



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0092856
(43) 공개일자 2022년07월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6886 (2018.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6886 (2022.01)
C12Q 2600/154 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7010048
(22) 출원일자(국제) 2020년08월27일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년03월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/048270
(87) 국제공개번호 WO 2021/041726
국제공개일자 2021년03월04일
(30) 우선권주장
62/892,426 2019년08월27일 미국(US)

(71) 출원인
이그젝트 사이언시즈 코포레이션
미국 위스콘신 53719 메디슨 인데버 레인 5505
메이오 파운데이션 포 메디칼 에듀케이션 앤드 리
써치
미국 55905 미네소타주 록체스터 퍼스트 스트리트
에스.더블유. 200
(72) 발명자
모리스, 스콧
미국 53719 위스콘신주 매디슨 인데버 레인 5505
이그젝트 사이언시즈 디벨롭먼트 컴퍼니, 엘엘씨
내
멜러리, 데이비드
미국 53719 위스콘신주 매디슨 인데버 레인 5505
이그젝트 사이언시즈 디벨롭먼트 컴퍼니, 엘엘씨
내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 장수길

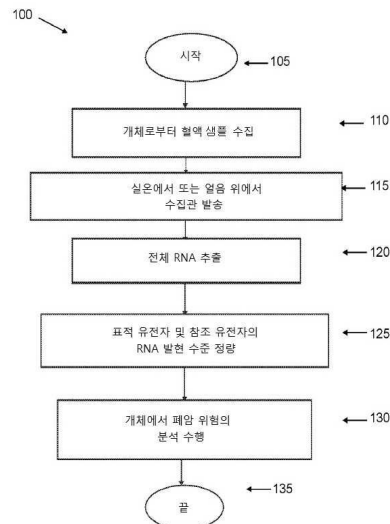
전체 청구항 수 : 총 64 항

(54) 발명의 명칭 폐 신생물을 갖는 것으로 의심되는 대상체에서의 메틸화 DNA, RNA 및 단백질의 특징규명

(57) 요약

신생물을 검출하는 것에 관련된 기술, 그리고 특히, 그러나 배타적이지 않게, 신생물, 예컨대 폐암을 검출하기 위한 방법, 조성물 및 관련된 용도가 본원에서 제공된다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/158 (2013.01)

(72) 발명자

알라위, 하킴 티.

미국 53719 위스콘신주 매디슨 인테버 레인 5505
이그젝트 사이언시즈 디벨롭먼트 컴퍼니, 엘엘씨
내

리드가드, 그레이엄 피.

미국 53719 위스콘신주 매디슨 인테버 레인 5505
이그젝트 사이언시즈 디벨롭먼트 컴퍼니, 엘엘씨
내

지아코모폴로스, 마리아

미국 53719 위스콘신주 매디슨 인테버 레인 5505
이그젝트 사이언시즈 디벨롭먼트 컴퍼니, 엘엘씨
내

카이저, 마이클 더블유.

미국 53719 위스콘신주 매디슨 인테버 레인 5505
이그젝트 사이언시즈 디벨롭먼트 컴퍼니, 엘엘씨
내

알퀴스트, 데이비드 에이.

미국 55902 미네소타주 로체스터 퍼스트 스트리트
에스.더블유. 200 메이오 파운데이션 포 메디칼 에
듀케이션 앤드 리써치 내

테일러, 윌리엄 알.

미국 55902 미네소타주 로체스터 퍼스트 스트리트
에스.더블유. 200 메이오 파운데이션 포 메디칼 에
듀케이션 앤드 리써치 내

마호니, 더글러스 더블유.

미국 55902 미네소타주 로체스터 퍼스트 스트리트
에스.더블유. 200 메이오 파운데이션 포 메디칼 에
듀케이션 앤드 리써치 내

명세서

청구범위

청구항 1

개체로부터 샘플링된 혈액 내에 하나 또는 그 이상의 유전자 발현 산물의 양을 측정하기 위한 방법에 있어서, 다음 단계를 포함하는, 방법:

a) 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터:

i) 적어도 하나의 유전자 발현 마커로서, 여기서 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOB3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1*에서 선택되는 마커 유전자의 발현으로부터 산물이고; 및

ii) 적어도 하나의 참조 마커를 추출하는 단계;

b) a)에서 추출된 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양 및 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계;

c) 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양에 대한 값을 적어도 하나의 참조 마커의 양의 백분율로서 계산하되, 상기 값은 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양을 표시하는 단계.

청구항 2

청구항 제1항에 있어서, 추출하는 단계는 전혈, 백혈구를 포함하는 혈액 제제, 그리고 혈장을 포함하는 혈액 제제에서 선택되는 샘플로부터 마커를 추출하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 3

청구항 제1항 또는 청구항 제2항에 있어서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 단백질 또는 RNA를 포함하는, 방법.

청구항 4

청구항 제3항에 있어서, 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 RNA는 순환성 무세포 RNA를 포함하는, 방법.

청구항 5

청구항 제3항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 RNA는 면역 세포에 의해 발현된 RNA를 포함하는, 방법.

청구항 6

청구항 제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 RNA는 mRNA를 포함하는, 방법.

청구항 7

청구항 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9개의 유전자 발현 마커로 구성되는, 방법.

청구항 8

청구항 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 참조 마커는 *PLGLB2*, *GABARAP*, *NACA*, *EIF1*, *UBB*, *UBC*, *CD81*, *TMBIM6*, *MYL12B*, *HSP90B1*, *CLDN18*, *RAMP2*, *MFAP4*, *FABP4*, *MARCO*, *RGL1*, *ZBTB16*, *C10orf116*, *GRK5*, *AGER*, *SCGB1A1*, *HBB*, *TCF21*, *GMFG*, *HYAL1*, *TEK*, *GNG11*, *ADH1A*, *TGFBR3*, *INPP1*, *ADH1B*, *STK4*, *ACTB*, *HNRNP1A1*, *CASC3* 및 *SKP1*에서 선택되는 유전자로부터 발현된 RNA 또는 단백질을 포함하는, 방법.

청구항 9

청구항 제8항에 있어서, 적어도 하나의 참조 마커는 RNA를 포함하는, 방법.

청구항 10

청구항 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 참조 마커는 *U1* snRNA 및 *U6* snRNA에서 선택되는 RNA를 포함하는, 방법.

청구항 11

청구항 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양을 측정하는 단계는 역전사, 중합효소 연쇄 반응, 핵산 염기서열분석, 질량 분광분석, 질량-기반 분리 및 표적 포획, 정량적 파이프라인 염기서열분석, 플랩 엔도뉴클레아제 검정, PCR-플랩 검정, 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA) 검출, 그리고 단백질 면역침전 중에서 한 가지 또는 그 이상을 이용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 12

청구항 제11항에 있어서, 측정하는 단계는 멀티플렉스 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 13

청구항 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 다음 단계를 더욱 포함하는, 방법:

d) 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA 및 적어도 하나의 참조 마커 DNA를 추출하는 단계;

e) 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 측정하되, 상기 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX.Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX.chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX.chr8.145*, *MAX.chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX.chr19.163*, *ZNF132*, *MAX.chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329* 중에서 적어도 하나와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단계;

f) 적어도 하나의 참조 마커 DNA의 양을 측정하는 단계; 및

g) 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양에 대한 값을 참조 마커 DNA의 양의 백분율로서 계산하되, 상기 값은 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 표시하는 단계.

청구항 14

청구항 제13항에 있어서, 상기 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개의 메틸화 마커 DNA로 구성되는, 방법.

청구항 15

청구항 제13항 또는 청구항 제14항에 있어서, 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 DNA는 순환성 무세포 DNA를 포함하는, 방법.

청구항 16

청구항 제13항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 참조 마커 DNA는 *B3GALT6* DNA 및 β -액틴 DNA에서 선택되는, 방법.

청구항 17

청구항 제13항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA는 *BARX1*, *FLJ45983*, *HOPX*, *ZNF781*, *FAM59B*, *HOXA9*, *SOBP* 및 *IFFO1* 중에서 적어도 하나와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 18

청구항 제17항에 있어서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 *FPR1*, *PADI4* 및 *SELL*에서 선택되는 마커 유전자의

발현으로부터 산물을 포함하는, 방법.

청구항 19

청구항 제13항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 메틸화 마커 DNA는 DNA의 메틸화 상태에 특이적인 방식으로 상기 DNA를 선택적으로 변형하는 시약으로 처리되는, 방법.

청구항 20

청구항 제19항에 있어서, 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소를 포함하는, 방법.

청구항 21

청구항 제20항에 있어서, 중아황산염 시약은 중아황산암모늄을 포함하는, 방법.

청구항 22

청구항 제13항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 측정하는 단계는 중합효소 연쇄 반응, 핵산 염기서열분석, 질량 분광분석, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량-기반 분리, 그리고 표적 포획 중에서 한 가지 또는 그 이상을 이용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 23

청구항 제22항에 있어서, 측정하는 단계는 멀티플렉스 증폭을 포함하는, 방법.

청구항 24

청구항 제13항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 측정하는 단계는 메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 파이어염기서열분석, 플랩 엔도뉴클레아제 검정, PCR-플랩 검정, 그리고 중아황산염 유전체 염기서열분석 PCR로 구성된 군에서 선택되는 한 가지 또는 그 이상의 방법을 이용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 25

개체로부터 샘플링된 혈액을 특징화하는 방법에 있어서, 다음 단계를 포함하는, 방법:

- i) 개체로부터 샘플링된 혈액을 처리하여, 추출된 DNA 및 추출된 RNA를 생산하는 단계;
- ii) 추출된 RNA에서 2개 또는 그 이상의 마커 RNA의 양을 측정하되, 상기 마커 RNA는 *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1* RNA에서 선택되는 단계;
- iii) 추출된 RNA에서 적어도 하나의 참조 RNA의 양을 측정하되, 상기 참조 RNA는 *CASC3A*, *SKP1* 및 *STK4*에서 선택되는 단계;
- iv) 2개 또는 그 이상의 마커 RNA 각각의 양에 대한 값을 적어도 하나의 참조 RNA의 양의 백분율로서 계산하되, 각 마커 RNA에 대한 값은 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 마커 RNA의 양을 표시하는 단계;
- v) 추출된 DNA를 중아황산염 시약으로 처리하여, 중아황산염-처리된 DNA를 생산하는 단계;
- vi) 중아황산염-처리된 DNA에서 2개 또는 그 이상의 메틸화 마커 DNA의 양을 측정하되, 상기 메틸화 마커 DNA는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX.Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX.chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX.chr8.145*, *MAX.chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX.chr19.163*, *ZNF132*, *MAX.chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *SIPR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329* 유전자에서 선택되는 단계;
- vii) 중아황산염-처리된 DNA에서 적어도 하나의 참조 DNA의 양을 측정하되, 적어도 하나의 참조 DNA는 *B3GALT6* DNA 및 β -액틴 DNA에서 선택되는 단계; 및
- viii) 2개 또는 그 이상의 메틸화 마커 DNA 각각의 양에 대한 값을 중아황산염-처리된 DNA에서 측정된 참조 DNA

의 양의 백분율로서 계산하되, 각 메틸화 마커 DNA에 대한 값은 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 메틸화 마커 DNA의 양을 표시하는 단계.

청구항 26

청구항 제13항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, DNA와 RNA는 단일 혈액 수집 장치에서 수집된 혈액으로부터 단리되는, 방법.

청구항 27

청구항 제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 개체는 폐 신생물을 앓거나 또는 앓는 것으로 의심되는, 방법.

청구항 28

청구항 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양은 상기 개체의 폐암 위험을 표시하는, 방법.

청구항 29

청구항 제13항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양은 상기 개체의 폐암 위험을 표시하는, 방법.

청구항 30

다음을 포함하는 키트:

- a) 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양을 측정하기 위한 시약의 세트로서, 여기서 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1*에서 선택되는 마커 유전자의 발현으로부터 생산되고;
- b) 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하기 위한 시약의 세트.

청구항 31

청구항 제30항에 있어서, 혈액으로부터 적어도 하나의 유전자 발현 마커 및 적어도 하나의 참조 마커를 추출하기 위한 시약의 세트를 더욱 포함하는, 키트.

청구항 32

청구항 제30항 또는 제31항에 있어서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 RNA 및 단백질 중에서 한 가지 또는 그 이상을 포함하고, 그리고 적어도 하나의 참조 마커는 RNA, DNA 및 단백질 중에서 한 가지 또는 그 이상을 포함하는, 키트.

청구항 33

청구항 제30항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는 다음을 포함하고:

- i) 적어도 하나의 첫 번째 올리고뉴클레오타이드로서, 여기서 적어도 하나의 첫 번째 올리고뉴클레오타이드의 적어도 일부는 *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1*에서 선택되는 유전자 발현 마커와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 가닥에 특이적으로 혼성화하고;
- ii) 적어도 하나의 두 번째 올리고뉴클레오타이드로서, 여기서 적어도 하나의 두 번째 올리고뉴클레오타이드의 적어도 일부는 참조 마커에 특이적으로 혼성화하고, 여기서 참조 마커는 참조 핵산인, 키트.

청구항 34

청구항 제33항에 있어서, 유전자 발현 마커와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 가닥은 RNA, cDNA, 또는 증폭된 DNA에서 선택되는, 키트.

청구항 35

청구항 제33항 또는 제34항에 있어서, 참조 핵산은 RNA 또는 DNA를 포함하는, 키트.

청구항 36

청구항 제30항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 참조 마커는 *PLGLB2*, *GABARAP*, *NACA*, *EIF1*, *UBB*, *UBC*, *CD81*, *TMBIM6*, *MYL12B*, *HSP90B1*, *CLDN18*, *RAMP2*, *MFAP4*, *FABP4*, *MARCO*, *RGL1*, *ZBTB16*, *C10orf116*, *GRK5*, *AGER*, *SCGB1A1*, *HBB*, *TCF21*, *GMFG*, *HYAL1*, *TEK*, *GNG11*, *ADH1A*, *TGFBR3*, *INPP1*, *ADH1B*, *STK4*, *ACTB*, *HNRNPA1*, *CASC3* 및 *SKP1*에서 선택되는 유전자로부터 발현된 RNA 또는 단백질을 포함하는, 키트.

청구항 37

청구항 제33항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서,

c) 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 측정하기 위한 시약의 세트를 더욱 포함하고, 여기서 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX.Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX.chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX.chr8.145*, *MAX.chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX.chr19.163*, *ZNF132*, *MAX.chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329* 중에서 적어도 하나와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 키트.

청구항 38

청구항 제37항에 있어서, 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 측정하기 위한 시약의 세트는

iii) 적어도 하나의 세 번째 올리고뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서 적어도 하나의 세 번째 올리고뉴클레오타이드의 적어도 일부는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX.Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX.chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX.chr8.145*, *MAX.chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX.chr19.163*, *ZNF132*, *MAX.chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*의 메틸화 마커 유전자와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 가닥에 특이적으로 혼성화하는, 키트.

청구항 39

청구항 제38항에 있어서, 적어도 하나의 네 번째 올리고뉴클레오타이드를 더욱 포함하고, 여기서 적어도 하나의 네 번째 올리고뉴클레오타이드의 적어도 일부는 참조 마커 DNA, 바람직하게는 *B3GALT6* DNA 및 β -액틴 DNA에서 선택되는 참조 마커 DNA에 특이적으로 혼성화하는, 키트.

청구항 40

청구항 제38항 또는 제39항에 있어서, 메틸화 마커 유전자와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 가닥 및 참조 마커 DNA 중에서 적어도 하나는 중아황산염-처리된 DNA를 포함하는, 키트.

청구항 41

청구항 제38항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, DNA의 메틸화 상태에 특이적인 방식으로 상기 DNA를 선택적으로 변형하는 시약을 더욱 포함하는, 키트.

청구항 42

청구항 제41항에 있어서, DNA의 메틸화 상태에 특이적인 방식으로 상기 DNA를 선택적으로 변형하는 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소를 포함하는, 키트.

청구항 43

청구항 제42항에 있어서, 중아황산염 시약은 중아황산암모늄을 포함하는, 키트.

청구항 44

청구항 제33항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 첫 번째, 두 번째, 세 번째와 네 번째 올리고뉴클레오타이드 중에서 하나 또는 그 이상은 포획 올리고뉴클레오타이드, 한 쌍의 핵산 프라이머, 핵산 프로브, 그리고 침습성 올리고뉴클레오타이드에서 선택되는, 키트.

청구항 45

청구항 제44항에 있어서, 포획 올리고뉴클레오타이드는 고체 지지체에 부착되는, 키트.

청구항 46

청구항 제45항에 있어서, 고체 지지체는 자성 비드인, 키트.

청구항 47

청구항 제33항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 포함하는 키트:

- i) *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SATI*에서 선택되는 마커 유전자의 발현의 유전자 발현 마커 산물로부터 첫 번째 증폭된 DNA를 생산하기 위한 첫 번째 프라이머 쌍;
- ii) 상기 첫 번째 증폭된 DNA의 영역에 상보적인 서열을 포함하는 첫 번째 프로브;
- iii) 두 번째 증폭된 DNA를 생산하기 위한 두 번째 프라이머 쌍;
- iv) 상기 두 번째 증폭된 DNA의 영역에 상보적인 서열을 포함하는 두 번째 프로브;
- v) 역전사효소; 및
- vi) 열안정성 DNA 중합효소.

청구항 48

청구항 제47항에 있어서, 두 번째 증폭된 DNA는 메틸화 마커 유전자 또는 참조 마커 핵산으로부터 생산되는, 키트.

청구항 49

청구항 제47항 또는 제48항에 있어서, 첫 번째 프로브는 상기 첫 번째 증폭된 DNA에 실질적으로 상보적이지 않는 첫 번째 플랩 서열을 갖는 플랩 부분을 더욱 포함하는, 키트.

청구항 50

청구항 제47항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 두 번째 프로브는 상기 두 번째 증폭된 DNA에 실질적으로 상보적이지 않는 두 번째 플랩 서열을 갖는 플랩 부분을 더욱 포함하는, 키트.

청구항 51

청구항 제49항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 더욱 포함하는, 키트:

- vii) 상기 첫 번째 플랩 서열에 상보적인 서열을 포함하는 FRET 카세트;
- viii) 상기 두 번째 플랩 서열에 상보적인 서열을 포함하는 FRET 카세트.

청구항 52

청구항 제49항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 플랩 엔도뉴클레아제, 바람직하게는 FEN-1 엔도뉴클레아제를 더욱 포함하는, 키트.

청구항 53

다음에 포함하는 조성물:

- i) *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOB3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SATI*에서 선택되는 유전자의 발현으로부터 유래된 유전자 발현 마커 산물로부터 첫 번째 증폭된 DNA를 생산하기 위한 첫 번째 프라이머 쌍;
- ii) 상기 첫 번째 증폭된 DNA의 영역에 상보적인 서열을 포함하는 첫 번째 프로브;
- iii) 두 번째 증폭된 DNA를 생산하기 위한 두 번째 프라이머 쌍;
- iv) 상기 두 번째 증폭된 DNA의 영역에 상보적인 서열을 포함하는 두 번째 프로브;
- v) 역전사효소; 및
- vi) 열안정성 DNA 중합효소.

청구항 54

청구항 제53항에 있어서, 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 핵산을 더욱 포함하고, 여기서 상기 개체는 바람직하게는 폐 신생물을 앓거나 또는 앓는 것으로 의심되는, 조성물.

