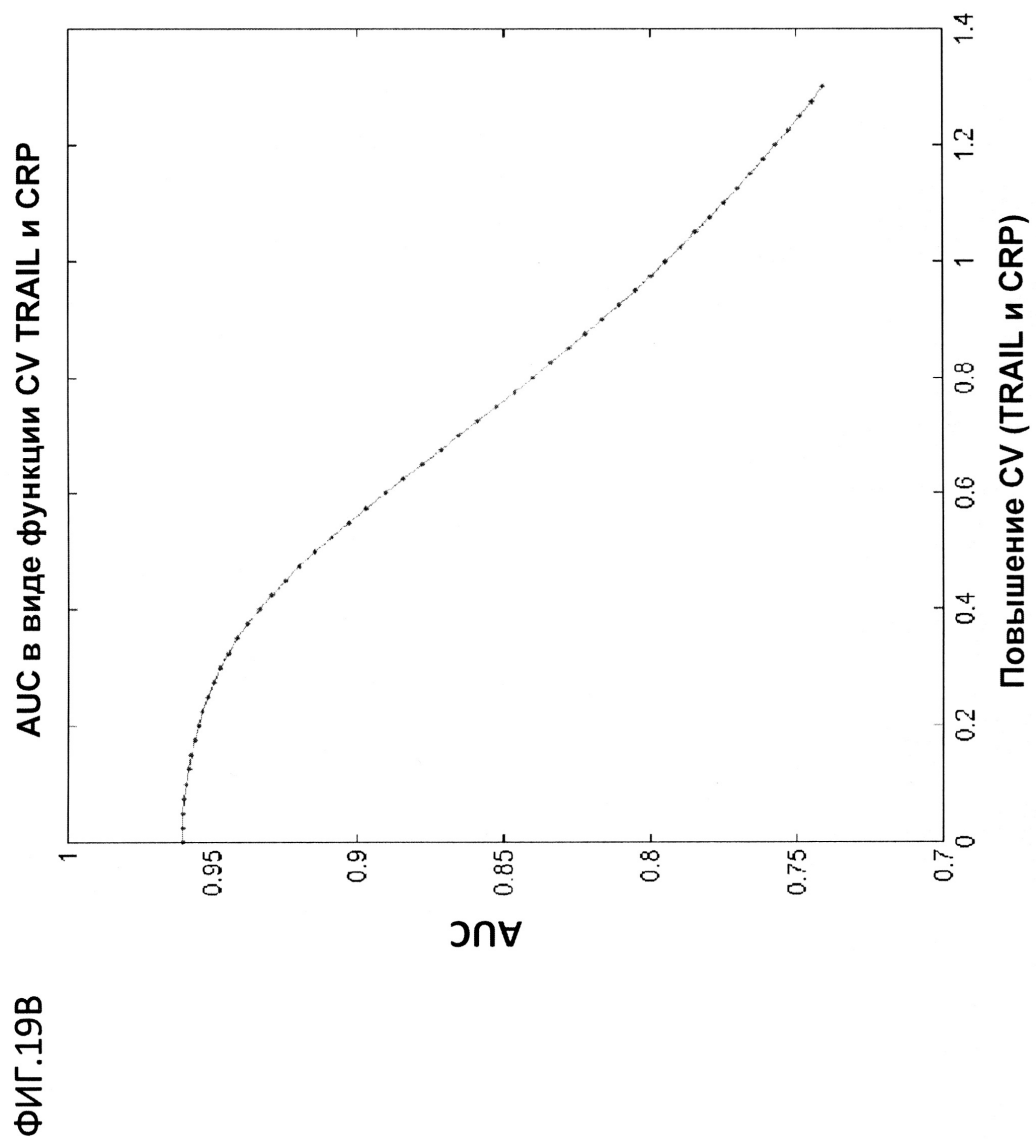
37/66



ФИГ.19А

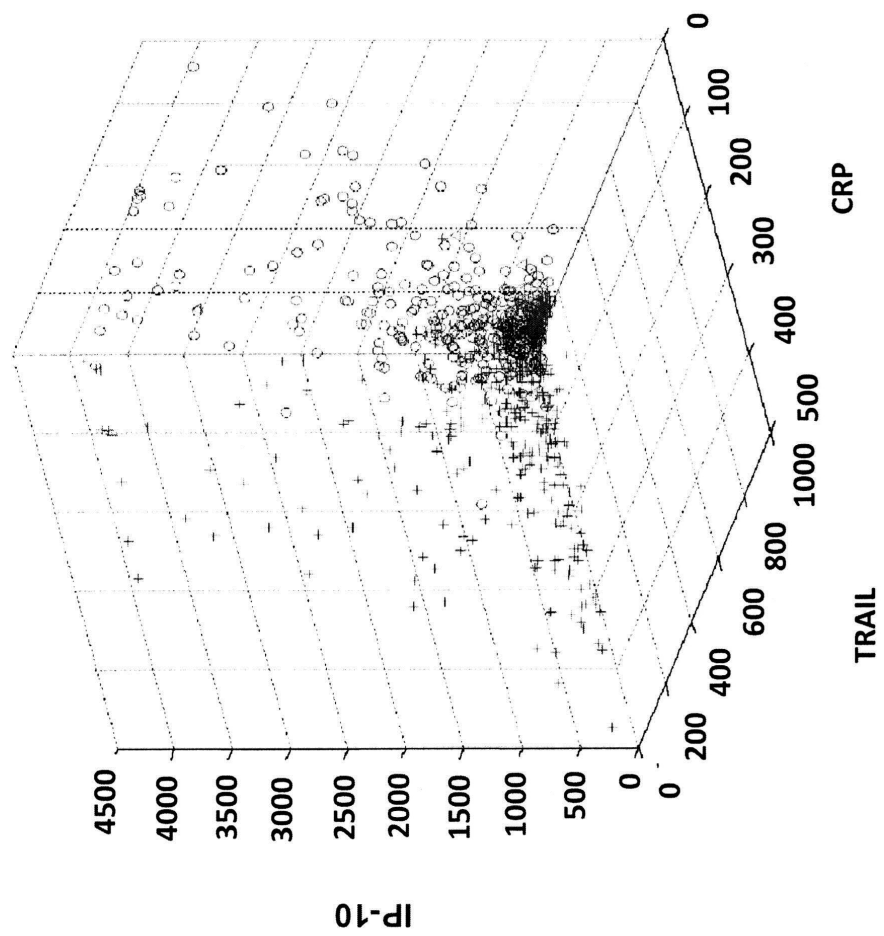


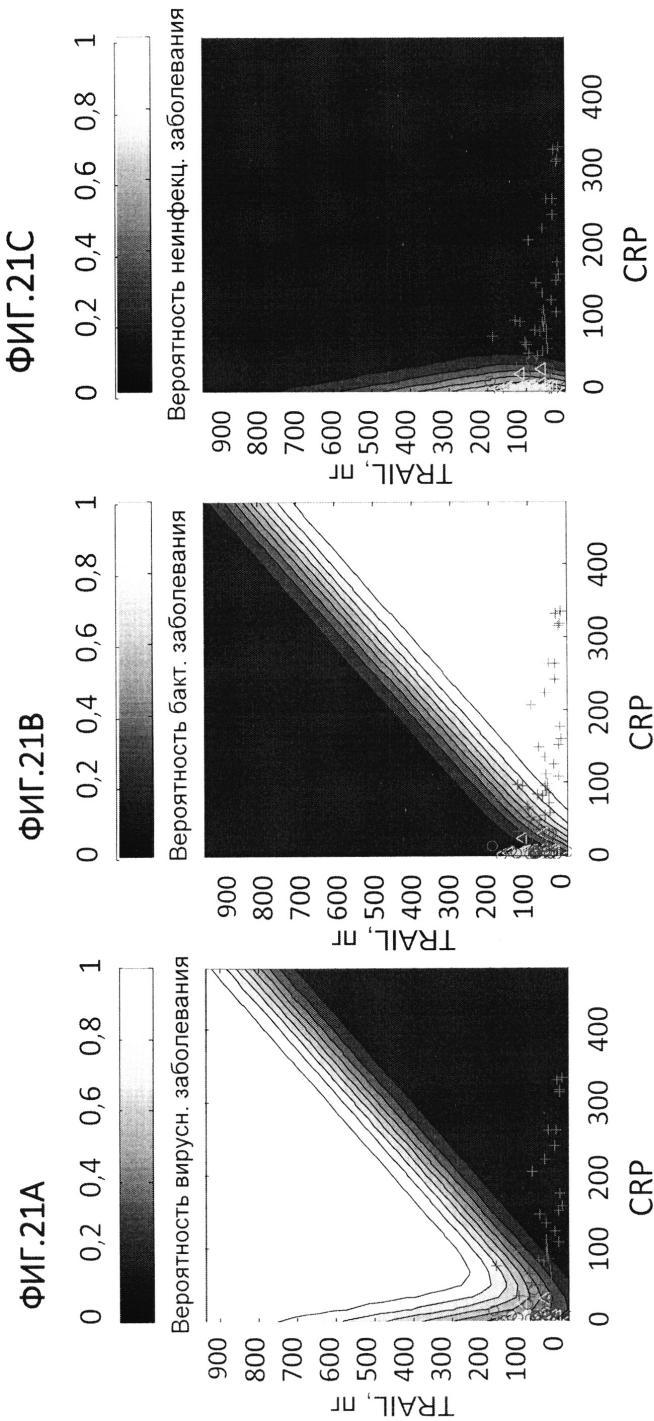
38/66

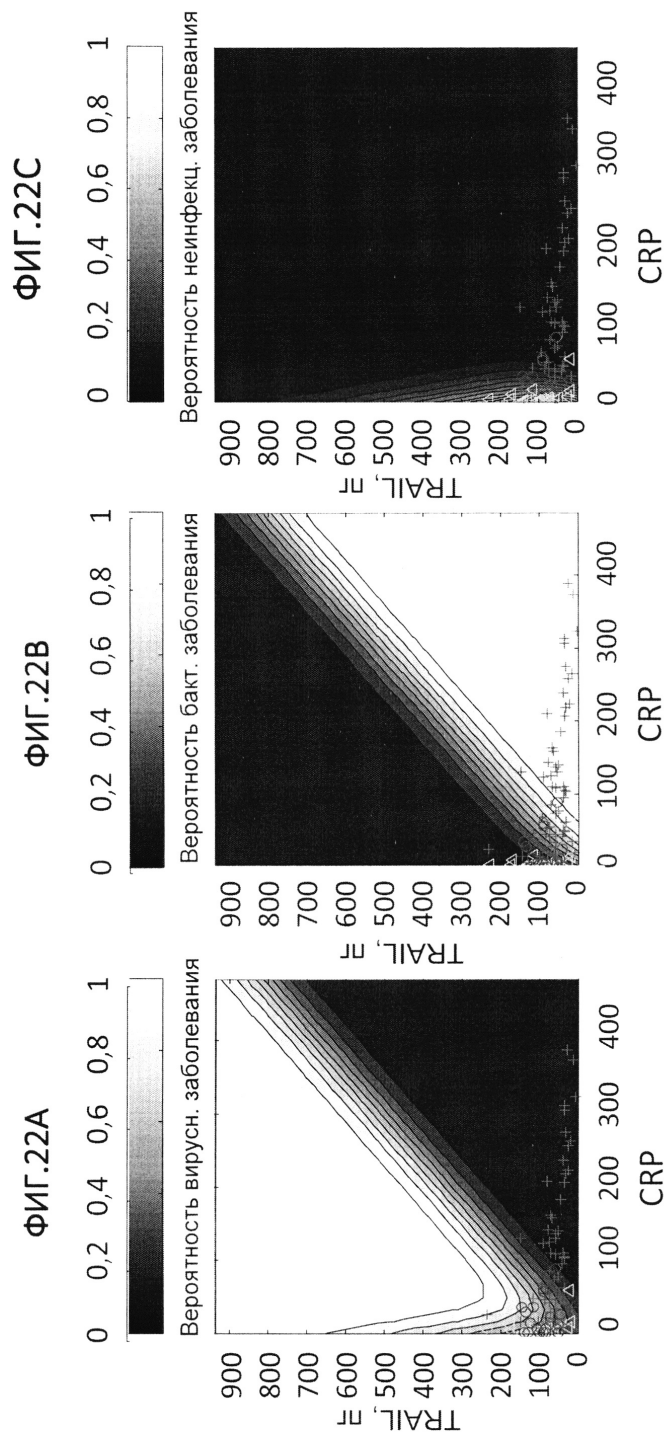


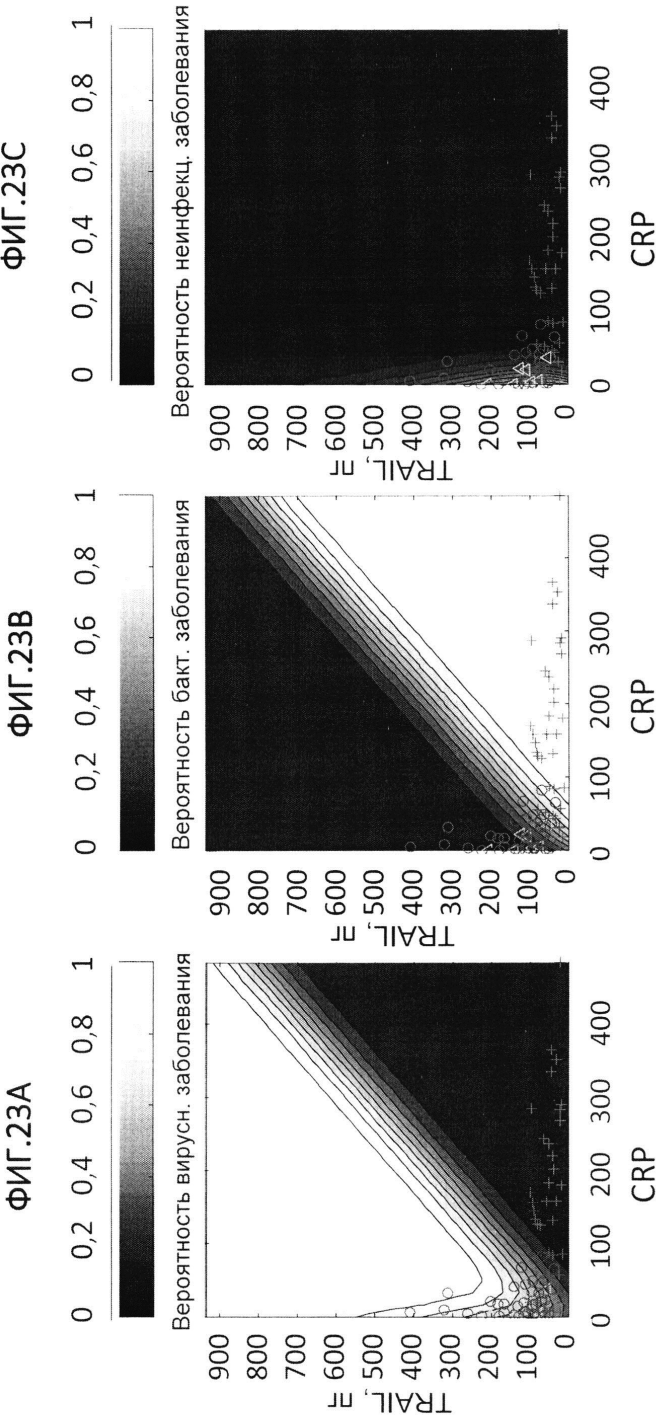
39/66

ФИГ.20

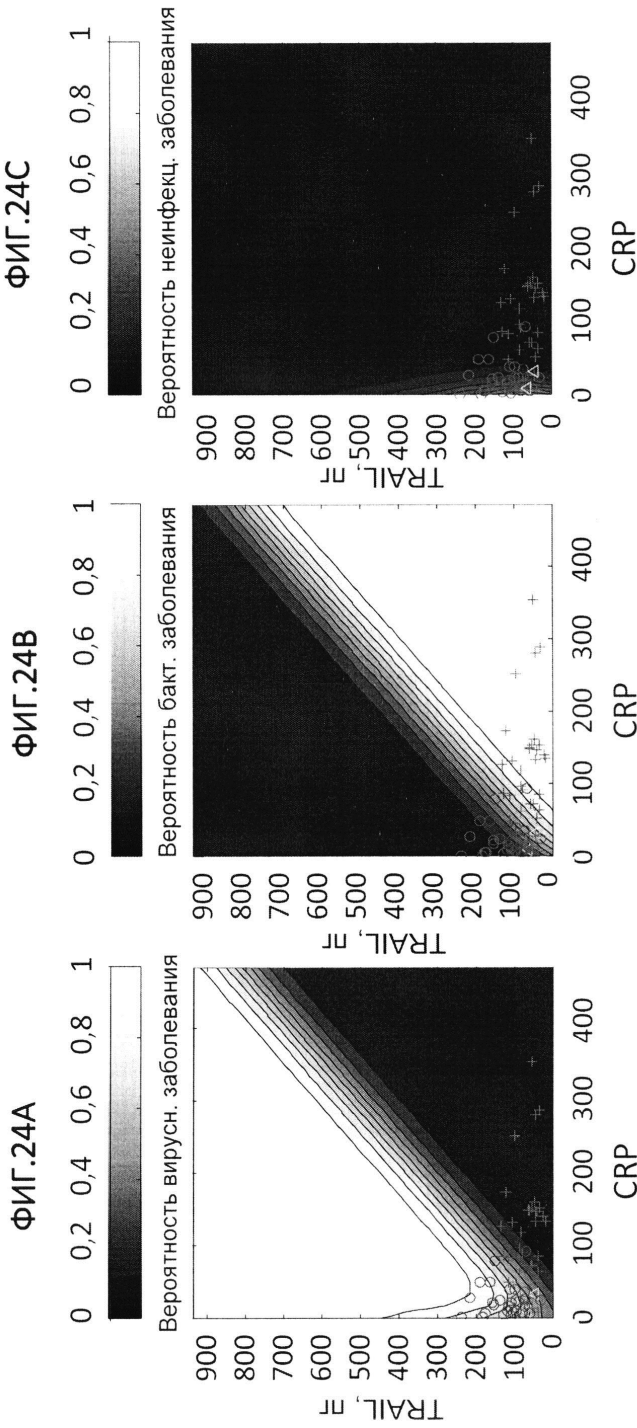


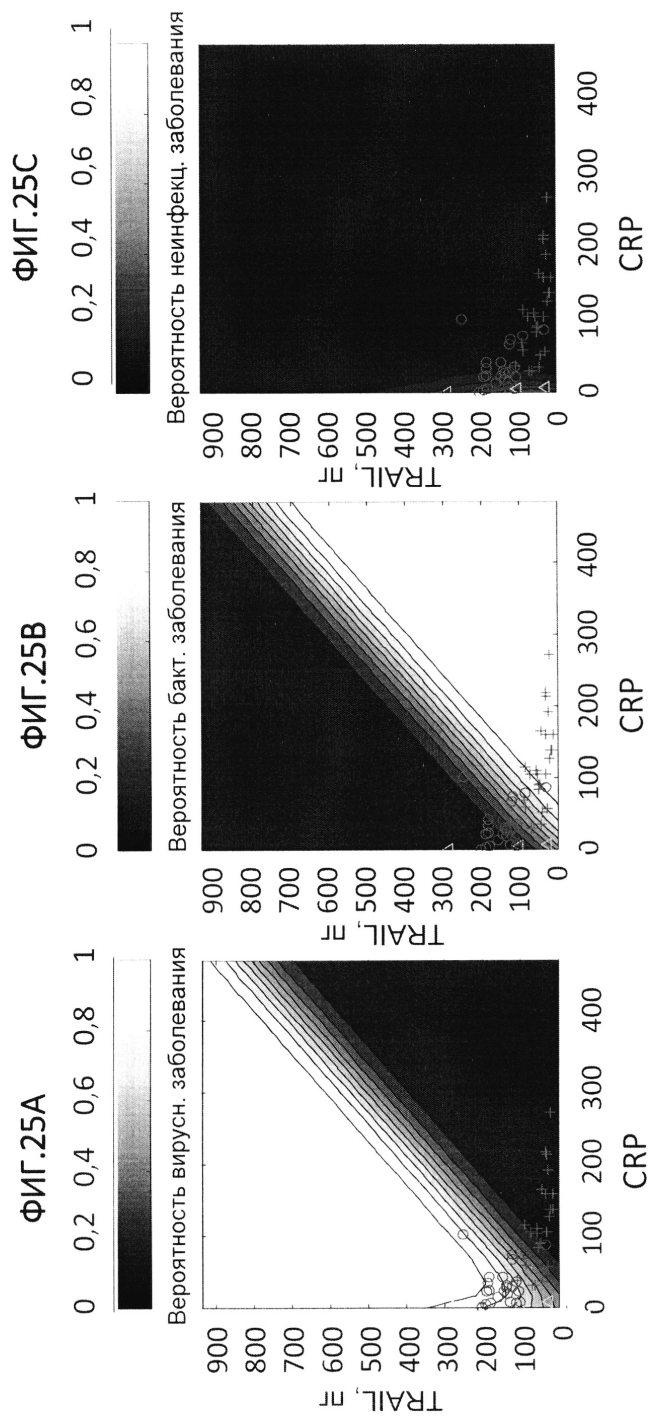






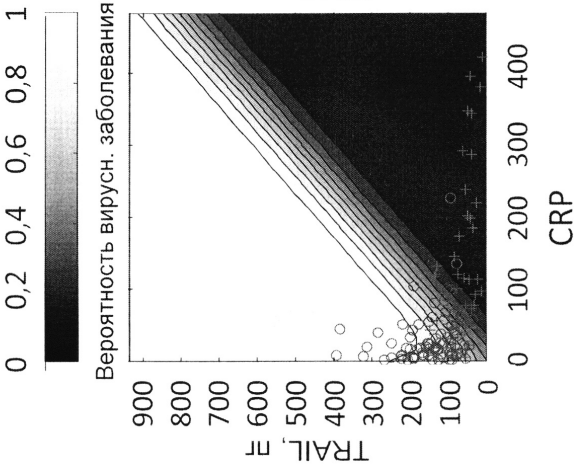
43/66



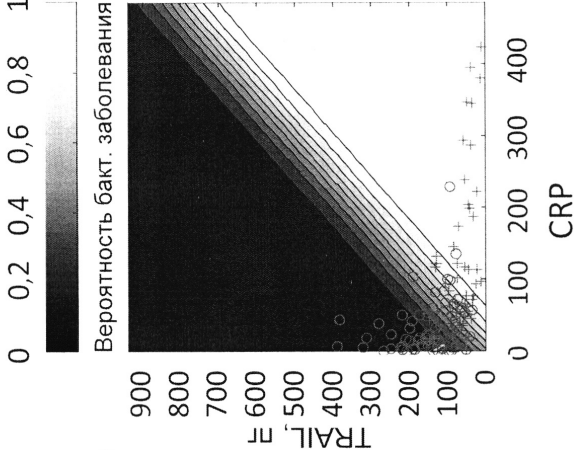


45/66

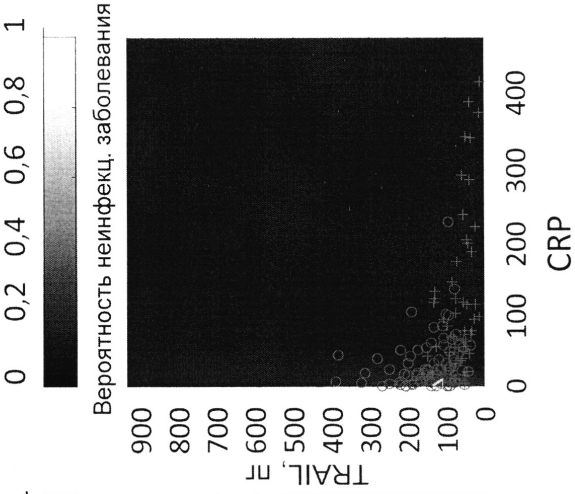
ФИГ.26А