청구항 55

청구항 제54항에 있어서, 핵산은 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 포함하는, 조성물:

- 세포 RNA;
- 순환성 무세포 RNA;
- 세포 DNA;
- 순환성 무세포 DNA.

청구항 56

청구항 제53항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 두 번째 프라이머 쌍은 메틸화 마커 유전자 또는 참조 마커 핵산으로부터 두 번째 증폭된 DNA를 생산하는, 조성물.

청구항 57

청구항 제56항에 있어서, 두 번째 프라이머 쌍은 다음에서 선택되는 참조 핵산으로부터 두 번째 증폭된 DNA를 생산하는, 조성물:

- *PLGLB2*, *GABARAP*, *NACA*, *EIF1*, *UBB*, *UBC*, *CD81*, *TMBIM6*, *MYL12B*, *HSP90B1*, *CLDN18*, *RAMP2*, *MFAP4*, *FABP4*, *MARCO*, *RGL1*, *ZBTB16*, *C10orf116*, *GRK5*, *AGER*, *SCGB1A1*, *HBB*, *TCF21*, *GMFG*, *HYAL1*, *TEK*, *GNG11*, *ADH1A*, *TGFBR3*, *INPP1*, *ADH1B*, *STK4*, *ACTB*, *HNRNP1A1*, *CASC3* 및 *SKP1*에서 선택되는 유전자로부터 발현된 RNA;
- *U1* snRNA 및 *U6* snRNA에서 선택되는 RNA;
- *B3GALT6* DNA 및 β -액틴 DNA에서 선택되는 DNA.

청구항 58

청구항 제56항에 있어서, 두 번째 프라이머 쌍은 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX.Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX.chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX.chr8.145*, *MAX.chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX.chr19.163*, *ZNF132*, *MAX.chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*에서 선택되는 메틸화 마커 유전자로부터 두 번째 증폭된 DNA를 생산하는, 조성물.

청구항 59

청구항 제53항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 첫 번째 프로브 및/또는 두 번째 프로브는 형광단을 포함하는 검출 모이어티를 포함하는, 조성물.

청구항 60

청구항 제53항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 첫 번째 프로브는 상기 첫 번째 증폭된 DNA에 실질적으로 상보적이지 않는 첫 번째 플랩 서열을 갖는 플랩 부분을 더욱 포함하고 및/또는 두 번째 프로브는 상기 두 번째 증폭된 DNA에 실질적으로 상보적이지 않는 두 번째 플랩 서열을 갖는 플랩 부분을 더욱 포함하는, 조성물.

청구항 61

청구항 제60항에 있어서, 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 더욱 포함하는, 조성물:

- vii) 첫 번째 플랩 서열에 상보적인 서열을 포함하는 FRET 카세트;
- viii) 두 번째 플랩 서열에 상보적인 서열을 포함하는 FRET 카세트.

청구항 62

청구항 제53항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 플랩 엔도뉴클레아제, 바람직하게는 FEN-1 엔도뉴클레아제를 더욱 포함하는, 조성물.

청구항 63

청구항 제53항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 6-10 mM Mg^{++} 을 포함하는 완충액을 더욱 포함하는, 조성물.

청구항 64

청구항 제53항 내지 제63항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 반응 혼합물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2019년 8월 27일 제출된 U.S. 가출원 일련 번호 62/892,426에 우선권을 주장하는데, 이것은 본원에서 참조로서 편입된다.

[0002] 발명의 분야

[0003] 신생물을 검출하는 것에 관련된 기술, 그리고 특히, 그러나 배타적이지 않게, 신생물, 예컨대 폐암을 검출하기 위한 방법, 조성물 및 관련된 용도가 본원에서 제공된다. 본원 발명의 양상은 환자 혈액으로부터 획득된 추출물을 검정함으로써, 폐암을 검출하기 위한 시스템과 방법에 관계한다. 특히, 구체예는 면역 세포 RNA 발현 또는 순환성 무세포 RNA 수준을 검출함으로써, 상이한 시기에서 폐암 진행을 결정하기 위한 시스템과 방법을 포함한다.

배경 기술

[0004] 발명의 배경

[0005] 폐암은 US에서 여전히 가장 높은 암 사망원인이고, 그리고 효과적인 선별검사 접근법이 절실히 요구된다. 폐암 만으로, 연간 221,000명이 사망한다. 치료제가 존재하긴 하지만, 종종 상기 질환이 치료 효능이 약화되는 지점까지 진행할 때까지 환자에게 투여되지 않는다.

[0006] 암 치료에서 주요 과제는 환자를 그들의 질환의 코스에서 초기에 확인하는 것이다. 이것은 현재 방법 하에서는 어려운데, 그 이유는 초기 암성 또는 전암성 세포 모집단이 무증상일 수 있고, 그리고 생검에 의해 접근하기 어려운 부위에 위치할 수 있기 때문이다. 따라서, 무증상일 수 있는 초기 단계를 비롯하여, 상기 질환의 모든 단계를 확인하는 데 이용될 수 있는 견실한, 최소 침습성 검정이 암의 치료를 위해 실제로 유익할 것이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007]

발명의 요약

[0008]

본원에서 개시된 시스템, 장치, 키트, 조성물과 방법은 각각, 여러 양상을 갖는데, 이들 양상 중에서 어떤 단 하나의 양상도 그들의 바람직한 속성을 오롯이 책임지지는 않는다. 청구항의 범위를 제한하지 않으면서, 일부 중요한 특질이 이제 간단히 논의될 것이다. 더 적은, 추가 및/또는 상이한 구성요소, 단계, 특질, 목적, 유익성 및 이점을 갖는 구체예를 비롯한, 다양한 다른 구체예 또한 예기된다. 이들 구성요소, 양상 및 단계는 또한 상이하게 배열되고 정렬될 수 있다. 이러한 논의를 고려한 후, 그리고 특히, "상세한 설명"이라는 제목의 섹션을 읽어본 후, 본원에서 개시된 장치와 방법의 특질이 다른 공지된 장치와 방법에 비하여 어떻게 이점을 제공하는지를 이해할 것이다.

[0009]

본 기술은 복수의 상이한 유형의 마커 분자에 대한 샘플(들)을 분석하는 단계를 포함하는, 개체로부터 획득된 샘플 또는 샘플의 조합을 특징화하는 방법을 제공한다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 본 기술은 개체로부터 획득된 샘플로부터 유래된 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계를 포함하고, 그리고 개체로부터 획득된 샘플 내에 적어도 하나의 RNA 마커의 양을 측정하는 단계 및 개체로부터 획득된 샘플 내에 적어도 하나의 단백질 마커의 존재 또는 부재를 검정하는 단계 중에서 한 가지 또는 그 이상을 더욱 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 개체로부터 획득된 단일 샘플이 메틸화 마커 DNA(들), 마커 RNA(들) 및 마커 단백질(들)에 대해 분석된다.

[0010]

DNA, RNA 및/또는 단백질 마커의 분석은 임의의 특정 기술의 이용에 한정되지 않는다. DNA와 RNA를 분석하기 위한 방법은 예를 들면 증폭 및 프로브 혼성화를 포함하는 핵산 검출 검정을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 단백질을 분석하기 위한 방법은 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA) 검출, 단백질 면역침전, 웨스턴 블롯, 면역염색 등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0011]

한 구체예는 개체, 예를 들면, 개인에서 폐암을 검출하는 및/또는 폐암 위험을 결정하는 수단으로서, 개체로부터 획득된 샘플, 예를 들면, 개체로부터 샘플링된 혈액을 특징화하는 방법이다. 상기 방법은 개인으로부터 혈액 샘플을 제공하는 단계; 혈액 샘플 내에 표적 유전자 *S100* 칼슘 결합 단백질 *A9* (*S100A9*), 셀렉틴 L (*SELL*), 펩티딜 아르기닌 디이미나아제 4 (*PADI4*), 아포지질단백질 B mRNA 편집 효소 촉매 아단위 3A (*APOBE3CA*), *S100* 칼슘 결합 단백질 *A12* (*S100A12*), 기질 금속단백질분해효소 9 (*MMP9*), 포르밀 펩티드 수용체 1 (*FPR1*), 티미딘 인산화효소 (*TYMP*) 및/또는 스페르미딘/스페르민 N1-아세틸전달효소 1 (*SAT1*)의 표적 유전자 발현 수준을 검출하는 단계; 혈액 샘플 내에 참조 유전자의 참조 유전자 발현 수준을 검출하는 단계; 및 검출된 표적 유전자 발현 수준을 검출된 참조 유전자 발현 수준에 비교함으로써, 폐 신생물의 존재 또는 부재를 결정하거나, 또는 폐암을 앓을 개인의 위험을 결정하는 단계를 포함한다.

[0012]

일부 구체예에서, 본 기술은 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 하나 또는 그 이상의 유전자 발현 산물의 양을 측정하기 위한 방법을 제공하는데, 상기 방법은 다음 단계를 포함한다:

[0013]

a) 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터,

[0014]

i) 적어도 하나의 유전자 발현 마커로서, 여기서 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1*에서 선택되는 마커 유전자의 발현으로부터 산물이고; 및

[0015]

ii) 적어도 하나의 참조 마커를 추출하는 단계;

[0016]

b) a)에서 추출된 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양 및 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하는 단계;

[0017]

c) 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양에 대한 값을 적어도 하나의 참조 마커의 양의 백분율로서 계산하되, 상기 값은 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양을 표시하는 단계.

[0018]

일부 구체예에서, 추출하는 단계는 전혈, 백혈구를 포함하는 혈액 제제, 그리고 혈장을 포함하는 혈액 제제에서 선택되는 샘플로부터 마커를 추출하는 것을 포함한다. 일정한 구체예에서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 단백질 또는 RNA를 포함하고, 그리고 일정한 바람직한 구체예에서, 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 RNA는 순환성 무세포 RNA를 포함한다. 일부 구체예에서, 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 RNA는 면역세포에 의해 발현된 RNA를 포함한다. 전술된 임의의 구체예에서, 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 RNA

는 mRNA를 포함할 수 있다.

- [0019] 본 기술은 단일 유전자 발현 마커를 측정하는 것에 한정되지 않고, 그리고 본 기술은 예를 들면, 측정 데이터가 아래에 상세하게 논의된 바와 같이 조합으로 분석될 수 있도록 복수의 유전자 발현 마커의 측정을 포괄한다. 일부 구체예에서, 본 기술은 예를 들면, 이러한 기술을 적용함에 있어서 편의 또는 효율을 위해 마커의 한정된 세트의 측정에 적용된다. 예를 들면, 상기 논의된 임의의 구체예에서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9개의 유전자 발현 마커로 구성될 수 있다.
- [0020] 상기 논의된 임의의 구체예에서, 적어도 하나의 참조 마커는 *PLGLB2*, *GABARAP*, *NACA*, *EIF1*, *UBB*, *UBC*, *CD81*, *TMBIM6*, *MYL12B*, *HSP90B1*, *CLDN18*, *RAMP2*, *MFAP4*, *FABP4*, *MARCO*, *RGL1*, *ZBTB16*, *C10orf116*, *GRK5*, *AGER*, *SCGB1A1*, *HBB*, *TCF21*, *GMFG*, *HYAL1*, *TEK*, *GNG11*, *ADH1A*, *TGFB3*, *INPP1*, *ADH1B*, *STK4*, *ACTB*, *HNRNP1*, *CASC3* 및 *SKP1*에서 선택되는 유전자로부터 발현된 RNA 또는 단백질을 포함할 수 있다. 일정한 바람직한 구체예에서, 적어도 하나의 참조 마커는 RNA를 포함한다. 일정한 구체예에서, 참조 마커는 *U1* snRNA 및 *U6* snRNA에서 선택되는 RNA를 포함한다.
- [0021] 전술된 임의의 구체예에 적용될 때, 본 기술은 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양을 측정하는 단계가 역전사, 증합효소 연쇄 반응, 핵산 염기서열분석, 질량 분광분석, 질량-기반 분리 및 표적 포획, 정량적 파이프라인 염기서열분석, 플랩 엔도뉴클레아제 검정, PCR-플랩 검정, 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA) 검출, 그리고 단백질 면역침전 중에서 한 가지 또는 그 이상을 이용하는 것을 포함하는 구체예를 포괄한다. 일정한 구체예에서, 측정은 멀티플렉스 증폭을 포함한다.
- [0022] 일부 구체예에서, DNA 역시 분석된다. 정상적인 폐 조직 및 양성 결절에서는 여전히 음성이지만, 모든 유형의 폐암에 대한 극히 높은 식별을 달성하는, 조직 또는 혈장에서 검정된 메틸화 마커의 수집물이 본원에서 제공된다. 수집물에서 선택되는 마커는 예를 들면, 폐암 선별검사 및 양성 결절로부터 악성 결절의 식별에서 적용 시에, 혈액 또는 체액을 특징화하기 위해 단독으로 또는 패널로 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 패널로부터 마커는 한 가지 형태의 폐암을 다른 형태의 폐암으로부터 식별하는 데, 예를 들면, 폐 선암종 또는 대세포 암종의 존재를 폐 소세포 암종의 존재로부터 식별하거나, 또는 혼합된 병리 암종을 검출하는 데 이용된다. 개체로부터 채취된 샘플로부터 검출될 때, 높은 신호 대 잡음 비율 및 낮은 배경 수준을 제공하는 마커를 선별검사하기 위한 기술이 본원에서 제공된다.
- [0023] *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*에서 선택되는 주해를 갖는 메틸화 마커 및/또는 마커의 패널 (예를 들면, 염색체 영역(들))은 폐암 샘플로부터 유래된 메틸화 마커의 메틸화 상태를 정상적인 (비암성) 샘플에서 상응하는 마커에 비교함으로써 연구에서 확인되었다.
- [0024] 본원에서 설명된 바와 같이, 본 기술은 폐암에 대한 높은 식별력 및 일부 구체예에서, 폐암 유형 사이의 식별력을 갖는 다수의 메틸화 마커 및 이들의 부분집합 (예를 들면, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개 또는 그 이상의 마커의 세트)을 제공한다.
- [0025] 따라서, 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 하나 또는 그 이상의 유전자 발현 산물의 양을 측정하는 전술된 임의의 구체예의 기술은 다음 단계를 더욱 포함할 수 있다:
- [0026] d) 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA 및 적어도 하나의 참조 마커 DNA를 추출하는 단계;
- [0027] e) 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 측정하되, 상기 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329* 중에서 적어도 하나와 연관된 뉴클레오

티드 서열을 포함하는 단계;

- [0028] f) 적어도 하나의 참조 마커 DNA의 양을 계측하는 단계; 및
- [0029] g) 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양에 대한 값을 참조 마커 DNA의 양의 백분율로서 계산하되, 상기 값은 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 표시하는 단계.
- [0030] 본 기술은 메틸화 마커 DNA를 계측하는 것에 한정되지 않고, 그리고 본 기술은 아래에 상세하게 논의된 바와 같이, 예를 들면, 상이한 메틸화 마커 DNA에 대한 계측 데이터가 서로 조합으로 및/또는 RNA 및/또는 단백질 유전자 발현 마커에 대한 계측 데이터와 조합으로 분석될 수 있도록 복수의 메틸화 마커 DNA의 계측을 포괄한다. 일부 구체예에서, 본 기술은 예를 들면, 이러한 기술을 적용함에 있어서 편의 또는 효율을 위해 메틸화 마커 DNA의 한정된 세트의 계측에 적용된다. 예를 들면, 상기 논의된 임의의 구체예에서, 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA는 바람직하게는, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개의 메틸화 마커 DNA로 구성될 수 있다. 일정한 구체예에서, 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA는 *BARY1*, *FLJ45983*, *HOPX*, *ZNF781*, *FAM59B*, *HOXA9*, *SOBP* 및 *IFFO1* 중에서 적어도 하나와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 전술된 구체예 중에서 일정한 어느 것에서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 *FPR1*, *PADI4* 및 *SELL*에서 선택되는 마커 유전자의 발현으로부터 산물을 포함한다.
- [0031] 일정한 구체예에서, 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 DNA는 순환성 무세포 DNA를 포함한다. 다른 구체예에서 DNA는 세포 DNA를 포함한다. 상기 논의된 임의의 구체예에서, 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양에 대한 값을 계산하는 데 이용된 적어도 하나의 참조 마커 DNA는 바람직하게는 *B3GALT6* DNA 및 β -액틴 DNA에서 선택될 수 있다.
- [0032] 전술된 메틸화 마커 DNA를 계측하기 위한 임의의 구체예에는, 메틸화 마커 DNA가 DNA의 메틸화 상태에 특이적인 방식으로 상기 DNA를 선택적으로 변형하는 시약으로 처리되는 구체예가 포함된다. 일부 구체예에서, 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소를 포함하고, 그리고 일정한 바람직한 구체예에서, 중아황산염 시약은 중아황산암모늄을 포함한다.
- [0033] 본 기술을, 메틸화 마커 DNA의 양을 계측하는 임의의 특정 방법으로 한정하지 않으면서, 일부 구체예에서, 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 계측하는 단계는 중합효소 연쇄 반응, 핵산 염기서열분석, 질량 분광분석, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량-기반 분리 및 표적 포획 중에서 한 가지 또는 그 이상을 이용하는 것을 포함하고, 그리고 일정한 바람직한 구체예에서, 계측하는 단계는 멀티플렉스 증폭을 포함한다. 일부 구체예에서 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 계측하는 단계는 메틸화 특이적 PCR, 정량적 메틸화 특이적 PCR, 메틸화 특이적 DNA 제한 효소 분석, 정량적 중아황산염 과이로염기서열분석, 플랩 엔도뉴클레아제 검정, PCR-플랩 검정, 그리고 중아황산염 유전체 염기서열분석 PCR로 구성된 군에서 선택되는 한 가지 또는 그 이상의 방법을 이용하는 것을 포함한다.
- [0034] 본 기술의 구체예는 개체로부터 샘플링된 혈액을 특징화하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 다음 단계를 포함한다:
- [0035] i) 개체로부터 샘플링된 혈액을 처리하여, 추출된 DNA 및 추출된 RNA를 생산하는 단계;
- [0036] ii) 추출된 RNA에서 2개 또는 그 이상의 마커 RNA의 양을 계측하되, 상기 마커 RNA는 *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1* RNA에서 선택되는 단계;
- [0037] iii) 추출된 RNA에서 적어도 하나의 참조 RNA의 양을 계측하되, 상기 참조 RNA는 *CASC3A*, *SKP1* 및 *STK4*에서 선택되는 단계;
- [0038] iv) 2개 또는 그 이상의 마커 RNA 각각의 양에 대한 값을 적어도 하나의 참조 RNA의 양의 백분율로서 계산하되, 각 마커 RNA에 대한 값은 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 마커 RNA의 양을 표시하는 단계;
- [0039] v) 추출된 DNA를 중아황산염 시약으로 처리하여, 중아황산염-처리된 DNA를 생산하는 단계;
- [0040] vi) 중아황산염-처리된 DNA에서 2개 또는 그 이상의 메틸화 마커 DNA의 양을 계측하되, 상기 메틸화 마커 DNA는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARY1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*,

DLX4, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *SIPR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329* 유전자에서 선택되는 단계;