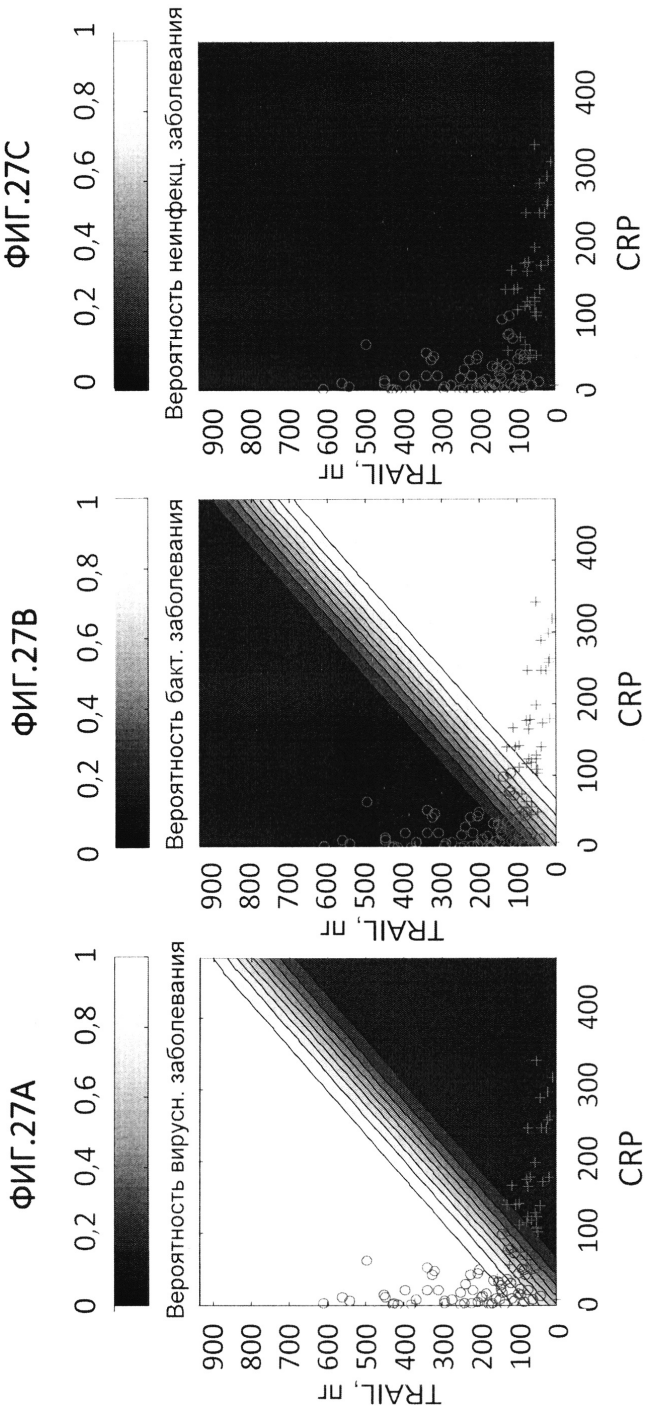
ФИГ.26В

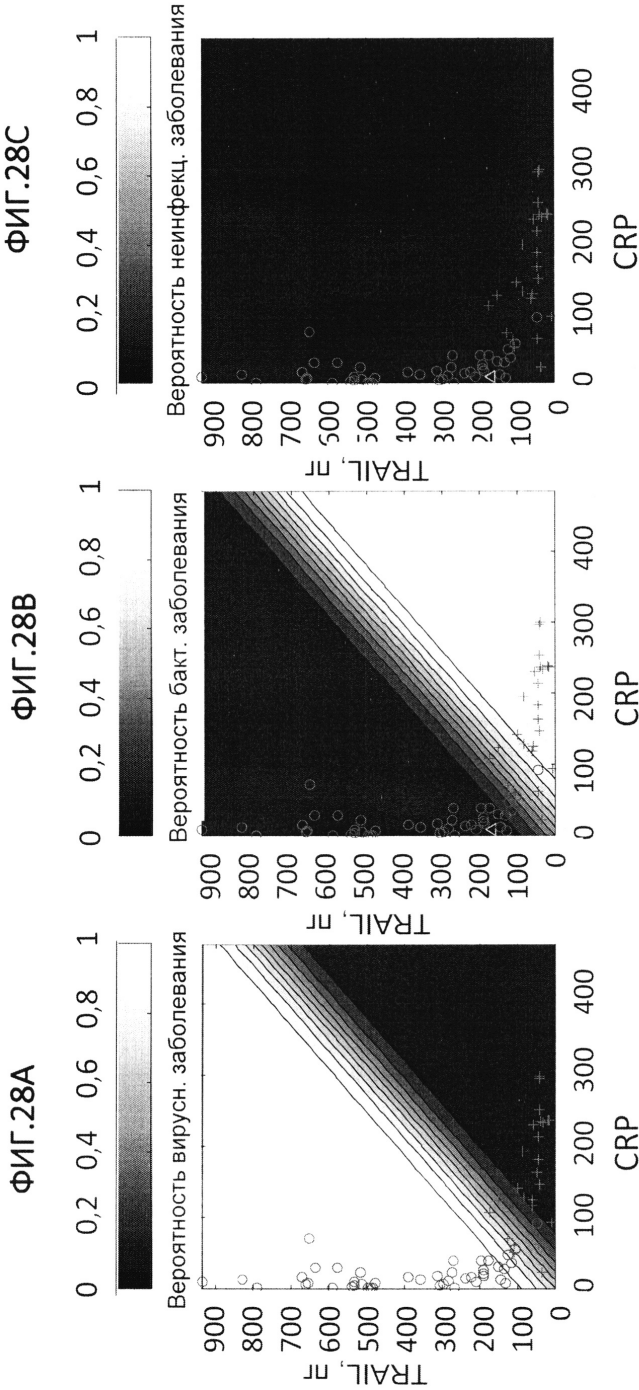


ФИГ.26С









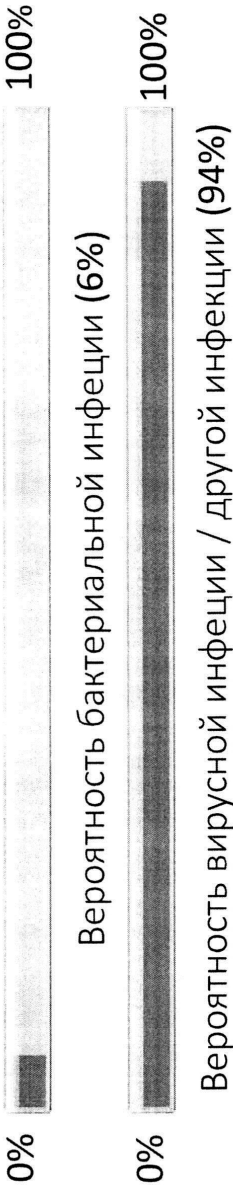
**ФИГ.29А**

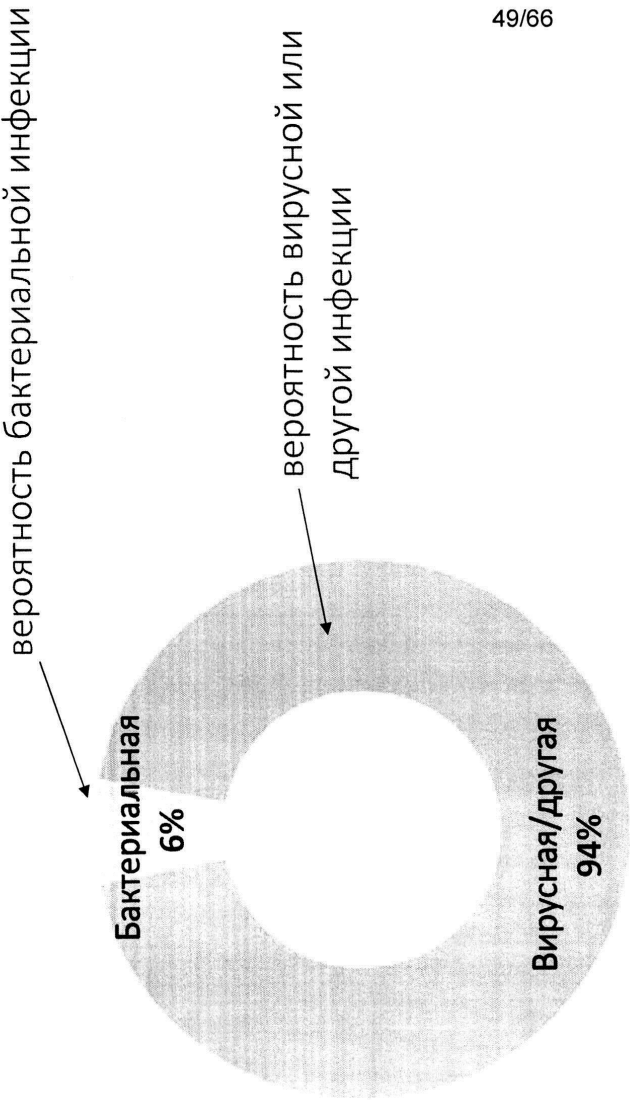


**ФИГ.29В**

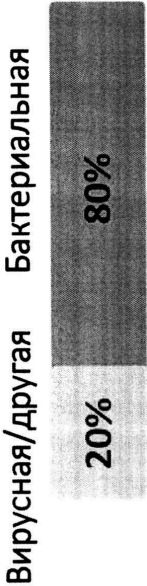


**ФИГ.29С**



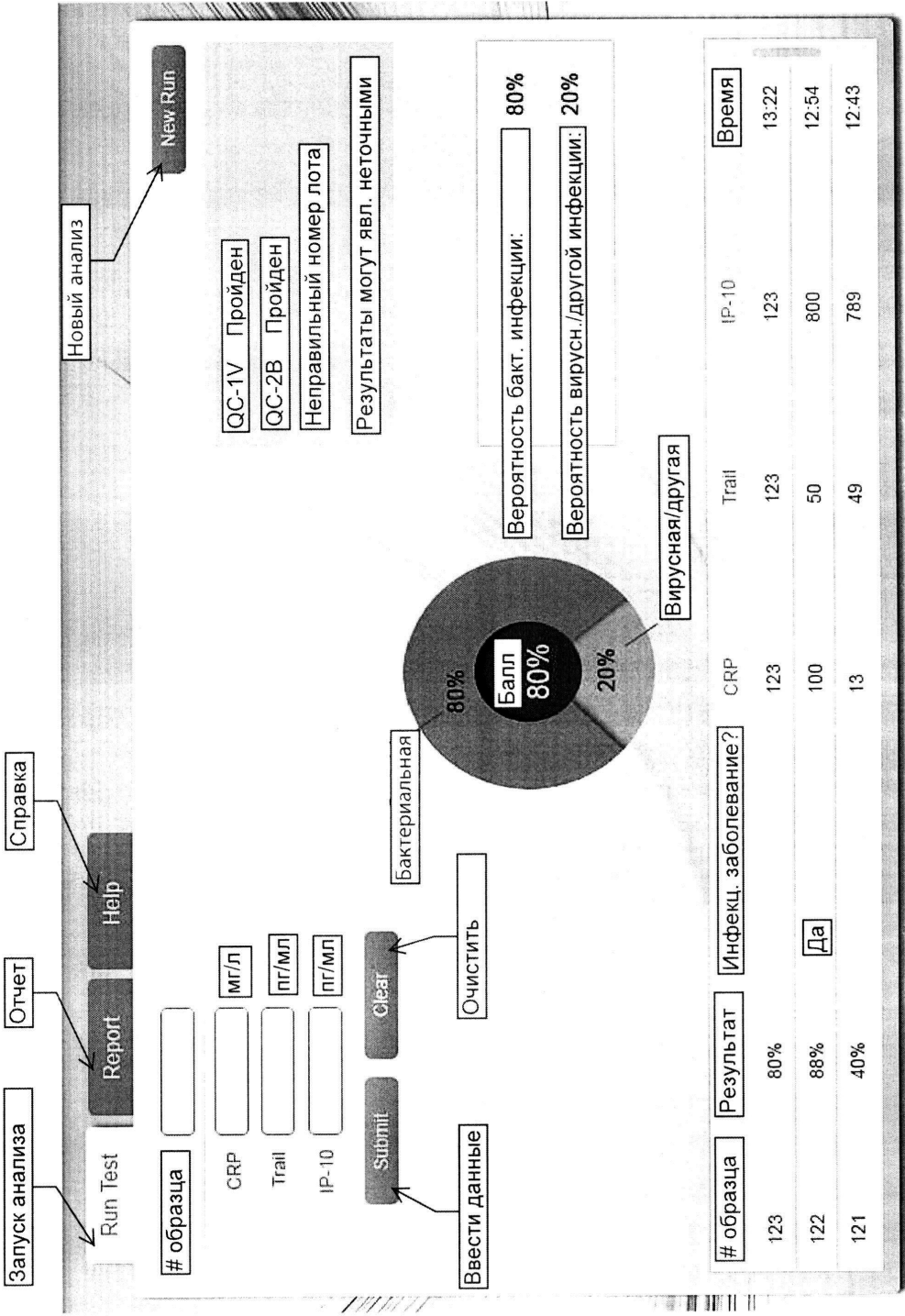


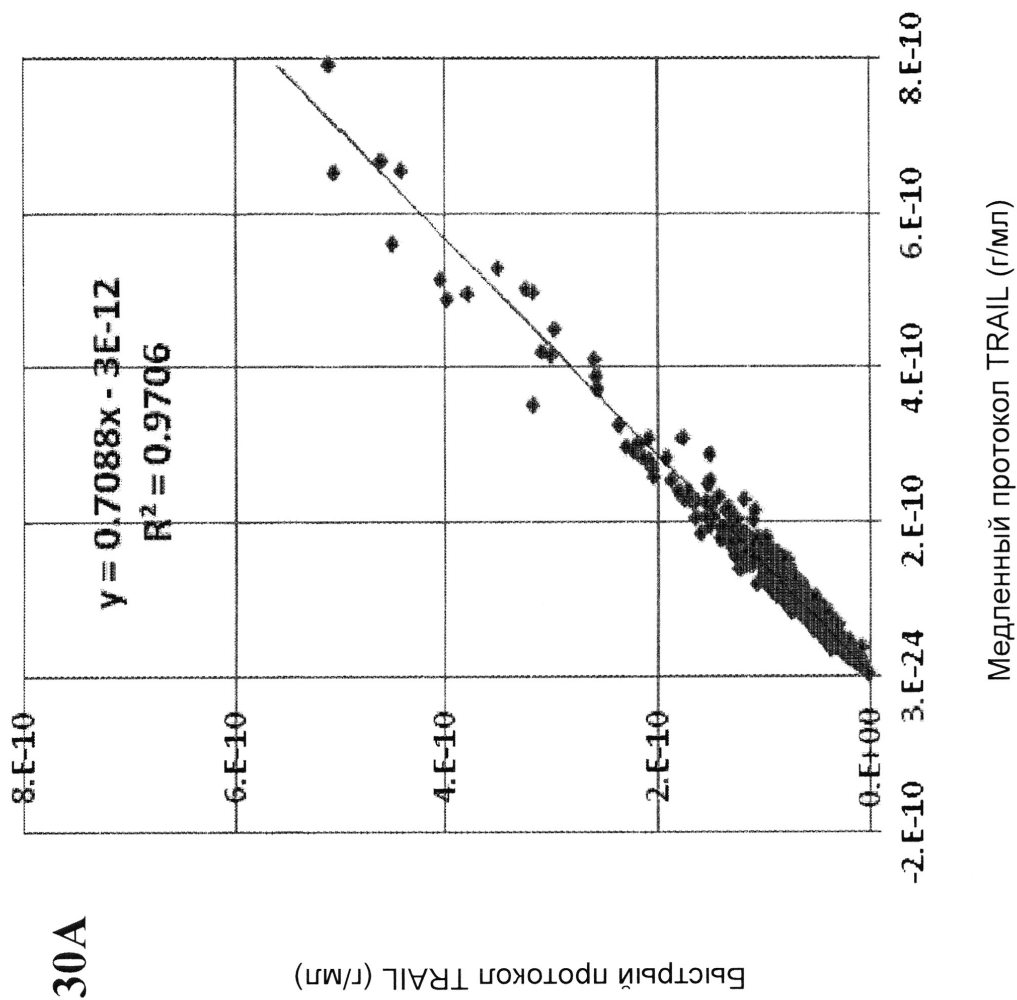
ФИГ.29D

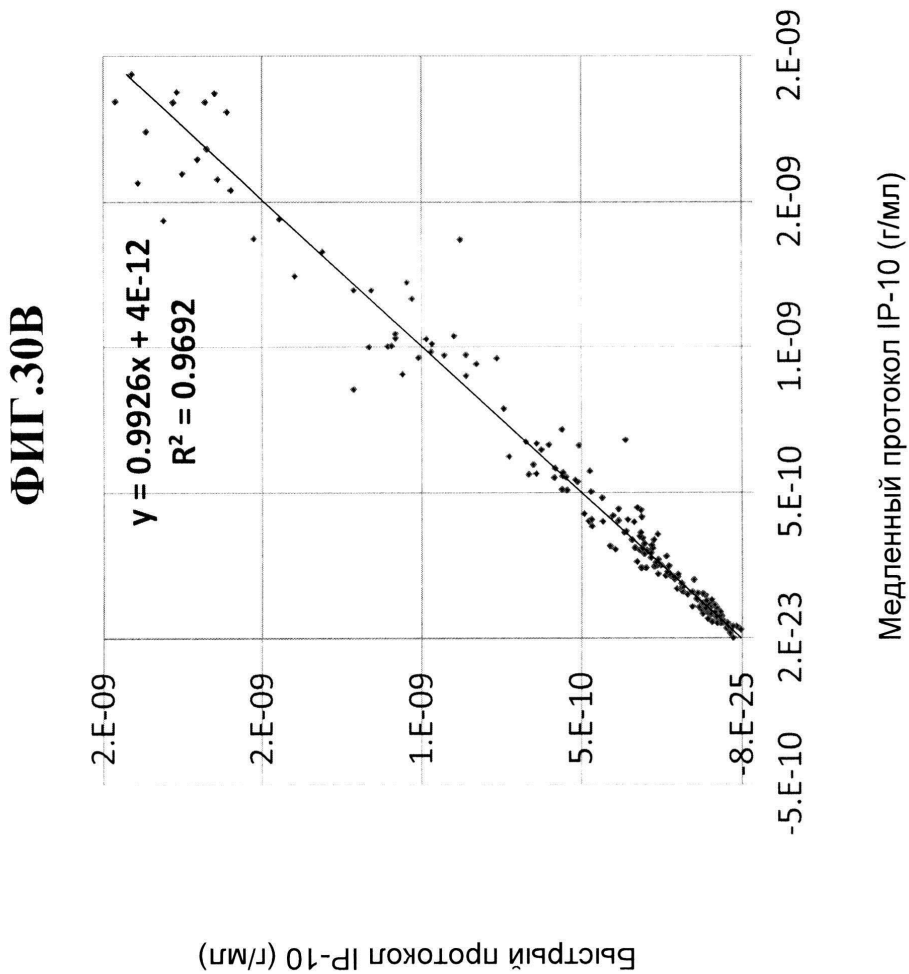


ФИГ.29E

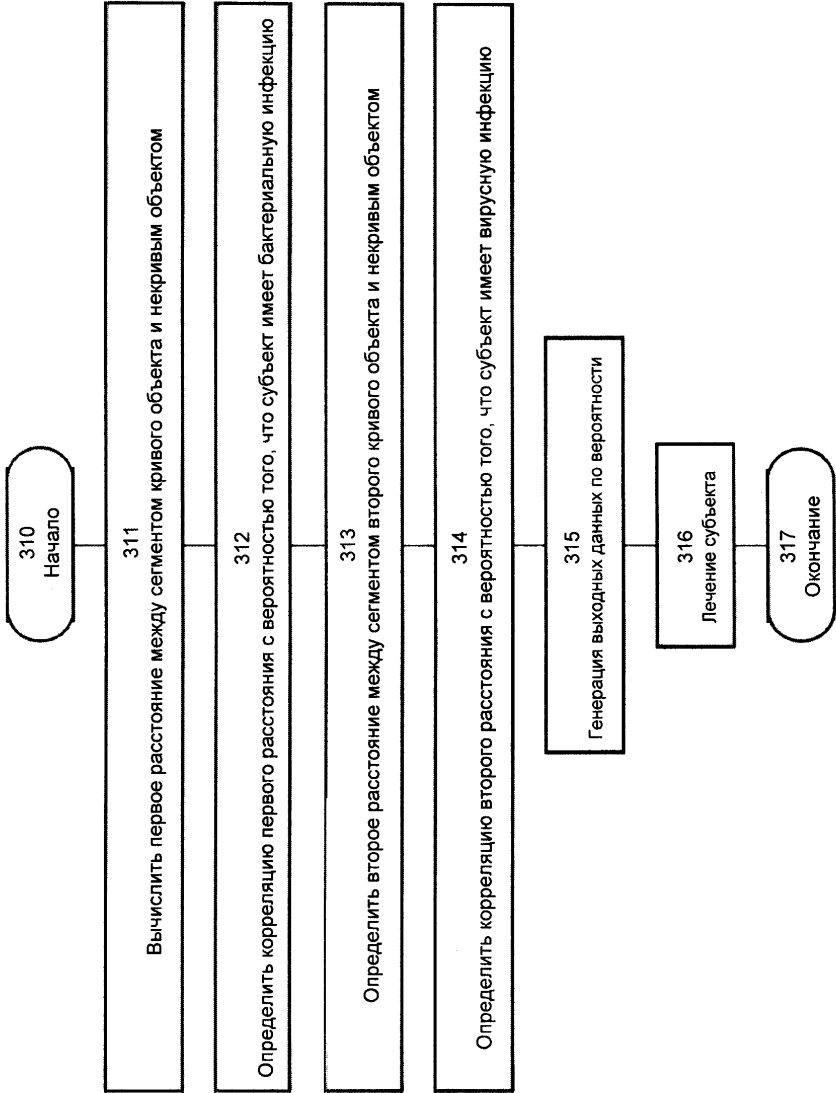
ФИГ.29F



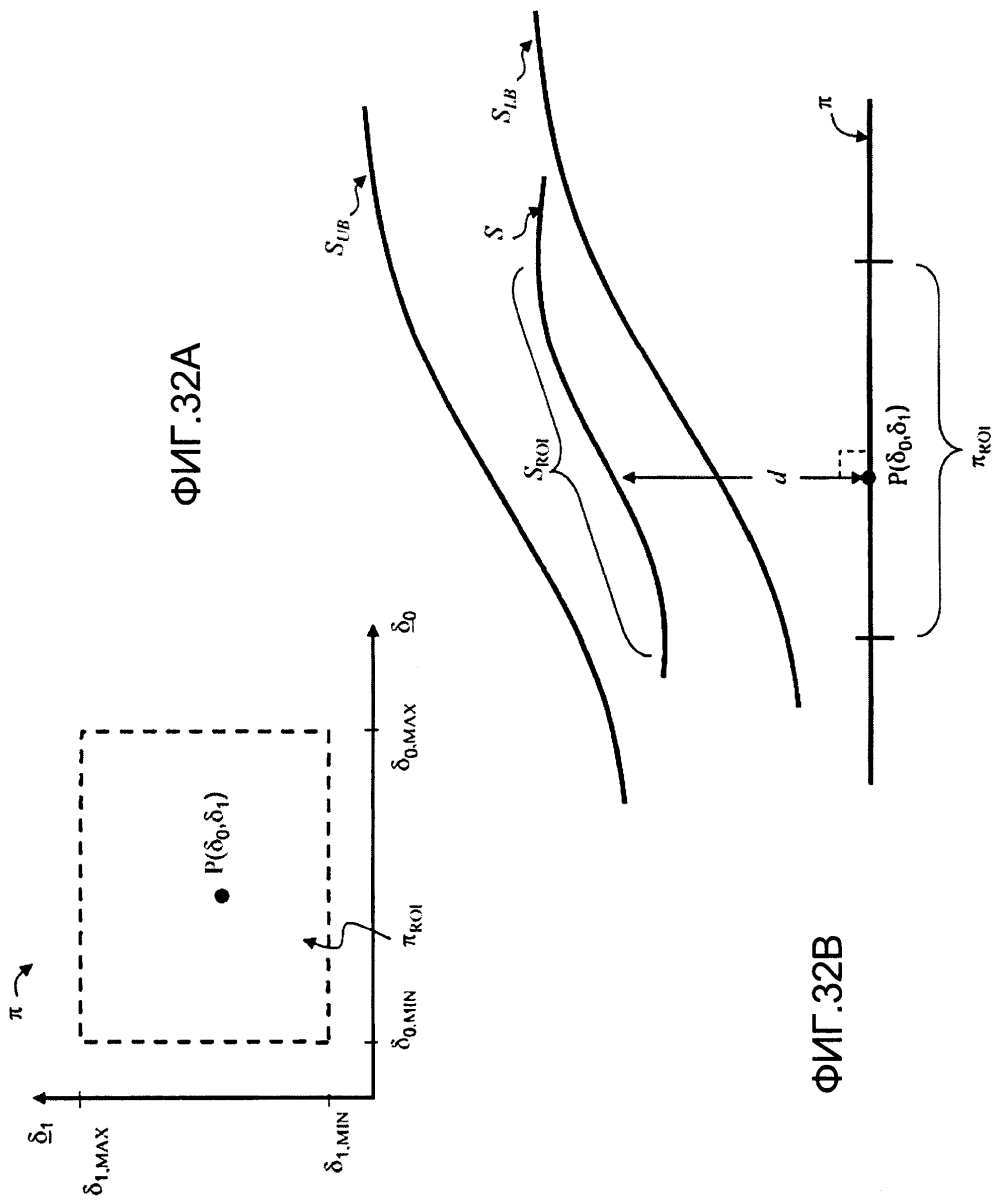