- [0041] vii) 중아황산염-처리된 DNA에서 적어도 하나의 참조 DNA의 양을 측정하되, 적어도 하나의 참조 DNA는 *B3GALT6* DNA 및 β -액틴 DNA에서 선택되는 단계; 및
- [0042] viii) 2개 또는 그 이상의 메틸화 마커 DNA 각각의 양에 대한 값을 중아황산염-처리된 DNA에서 측정된 참조 DNA의 양의 백분율로서 계산하되, 각 메틸화 마커 DNA에 대한 값은 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 메틸화 마커 DNA의 양을 표시하는 단계.
- [0043] 전술된 DNA와 RNA의 분석을 포함하는 구체에는 DNA와 RNA가 단일 혈액 수집관 또는 혈액 수집 백을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 단일 혈액 수집 장치에서 수집된 혈액으로부터 분리되는 구체예를 포괄한다.
- [0044] 전술된 임의의 구체에는 개체가 폐 신생물을 앓거나 또는 앓는 것으로 의심되는 구체에 및/또는 본 기술이 전술된 측정 방법을 이용하여 계산된 값에 근거하여 개체에서 폐암의 위험을 사정하는 단계를 포함하는 구체예를 포함한다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양 및/또는 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양은 개체의 폐암 위험을 표시한다.
- [0045] 일부 구체예에서, 마커의 메틸화 상태를 검정하기 위한 설계는 검정 기술에 의해 규문되는 마커의 표적 영역 내에 개별 CpG 좌위에서 배경 메틸화를 분석하는 것을 포함한다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 질환, 예를 들면, 암으로 진단된 개체로부터 분리된 샘플로부터 유래된 마커 DNA의 다수의 개별 사본 (예를 들면, >10,000, 바람직하게는 >100,000개의 개별 사본)이 메틸화의 빈도를 결정하기 위해 조사되고, 그리고 이들 데이터는 질환이 없는 개체로부터 분리된 샘플로부터 유래된 마커 DNA의 유사하게 다수의 개별 사본과 비교된다. 더 높은 신호 대 잡음, 예를 들면, 더 높은 검출가능 메틸화 및/또는 감소된 배경 메틸화를 갖는 CpG 좌위가 검정 설계에서 이용을 위해 선택될 수 있도록, 샘플로부터 유래된 마커 DNA 내에 개별 CpG 좌위에서 질환 연관 메틸화의 빈도 및 배경 메틸화의 빈도가 비교될 수 있다. 예를 들면, U.S. 특허 번호 9,637,792 및 10,519,510을 참조하는데, 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입된다. 일부 구체예에서, 모든 CpG 좌위가 검정 결과에 근거하여 "메틸화된" 또는 "메틸화되지 않는"으로 분류되는 마커에 대한 미리 결정된 메틸화 상태를 갖도록 (예를 들면, 모두가 메틸화되거나 또는 어느 것도 메틸화되지 않도록), 높은 신호 대 잡음 CpG 좌위의 군 (예를 들면, 마커 영역 내에 2, 3, 4, 5개, 또는 그 이상의 개별 CpG 좌위)이 검정에 의해 동시규문된다.
- [0046] 일부 구체예에서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커 및/또는 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양, 또는 이의 존재 또는 부재를 측정하는 것에서 선택되는 검정을 위한 시약 또는 재료를 포함하는 키트가 제공된다. 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 RNA 마커 또는 단백질 마커일 수 있다.
- [0047] 예를 들면, 일정한 키트 구체에는 다음을 제공한다:
- [0048] a) 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 유전자 발현 마커의 양을 측정하기 위한 시약의 세트로서, 여기서 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1*에서 선택되는 마커 유전자의 발현으로부터 생산되고;
- [0049] b) 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 참조 마커의 양을 측정하기 위한 시약의 세트.
- [0050] 일부 구체예에서, 키트는 혈액으로부터 적어도 하나의 유전자 발현 마커 및 적어도 하나의 참조 마커를 추출하기 위한 시약의 세트를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 유전자 발현 마커는 RNA 및 단백질 중에서 한 가지 또는 그 이상을 포함하고, 그리고 적어도 하나의 참조 마커는 RNA, DNA 및 단백질 중에서 한 가지 또는 그 이상을 포함한다. 일정한 구체예에서, 키트는 다음을 포함하고:
- [0051] i) 적어도 하나의 첫 번째 올리고뉴클레오타이드로서, 여기서 적어도 하나의 첫 번째 올리고뉴클레오타이드의 적어도 일부는 *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1*에서 선택되는 유전자 발현 마커와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 가닥에 특이적으로 혼성화하고;
- [0052] ii) 적어도 하나의 두 번째 올리고뉴클레오타이드로서, 여기서 적어도 하나의 두 번째 올리고뉴클레오타이드의 적어도 일부는 참조 마커에 특이적으로 혼성화하고, 여기서 참조 마커는 참조 핵산이다.
- [0053] 전술된 키트의 구체예에서, 유전자 발현 마커와 연관된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 가닥은 RNA, cDNA, 또는 증폭된 DNA에서 선택된다. 일정한 구체예에서, 참조 핵산은 RNA 또는 DNA를 포함하고, 반면 일부 구체예에서, 참조 유전자 발현 마커는 바람직하게는, *PLGLB2*, *GABARAP*, *NACA*, *EIF1*, *UBB*, *UBC*, *CD81*, *TMBIM6*, *MYL12B*,

HSP90B1, CLDN18, RAMP2, MFAP4, FABP4, MARCO, RGL1, ZBTB16, C10orf116, GRK5, AGER, SCGB1A1, HBB, TCF21, GMFG, HYAL1, TEK, GNG11, ADH1A, TGFBR3, INPP1, ADH1B, STK4, ACTB, HNRNPA1, CASC3 및 *SKP1*에서 선택되는 유전자로부터 발현된 RNA 또는 단백질을 포함한다.

[0054] 전술된 임의의 구체예에서, 본 기술의 키트는

[0055] c) 개체로부터 샘플링된 혈액 내에 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 측정하기 위한 시약의 세트를 더욱 포함할 수 있고, 여기서 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA는 *EMX1, GRIND2, ANKRD13B, ZNF781, ZNF671, IFFO1, HOPX, BARX1, HOXA9, LOC100129726, SPOCK2, TSC22D4, MAX.chr8.124, RASSF1, ST8SIA1, NKX6_2, FAM59B, DIDO1, MAX_chr1.110, AGRN, SOBP, MAX_chr10.226, ZMIZ1, MAX_chr8.145, MAX_chr10.225, PRDM14, ANGPT1, MAX.chr16.50, PTGDR_9, DOCK2, MAX_chr19.163, ZNF132, MAX_chr19.372, TRH, SP9, DMRTA2, ARHGEF4, CYP26C1, PTGDR, MATK, BCAT1, PRKCB_28, ST8SIA_22, FLJ45983, DLX4, SHOX2, HOXB2, MAX.chr12.526, BCL2L11, OPLAH, PARP15, KLHDC7B, SLC12A8, BHLHE23, CAPN2, FGF14, FLJ34208, BIN2_Z, DNMT3A, FERMT3, NFIX, S1PR4, SKI, SUCLG2, TBX15* 및 *ZNF329* 중에서 적어도 하나와 연관된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0056] 일부 구체예에서, 적어도 하나의 메틸화 마커 DNA의 양을 측정하기 위한 시약의 세트는

[0057] i) 적어도 하나의 세 번째 올리고뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 적어도 하나의 세 번째 올리고뉴클레오티드의 적어도 일부는 *EMX1, GRIND2, ANKRD13B, ZNF781, ZNF671, IFFO1, HOPX, BARX1, HOXA9, LOC100129726, SPOCK2, TSC22D4, MAX.chr8.124, RASSF1, ST8SIA1, NKX6_2, FAM59B, DIDO1, MAX_chr1.110, AGRN, SOBP, MAX_chr10.226, ZMIZ1, MAX_chr8.145, MAX_chr10.225, PRDM14, ANGPT1, MAX.chr16.50, PTGDR_9, DOCK2, MAX_chr19.163, ZNF132, MAX_chr19.372, TRH, SP9, DMRTA2, ARHGEF4, CYP26C1, PTGDR, MATK, BCAT1, PRKCB_28, ST8SIA_22, FLJ45983, DLX4, SHOX2, HOXB2, MAX.chr12.526, BCL2L11, OPLAH, PARP15, KLHDC7B, SLC12A8, BHLHE23, CAPN2, FGF14, FLJ34208, BIN2_Z, DNMT3A, FERMT3, NFIX, S1PR4, SKI, SUCLG2, TBX15* 및 *ZNF329*의 메틸화 마커 유전자와 연관된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 가닥에 특이적으로 혼성화한다.

[0058] 전술된 키트의 구체예는 적어도 하나의 네 번째 올리고뉴클레오티드를 더욱 포함할 수 있고, 여기서 적어도 하나의 네 번째 올리고뉴클레오티드의 적어도 일부는 참조 마커 DNA, 바람직하게는 *B3GALT6* DNA 및 β -액틴 DNA에서 선택되는 참조 마커 DNA에 특이적으로 혼성화한다. 일부 구체예에서, 메틸화 마커 유전자와 연관된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 가닥 및 참조 마커 DNA 중에서 적어도 하나는 중아황산염-처리된 DNA를 포함한다.

[0059] 일부 구체예에서, 전술된 바와 같은 키트는 DNA의 메틸화 상태에 특이적인 방식으로 상기 DNA를 선택적으로 변형하는 시약을 더욱 포함한다. 일정한 구체예에서, DNA의 메틸화 상태에 특이적인 방식으로 상기 DNA를 선택적으로 변형하는 시약은 중아황산염 시약, 메틸화 민감성 제한 효소, 또는 메틸화 의존성 제한 효소를 포함한다. 일정한 바람직한 구체예에서, 중아황산염 시약은 중아황산암모늄을 포함한다.

[0060] 앞서 제공된 키트의 구체예는 적어도 하나의 첫 번째, 두 번째, 세 번째와 네 번째 올리고뉴클레오티드 중에서 하나 또는 그 이상이 포획 올리고뉴클레오티드, 한 쌍의 핵산 프라이머, 핵산 프로브, 그리고 침습성 올리고뉴클레오티드에서 선택되고, 그리고 일정한 구체예에서, 포획 올리고뉴클레오티드가 예를 들면, 공유적으로 또는 비공유 부착 (예를 들면, 비오틴-스트렙타비딘 결합 또는 항원 항체 결합)을 통해 고체 지지체에 부착되는 키트를 더욱 포괄한다. 바람직한 구체예에서, 고체 지지체는 자성 비드이다.

[0061] 전술된 기술의 임의의 키트의 구체예는 다음을 포함하는 키트를 포함한다:

[0062] i) *S100A9, SELL, PADI4, APOBE3CA, S100A12, MMP9, FPR1, TYMP* 및 *SATI*에서 선택되는 마커 유전자의 발현의 유전자 발현 마커 산물로부터 첫 번째 증폭된 DNA를 생산하기 위한 첫 번째 프라이머 쌍;

[0063] ii) 상기 첫 번째 증폭된 DNA의 영역에 상보적인 서열을 포함하는 첫 번째 프로브;

[0064] iii) 두 번째 증폭된 DNA를 생산하기 위한 두 번째 프라이머 쌍;

[0065] iv) 상기 두 번째 증폭된 DNA의 영역에 상보적인 서열을 포함하는 두 번째 프로브;

[0066] v) 역전사효소; 및

[0067] vi) 열안정성 DNA 중합효소.

[0068] 일부 구체예에서, 두 번째 증폭된 DNA는 메틸화 마커 유전자 또는 참조 마커 핵산으로부터 생산된다.

[0069] 일정한 구체예에서, 첫 번째 프로브는 상기 첫 번째 증폭된 DNA에 실질적으로 상보적이지 않는 첫 번째 플랩 서

열을 갖는 플랩 부분을 더욱 포함하고, 그리고 일부 구체예에서, 두 번째 프로브는 상기 두 번째 증폭된 DNA에 실질적으로 상보적이지 않는 두 번째 플랩 서열을 갖는 플랩 부분을 더욱 포함한다. 본 기술의 키트는 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 더욱 포함할 수 있다:

- [0070] vii) 상기 첫 번째 플랩 서열에 상보적인 서열을 포함하는 FRET 카세트;
- [0071] viii) 상기 두 번째 플랩 서열에 상보적인 서열을 포함하는 FRET 카세트.
- [0072] 전술된 임의의 키트는 플랩 엔도뉴클레아제를 더욱 포함할 수 있다. 일정한 바람직한 구체예에서, 플랩 엔도뉴클레아제는 FEN-1 엔도뉴클레아제, 예를 들면, 고세균류 생물체로부터 유래된 열안정성 FEN-1 엔도뉴클레아제이다.
- [0073] 본 기술의 적용은 조성물을 더욱 제공한다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 본 기술은 다음을 포함하는 조성물을 제공한다:
- [0074] i) *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1*에서 선택되는 유전자의 발현의 유전자 발현 마커 산물로부터 첫 번째 증폭된 DNA를 생산하기 위한 첫 번째 프라이머 쌍;
- [0075] ii) 상기 첫 번째 증폭된 DNA의 영역에 상보적인 서열을 포함하는 첫 번째 프로브;
- [0076] iii) 두 번째 증폭된 DNA를 생산하기 위한 두 번째 프라이머 쌍;
- [0077] iv) 상기 두 번째 증폭된 DNA의 영역에 상보적인 서열을 포함하는 두 번째 프로브;
- [0078] v) 역전사효소; 및
- [0079] vi) 열안정성 DNA 중합효소.
- [0080] 일부 구체예에서, 조성물은 개체로부터 샘플링된 혈액으로부터 추출된 핵산을 더욱 포함하고, 여기서 상기 개체는 바람직하게는 폐 신생물을 앓거나 또는 앓는 것으로 의심되고, 또는 폐암을 앓을 위험에 처해 있다. 조성물의 일부 구체예에서, 핵산은 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 포함한다:
- [0081] - 세포 RNA;
- [0082] - 순환성 무세포 RNA;
- [0083] - 세포 DNA;
- [0084] - 순환성 무세포 DNA.
- [0085] 일부 구체예에서, 두 번째 프라이머 쌍은 메틸화 마커 유전자 또는 참조 마커 핵산으로부터 두 번째 증폭된 DNA를 생산한다. 일정한 바람직한 구체예에서, 두 번째 프라이머 쌍은 다음에서 선택되는 참조 핵산으로부터 두 번째 증폭된 DNA를 생산한다:
- [0086] - *PLGLB2*, *GABARAP*, *NACA*, *EIF1*, *UBB*, *UBC*, *CD81*, *TMBIM6*, *MYL12B*, *HSP90B1*, *CLDN18*, *RAMP2*, *MFAP4*, *FABP4*, *MARCO*, *RGL1*, *ZBTB16*, *C10orf116*, *GRK5*, *AGER*, *SCGB1A1*, *HBB*, *TCF21*, *GMFG*, *HYAL1*, *TEK*, *GNG11*, *ADH1A*, *TGFBR3*, *INPP1*, *ADH1B*, *STK4*, *ACTB*, *HNRNPA1*, *CASC3* 및 *SKP1*에서 선택되는 유전자로부터 발현된 RNA;
- [0087] - *U1* snRNA 및 *U6* snRNA에서 선택되는 RNA;
- [0088] - *B3GALT6* DNA 및 β -액틴 DNA에서 선택되는 DNA.
- [0089] 일정한 구체예에서, 두 번째 프라이머 쌍은 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX.Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX.chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX.chr8.145*, *MAX.chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX.chr19.163*, *ZNF132*, *MAX.chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *SIPR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*에서 선택되는 메틸화 마커 유전자로부터 두 번째 증폭된 DNA를 생산하도록 선택된다.
- [0090] 당업자는 상기 조성물이 2개의 프라이머 쌍에 한정되지 않으며, 복수의 상이한 유전자 발현 마커로부터 증폭된 DNA를 생산하기 위한 다수의 상이한 프라이머 쌍 및/또는 복수의 상이한 메틸화 마커 유전자로부터 증폭된 DNA

를 생산하기 위한 다수의 상이한 프라이머 쌍을 내포하는 조성물을 포괄한다는 것을 인식할 것이다. 조성물은 복수의 상이한 참조 마커 핵산으로부터 증폭된 DNA를 생산하기 위한 다수의 상이한 프라이머 쌍을 더욱 포함할 수 있다.

- [0091] 전술된 조성물에서, 첫 번째 프로브 및/또는 두 번째 프로브는 형광단을 포함하는 검출 모이어티를 포함한다. 일정한 구체예에서, 본 기술의 프로브는 프로브가 무손상일 때, 예를 들면, 이것이 5' 뉴클레아제에 의해 개열되지 않았을 때, 형광단으로부터 방출이 퀀칭되도록, 형광단 및 퀀칭 모이어티로 표지화될 수 있다.
- [0092] 일부 구체예에서, 첫 번째 프로브는 상기 첫 번째 증폭된 DNA에 실질적으로 상보적이지 않는 첫 번째 플랩 서열을 갖는 플랩 부분을 더욱 포함하고 및/또는 두 번째 프로브는 상기 두 번째 증폭된 DNA에 실질적으로 상보적이지 않는 두 번째 플랩 서열을 갖는 플랩 부분을 더욱 포함한다. 일정한 구체예에서, 조성물은 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 더욱 포함한다:
- [0093] vii) 첫 번째 플랩 서열에 상보적인 서열을 포함하는 FRET 카세트;
- [0094] viii) 두 번째 플랩 서열에 상보적인 서열을 포함하는 FRET 카세트.
- [0095] 전술된 임의의 조성물은 플랩 엔도뉴클레아제, 바람직하게는 FEN-1 엔도뉴클레아제, 예를 들면, 고세균류 생물체로부터 유래된 열안정성 FEN-1을 더욱 포함할 수 있다.
- [0096] 일정한 구체예에서, 전술된 조성물은 Mg^{++} , 예를 들면, $MgCl_2$ 를 포함하는 완충액을 포함한다. 바람직하게는, 조성물은 표준 PCR 완충액과 비교하여 상대적으로 높은 Mg^{++} 및 낮은 KCl (예를 들면, 6-10 mM, 바람직하게는 7.5 mM Mg^{++} 및 0.0 내지 0.8 mM KCl)을 포함하는 PCR-플랩 검정 완충액을 포함한다.
- [0097] 본 기술의 구체예는 전술된 조성물 중에서 한 가지를 포함하는 반응 혼합물을 더욱 포함한다.
- [0098] 일부 구체예에서, 키트는 적어도 2번의 검정을 위한 시약 또는 재료를 포함하고, 여기서 이들 검정은 1) 적어도 하나의 메틸화된 DNA 마커; 2) 적어도 하나의 RNA 마커; 및/또는 3) 적어도 하나의 단백질 마커의 양, 또는 이의 존재 또는 부재를 측정하는 것에서 선택된다. 바람직한 구체예에서, 적어도 하나의 메틸화된 DNA 마커는 *BARX1*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ZNF671*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *ANKRD13B*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX_chr19.372*, *HOXA9*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *ZNF781*, *PTGDR*, *GRIN2D*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *EMX1*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12a*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *B3GALT6*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15*, *ZDHHC1*, *ZNF329*, *IFFO1* 및 *HOPX*로 구성된 군에서 선택된다. 일정한 바람직한 구체예에서, *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOBE3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1*로 구성된 군에서 선택되는 유전자로부터 발현된 적어도 RNA 발현 마커. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 단백질은 항원, 예를 들면, 암-연관된 항원을 포함하고, 반면 일부 구체예에서, 적어도 하나의 단백질은 항체, 예를 들면, 암-연관된 항원에 대한 자가항체를 포함한다.
- [0099] 일부 구체예에서, 상기 혼합물에서 올리고뉴클레오티드는 리포터 분자를 포함하고, 그리고 바람직한 구체예에서, 리포터 분자는 형광단을 포함한다. 일부 구체예에서 올리고뉴클레오티드는 플랩 서열을 포함한다. 일부 구체예에서 혼합물은 FRET 카세트; FEN-1 엔도뉴클레아제 및/또는 열안정성 DNA 중합효소, 바람직하게는 세균 DNA 중합효소 중에서 하나 또는 그 이상을 더욱 포함한다.

파제의 해결 수단

- [0100] 정의
- [0101] 본 기술에 관한 이해를 조장하기 위해, 다수의 용어와 관용구가 아래에 규정된다. 추가 정의는 상세한 설명의 전역에서 진술된다.
- [0102] 본 명세서 및 청구항 전반에서, 하기 용어는 문맥에서 별도로 명시되지 않으면, 본원에서 명시적으로 연관된 의미를 갖는다. 본원에서 이용된 바와 같이, 관용구 "한 구체예에서"는 비록 동일한 구체예를 지칭할 수도 있지만, 동일한 구체예를 반드시 지칭하는 것은 아니다. 게다가, 본원에서 이용된 바와 같이, 관용구 "다른 구체예에서"는 비록 상이한 구체예를 지칭할 수도 있지만, 상이한 구체예를 반드시 지칭하는 것은 아니다. 따라서, 아래에 설명된 바와 같이, 본원 발명의 다양한 구체예가 본원 발명의 범위 또는 사상으로부터 벗어나지

않으면서, 쉽게 조합될 수 있다.

- [0103] 이에 더하여, 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "또는"은 포괄적 "또는" 연산자이고, 그리고 문맥에서 별도로 명시되지 않으면 용어 "및/또는"과 동등하다. 용어 "에 기초된"은 배타적이지 않고, 그리고 문맥에서 별도로 명시되지 않으면, 설명되지 않은 추가 인자에 기초되는 것을 허용한다. 이에 더하여, 본 명세서 전반에서, 단수 ("a", "an" 및 "the")의 의미는 복수 참고대상을 포함한다. "에서 (in)"의 의미는 "내에 (in)" 및 "상에 (on)"를 포함한다.
- [0104] 본 출원의 청구항에서 이용된 바와 같이, 이행 관용구 "본질적으로 구성되는"은 *In re Herz*, 537 F.2d 549, 551-52, 190 USPQ 461, 463 (CCPA 1976)에서 논의된 바와 같이, 청구항의 범위를 특정된 물질 또는 단계, 그리고 청구된 발명의 "기본 및 신규한 특징(들)에 실질적으로 영향을 주지 않는 것들"로 한정한다. 예를 들면, 언급된 요소로 "본질적으로 구성되는" 조성물은 비록 언급되지 않은 오염체가 존재하긴 하지만, 상기 오염체가 순수한 조성물, 다시 말하면, 언급된 구성요소로 "구성되는" 조성물과 비교하여, 언급된 조성물의 기능을 변경하지 않게 하는 그런 수준으로 오염체를 내포할 수 있다.
- [0105] 이용된 바와 같이, 조건부 언어, 예컨대 "할 수 있다," "할 수 있었다," "할지도 모른다," 또는 "할 수도 있다"는 문맥에서 별도로 특정되거나 또는 별도로 이해되지 않으면, 일반적으로, 일정한 구체에는 일정한 특징, 요소 및/또는 단계를 포함하는 반면, 다른 구체에는 이들을 포함하지 않는다는 것을 전달하도록 의도된다. 따라서, 이런 조건부 언어는 일반적으로, 특징, 요소 및/또는 단계가 하나 또는 그 이상의 구체예를 위해 어떤 방식으로든 필요하다거나, 또는 하나 또는 그 이상의 구체예가 사용자 입력 또는 프롬프팅과 함께 또는 이것 없이, 이들 특징, 요소 및/또는 단계가 임의의 특정 구체예에서 포함되거나 또는 수행되는 지를 결정하기 위한 로직을 반드시 포함한다는 것을 암시하도록 의도되지 않는다.
- [0106] 이용된 바와 같이, 연결 언어 예컨대 관용구 "X, Y 및 Z 중에서 적어도 하나"는 문맥에서 별도로 특정되거나 또는 별도로 이해되지 않으면, 일반적으로, 항목, 용어 등이 X, Y 또는 Z 중 어느 하나일 수 있다는 것을 전달하도록 의도된다. 따라서, 이런 연결 언어는 일반적으로, 일정한 구체예가 적어도 하나의 X, 적어도 하나의 Y, 그리고 적어도 하나의 Z의 존재를 필요로 한다는 것을 암시하도록 의도되지 않는다.
- [0107] 본원에서 이용된 정도의 언어, 예컨대 용어 "대략," "약," "일반적으로" 및 "실제적으로"는 원하는 기능을 여전히 수행하거나 또는 원하는 결과를 달성하는, 진술된 값, 양 또는 특징에 가까운 값, 양 또는 특징을 나타낸다.
- [0108] 본원에서 이용된 바와 같이, "메틸화"는 시토신의 위치 C5 또는 N4에서 시토신 메틸화, 아데닌의 N6 위치에서 메틸화, 또는 다른 유형의 핵산 메틸화를 지칭한다. 시험관내 증폭된 DNA는 통상적으로 비메틸화되는데, 그 이유는 전형적인 시험관내 DNA 증폭 방법이 증폭 주형의 메틸화 패턴을 유지하지 않기 때문이다. 하지만, "비메틸화된 DNA" 또는 "메틸화된 DNA"는 또한, 본래 주형이 각각 비메틸화되거나 또는 메틸화된 증폭된 DNA를 지칭할 수 있다.
- [0109] 따라서, 본원에서 이용된 바와 같이 "메틸화된 뉴클레오타이드" 또는 "메틸화된 뉴클레오타이드 염기"는 뉴클레오타이드 염기 상에서 메틸 모이어티의 존재를 지칭하는데, 여기서 상기 메틸 모이어티는 인정된 전형적인 뉴클레오타이드 염기 내에는 존재하지 않는다. 예를 들면, 시토신은 피리미딘 고리 상에서 메틸 모이어티를 내포하지 않지만, 5-메틸시토신은 피리미딘 고리의 위치 5에서 메틸 모이어티를 내포한다. 이런 이유로, 시토신은 메틸화되지 않는 뉴클레오타이드이고, 그리고 5-메틸시토신은 메틸화된 뉴클레오타이드이다. 다른 실례에서, 티민은 피리미딘 고리의 위치 5에서 메틸 모이어티를 내포한다; 하지만, 본원에서 목적을 위해, 티민은 DNA 내에 존재할 때 메틸화된 뉴클레오타이드인 것으로 고려되지 않는데, 그 이유는 티민이 DNA의 전형적인 뉴클레오타이드 염기이기 때문이다.
- [0110] 본원에서 이용된 바와 같이, "메틸화된 핵산 분자"는 하나 또는 그 이상의 메틸화된 뉴클레오타이드를 내포하는 핵산 분자를 지칭한다.
- [0111] 본원에서 이용된 바와 같이, 핵산 분자의 "메틸화 상태", "메틸화 프로파일" 및 "메틸화 상태"는 핵산 분자 내에 하나 또는 그 이상의 메틸화된 뉴클레오타이드 염기의 존재 또는 부재를 지칭한다. 예를 들면, 메틸화된 시토신을 내포하는 핵산 분자는 메틸화된 것으로 고려된다 (예를 들면, 상기 핵산 분자의 메틸화 상태는 메틸화된다). 어떤 메틸화된 뉴클레오타이드도 내포하지 않는 핵산 분자는 비메틸화된 것으로 고려된다. 일부 구체예에서, 핵산은 비록 동일한 유전자 또는 분자 내에 다른 좌위에서 메틸화된 하더라도, 만약 특정한 좌위 (예를 들면, 특정한 단일 CpG 디뉴클레오타이드의 좌위) 또는 좌위의 특정한 조합에서 메틸화되지 않으면, "비메틸화된" 것으로 특징화될 수 있다.

- [0112] 특정 핵산 서열 (예를 들면, 본원에서 설명된 바와 같은 유전자 마커 또는 DNA 영역)의 메틸화 상태는 서열 내에 모든 염기의 메틸화 상태를 표시할 수 있거나, 또는 서열 내에 염기의 부분집합 (예를 들면, 하나 또는 그 이상의 시토신)의 메틸화 상태를 표시할 수 있거나, 또는 메틸화가 발생하는 서열 내에 위치의 정밀한 정보를 제공하거나 또는 제공하지 않으면서, 서열 내에 영역 메틸화 밀도에 관한 정보를 표시할 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "마커 유전자" 및 "마커"는 마커 영역이 DNA의 코딩 영역 내에 있는지와 상관없이, 질환, 예를 들면, 암과 연관되는 DNA, RNA 또는 단백질 (또는 다른 샘플 성분)을 지칭하는 데 교체가능하게 이용된다. 마커는 예를 들면, 조절 영역, 측부 영역, 유전자간 영역 등을 포함할 수 있다. 유사하게, 샘플의 임의의 성분, 예를 들면, 단백질, RNA, 탄수화물, 소형 분자 등에 관하여 이용된 용어 "마커"는 샘플에서 검정될 수 있고 (예를 들면, 계측되거나 또는 만약 그렇지 않으면 특징화될 수 있고), 그리고 개체, 또는 개체로부터 획득된 샘플의 질환과 연관되는 성분을 지칭한다. 용어 "메틸화 마커"는 유전자 또는 DNA의 메틸화 상태가 질환, 예를 들면, 암과 연관되는 이러한 유전자 또는 DNA를 지칭한다.
- [0113] 핵산 분자 내에 뉴클레오티드 좌위의 메틸화 상태는 핵산 분자 내에 특정 좌위에서 메틸화된 뉴클레오티드의 존재 또는 부재를 지칭한다. 예를 들면, 핵산 분자 내에 7번째 뉴클레오티드에서 시토신의 메틸화 상태는 핵산 분자 내에 7번째 뉴클레오티드에서 존재하는 뉴클레오티드가 5-메틸시토신일 때 메틸화된다. 유사하게, 핵산 분자 내에 7번째 뉴클레오티드에서 시토신의 메틸화 상태는 핵산 분자 내에 7번째 뉴클레오티드에서 존재하는 뉴클레오티드가 시토신일 때 (그리고 5-메틸시토신이 아닐 때) 비메틸화된다.
- [0114] 메틸화 상태는 임의적으로 "메틸화 값" (예를 들면, 메틸화 빈도, 분율, 비율, 퍼센트 등을 나타내는)에 의해 표현되거나 또는 표시될 수 있다. 메틸화 값은 예를 들면, 메틸화 의존성 제한 효소로 제한 절단 이후에 존재하는 무손상 핵산의 양을 정량함으로써, 또는 중아황산염 반응 후 증폭 프로필을 비교함으로써, 또는 중아황산염-처리된 핵산 및 처리되지 않은 핵산의 서열을 비교함으로써 산출될 수 있다. 따라서, 값, 예를 들면, 메틸화 값은 메틸화 상태를 나타내고, 그리고 따라서 좌위의 복수 사본 전체에 대하여 메틸화 상태의 정량적 지표로서 이용될 수 있다. 이것은 샘플 내에 서열의 메틸화 상태를 역치 또는 참조값에 비교하는 것이 요망될 때 특히 유용하다.
- [0115] 본원에서 이용된 바와 같이, "메틸화 빈도" 또는 "메틸화 퍼센트 (%)"는 분자 또는 좌위가 비메틸화되는 사례의 숫자에 비하여, 분자 또는 좌위가 메틸화되는 사례의 숫자를 지칭한다.
- [0116] 따라서, 메틸화 상태는 핵산 (예를 들면, 유전체 서열)의 메틸화의 상태를 설명한다. 이에 더하여, 메틸화 상태는 메틸화에 유관한 특정 유전체 좌위에서 핵산 분절의 특징을 지칭한다. 이런 특징은 이러한 DNA 서열 내에 시토신 (C) 잔기 중 어느 것이 메틸화되는지의 여부, 메틸화된 C 잔기(들)의 위치, 핵산의 임의의 특정 영역의 전역에서 메틸화된 C의 빈도 또는 백분율, 그리고 예를 들면, 대립유전자의 기원에서 차이에 기인한 메틸화에서 대립유전자 차이를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 용어 "메틸화 상태", "메틸화 프로필" 및 "메틸화 상태"는 또한, 생물학적 샘플 내에 핵산의 임의의 특정 영역의 전역에서 메틸화된 C 또는 비메틸화된 C의 상대적 농도, 절대적 농도, 또는 패턴을 지칭한다. 예를 들면, 만약 핵산 서열 내에 시토신 (C) 잔기(들)가 메틸화되면, 이것은 "과메틸화"되거나 또는 "증가된 메틸화"를 갖는 것으로 지칭될 수 있고, 반면 만약 DNA 서열 내에 시토신 (C) 잔기(들)가 메틸화되지 않으면, 이것은 "과소메틸화"되거나 또는 "감소된 메틸화"를 갖는 것으로 지칭될 수 있다. 유사하게, 만약 핵산 서열 내에 시토신 (C) 잔기(들)가 다른 핵산 서열 (예를 들면, 상이한 영역으로부터 또는 상이한 개체로부터, 기타 등등)과 비교하여 메틸화되면, 상기 서열은 다른 핵산 서열과 비교하여 과메틸화되거나 또는 증가된 메틸화를 갖는 것으로 고려된다. 대안으로, 만약 DNA 서열 내에 시토신 (C) 잔기(들)가 다른 핵산 서열 (예를 들면, 상이한 영역으로부터 또는 상이한 개체로부터, 기타 등등)과 비교하여 메틸화되지 않으면, 상기 서열은 다른 핵산 서열과 비교하여 과소메틸화되거나 또는 감소된 메틸화를 갖는 것으로 고려된다. 추가적으로, 본원에서 이용된 바와 같이 용어 "메틸화 패턴"은 핵산의 영역에 걸쳐 메틸화된 및 비메틸화된 뉴클레오티드의 집합적인 부위를 지칭한다. 2개의 핵산은 동일하거나 또는 유사한 메틸화 빈도 또는 메틸화 퍼센트를 가질 수도 있긴 하지만, 메틸화된 및 비메틸화된 뉴클레오티드의 숫자가 상기 영역의 전역에서 동일하거나 또는 유사하지만 메틸화된 및 비메틸화된 뉴클레오티드의 위치가 상이할 때 상이한 메틸화 패턴을 갖는다. 서열은 메틸화의 정도 (예를 들면, 한 서열이 다른 서열에 비하여 증가되거나 또는 감소된 메틸화를 갖는다), 빈도 또는 패턴에서 서로 다를 때, "차별적으로 메틸화"되거나, 또는 "메틸화에서 차이" 또는 "상이한 메틸화 상태"를 갖는 것으로 일컬어진다. 용어 "차별적 메틸화"는 암 음성 샘플에서 핵산 메틸화의 수준 또는 패턴과 비교하여 암 양성 샘플에서 핵산 메틸화의 수준 또는 패턴에서 차이를 지칭한다. 이것은 또한, 수술 후 암의 재발을 겪는 환자 대 재발을 겪지 않는 환자 사이에 수준 또는 패턴에서 차이를 지칭할 수도 있다. 차별적 메틸화 및 DNA 메틸화의 특정한 수준 또는 패턴은 예를 들면, 일단 정확한 컷오프 또는 예측 특징이 규정되면,

예후와 예측 바이오마커이다.