ФИГ.31

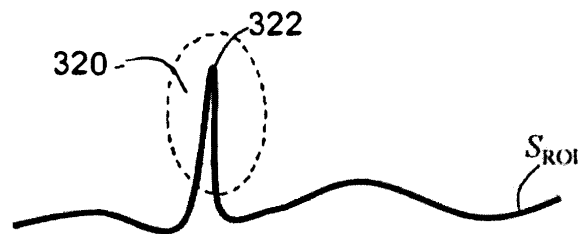






55/66

ФИГ.33А



ФИГ.33В



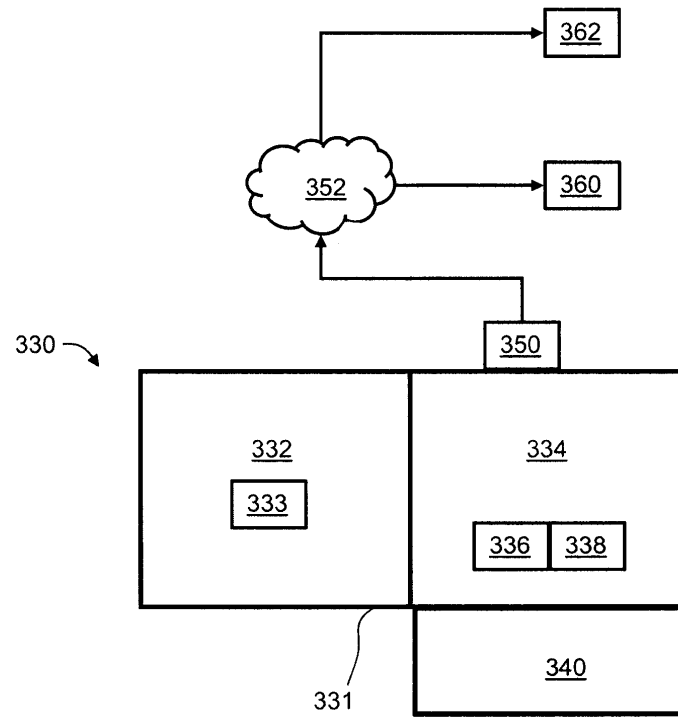
ФИГ.33С



ФИГ.33D

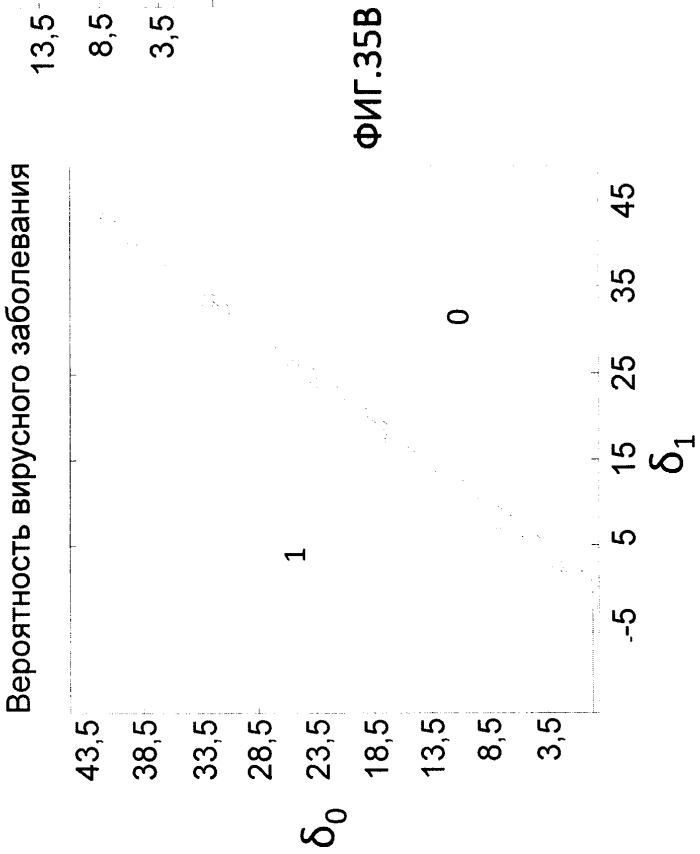
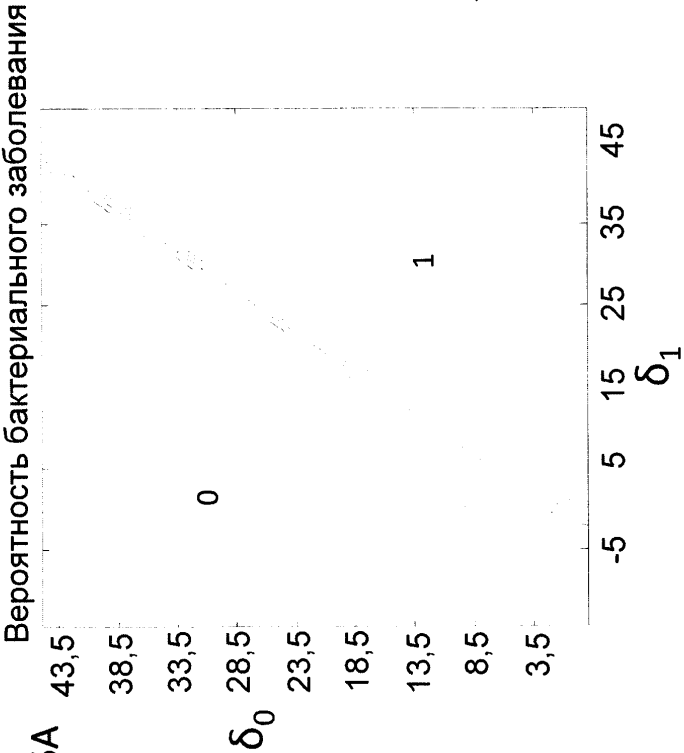