- [0117] 메틸화 상태 빈도는 개체의 모집단 또는 단일 개체로부터 획득된 샘플을 설명하는 데 이용될 수 있다. 예를 들면, 50%의 메틸화 상태 빈도를 갖는 뉴클레오타이드 좌위는 50%의 사례에서 메틸화되고 50%의 사례에서 비메틸화된다. 이런 빈도는 예를 들면, 뉴클레오타이드 좌위 또는 핵산 영역이 개체의 모집단 또는 핵산의 수집물에서 메틸화되는 정도를 설명하는 데 이용될 수 있다. 따라서, 핵산 분자의 첫 번째 모집단 또는 풀에서 메틸화가 핵산 분자의 두 번째 모집단 또는 풀에서 메틸화와 상이할 때, 첫 번째 모집단 또는 풀의 메틸화 상태 빈도는 두 번째 모집단 또는 풀의 메틸화 상태 빈도와 상이할 것이다. 이런 빈도는 또한, 예를 들면 뉴클레오타이드 좌위 또는 핵산 영역이 단일 개체에서 메틸화되는 정도를 설명하는 데 이용될 수 있다. 예를 들면, 이런 빈도는 조직 샘플로부터 획득된 세포의 군이 뉴클레오타이드 좌위 또는 핵산 영역에서 메틸화되거나 또는 비메틸화되는 정도를 설명하는 데 이용될 수 있다.
- [0118] 본원에서 이용된 바와 같이, "뉴클레오타이드 좌위"는 핵산 분자 내에 뉴클레오타이드의 위치를 지칭한다. 메틸화된 뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 좌위는 핵산 분자 내에 메틸화된 뉴클레오타이드의 위치를 지칭한다.
- [0119] 전형적으로, 인간 DNA의 메틸화는 시토신이 구아닌의 5'에 위치되는, 인접한 구아닌과 시토신을 포함하는 디뉴클레오타이드 서열 상에서 발생한다 (CpG 디뉴클레오타이드 서열로 또한 명명됨). CpG 디뉴클레오타이드 내에 대부분의 시토신은 인간 유전체에서 메틸화되지만, 일부는 CpG 섬으로서 알려져 있는 특정한 CpG 디뉴클레오타이드 풍부한 유전체 영역에서 비메틸화된 상태로 남아있다 (참조: 예를 들면, Antequera, *et al.* (1990) *Cell* 62: 503-514).
- [0120] 본원에서 이용된 바와 같이, "CpG 섬"은 전체 유전체 DNA에 비하여 증가된 숫자의 CpG 디뉴클레오타이드를 내포하는 유전체 DNA의 G:C-풍부한 영역을 지칭한다. CpG 섬은 길이에서 적어도 100, 200개, 또는 그 이상의 염기쌍일 수 있는데, 여기서 상기 영역의 G:C 함량은 적어도 50%이고 기대 빈도에 비하여 관찰된 CpG 빈도의 비율은 0.6이다; 일부 사례에서, CpG 섬은 길이에서 적어도 500개 염기쌍일 수 있는데, 여기서 상기 영역의 G:C 함량은 적어도 55%이고 기대 빈도에 비하여 관찰된 CpG 빈도의 비율은 0.65이다. 기대 빈도에 비하여 관찰된 CpG 빈도는 Gardiner-Garden *et al* (1987) *J. Mol. Biol.* 196: 261-281에서 제공된 방법에 따라서 계산될 수 있다. 예를 들면, 기대 빈도에 비하여 관찰된 CpG 빈도는 공식 $R = (A \times B) / (C \times D)$ 에 따라서 계산될 수 있는데, 여기서 R은 기대 빈도에 비하여 관찰된 CpG 빈도의 비율이고, A는 분석된 서열 내에 CpG 디뉴클레오타이드의 숫자이고, B는 분석된 서열 내에 뉴클레오타이드의 총수이고, C는 분석된 서열 내에 C 뉴클레오타이드의 총수이고, 그리고 D는 분석된 서열 내에 G 뉴클레오타이드의 총수이다. 메틸화 상태는 전형적으로, CpG 섬에서, 예를 들면, 프로모터 영역에서 결정된다. 하지만, 인간 유전체 내에 다른 서열 예컨대 CpA 및 CpT가 DNA 메틸화되기 쉬운 것으로 인지될 것이다 (참조: Ramsahoye (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 5237-5242; Salmon and Kaye (1970) *Biochim. Biophys. Acta.* 204: 340-351; Grafstrom (1985) *Nucleic Acids Res.* 13: 2827-2842; Nyce (1986) *Nucleic Acids Res.* 14: 4353-4367; Woodcock (1987) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 145: 888-894).
- [0121] 본원에서 이용된 바와 같이, "메틸화 특이적 시약"은 핵산 분자의 메틸화 상태의 함수로서 핵산 분자의 뉴클레오타이드를 변형하는 시약을 지칭하거나, 또는 메틸화 특이적 시약은 핵산 분자의 메틸화 상태를 반영하는 방식으로 핵산 분자의 뉴클레오타이드 서열을 변화시킬 수 있는 화합물 또는 조성물 또는 다른 작용제를 지칭한다. 핵산 분자를 이런 시약으로 처리하는 방법은 뉴클레오타이드 서열의 원하는 변화를 달성하기 위한 추가 단계 (바람직하면)와 연계된, 상기 핵산 분자를 상기 시약과 접촉시키는 단계를 포함할 수 있다. 이런 방법은 비메틸화된 뉴클레오타이드 (예를 들면, 각 비메틸화된 시토신)이 상이한 뉴클레오타이드로 변형되는 방식으로 적용될 수 있다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 이런 시약은 비메틸화된 시토신 뉴클레오타이드를 탈아미노화하여, 테옥시 우라실 잔기를 생산할 수 있다. 예시적인 시약은 중아황산염 시약이다.
- [0122] 본원에서 개시된 바와 같이, 용어 "중아황산염 시약"은 메틸화된 및 비메틸화된 CpG 디뉴클레오타이드 서열을 식별하는 데 유용한, 중아황산염, 디아황산염, 아황산수소염, 또는 이들의 조합을 포함하는 시약을 지칭한다. 상기 처리 방법은 당해 분야에서 공지된다 (예를 들면, PCT/EP2004/011715 및 WO 2013/116375, 이들은 각각 온전히 참조로서 편입됨). 일부 구체예에서, 중아황산염 처리는 변성 용매 예컨대 그러나 제한 없이, n-알킬렌글리콜 또는 디에틸렌 글리콜 디메틸 에테르 (DME)의 존재에서, 또는 디옥산 또는 디옥산 유도체의 존재에서 수행된다. 일부 구체예에서 변성 용매는 1% 및 35% (v/v) 사이의 농도에서 이용된다. 일부 구체예에서, 중아황산염 반응은 스캐빈저 예컨대 그러나 제한 없이 크로만 유도체, 예를 들면, 6-히드록시-2,5,7,8,-테트라메틸크로만 2-카르복실산 또는 트리히드록시벤존산 및 이들의 유도체, 예를 들면, 갈산의 존재에서 수행된다 (참조: PCT/EP2004/011715, 이것은 온전히 참조로서 편입됨). 일정한 바람직한 구체예에서, 중아황산염 반응은 예를 들

면 WO 2013/116375에서 설명된 바와 같이, 아황산수소암모늄으로 처리하는 단계를 포함한다.

- [0123] 메틸화 특이적 시약에 의한 핵산 뉴클레오타이드 서열에서 변화는 또한, 각 메틸화된 뉴클레오타이드가 상이한 뉴클레오타이드로 변형되는 핵산 분자를 야기할 수 있다.
- [0124] 용어 "메틸화 검정"은 핵산의 서열 내에 하나 또는 그 이상의 CpG 디뉴클레오타이드 서열의 메틸화 상태를 결정하기 위한 임의의 검정을 지칭한다.
- [0125] 본원에서 이용된 바와 같이, 소정의 마커 (또는 함께 이용된 마커의 세트)의 "민감도"는 신생물 및 비신생물 샘플을 식별하는 역치값을 초과하여 DNA 메틸화 값을 보고하는 샘플의 백분율을 지칭한다. 일부 구체예에서, 양성 역치값을 초과하는 DNA 메틸화 값 (예를 들면, 질환과 연관된 범위)을 보고하는 조직학-확증된 신생물로서 규정되고, 그리고 가음성은 역치값 미만의 DNA 메틸화 값 (예를 들면, 질환 없음과 연관된 범위)을 보고하는 조직학-확증된 신생물로서 규정된다. 민감도의 값은 이런 이유로, 공지된 병든 샘플로부터 획득된 소정의 마커에 대한 DNA 메틸화 치수가 질환 연관 치수의 범위 안에 있을 확률을 반영한다. 여기에서 규정된 바와 같이, 계산된 민감도 값의 임상적 관련성은 소정의 마커가 임상적 상태를 겪는 개체에게 적용될 때, 이러한 임상적 상태의 존재를 검출할 확률의 추정을 나타낸다.
- [0126] 본원에서 이용된 바와 같이, 소정의 마커 (또는 함께 이용된 마커의 세트)의 "특이성"은 신생물 및 비신생물 샘플을 식별하는 역치값 미만의 DNA 메틸화 값을 보고하는 비신생물 샘플의 백분율을 지칭한다. 일부 구체예에서, 음성은 역치값 미만의 DNA 메틸화 값 (예를 들면, 질환 없음과 연관된 범위)을 보고하는 조직학-확증된 비신생물 샘플로서 규정되고, 그리고 가양성은 역치값을 초과하는 DNA 메틸화 값 (예를 들면, 질환과 연관된 범위)을 보고하는 조직학-확증된 비신생물 샘플로서 규정된다. 특이성의 값은 이런 이유로, 공지된 비신생물 샘플로부터 획득된 소정의 마커에 대한 DNA 메틸화 치수가 비-질환 연관 치수의 범위 안에 있을 확률을 반영한다. 여기에서 규정된 바와 같이, 계산된 특이성 값의 임상적 관련성은 소정의 마커가 임상적 상태를 겪지 않는 개체에게 적용될 때, 이러한 임상적 상태의 부재를 검출할 확률의 추정을 나타낸다.
- [0127] 본원에서 이용된 바와 같이, "선택된 뉴클레오타이드"는 핵산 분자 내에 4개의 전형적으로 발생하는 뉴클레오타이드 (DNA의 경우 C, G, T와 A 및 RNA의 경우 C, G, U와 A) 중 하나의 뉴클레오타이드를 지칭하고, 그리고 전형적으로 발생하는 뉴클레오타이드의 메틸화된 유도체를 포함할 수 있고 (예를 들면, C가 선택된 뉴클레오타이드일 때, 메틸화된 및 비메틸화된 C 둘 모두 선택된 뉴클레오타이드의 의미 내에 포함된다), 반면 메틸화된 선택된 뉴클레오타이드는 전형적으로 메틸화된 뉴클레오타이드를 특징적으로 지칭하고, 그리고 비메틸화된 선택된 뉴클레오타이드는 전형적으로 비메틸화된 형태로 발생하는 뉴클레오타이드를 특징적으로 지칭한다.
- [0128] 용어 "메틸화 특이적 제한 효소"는 인식 부위의 메틸화 상태에 따라서 핵산을 선택적으로 절단하는 제한 효소를 지칭한다. 만약 인식 부위가 메틸화되지 않거나 또는 반메틸화되면 특이적으로 절단하는 제한 효소 (메틸화 민감성 효소)의 경우에, 절단은 만약 인식 부위가 어느 한 쪽 또는 양쪽 가닥에서 메틸화되면 발생하지 않을 것이다 (또는 유의미하게 감소된 효율로 발생할 것이다). 인식 부위가 메틸화되는 경우에만 특이적으로 절단하는 제한 효소 (메틸화 의존성 효소)의 경우에, 절단은 만약 인식 부위가 메틸화되지 않으면 발생하지 않을 것이다 (또는 유의미하게 감소된 효율로 발생할 것이다). 인식 서열이 CG 디뉴클레오타이드 (예를 들면 CGCG 또는 CCCGGG와 같은 인식 서열)를 내포하는 메틸화 특이적 제한 효소가 바람직하다. 일부 구체예의 경우에, 만약 이러한 디뉴클레오타이드 내에 시토신이 탄소 원자 C5에서 메틸화되면 절단하지 않는 제한 효소가 추가로 바람직하다.
- [0129] 용어 "프라이머"는 예를 들면, 제한 절단으로부터 핵산 단편으로서 자연적으로 발생하거나, 또는 합성적으로 생산되는 지의 여부와 상관없이, 핵산 주형 가닥에 상보적인 프라이머 연장 산물의 합성이 유도되는 조건하에 (예를 들면, 뉴클레오타이드 및 유도체 예컨대 DNA 중합효소의 존재에서, 그리고 적합한 온도와 pH에서) 배치될 때 합성의 개시점으로서 작용할 수 있는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다. 프라이머는 바람직하게는, 증폭에서 최대 효율을 위해 단일 가닥이지만, 대안으로 이중 가닥일 수도 있다. 만약 이중 가닥이면, 프라이머는 먼저, 연장 산물을 제조하는 데 이용되기 전 자체의 가닥을 분리하기 위해 처리된다. 바람직하게는, 프라이머는 올리고데옥시리보뉴클레오타이드이다. 일반적으로, 프라이머는 유도체의 존재에서 연장 산물의 합성을 시발할 만큼 충분히 길다. 프라이머의 정확한 길이는 온도, 프라이머의 출처, 그리고 방법의 용도를 비롯한, 많은 인자에 의존할 것이다.
- [0130] 용어 "프로브"는 순수 제한 절단의 경우에서와 같이 자연적으로 발생하거나, 또는 합성적으로, 재조합적으로 또는 PCR 증폭에 의해 생산되는 지의 여부와 상관없이, 관심되는 다른 올리고뉴클레오타이드에 혼성화할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 (예를 들면, 뉴클레오타이드의 서열)를 지칭한다. 프로브는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있

다. 프로브는 특정 유전자 서열의 검출, 확인 및 단리에서 유용하다 (예를 들면, "포획 프로브"). 본원 발명에서 이용된 임의의 프로브는 일부 구체예에서, 효소 (예를 들면, ELISA뿐만 아니라 효소-기반 조직화학적 검정), 형광, 방사선 및 발광 시스템을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 임의의 검출 시스템에서 검출이 가능하도록, 임의의 "리포터 분자"로 표시화될 수 있는 것으로 예기된다. 본원 발명은 임의의 특정 검출 시스템 또는 표지에 한정되는 것으로 의도되지 않는다.

[0131] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "표적"은 예를 들면, 프로브 결합, 증폭, 단리, 포획 등에 의해, 다른 핵산으로부터 분류가 모색되는 핵산을 지칭한다. 예를 들면, 중합효소 연쇄 반응과 관련하여 이용될 때, "표적"은 중합효소 연쇄 반응에 이용되는 프라이머에 의해 경계를 이루는 핵산의 영역을 지칭하고, 반면 표적 DNA가 증폭되지 않는 검정, 예를 들면, 일부 구체예에서 침습성 개열 검정에서 이용될 때, 표적은 표적 핵산의 존재가 검출될 수 있도록, 프로브 및 침습성 올리고뉴클레오타이드 (예를 들면, INVADER 올리고뉴클레오타이드)가 결합하여 침습성 개열 구조를 형성하는 부위를 포함한다. "분절"은 표적 서열 내에 핵산의 영역으로서 규정된다. 이중 가닥 핵산에 관하여 이용된 바와 같이, 용어 "표적"은 이중나선 표적의 특정 가닥, 예를 들면, 코딩 가닥에 한정되지 않지만, 예를 들면, 이중 가닥 유전자 또는 참조 DNA의 어느 한 쪽 또는 양쪽 가닥에 관하여 이용될 수 있다.

[0132] 본원에서 이용된 바와 같이, 혈액으로부터 유래된 핵산에 관하여 이용된 바와 같이, 용어 "무세포" 및 "순환성 무세포"는 교체가능하게 이용되고, 그리고 혈액에서 발견되지만 혈액에서 세포 내에 있지 않는 핵산, 예를 들면, DNA와 RNA 종류를 지칭한다. 혈액으로부터 추출된 핵산에 대하여 본원에서 이용된 바와 같은 이들 용어는 개체로부터 샘플의 수집에 앞서 및 혈액 샘플로부터 핵산의 추출에 앞서 핵산의 본성과 위치를 지칭한다.

[0133] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "마커"는 예를 들면, 마커 물질의 존재, 부재 또는 상태 (예를 들면, 메틸화 상태)에 근거하여, 비-정상 세포 (예를 들면, 암 세포)를 정상 세포 (비암성 세포)로부터 식별하는 데 이용될 수 있는 물질 (예를 들면, 핵산 또는 핵산의 일부, 또는 단백질)을 지칭한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 마커의 "정상적인" 메틸화는 정상 세포에서, 예를 들면, 비암성 세포에서 전형적으로 발견되는 메틸화의 정도를 지칭한다.

[0134] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "신생물"은 암을 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 조직의 임의의 새롭고 비정상적인 성장을 지칭한다. 따라서, 신생물은 전암성 신생물 또는 악성 신생물일 수 있다.

[0135] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "신생물 특이적 마커"는 신생물의 존재를 표시하는 데 이용될 수 있는 임의의 생물학적 물질 또는 요소를 지칭한다. 생물학적 물질의 실례는 제한 없이, 핵산, 폴리펩티드, 탄수화물, 지방산, 세포 성분 (예를 들면, 세포막 및 미토콘드리아), 그리고 전체 세포를 포함한다. 일부 사례에서, 마커는 특정 핵산 영역 (예를 들면, 유전자, 유전자내 영역, 특정한 좌위 등)이다. 마커인 핵산의 영역은 예를 들면, "마커 유전자," "마커 영역," "마커 서열," "마커 좌위" 등으로 지칭될 수 있다.

[0136] 용어 "샘플"은 가장 넓은 의미에서 이용된다. 하나의 의미에서 이것은 동물 세포 또는 조직 또는 유체를 지칭할 수 있다. 다른 의미에서, 이것은 임의의 출처로부터 획득된 검체 또는 배양액뿐만 아니라 생물학적 샘플 및 환경 샘플을 지칭한다. 생물학적 샘플은 식물 또는 동물 (인간 포함)로부터 획득될 수 있고 예를 들면, 유체, 고체, 조직 및 가스를 포괄한다. 환경 샘플은 환경 물질 예컨대 표면 소재, 토양, 물 및 산업 샘플을 포함한다. 이들 실례는 본원 발명에 적용 가능한 샘플 유형을 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 샘플에 관하여 본원에서 이용된 바와 같이, 출처 또는 개체로부터, 예를 들면, 환자로부터 수집된 용어 "샘플"은 단일 물리적 검체에 한정되지 않고 복수의 부분에서 수집되는 샘플을 또한 포괄한다, 예를 들면, 혈액의 "샘플"은 2개, 3개, 4개 또는 그 이상의 상이한 혈액 수집관 또는 다른 혈액 수집 장치 (예를 들면, 백), 또는 상이한 혈액 수집 장치의 조합에서 수집될 수 있다.

[0137] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "환자" 또는 "개체"는 본 기술에 의해 제공된 다양한 검사가 진행되는 생물체를 지칭한다. 용어 "개체"는 동물, 바람직하게는 인간을 비롯한 포유동물을 포함한다. 바람직한 구체예에서, 개체는 영장류이다. 훨씬 바람직한 구체예에서, 개체는 인간이다. 게다가 진단 방법에 대하여, 바람직한 개체는 척추동물 개체이다. 바람직한 척추동물은 온혈이다; 바람직한 온혈 척추동물은 포유동물이다. 바람직한 포유동물은 가장 바람직하게는 인간이다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "개체"는 인간과 동물 개체 둘 모두를 포함한다. 따라서, 수의학적 치료 용도가 본원에서 제공된다. 따라서, 본 기술은 포유동물 예컨대 인간뿐만 아니라 멸종 위기로 인해 중요한 포유동물, 예컨대 시베리아 호랑이; 경제적으로 중요한 동물, 예컨대 인간에 의한 소비용으로 농장에서 사육되는 동물; 및/또는 인간에게 사회적으로 중요한 동물, 예컨대 애완동물로서 또는 동물원에서 사육되는 동물의 진단을 제공한다. 이런 동물의 실례는 다음을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다: 육식 동물 예컨대 고양이 및 개; 돼지, 수탉 및 야생 멧돼지를 비롯한, 돼지; 반추동물 및/또는 유체류 예컨

대 소, 황소, 양, 기린, 사슴, 염소, 들소 및 낙타; 기각류; 그리고 말. 따라서, 순치된 돼지, 반추동물, 유제류, 말 (경주마 포함) 등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 가축의 진단과 치료 역시 제공된다. 본원에서 개시된 요부는 개체에서 폐암을 진단하기 위한 시스템을 더욱 포함한다. 상기 시스템은 예를 들면, 폐암의 위험에 대해 선별검사하거나, 또는 생물학적 샘플이 수집된 개체에서 폐암을 진단하는 데 이용될 수 있는 상업적인 키트로서 제공될 수 있다. 본 기술에 따라서 제공된 예시적인 시스템은 본원에서 설명된 마커의 메틸화 상태를 사정하는 것을 포함한다.