56/66



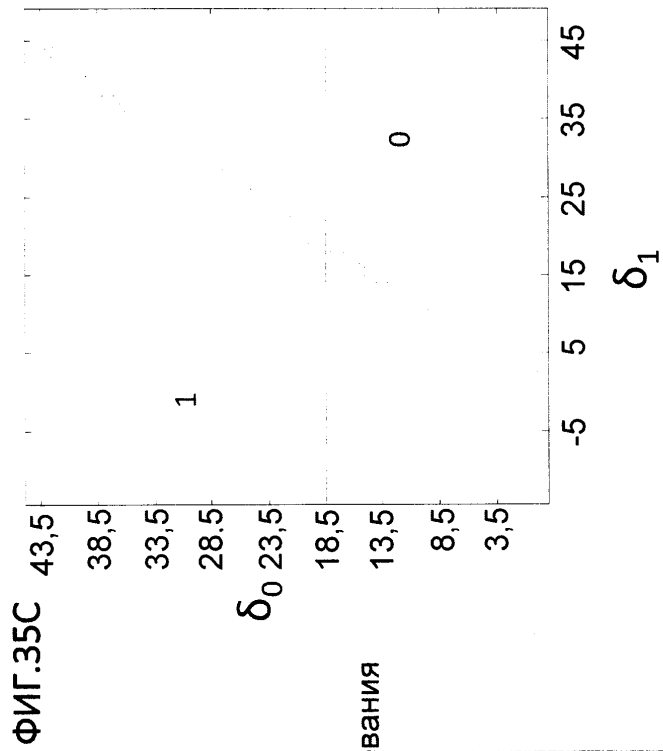
ФИГ.34

57/66

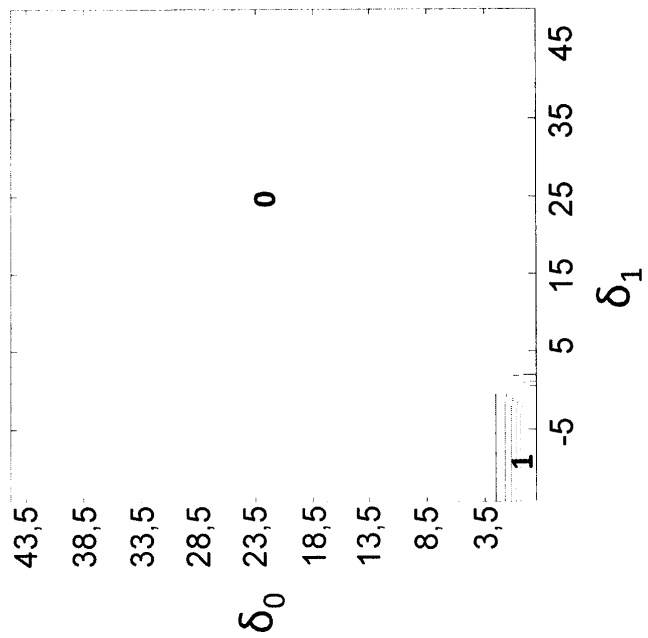


58/66

Вероятность небактериального заболевания

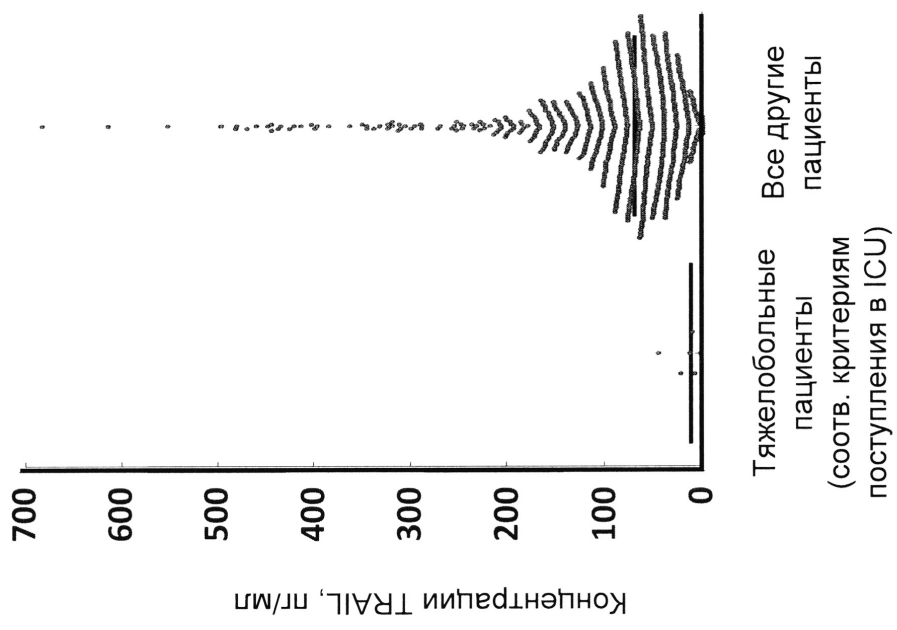


Вероятность неинфекционного заболевания

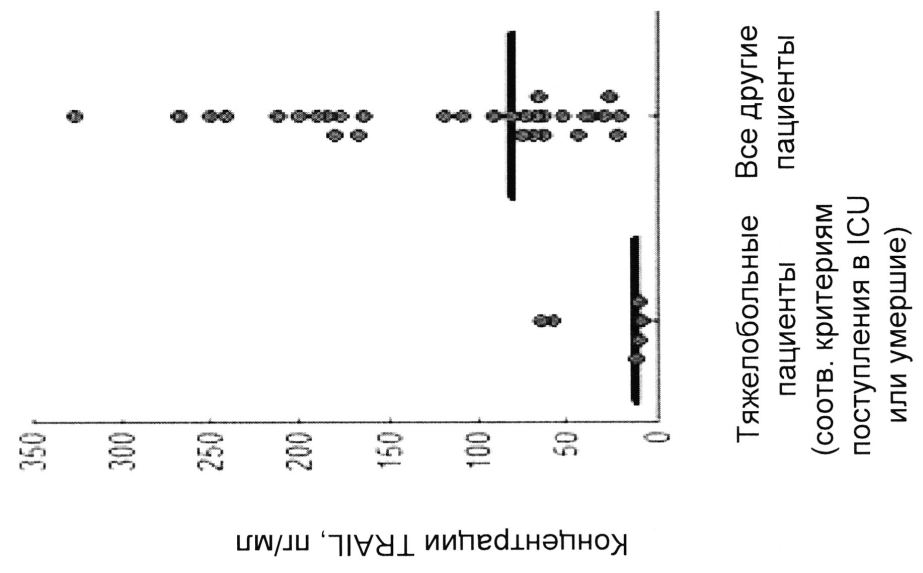


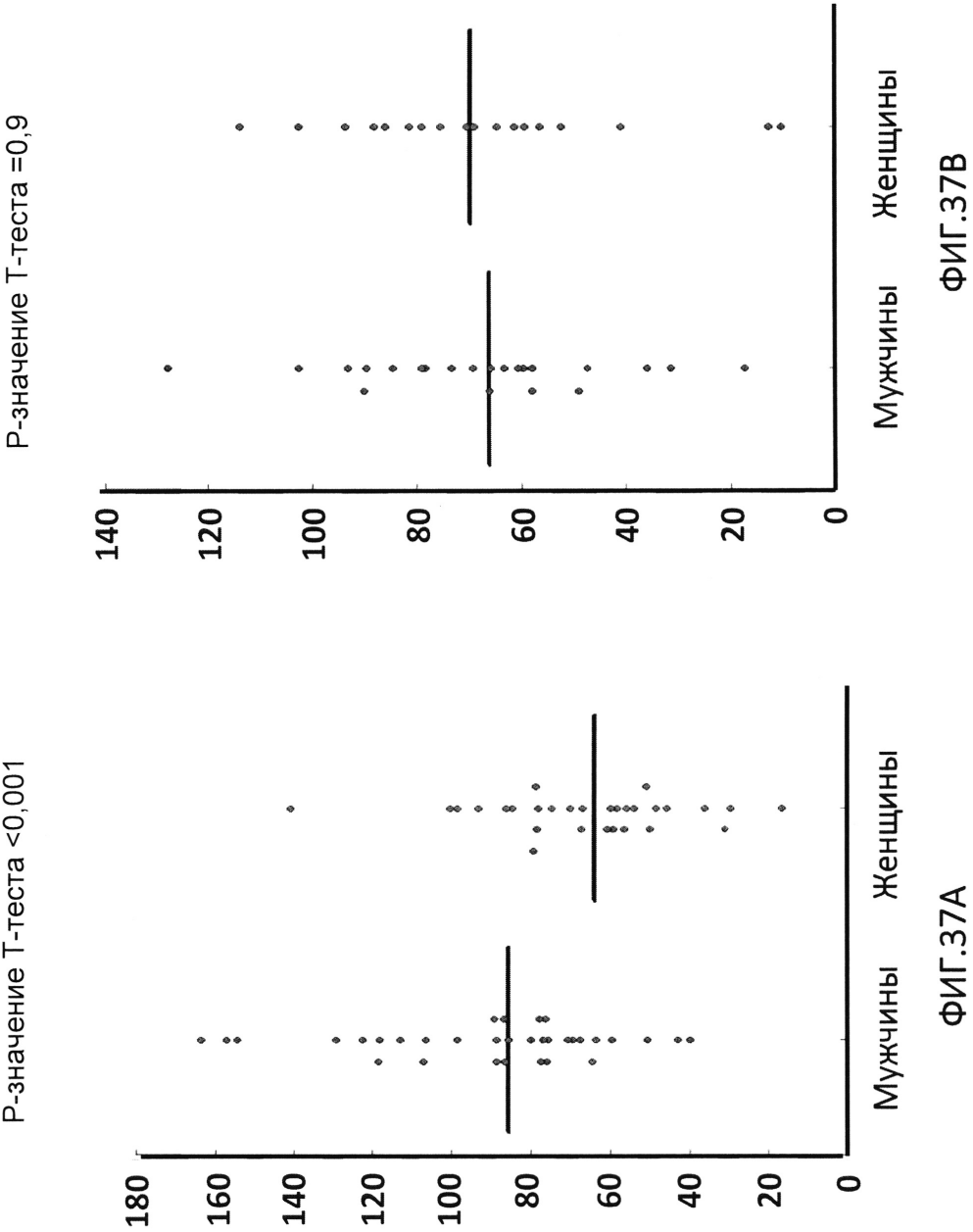
59/66

ФИГ.36А

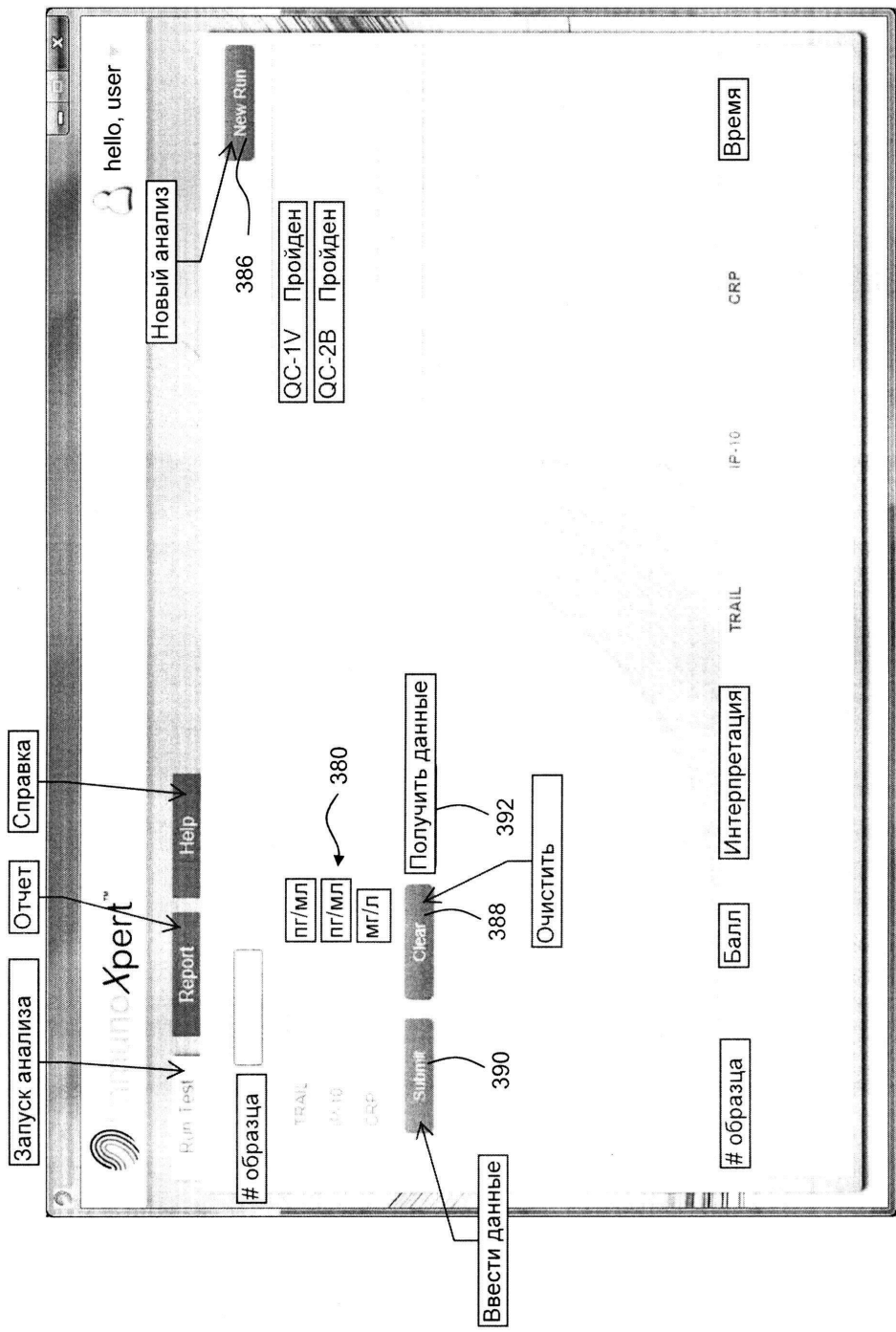


ФИГ.36В



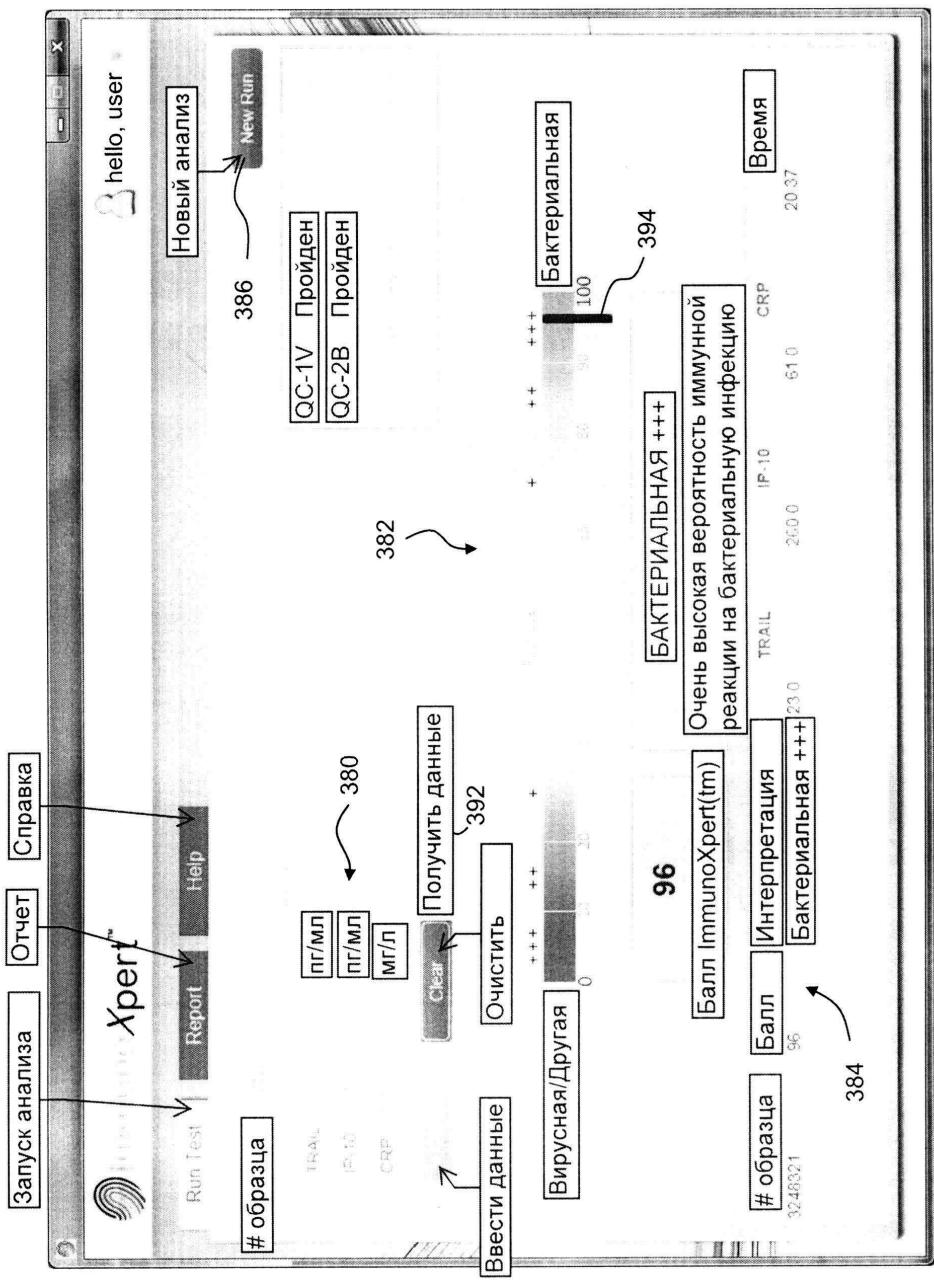


61/66