[0138] 핵산의 문맥에서 용어 "증폭하는" 또는 "증폭"은 전형적으로 소량의 폴리뉴클레오티드 (예를 들면, 단일 폴리뉴클레오티드 분자)로부터 시작하여, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 부분의 복수 사본의 생산을 지칭하는데, 여기서 증폭 산물 또는 앰플리콘은 일반적으로 검출 가능하다. 폴리뉴클레오티드의 증폭은 다양한 화학적 및 효소적 과정을 포괄한다. 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 또는 리가아제 연쇄 반응 (LCR; 참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 5,494,810; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨) 동안 표적 또는 주형 DNA 분자의 하나 또는 소수의 사본으로부터 복수의 DNA 사본의 산출은 증폭의 형태이다. 증폭의 추가 유형은 대립유전자 특이적 PCR (참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 5,639,611; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 조립 PCR (참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 5,965,408; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 헬리카아제-의존성 증폭 (참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 7,662,594; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 핫 스타트 PCR (참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 5,773,258 및 5,338,671; 각 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 서열간 특이적 PCR, 역 PCR (참조: 예를 들면, Triglia, *et al.*(1988) *Nucleic Acids Res.*, 16:8186; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 결찰-매개된 PCR (참조: 예를 들면, Guilfoyle, R. *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 25:1854-1858 (1997); U.S. 특허 번호 5,508,169; 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 메틸화 특이적 PCR (참조: 예를 들면, Herman, *et al.*, (1996) *PNAS* 93(13) 9821-9826; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 미니프라이머 PCR, 멀티플렉스 결찰-의존성 프로브 증폭 (참조: 예를 들면, Schouten, *et al.*, (2002) *Nucleic Acids Research* 30(12): e57; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 멀티플렉스 PCR (참조: 예를 들면, Chamberlain, *et al.*, (1988) *Nucleic Acids Research* 16(23) 11141-11156; Ballabio, *et al.*, (1990) *Human Genetics* 84(6) 571-573; Hayden, *et al.*, (2008) *BMC Genetics* 9:80; 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 네스티드 PCR, 중첩 연장 PCR (참조: 예를 들면, Higuchi, *et al.*, (1988) *Nucleic Acids Research* 16(15) 7351-7367; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 실시간 PCR (참조: 예를 들면, Higuchi, *et al.*, (1992) *Biotechnology* 10:413-417; Higuchi, *et al.*, (1993) *Biotechnology* 11:1026-1030; 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 역전사 PCR (참조: 예를 들면, Bustin, S.A. (2000) *J. Molecular Endocrinology* 25:169-193; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨), 고체상 PCR, 열 비대칭 인터레이스 PCR, 그리고 터치다운 PCR (참조: 예를 들면, Don, *et al.*, *Nucleic Acids Research* (1991) 19(14) 4008; Roux, K. (1994) *Biotechniques* 16(5) 812-814; Hecker, *et al.*, (1996) *Biotechniques* 20(3) 478-485; 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입된다)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 폴리뉴클레오티드 증폭은 또한, 디지털 PCR (참조: 예를 들면, Kalinina, *et al.*, *Nucleic Acids Research*. 25; 1999-2004, (1997); Vogelstein and Kinzler, *Proc Natl Acad Sci USA*. 96: 9236-41, (1999); 국제 특허 공개 번호 WO05023091A2; US 특허 출원 공개 번호 20070202525; 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입된다)을 이용하여 달성될 수 있다.

[0139] 용어 "중합효소 연쇄 반응" ("PCR")은 클로닝 또는 정제 없이, 유전체 또는 다른 DNA 또는 RNA의 혼합물에서 표적 서열의 분절의 농도를 증가시키기 위한 방법을 설명하는, K.B. Mullis U.S. 특허 번호 4,683,195, 4,683,202 및 4,965,188의 방법을 지칭한다. 표적 서열을 증폭하기 위한 이러한 과정은 원하는 표적 서열을 내포하는 DNA 혼합물에 큰 과잉의 2개의 올리고뉴클레오티드 프라이머의 도입, 그 이후에 DNA 중합효소의 존재에서 열 주기의 정확한 순서로 구성된다. 2개의 프라이머는 이중 가닥 표적 서열의 그들의 개별 가닥에 상보적이다. 증폭을 달성하기 위해, 혼합물은 변성되고, 그리고 이후, 이들 프라이머가 표적 분자 내에 그들의 상보성 서열에 어닐링된다. 어닐링 이후에, 이들 프라이머는 상보성 가닥의 새로운 쌍을 형성하기 위해 중합효소로 연장된다. 변성, 프라이머 어닐링 및 중합효소 연장의 단계는 원하는 표적 서열의 높은 농도의 증폭된 분절을 획득하기 위해 여러 번 반복될 수 있다 (예를 들면, 변성, 어닐링 및 연장은 1회 "주기"를 구성하고; 다수의 "주기"가 있을 수 있다). 원하는 표적 서열의 증폭된 분절의 길이는 서로에 대한 프라이머의 상대적 위치에 의해 결정되고, 그리고 이런 이유로, 이러한 길이는 제어가능 파라미터이다. 상기 과정의 반복 양상에 의해서, 상기 방법은 "중합효소 연쇄 반응" ("PCR")으로서 지칭된다. 표적 서열의 원하는 증폭된 분절이 혼합물에서 우세한 서열 (농도의 관점으로부터)이 되기 때문에, 이들은 "PCR 증폭"되는 것으로 일컬어지고, 그리고 "PCR 산물" 또는 "앰플리콘"이다. 당업자는 용어 "PCR"이 예를 들면, 실시간 PCR, 네스티드 PCR, 역전사 PCR (RT-PCR), 단일 프라이머 및 임의 프라이머 PCR 등을 이용하는, 본래 설명된 방법의 많은 변이체를 포괄한다는 것을 이해할 것이

다.

[0140] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "핵산 검출 검정"은 관심되는 핵산의 뉴클레오타이드 조성을 결정하는 임의의 방법을 지칭한다. 핵산 검출 검정은 DNA 염기서열분석 방법, 프로브 혼성화 방법, 구조 특이적 개열 검정 (예를 들면, INVADER 검정, (Hologic, Inc.) 및 예를 들면 U.S. 특허 번호 5,846,717, 5,985,557, 5,994,069, 6,001,567, 6,090,543 및 6,872,816; Lyamichev et al., Nat. Biotech., 17:292 (1999), Hall et al., PNAS, USA, 97:8272 (2000) 및 US 특허 번호 9,096,893에서 설명되고, 이들은 각각 본원에서 모든 점에서 온전히 참조로서 편입된다); 효소 부정합 개열 방법 (예를 들면, Variagenics, U.S. 특허 번호 6,110,684, 5,958,692, 5,851,770, 본원에서 온전히 참조로서 편입됨); 전술된 중합효소 연쇄 반응 (PCR); 분기형 혼성화 방법 (예를 들면, Chiron, U.S. 특허 번호 5,849,481, 5,710,264, 5,124,246 및 5,624,802, 본원에서 온전히 참조로서 편입됨); 회전 원형 복제 (예를 들면, U.S. 특허 번호 6,210,884, 6,183,960 및 6,235,502, 본원에서 온전히 참조로서 편입됨); NASBA (예를 들면, U.S. 특허 번호 5,409,818, 본원에서 온전히 참조로서 편입됨); 분자 비콘 기술 (예를 들면, U.S. 특허 번호 6,150,097, 본원에서 온전히 참조로서 편입됨); E-센서 기술 (Motorola, U.S. 특허 번호 6,248,229, 6,221,583, 6,013,170 및 6,063,573, 본원에서 온전히 참조로서 편입됨); 순환 프로브 기술 (예를 들면, U.S. 특허 번호 5,403,711, 5,011,769 및 5,660,988, 본원에서 온전히 참조로서 편입됨); Dade Behring 신호 증폭 방법 (예를 들면, U.S. 특허 번호 6,121,001, 6,110,677, 5,914,230, 5,882,867 및 5,792,614, 본원에서 온전히 참조로서 편입됨); 리가아제 연쇄 반응 (예를 들면, Baranay Proc. Natl. Acad. Sci USA 88, 189-93 (1991)); 및 샌드위치 혼성화 방법 (예를 들면, U.S. 특허 번호 5,288,609, 본원에서 온전히 참조로서 편입됨)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0141] 일부 구체예에서, 표적 핵산은 증폭되고 (예를 들면, PCR에 의해), 그리고 증폭된 핵산은 침습성 개열 검정을 이용하여 동시에 검출된다. 증폭 검정과 조합으로 검출 검정 (예를 들면, 침습성 개열 검정)을 수행하도록 설정된 검정은 본원에서 모든 점에서 온전히 참조로서 편입되는 U.S. 특허 번호 9,096,893에서 설명된다. QuARTS 방법으로 명명되는, 추가 증폭 플러스 침습성 개열 검출 구성은 예를 들면, U.S. 특허 번호 8,361,720; 8,715,937; 8,916,344; 9,212,392 및 U.S. 특허 출원 번호 15/841,006에서 설명되고, 이들은 각각 본원에서 모든 점에서 참조로서 편입된다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "침습성 개열 구조"는 i) 표적 핵산, ii) 상류 핵산 (예를 들면, 침습성 또는 "INVADER" 올리고뉴클레오타이드) 및 iii) 하류 핵산 (예를 들면, 프로브)을 포함하는 개열 구조를 지칭하는데, 여기서 상류와 하류 핵산은 표적 핵산의 인접한 영역에 어닐링하고, 그리고 여기서 중첩은 상류 핵산의 3' 부분, 그리고 하류 핵산 및 표적 핵산 사이에 형성된 이중나선 사이에 형성된다. 상류 핵산의 중첩되는 염기(들)가 표적 핵산과 상보적인 지의 여부 및 이들 염기가 자연 염기 또는 비-자연 염기인 지의 여부와 상관없이, 상류와 하류 핵산으로부터 하나 또는 그 이상의 염기가 표적 핵산 염기에 대하여 동일한 위치를 점유하는 경우에 중첩이 발생한다. 일부 구체예에서, 하류 이중나선과 중첩되는, 상류 핵산의 3' 부분은 비-염기 화학적 모이어티 예컨대, 예를 들면 본원에서 온전히 참조로서 편입되는 U.S. 특허 번호 6,090,543에서 개시된 바와 같은 방향족 고리 구조이다. 일부 구체예에서, 핵산 중에서 하나 또는 그 이상은 예를 들면, 공유 연쇄 예컨대 핵산 스템 루프를 통해, 또는 비-핵산 화학적 연쇄 (예를 들면, 다중-탄소 사슬)를 통해 서로 부착될 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "플랩 엔도뉴클레아제 검정"은 전술된 바와 같은 "INVADER" 침습성 개열 검정 및 QuARTS 검정을 포함한다.

[0142] 플랩 검정과 관련하여 이용될 때, 용어 "프로브 올리고뉴클레오타이드" 또는 "플랩 올리고뉴클레오타이드"는 침습성 올리고뉴클레오타이드의 존재에서 표적 핵산과 상호작용하여 개열 구조를 형성하는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다.

[0143] 용어 "침습성 올리고뉴클레오타이드"는 프로브 및 표적 핵산 사이의 혼성화의 영역에 인접한 위치에서 표적 핵산에 혼성화하는 올리고뉴클레오타이드를 지칭하는데, 여기서 침습성 올리고뉴클레오타이드의 3' 단부는 프로브 및 표적 사이의 혼성화의 영역과 중첩되는 부분 (예를 들면, 화학적 모이어티, 또는 하나 또는 그 이상의 뉴클레오타이드)을 포함한다. 침습성 올리고뉴클레오타이드의 3' 말단 뉴클레오타이드는 표적에서 뉴클레오타이드와 염기쌍을 이루거나 또는 이루지 않을 수 있다. 일부 구체예에서, 침습성 올리고뉴클레오타이드는 표적 가닥에 어닐링하는, 프로브 올리고뉴클레오타이드의 부분의 5' 단부에서 위치된 서열과 실제적으로 동일한 서열을 3' 단부에서 내포한다.

[0144] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "플랩 엔도뉴클레아제" 또는 "FEN"은 핵산의 다른 가닥에 의해 대체되는, 가닥 중 하나에서 단일 가닥 5' 오버행 또는 플랩을 내포하는 이중나선을 갖는 DNA 구조 상에서 구조-특이적 엔도뉴클레아제로서 작용하는 (예를 들면, 단일 및 이중 가닥 DNA 사이의 접합부에서 중첩되는 뉴클레오타이드가 있도록) 한 부류의 핵산분해 효소, 전형적으로 5' 뉴클레아제를 지칭한다. FEN은 단일 및 이중 가닥 DNA의 접합부에서 포스포디에스테르 결합의 가수분해 개열을 촉매하여, 오버행 또는 플랩을 해방한다. 플랩 엔도뉴클레아제는

Ceska와 Savers (Trends Biochem. Sci. 1998 23:331-336) 및 Liu et al (Annu. Rev. Biochem. 2004 73: 589-615; 본원에서 온전히 참조로서 편입됨)에 의해 검토된다. FEN은 개별 효소일 수 있거나, 다중아단위 효소일 수 있거나, 또는 다른 효소 또는 단백질 복합체 (예를 들면, DNA 중합효소)의 활성체로서 존재할 수 있다.

[0145] 플랩 엔도뉴클레아제는 열안정성일 수 있다. 예를 들면, 아카이브 고온균 생물체로부터 FEN-1 플랩 엔도뉴클레아제는 전형적으로 열안정성이다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "FEN-1"은 진핵생물 또는 고세균류 생물체로부터 유래된 비-중합효소 플랩 엔도뉴클레아제를 지칭한다. 예를 들면, WO 02/070755 및 US 특허 번호 US 7,122,364 및 Kaiser M.W., *et al.* (1999) J. Biol. Chem., 274:21387을 참조하는데, 이들 모두 본원에서 모든 점에서 온전히 참조로서 편입된다.

[0146] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "개열된 플랩"은 플랩 검정의 개열 산물인 단일 가닥 올리고뉴클레오티드를 지칭한다.

[0147] 플랩 개열 반응과 관련하여 이용될 때, 용어 "카세트"는 예를 들면, 플랩 개열 검정에서 형성된 일차 또는 첫 번째 개열 구조에서 플랩 또는 프로브 올리고뉴클레오티드의 개열에 반응하여 검출가능 신호를 산출하도록 설정된 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 조합을 지칭한다. 바람직한 구체예에서, 카세트는 플랩 올리고뉴클레오티드의 개열에 의해 생산된 비표적 개열 산물에 혼성화하여 두 번째 중첩되는 개열 구조를 형성하고, 따라서 상기 카세트는 이후, 동일한 효소, 예를 들면, FEN-1 엔도뉴클레아제에 의해 개열될 수 있다.

[0148] 일부 구체예에서, 카세트는 헤어핀 부분 (다시 말하면, 카세트 올리고뉴클레오티드의 한쪽 부분이 반응 조건하에 동일한 올리고뉴클레오티드의 두 번째 부분에 혼성화하여 이중나선을 형성하는 영역)을 포함하는 단일 올리고뉴클레오티드이다. 다른 구체예에서, 카세트는 반응 조건하에 이중나선을 형성할 수 있는 상보성 부분을 포함하는 적어도 2개의 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 바람직한 구체예에서, 카세트는 표지, 예를 들면, 형광단을 포함한다. 특히 바람직한 구체예에서, 카세트는 FRET 효과를 발생시키는 표지화된 모이어티를 포함한다.

[0149] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "FRET"는 모이어티 (예를 들면, 형광단)가 예를 들면, 그들 자체 사이에서, 또는 형광단으로부터 비-형광단 (예를 들면, 퀀처 분자)로 에너지를 전달하는 과정인 형광 공명 에너지 전달을 지칭한다. 일부 상황에서, FRET는 짧은-범위 (예를 들면, 약 10 nm 또는 그 이하) 쌍극자-쌍극자 상호작용을 통해 에너지를 더 낮은-에너지 수용자 형광단으로 전달하는 여기된 공여자 형광단을 수반한다. 다른 상황에서, FRET는 공여자로부터 형광 에너지의 상실 및 수용자 형광단에서 형광의 증가를 수반한다. FRET의 또 다른 형태에서, 에너지는 여기된 공여자 형광단으로부터 비-형광성 분자 (예를 들면, "어두운" 퀀칭 분자, 예를 들면, "BHQ" 퀀처, Biosearch Technologies)로 왕래될 수 있다. FRET는 당업자에게 공지되고 설명되었다 (참조: 예를 들면, Stryer *et al.*, 1978, Ann. Rev. Biochem., 47:819; Selvin, 1995, Methods Enzymol., 246:300; Orpana, 2004 Biomol Eng 21, 45-50; Olivier, 2005 Mutant Res 573, 103-110, 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입됨).

[0150] 예시적인 플랩 검출 검정에서, 침습성 올리고뉴클레오티드 및 플랩 올리고뉴클레오티드는 표적 핵산에 혼성화되어, 전술된 바와 같은 중첩을 갖는 첫 번째 복합체가 생산된다. 비대합된 "플랩"은 플랩 올리고뉴클레오티드의 5' 단부 상에 포함된다. 첫 번째 복합체는 플랩 올리고뉴클레오티드를 개열하여 5' 플랩 부분을 해방하는 플랩 엔도뉴클레아제, 예를 들면, FEN-1 엔도뉴클레아제에 대한 기질이다. 이차 반응에서, 해방된 5' 플랩 산물은 FRET 카세트 상에서 침습성 올리고뉴클레오티드로서 역할을 하여, FRET 카세트가 개열되도록, 플랩 엔도뉴클레아제에 의해 인식되는 구조를 다시 한 번 창출한다. 형광단 및 퀀처가 FRET 카세트의 개열에 의해 분리될 때, 배경 형광을 초과하는 검출가능 형광 신호가 생성된다.

[0151] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "PCR-플랩 검정"은 증폭된 표적 DNA를 포함하는 첫 번째 중첩 개열 구조, 그리고 첫 번째 중첩 개열 구조로부터 개열된 5' 플랩 및 표지화된 리포터 올리고뉴클레오티드, 예를 들면, "FRET 카세트" 또는 5' 헤어핀 FRET 리포터 올리고뉴클레오티드를 포함하는 두 번째 중첩 개열 구조의 형성에 의해, 증폭된 DNA의 PCR 표적 증폭과 검출을 조합하는 검정 구성을 지칭한다. 본원에서 이용된 바와 같은 PCR-플랩 검정에서, 검정 시약은 DNA 중합효소, FEN-1 엔도뉴클레아제, 표적 핵산에 상보적인 부분을 포함하는 일차 프로브 및 FRET 카세트 또는 5' 헤어핀 FRET 리포터를 내포하는 혼합물을 포함하고, 그리고 표적 핵산이 PCR에 의해 증폭되고 증폭된 핵산이 동시에 검출된다 (다시 말하면, 검출이 표적 증폭의 코스 동안 발생한다). PCR-플랩 검정은 U.S. 특허 번호 8,361,720; 8,715,937; 8,916,344에서 설명된 QuARTS 검정; U.S. 특허 번호 10,648,025에서 설명된 더 긴 표적 특이적 영역 (긴 프로브 정량적 증폭된 신호, "LQAS")을 갖는 프로브 올리고뉴클레오티드를 이용한 플랩 검정; 및 US 특허 번호 9,096,893 (예를 들면, 상기 특허의 도 1에서 도식된 바와 같음)의 증폭 검정을 포함하고, 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입된다.