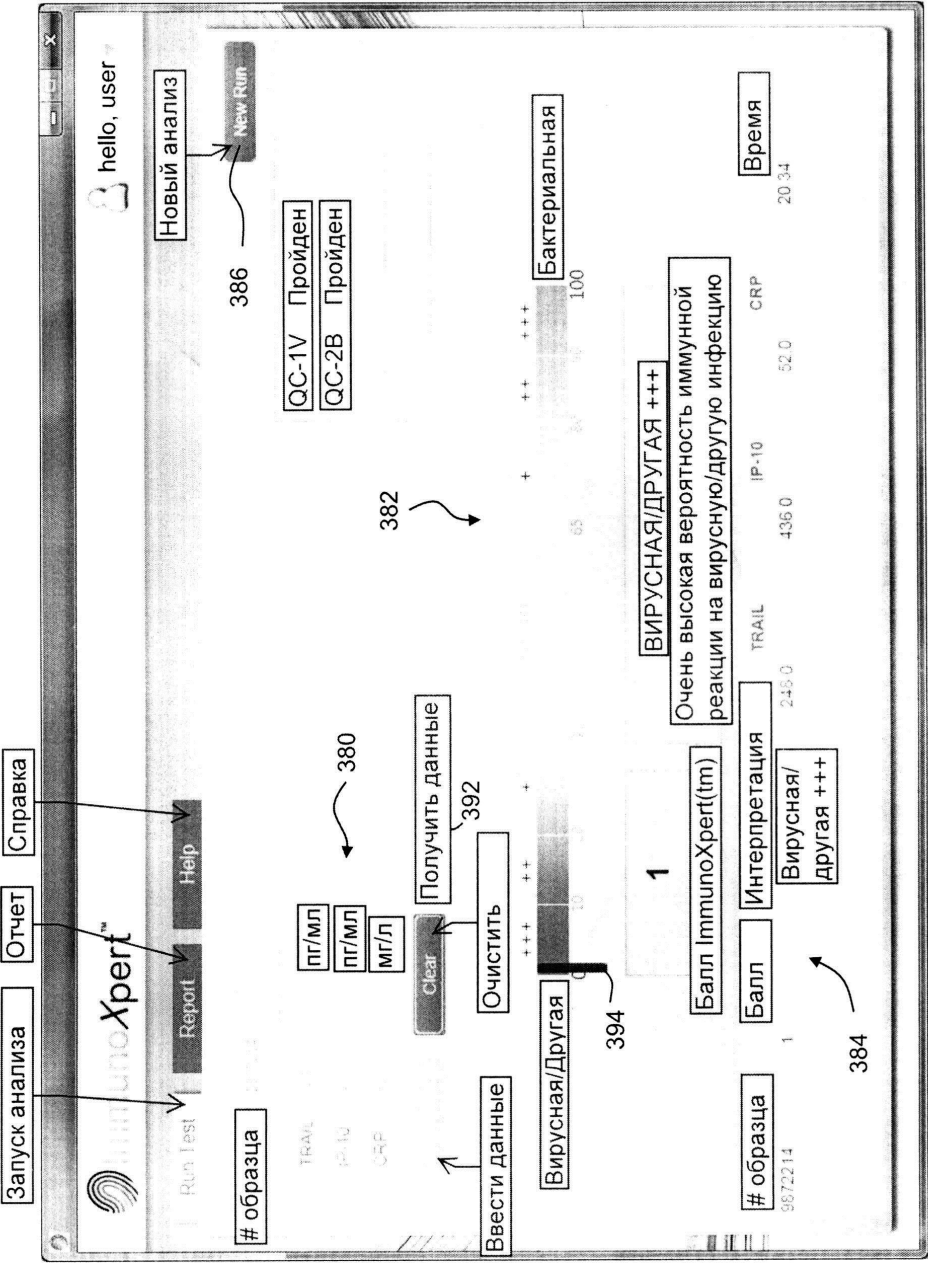


ФИГ.38А

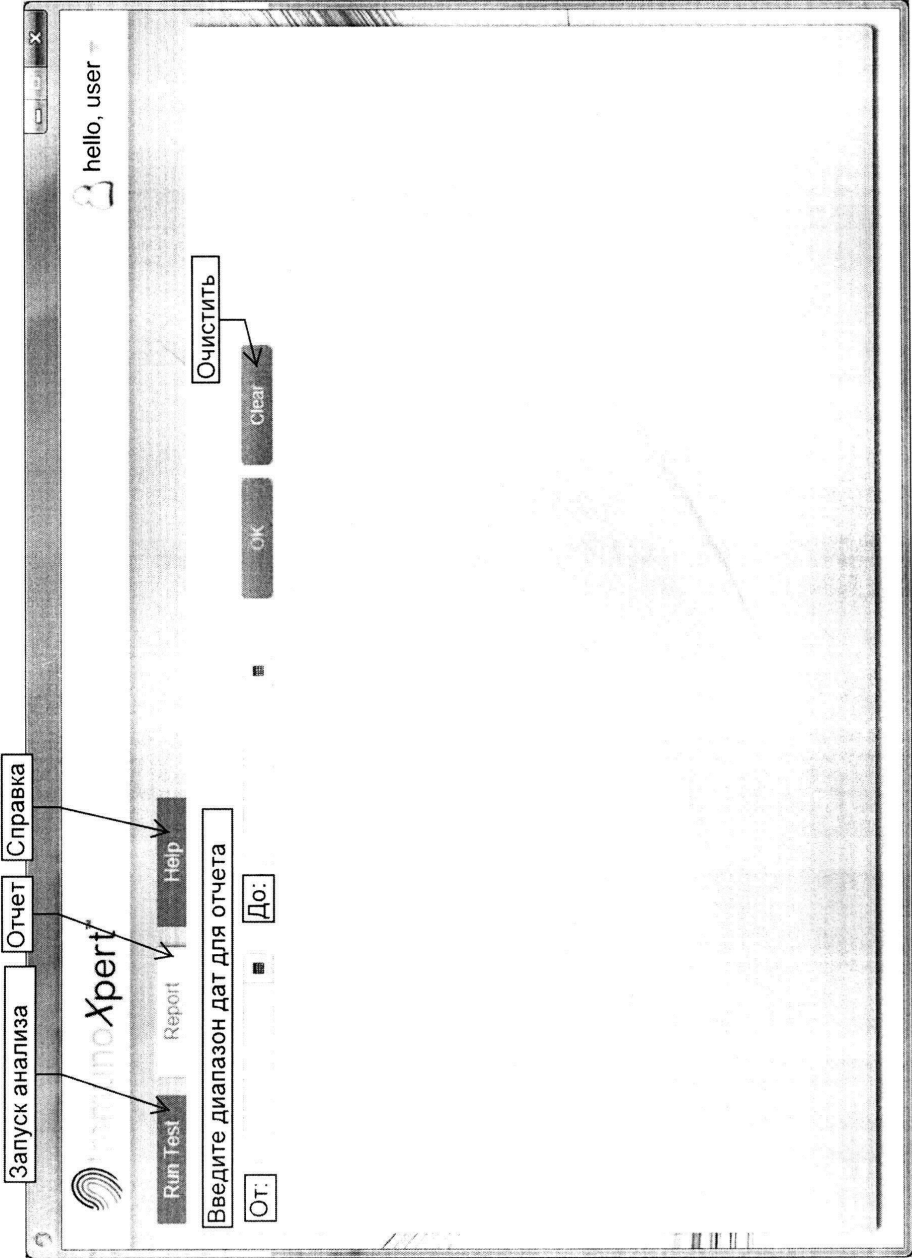




ФИГ.38В



ФИГ.38С



ФИГ.38D

Запуск анализа

Отчет

Справка

Run Test

Report

Help

Введите диапазон дат для отчета

От:

До:

Очистить

Clear

Отчет сгенерирован:

19/01/2015 09:31

Неправильный QC

Кем: Roy

Выполнен:

Лот № 123

QC-1V

QC-2B

Диапазон Значение Результат

TRAIL [103.0 151.0] 130.0 ✓

IP-10 [475.0 725.0] 600.0 ✓

Диапазон Значение Результат

TRAIL [36.0 60.0] 10.0 ✓