- [0152] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "PCR-플랩 검정 시약"은 PCR-플랩 검정에서 표적 서열을 검출하기 위한 하나 또는 그 이상의 시약을 지칭하는데, 이들 시약은 DNA 중합효소, FEN-1 엔도뉴클레아제 및 FRET 카세트 또는 5' 헤어핀 FRET 리포터를 내포하는 혼합물에서, 표적 핵산의 증폭 및 표적 서열의 존재에서 플랩 개열 구조의 형성에 참여할 수 있는 핵산 분자를 포함한다.
- [0153] 핵산 증폭 또는 신호 증폭의 검출에 관하여 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "실시간"은 반응이 진행 중인 동안, 예를 들면, 인큐베이션 또는 열 주기 동안 반응에서 산물 또는 신호의 축적의 검출 또는 계측을 지칭한다. 이런 검출 또는 계측은 연속적으로 발생할 수 있거나, 또는 이것은 증폭 반응의 진행 동안 복수의 구별된 지점에서 일어날 수 있거나, 또는 이것은 조합될 수 있다. 예를 들면, 중합효소 연쇄 반응에서, 검출 (예를 들면, 형광의)은 열 주기의 전부 또는 일부 동안 연속적으로 발생할 수 있거나, 또는 이것은 1회 또는 그 이상의 주기 동안 하나 또는 그 이상의 지점에서 일시적으로 발생할 수 있다. 일부 구체예에서, PCR 또는 QuARTS 반응의 실시간 검출은 복수의 주기 각각에서, 또는 모든 주기에서 동일한 지점 (예를 들면, 주기에서 시점, 또는 주기에서 온도 단계)에서 형광의 수준을 결정함으로써 달성된다. 증폭의 실시간 검출은 증폭 반응 "동안" 검출로서 또한 지칭될 수 있다.
- [0154] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "정량적 증폭 데이터 세트"는 표적 샘플, 예를 들면, 표적 DNA의 정량적 증폭 동안 획득된 데이터를 지칭한다. 정량적 PCR 또는 QuARTS 검정의 경우에, 정량적 증폭 데이터 세트는 증폭 동안, 예를 들면, 복수의 열 주기 또는 모든 열 주기 동안 획득된 형광 값의 수집물이다. 정량적 증폭에 대한 데이터는 반응 동안 임의의 특정 지점에서 수집된 데이터에 한정되지 않고, 그리고 형광이 각 주기에서 별개의 지점에서 또는 각 주기 내내 연속적으로 계측될 수 있다.
- [0155] 실시간 PCR 및 PCR+INVADER 검정 동안 수집된 데이터에 관하여 본원에서 이용된 바와 같이, 약어 "Ct" 및 "Cp"는 신호 (예를 들면, 형광 신호)가 미리 결정된 역치값을 교차하여, 양성 신호를 표시하는 주기를 지칭한다. 다양한 방법이 신호 대 농도의 결정인자로서 이용되는 역치를 계산하는 데 이용되었고, 그리고 상기 값은 일반적으로, "교차 역치" (Ct) 또는 "교차점" (Cp) 중 어느 한 가지로서 표현된다. Cp 값 또는 Ct 값 중 어느 한 가지가 검정 또는 샘플에서 변이체 및/또는 비변이체 성분의 백분율의 결정을 위한 실시간 신호의 분석을 위해 본원에서 제시된 방법의 구체예에서 이용될 수 있다.
- [0156] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "키트"는 물질을 전달하기 위한 임의의 전달 시스템을 지칭한다. 반응 검정의 문맥에서, 이런 전달 시스템은 한 위치로부터 다른 위치로 반응 시약 (예를 들면, 적합한 용기에 담긴 올리고뉴클레오티드, 효소 등) 및/또는 지원 재료 (예를 들면, 완충액, 검정을 수행하기 위한 서면 사용설명서 등)의 보관, 수송 또는 전달을 가능하게 하는 시스템을 포함한다. 예를 들면, 키트는 유관한 반응 시약 및/또는 지원 재료를 내포하는 하나 또는 그 이상의 인클로저 (예를 들면, 박스)를 포함한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "단편화된 키트"는 전체 키트 구성요소의 하위부분을 각각 내포하는 2개 또는 그 이상의 별개의 용기를 포함하는 전달 시스템을 지칭한다. 용기는 의도된 수용자에게 함께 또는 별개로 전달될 수 있다. 예를 들면, 첫 번째 용기는 검정에서 이용을 위한 효소를 내포할 수 있고, 반면 두 번째 용기는 올리고뉴클레오티드를 내포한다.
- [0157] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "시스템"은 특정 목적으로 이용을 위한 물품의 수집물을 지칭한다. 일부 구체예에서, 물품은 예를 들면, 물품 상에, 페이퍼 상에, 또는 기록가능 매체 (예를 들면, DVD, CD, 플래시 드라이브 등) 상에 제공된 정보로서 사용설명서를 포함한다. 일부 구체예에서, 사용설명서는 사용자를 온라인 위치, 예를 들면, 웹사이트로 지향시킨다.
- [0158] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "정보"는 사실 또는 데이터의 임의의 수집물을 지칭한다. 인터넷을 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 컴퓨터 시스템(들)을 이용하여 저장되거나 또는 처리된 정보에 관하여, 상기 용어는 임의의 형식 (예를 들면, 아날로그, 디지털, 광학 등)으로 저장된 임의의 데이터를 지칭한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "개체에 관련된 정보"는 개체 (예를 들면, 인간, 식물, 또는 동물)에 관계하는 사실 또는 데이터를 지칭한다. 용어 "유전체 정보"는 핵산 서열, 유전자, 메틸화 백분율, 대립유전자 빈도, RNA 발현 수준, 단백질 발현, 유전자형과 상관하는 표현형 등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 유전체에 관계하는 정보를 지칭한다. "대립유전자 빈도 정보"는 대립유전자 동일성, 대립유전자의 존재 및 개체 (예를 들면, 인간 개체)의 특정 사이의 통계학적 상관, 개체 또는 모집단에서 대립유전자의 존재 또는 부재, 하나 또는 그 이상의 특정 특징을 갖는 개체 내에 존재하는 대립유전자의 가능성도 백분율 등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 대립유전자 빈도에 관계하는 사실 또는 데이터를 지칭한다.

도면의 간단한 설명

[0159]

도면에 관한 설명

도 1-4는 실시예 2에서 설명된 바와 같이 폐 암종과 연관된 마커를 선택하기 위해 감소된 표현 중아황산염 염기 서열분석 (RRBS) 결과를 비교하는 표를 제공하는데, 각 열은 표시된 마커 영역 (염색체 및 시작과 중단 위치에 의해 확인됨)에 대한 평균값을 보여준다. 각 조직 유형 (정상적인 (Norm), 선암종 (Ad), 대세포 암종 (LC), 소세포 암종(SC), 편평상피 세포 암종 (SQ) 및 규정되지 않은 암 (UND))에 대한 평균 메틸화의 비율이 정상 개체 (WBC 또는 BC))로부터 획득된 백혈구연층 샘플의 평균 메틸화와 비교되고 각 영역에 대해 도시되며, 각 영역에서 확인된 유전자 및 전사체가 표시된다.

도 1은 폐 선암종과 연관된 마커를 선택하기 위해 RRBS 결과를 비교하는 표를 제공한다.

도 2는 폐 대세포 암종과 연관된 마커를 선택하기 위해 RRBS 결과를 비교하는 표를 제공한다.

도 3은 폐 소세포 암종과 연관된 마커를 선택하기 위해 RRBS 결과를 비교하는 표를 제공한다.

도 4는 폐 편평상피 세포 암종과 연관된 마커를 선택하기 위해 RRBS 결과를 비교하는 표를 제공한다.

도 5는 상응하는 서열 번호와 함께, 미전환된 형태 및 중아황산염-전환된 형태에서 검정 표적 영역의 핵산 서열, 그리고 검출 올리고뉴클레오타이드의 표를 제공한다. 표적 핵산, 특히 표적 DNA (중아황산염-전환된 DNA 포함)는 편의를 위해 단일 가닥으로 도시되지만, 본 기술의 구체예는 묘사된 서열의 상보성 가닥을 포괄하는 것으로 이해된다. 예를 들면, 프라이머 및 플랩 올리고뉴클레오타이드는 도시된 바와 같은 표적 가닥에, 또는 도시된 바와 같은 표적 가닥에 상보적인 가닥에 혼성화하도록 선택될 수 있다.

도 6은 개인에서 폐암 위험을 결정하기 위해 혈액 샘플을 분석하는 한 가지 방법의 예시적인 작업 흐름을 도해한다.

도 7은 RNA 검출에 의한 *FPR1* 유전자 발현에 집중된 실험으로부터 획득된 데이터를 도시한다. 패널 A는 진양성 암 비율 대 가양성 암 비율의 관계를 보여주는 데이터의 훈련 세트의 라인 차트이다. 패널 B는 진양성 암 비율 대 가양성 암 비율의 관계를 보여주는 검증 데이터 세트의 라인 차트이다. 패널 C는 비흡연자, 정상적인 흡연자 및 상이한 시기의 폐암을 앓는 환자로부터 채취된 백혈구에서 *FPR1* RNA 발현 수준을 보여주고, 그리고 정상적인 흡연자에서 담배에 대한 경미한 민감도를 표시하는 반점 플롯이다.

도 8은 *S100A12* 유전자에 집중된 실험으로부터 획득된 데이터를 도시한다. 패널 A는 진양성 암 비율 대 가양성 암 비율의 관계를 보여주는 데이터의 훈련 세트의 라인 차트이다. 패널 B는 진양성 암 비율 대 가양성 암 비율의 관계를 보여주는 검증 데이터 세트의 라인 차트이다. 패널 C는 비흡연자, 정상적인 흡연자 및 상이한 시기의 폐암을 앓는 환자로부터 채취된 백혈구에서 *S100A12* RNA 발현 수준을 보여주는 반점 플롯이다.

도 9는 *MMP9* 유전자에 집중된 실험으로부터 획득된 데이터를 도시한다. 패널 A는 진양성 암 비율 대 가양성 암 비율의 관계를 보여주는 데이터의 훈련 세트의 라인 차트이다. 패널 B는 *FPR1*과 비교하여 향상을 증명하는, 진양성 암 비율 대 가양성 암 비율의 관계를 보여주는 검증 데이터 세트의 라인 차트이다. 패널 C는 비흡연자, 정상적인 흡연자 및 상이한 시기의 폐암을 앓는 환자로부터 채취된 백혈구에서 *MMP9* RNA 발현 수준을 보여주는 반점 플롯이다.

도 10은 *SAT1* 유전자에 집중된 실험으로부터 획득된 데이터를 도시한다. 패널 A는 진양성 암 비율 대 가양성 암 비율의 관계를 보여주는 데이터의 훈련 세트의 라인 차트이다. 패널 B는 진양성 암 비율 대 가양성 암 비율의 관계를 보여주는 검증 데이터 세트의 라인 차트이다. 패널 C는 비흡연자, 정상적인 흡연자 및 상이한 시기의 폐암을 앓는 환자로부터 채취된 백혈구에서 *SAT1* RNA 발현 수준을 보여주는 반점 플롯이다.

도 11은 표적 유전자로서 *FPR1* 및 참조 유전자로서 *STK4*를 이용한 실험의 결과를 도시한다. 패널 A는 *FPR1* 비율 및 백만 킬로베이스당 *FPR1* 단편 정규화 (FPKM) 사이의 관계를 보여주는 반점 플롯이다. 패널 B는 *STK4*와 비교하여 *FPR1*의 진양성을 및 가양성의 비율을 보여주는 선 그래프이다.

도 12는 표적 유전자로서 *S100A12* 및 참조 유전자로서 *STK4*를 이용한 방법의 예시적인 구체예를 도시한다. 패널 A는 *S100A12* 비율 및 *S100A12* FPKM 사이의 관계를 보여주는 반점 플롯이다. 패널 B는 *STK4*와 비교하여 *S100A12*의 진양성을 및 가양성의 비율을 보여주는 선 그래프이다.

도 13은 표적 유전자로서 *MMP9* 및 참조 유전자로서 *STK4*를 이용한 방법의 예시적인 구체예를 도시한다. 패널 A는 *MMP9* 비율 및 *MMP9* FPKM 사이의 관계를 보여주는 반점 플롯이다. 패널 B는 *STK4*와 비교하여 *MMP9*의 진양성을

및 가양성율의 비율을 보여주는 선 그래프이다.

도 14는 상이한 시기의 폐암에서 표적 유전자로서 *S100A12* 및 *MMP9* 둘 모두의 RNA 발현 수준을 비교하는 데이터를 보여주는 산점도이다. FPKM 정규화가 이용되었고, 그리고 데이터는 모든 샘플, 훈련 세트 및 검증 세트 둘 모두를 포함한다.

도 15는 암 환자, 양성 환자 및 정상적인 환자에서 표적 유전자로서 *S100A12* 및 *SAT1* 둘 모두의 RNA 발현 수준을 비교하는 데이터를 보여주는 산점도이다. FPKM 정규화가 이용되었다. 대시 기호로 표시된 분리선은 단지 가시화를 위한 것이다.

도 16은 암 환자, 양성 환자 및 정상적인 환자에서 표적 유전자로서 *S100A12* 및 *TYMP* 둘 모두의 RNA 발현 수준을 비교하는 데이터를 보여주는 산점도이다. *STK4* 정규화가 이용되었다. 대시 기호로 표시된 분리선은 단지 가시화를 위한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0160] 발명의 상세한 설명

[0161] 마커 피분석물의 선택에 관련된 기술, 그리고 복수의 상이한 유형의 마커 피분석물, 예를 들면, 마커 분자 예컨대 DNA, RNA 및 단백질에 대한 샘플(들)을 분석하는 단계를 포함하는, 개체로부터 획득된 샘플 또는 샘플의 조합을 특징화하는 방법이 본원에서 제공된다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 본 기술은 개체로부터 획득된 샘플로부터 특정 메틸화 상태 (예를 들면, 메틸화된 또는 비메틸화된)를 갖는 DNA에서 적어도 하나의 메틸화 마커 유전자의 양을 측정하는 단계를 포함하고, 그리고 개체로부터 획득된 샘플 내에 적어도 하나의 RNA 마커의 양을 측정하는 단계 및 개체로부터 획득된 샘플 내에 적어도 하나의 단백질 마커의 존재 또는 부재, 또는 이의 양을 검정하는 단계 중에서 한 가지 또는 그 이상을 더욱 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 개체로부터 획득된 단일 샘플이 메틸화 마커 DNA(들), 마커 RNA(들) 및 마커 단백질(들)에 대해 분석된다.

[0162] 다양한 구체예에 관한 이러한 상세한 설명에서, 설명의 목적으로, 개시된 구체예에 관한 철저한 이해를 제공하기 위한 다양한 특정한 상세가 진술된다. 당업자는 하지만, 이들 다양한 구체예가 이들 특정한 상세가 있거나 또는 없이 실시될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 다른 사례에서, 구조와 장치는 블록 다이어그램 형태로 도시된다. 게다가, 당업자는 방법이 제시되고 수행되는 특정한 순서가 예시라는 것을 쉽게 인지할 수 있을 것이고, 그리고 이들 순서는 변할 수 있고 본원에서 개시된 다양한 구체예의 사상과 범위 내에 여전히 있는 것으로 예기된다.

[0163] 본원에서 언급된 모든 특허, 출원, 공개된 출원 및 다른 간행물은 본원에서 온전히 참조로서 편입된다. 만약 용어 또는 관용구가 본원에서 참조로서 편입되는 특허, 출원, 공개된 출원 및 다른 간행물에서 진술된 정의에 반하거나 또는 만약 그렇지 않으면 불일치하는 방식으로 본원에서 이용되면, 본원에서 용법이 본원에서 참조로서 편입되는 정의보다 우선한다. 아래의 논의는 하기 섹션으로 분할된다:

[0164] I. RNA 마커 분석 (정량적 RNA 분석 및 정량적 단백질 분석 포함); 및

[0165] II. 메틸화 마커 분석

[0166] I. RNA 마커 분석

[0167] A. 정량적 RNA 분석

[0168] 구체예는 혈액 내에 핵산 발현, 특히 순환성 무세포 핵산 또는 면역 세포 핵산 발현을 분석함으로써 암의 위험에 처해 있는 환자가 상기 질환을 겪을 수 있는 지를 결정하는 시스템과 방법에 관계한다. 암을 앓을 수 있는 환자의 결정은 RNA 측적 또는 발현 수준을 검정하기 위한 혈액-유래된 검체에서 행해질 수 있고, 그리고 이런 분석은 발현 마이크로어레이, 핵산 염기서열분석, nCounter, 또는 실시간 PCR에 의해 수행될 수 있다. 일부 구체예에서, 참조 핵산의 부분집합의 발현 수준이 암을 앓는 환자에서 증가되는 것으로 알려져 있는 표적 핵산의 부분집합의 발현 수준과 비교된다. 참조 핵산의 부분집합은 많은 질환 없는 환자로부터 획득된 혈액을 분석하고, 그리고 이들 환자 내에서 안정된 수준으로 발현되는 유전자를 선택함으로써 발견될 수 있다. 참조 핵산의 부분집합은 또한, 복수의 조직 유형 (예를 들면, 결장, 폐, 신장, 간 등)으로부터 채취된 고정 조직 검체를 분석하고, 그리고 환자의 혈액 내에서 안정된 수준으로 발현되는 유전자를 선택함으로써 발견될 수 있다.

[0169] 도 6의 흐름 도표에서 한 구체예가 도시된다. 도시된 바와 같이, 과정 100이 시작 단계 105에서 시작되고, 그리고 이후, 혈액 샘플이 개인으로부터 획득되는 단계 110으로 이행한다. 혈액 샘플은 폐암을 앓는 것으로 의심되

는 인간 환자로부터, 또는 폐암을 앓는 것으로 알려져 있지만 암의 유형 또는 시기에 관한 더 철저한 분석이 요구되는 인간 환자로부터 수집될 수 있다. 과정 100은 이후, 분석되는 혈액 샘플이 실온에서, 또는 샘플의 가능한 한 적은 분해를 담보하는 얼음 위에서 혈액 수집관에 담겨 실험실로 발송되는 단계 115로 이행한다. 일단 혈액 샘플이 실험실에 접수되면, 과정 100은 아래에 더 상세하게 논의된 바와 같이, RNA가 혈액으로부터 추출되는 단계 120으로 이행한다. RNA가 추출된 후, 과정 100은 하나 또는 그 이상의 표적 유전자 및 임의적으로 하나 또는 그 이상의 참조 유전자의 유전자 발현 수준이 샘플 내에 특정한 RNA의 수준을 계측함으로써 검출되는 단계 125로 이행한다. 유전자 발현을 검출하고 표적 유전자 및 참조 유전자를 선택하는 방법은 아래에 더 상세하게 논의된다. 일단 특정한 표적 유전자에 대한 유전자 발현 수준이 결정되면, 과정 100은 환자에서 표적 유전자 발현의 계측된 수준에 근거하여, 폐암을 앓거나 또는 폐암이 발달할 환자의 위험을 결정하기 위한 분석이 수행되는 단계 130으로 이행한다. 과정 100은 이후, 최종 단계 135에서 종료된다.

- [0170] 일부 구체예에서, 표적 유전자의 부분집합은 암을 앓는 개체로부터 채취된 혈액에서 또는 고형 종양 검체에서 전사체 축적 또는 발현 수준이 증가하는 유전자를 분석함으로써 선택될 수 있다.
- [0171] 일부 구체예에서, 표적 유전자의 부분집합은 암을 앓는 개체로부터 채취된 혈액에서 또는 고형 종양 검체에서 전사체 축적 또는 발현 수준이 감소하는 유전자를 포함한다.
- [0172] 일부 구체예에서, 참조 유전자의 부분집합은 암 환자와 비교하여 정상 개체에서 전사체 축적 또는 발현 수준이 변하지 않는 유전자를 포함한다. 이들 구체예에서, 혈액에서 또는 고형 종양 검체에서 축적 또는 발현 수준이 증가하는 표적 유전자의 부분집합은 하나 또는 그 이상의 참조 유전자와 조합으로 선택된다.
- [0173] 일부 구체예에서, 개시된 기술의 양상은 암을 앓는 환자에서 포르밀펩티드 수용체 유전자 (*FPR1*), *S100A12*, *MMP9*, *SAT1* 및 *TYMP*의 RNA 수준의 발현이 변한다는 발견에 관계한다. 예를 들면, *FPR1*, *S100A12*, *MMP9*, *SAT1* 및 *TYMP*의 RNA 수준은 아래에 설명된 바와 같이, 폐암을 앓는 환자에서 증가하는 것으로 밝혀졌다. 게다가, *FPR1*의 RNA 수준은 다른 참조 유전자, 예컨대 *STK4*, *ACTB* 및 *HNRNPA1*의 RNA 수준과 비교하여 증가하는 것으로 밝혀졌다.
- [0174] 일부 구체예에서, 일단 표적 유전자가 알려지면, 복수의 검체로부터 다수의 후보를 분석하고, 그리고 암 환자로부터 유전자 발현에서, 표적 유전자 및 참조 유전자 사이의 차이가 가장 큰 것들을 선택함으로써, 참조 유전자가 선택될 수 있다. 일부 구체예에서, 참조 유전자는 많은 유전자의 전사체 축적 또는 발현 수준을 측량하고 어떤 것들이 가장 낮은 가변성을 갖는 지를 알아냄으로써 선택될 수 있다. 일부 구체예에서 참조 유전자는 그들의 개별 축적 또는 발현 수준이 아닌, 암에서 그들의 상대적 축적 또는 발현 수준에서 변화의 결여에 근거하여 선택된다.
- [0175] 일단 표적 유전자 (및 일부 구체예에서 참조 유전자)가 소정의 암 유형 내에서 알려지면, 암 환자 및 암이 검정되어야 하는 환자로부터 채취된 혈액에서 발현 프로파일은 계측될 수 있다. 혈장 또는 백혈구가 표준 채혈보다 더 많은 위험을 가지지 않으면서 많은 일차 진료소 내에서 수집되고 준비될 수 있기 때문에, 표적 유전자 및 참조 유전자 사이에 상대적 RNA 축적 또는 발현 수준이 일부 구체예에서, 귀중한 암 바이오마커일 수 있다. 추가적으로, 만약 표적 유전자 및 참조 유전자가 일부 구체예에서, 신뢰성 있게 검정될 수 있으면, 이들은 현재의 암 검정에 비하여 다수의 이점을 가질 수 있다. 예를 들면, 일부 구체예에서 이러한 방법은 발달의 초기 단계에 있는 암, 극소수의 증상만을 야기하는 암, 양성 질환과 구별하기 어려운 암, 또는 전통적인 생검 검정으로는 접근이 허용될 수 없는 신체의 구역에서 발달할 수 있는 암을 검출할 수 있다.
- [0176] 증가된 RNA분해효소 활성이 종종 종양 내에 존재한다. 이러한 RNA분해효소 활성은 종양 성장을 저해할 수 있고, 그리고 암에 대한 면역계의 반응의 일부일 수 있다. 세포독성 T 세포는 IFN- γ 을 통해 암 세포의 아포토시스를 야기할 수 있고, 그리고 이러한 아포토시스는 RNA분해효소, 예컨대 RNA분해효소 L의 활성화를 야기할 수 있다. 종양 성장에 기인한 저산소증에 의해 유발될 수 있는, 괴사를 통한 세포의 사멸 또한 RNA분해효소의 방출에 기여할 수 있다. 폐암 환자의 혈장은 증가된 RNA분해효소 활성을 갖는 것으로 알려져 있다 (Marabella et al., (1976) "Serum ribonuclease in patients with lung carcinoma," *Journal of Surgical Oncology*, 8(6):501-505; Reddi et al. (1976) "Elevated serum ribonuclease in patients with pancreatic cancer," *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 73(7):2308-2310). 또한, 폐 세포는 혈장에서 발견된 것들과 유사한 RNA분해효소를 내포하는 것으로 알려져 있다 (Neuwelt et al., (1978) "Possible Sites of Origin of Human Plasma Ribonucleases as Evidenced by Isolation and Partial Characterization of Ribonucleases from Several Human Tissues," *Cancer Research* 38:88-93).

- [0177] 더 높은 수준의 RNA분해효소가 혈장 내에 존재할 때, 임의의 자유 RNA가 더 빠르게 분해될 수 있다. 따라서, RNA분해효소의 방출로 인해 혈장 RNA 제조물에서 검출 가능한 RNA가 더 적을 수 있다. 모든 RNA가 감소된 수준으로 존재할 수 있긴 하지만, 유전자의 정상적인 가변성이 낮을 때에만 이러한 차이를 높은 수준의 정확도로 검출하는 것이 가능할 수 있다. 예를 들면, 만약 유전자의 발현의 정상 범위가 10 및 100 단위 사이이면, 1 단위의 감소를 정확하게 검출하는 것이 어려울 수 있다. 하지만, 만약 유전자의 발현이 정상적으로 10 및 11 단위 사이이면, 1 단위의 감소가 쉽게 검출 가능하다 (예를 들면, 10 단위 미만의 임의의 숫자는 감소를 표시할 것이다).
- [0178] 일부 구체예에서, 표적 유전자는 *FPR1*이다. *FPR1*은 폐 및 암에서 복수의 역할을 수행한다. *FPR1*은 폐 섬유모세포에서 발현되고 (VanCompernelle et al. (2003) J Immunol. 171(4):2050-6), 그리고 폐에서 상처 수복에 필요하다 (Shao (2011) Am J Respir Cell Mol Biol 44:264-269). 섬유모세포는 종양에 대항하는 면역 세포의 유인 (Gemperle (2012) PLOSone 7(11):1-7, e50195) 및 종양을 보호하는 버팀질의 창출 (Wang (2009) Clin Cancer Res 15(21) 6630-6638) 둘 모두에서 중요한 것으로 알려져 있다. *FPR1*은 또한, 종양에서 다른 종양유전자의 활성을 악화시킬 수 있다 (Huang (2007) Cancer Res 67(12):5906-5913). 이것이 폐암에서 과다발현된다는 어떤 증거도 없지만, *FPR1*은 RNA 안정화에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다 (Mandal (2007) J Immunol 178:2542-2548, Mandal (2005) J Immunol 175:6085-6091). 이들 역할을 고려할 때, *FPR1* RNA는 종양 성장을 증강하기 위한 종양 세포 (예를 들면, 성장을 위한 상처 수복 시스템을 활성화하거나 또는 보호 버팀질을 성장시킴으로써), 또는 면역 반응을 증강하기 위한 면역 세포 (예를 들면, 추가 면역 세포를 유인함으로써) 중 어느 한 가지에 의해 의도적으로 분비되는 것이 가능하다.
- [0179] 일부 구체예에서, 표적 유전자는 선천성 면역 기능에 특이적으로 관련되는, *칼그라눌린 C* 및 *EN-RAGE* (세포외 새로 확인된 RAGE 결합 단백질)로서 또한 알려져 있는 *S100* 칼슘 결합 단백질 A12 (*S100A12*)이다. *S100A12*는 식 세포에 의해 발현되고 조직 염증의 부위에서 방출된다. 이것은 뇌 손상 이후에 세포외 공간 내로 방출 후 친염 증성으로 변하는 내인성 DAMP이다. 진행된 당화반응 최종 산물에 대한 수용체 (RAGE)는 면역글로불린 상과의 구성원이고, 그리고 노화가 진행됨에 따라서 증가하는 진행된 당화반응 최종 산물 (AGE)에 대한 특이적 세포 표면 반응 부위이다. AGE 및 RAGE 사이의 상호작용은 만성 염증에 연관되었다. 일단 맞물리면, 염증성 및 혈관 세포에서 RAGE 상호작용은 MMP의 증가된 발현을 야기한다. 인간 *s100A12* mRNA 서열은 GenBank 수탁 번호 NM005621로서 공개적으로 가용하다. 인간 *S100A12* 아미노산 서열은 GenPept 수탁 번호 NP05612로서 공개적으로 가용하다.
- [0180] 일부 구체예에서, 표적 유전자는 염증 부위로의 호중구 이주의 과정에서 일정한 역할을 수행하는 골수 관련 단백질 (MRP)을 포함한다. MRP 단백질은 MRP 패밀리의 3가지 구성원, 다시 말하면 각각 10.6, 13.5 및 10.4 kDa의 분자량을 갖는 *S100A8*, *S100A9* 및 *S100A12*가 더욱 특징화되는, *S100* 단백질의 서브패밀리이고, 그리고 호중구의 시토솔에서 풍부하게 및 단핵구에서 더 낮은 수준으로 발현된다. *S100A8* 및 *S100A9*는 또한, 활성화된 내피 세포, 일정한 상피 세포, 각질세포, 그리고 호중구성 및 단핵구성 분화된 HL-60 및 THP-1에 의해 발현된다. MRP는 신호 펩티드 서열을 결여하는데, 그 이유는 이들이 과립 내에 존재하지 않고, 그들이 세포질 단백질 중 40%까지를 차지하는 시토솔 내에 존재하기 때문이다. 이들 3개의 MRP는 비공유적으로-결합된 동종이합체로서 존재한다. 이에 더하여, 칼슘의 존재에서, *S100A8* 및 *S100A9*는 연관하여, *S100A8/A9*로 불리는 비공유 이종이합체를 형성한다; 이들은 MRP-8/14 복합체, 칼프로텍틴, p23 및 낭포성 섬유증 항원으로 또한 알려져 있다. *S100A8*은 MRP-8, L1 항원 경쇄 및 칼그라눌린 A로 또한 명명되고, 그리고 *S100A9*는 MRP-14, L1 항원 중쇄, 낭포성 섬유증 항원, 칼그라눌린 B 및 BEE22로 불린다. *S100A12*에 대한 다른 명칭은 *p6*, *CAAF1*, *CGRP*, *MRP-6*, *EN-RAGE* 및 *칼그라눌린 C*이다.
- [0181] *S100* 단백질의 패밀리는 작은 (10 내지 14 kDa) 산성 칼슘-결합 단백질의 19개 구성원을 포함한다. 이들은 2개의 EF-핸드 유형 칼슘-결합 모티프의 존재에 의해 특징화되는데, 한 모티프가 다른 모티프보다 2개의 아미노산을 더 많이 갖는다. 이들 세포내 단백질은 단백질 인산화, 효소 활성화, Ca^{2+} 항상성, 그리고 중간 필라멘트 중합화의 조절에 관련된다. *S100* 단백질은 일반적으로 동종이합체로서 존재하지만, 일부는 이종이합체를 형성할 수 있다. *S100* 단백질 중 반 이상은 세포외 공간에서도 발견되는데, 여기에서 이들은 특이적 수용체를 통해 사이토 킨-유사 활성을 발휘한다; 한 수용체가 최근에, 진행된 당화반응 최종 산물 (RAGE)에 대한 수용체로서 특징화되었다. *S100A8* 및 *S100A9*는 골수 관련 단백질 (MRP)로 불리는, *S100* 단백질 패밀리의 부분집합에 속하는데, 그 이유는 이들의 발현이 골수 전구체의 산물인 호중구 및 단핵구에 거의 완전히 한정되기 때문이다.
- [0182] 혈청에서 높은 농도의 MRP는 증가된 숫자의 순환성 호중구 또는 이들의 활성화와 연관된 병리에서 발생할 수

있다. 상승된 수준의 *S100A8/A9* ($1 \mu\text{g/ml}$ 이상)가 다양한 감염 및 염증성 병리 예컨대 낭포성 섬유증, 결핵 및 소아성 류마티스관절염을 앓는 환자의 혈청에서 관찰된다. 이들은 또한, 류마티스성 관절염 및 통풍을 앓는 환자의 윤활액 및 혈장에서 매우 높은 수준으로 발현된다. 높은 수준의 MRP ($13 \mu\text{g/ml}$ 까지)는 또한, 만성 골수성 백혈병 및 만성 림프성 백혈병 환자의 혈장 내에 존재하는 것으로 알려져 있다. 이들 단백질의 존재는 심지어, 재발성 환자의 혈액에서 백혈병 세포의 출현에 선행하였다. *S100A8/A9*의 세포외 존재는 MRP가 활성으로 또는 세포 피사 동안 방출될 수 있다는 것을 암시한다.

[0183] MRP는 시토솔에서 발현되는데, 이것은 이들이 대안 경로를 통해 분비된다는 것을 암시한다. 일단 세포외 환경에 방출되면, MRP는 친염증성 기능을 발휘한다. 이들 활성은 여러 다른 *S100* 단백질에 의해 공유된다. 예를 들면, *S100*은 뉴런으로부터 친염증성 사이토킨 IL-6의 방출을 자극하고 신경돌기 신장을 증진한다. *S100L* (*S100A2*)은 호산구를 향해 화학주성이고, 반면 *serpinA7* (*S100A7*)은 호중구 및 T 림프구에 대해 화학주성이지만 단핵구에 대해서는 그렇지 않다. *S100A8*, *S100A9* 및 *S100A8/A9*는 10^{-9} 내지 10^{-10} M에서 최대 활성으로, 호중구에 대해 화학주성이다. *CP-100*으로 또한 불리는 뮤린 *S100A8*은 10^{-12} M의 활성으로, 뮤린 골수 세포에 대한 훌륭한 강력한 화학주성 인자인 것으로 알려져 있다.

[0184] 이에 더하여, *S100A12*는 단핵구 및 호중구에 대해 화학주성이고, 그리고 뮤린 대식세포 세포주로부터 *TNF- α* 및 *IL-1 β* 의 발현을 유도한다. MRP는 또한, 내피에 백혈구 부착을 자극한다. *S100A9*는 β_2 인테그린 Mac-1을 활성 화함으로써, 피브리노겐에 호중구 부착을 자극한다.

[0185] *S100A8*, *S100A12* 및 *S100A8/A9*는 또한 피브리노겐에 호중구 부착을 자극하는 것으로 최근에 증명되었다. *S100A12*와 함께 인큐베이션된 내피 세포는 증가된 ICAM-1 및 VCAM-1 표면 발현을 갖고, 내피 세포에 림프구의 부착을 야기하였다. 이러한 유도는 NF- κ B의 활성화를 뒤따른다. MRP는 직접적으로 또는 산소 대사산물과 반응함으로써 산화 과열을 저해한다. *S100A9*는 복막 BCG-자극된 대식세포에 의해 방출된 H_2O_2 의 수준을 감소시킨다. 이러한 효과는 인간과 뮤린 *S100A9*를 이용하여 관찰될 수 있지만, *S100A8*에서는 그렇지 않다. *S100A9*와 달리, *S100A8*은 OCI^- 음이온에 의해 효율적으로 산화되어, 공유적으로-연결된 *S100A8* 동종이합체의 형성 및 이의 화학주성 활성의 상실을 야기할 수 있다 (뮤린 *S100A8*에 대해 증명됨).

[0186] 대안으로, MRP는 세포질 단백질이기 때문에, 자체 산화 과열의 유해한 효과로부터 호중구를 보호할 수 있었다. *S100A9*는 또한, 통각수용성 효과에 의해 염증성 통증의 제어에 관련되는 것으로 알려져 있다. MRP의 기능은 생체내에서 또한 탐색되었다. 생쥐 내로 복막간 주사될 때, 뮤린 *S100A8*은 4 시간 이내에 호중구 및 대식세포의 축적을 자극하였다. *S100A12*의 저해는 지연형 과민증의 뮤린 모형 및 대장염에서 만성 염증의 뮤린 모형에서 급성 염증을 감소시켰다. 모든 MRP는 뮤린 공기 파우치 모형에 주사될 때 염증 반응을 유도한다.

[0187] 일부 구체예에서, 표적 유전자는 정상적인 생리학 과정, 예컨대 배아 발달, 생식 및 조직 재형성에서 세포외 기질의 파괴뿐만 아니라 질환 과정, 예컨대 관절염 및 전이에 관련되는, 기질 금속프로테이나아제 (MMP) 패밀리 단백질의 인코딩한다. 대부분의 MMP는 세포외 프로테이나아제에 의해 개열될 때 활성화되는 비활성 프로단백질로서 분비된다. 이러한 유전자에 의해 인코딩된 효소는 IV형 및 V형 콜라겐을 분해한다. 붉은 털 원숭이에서 연구는 상기 효소가 골수로부터 조혈 전조 세포의 IL-8-유도된 동원에 관련된다는 것을 암시하고, 그리고 뮤린 연구는 종양 관련 조직 재형성에서 역할을 암시한다.

[0188] MMP, 특히 *MMP9*, 2 및 3은 40 년 이상 동안 암에 연루되었다. ECM 분해에서 그들의 역할에 더하여, 증가하는 증거가 암 세포 침습과 전이에 결정적인 혈관신생, 림프관신생 및 혈관형성에서 그들의 역할을 암시한다. 예를 들면, *MMP9*는 여러 암 예컨대 결장 및 췌장암에서 수용체에 대한 격리된 *VEGF* 결합의 생체이용률을 증가시킨다. *MMP9*는 또한, HCC에서 중요한 성장 인자인 *TGF- β* 의 단백질분해성 활성화를 매개한다. 기질 금속프로테이나아제 (MMPs)는 암 세포 성장, 이주, 침습 및 전이를 증진하는 프로테아제이다 (Egeblad and Werb, 2002). *MAN1A1*의 과다발현은 *MMP9* mRNA 발현 수준을 증가시켰고, 그리고 *MAN1C1*의 과다발현은 *MMP9* mRNA 발현 수준을 감소시켰다. MMP가 모든 종류의 세포의 기질 단백질을 분해할 수 있기 때문에, 감소된 *MMP9* 발현은 세포 이주와 침습 능력이 저해된다는 것을 의미한다. 전이에 관련되는 것으로 알려져 있는 유전자는 *MMP9* 및 *CTTN*을 포함한다. *MMP9*는 포유동물에서, 세포외 기질의 콜라겐을 분해하는 분비된 아연 금속프로테아제의 군의 구성원이다. *MMP9*의 상승된 발현은 많은 상이한 암 유형에서 전이에 연관되었다 (Turner et al. 2000; Osman et al. 2002). *CTTN*은 두경부의 편평상피 세포 암종 및 유방암에서 빈번하게 증폭되는 것으로 밝혀진, 11q13 영역 내에 거주하는 종양유전자인 것으로 밝혀졌다 (Schuurin et al. 1992; Schuurin et al. 1998).

- [0189] 일부 구체예에서, 표적 유전자는 *BMP2* 및 *EGFR*를 비롯한, 종양발생에 관련되는 유전자일 수 있다. *BMP2*는 많은 세포 유형에서 증식, 분화 및 다른 기능을 제어하는, 전환 성장 인자-베타 슈퍼패밀리의 구성원이다. *EGFR*은 두경부 SCC를 비롯한, 많은 상이한 유형의 암에서 가장 빈번하게 증폭되고 돌연변이되는 유전자 중에서 한 가지이다 (Santani et al. 1991; Dassonville et al. 1993; Grandis and Tweardy 1993). 전이 과정에서 역할이 명확하게 규정되지 않은 다른 확인된 후보 유전자는 *GTSE1*, *EEF1A1*을 포함한다. *GTSE1*은 미소관-국지화된 단백질이다. 이의 발현은 세포 주기 조절되고, 그리고 과다발현될 때 G2/M-기 축적을 유도할 수 있다 (Monte et al. 2000). *GTSE1*은 p53 종양 억제인자 단백질의 수준과 활성을 하향조절할 수 있고, 그리고 DNA 손상 후 아포토시스를 유도하는 능력을 억제할 수 있는 것으로 증명되었다 (Monte et al. 2004). *EEF1A1* 유전자는 80S 리보솜에 아미노아실-tRNA의 결합에 관련되는 연장 인자-1의 알파 아단위를 코딩한다. 종양발생에서 이러한 유전자의 관여는 명확하지 않다.
- [0190] 일부 구체예에서, 표적 유전자는 *SAT1*이다. *SAT1* 유전자에 의해 인코