IP-10 [50.0 110.0] 80.0 ✓

Интерпретация

Балл

Время

Эквивалентная

Вирусная/др. +++

Бактериальная +++

Бактериальная ++

Бактериальная ++

232 40

113 1

346 95

434 80

111 80

100.0

300.0

20.0

33.0

33.0

100.0

30.0

33.0

21.1

21.0

13.06

13.07

13.11

13.11

13.22

Анализ №: 6)

13.06

Из: 9

Экспорт в Excel

Экспорт в PDF

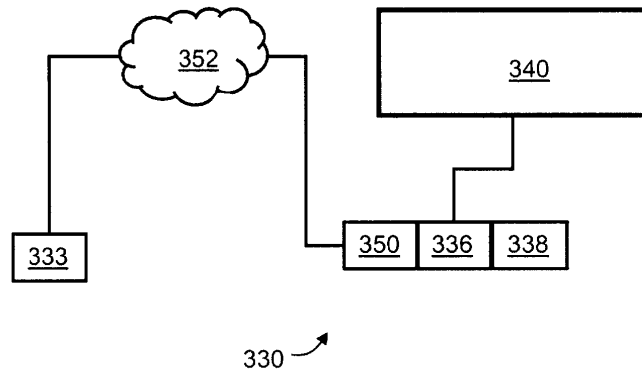
Распечатать отчет

Print Report

ФИГ.38Е

66/66

ФИГ.39А



ФИГ.39В

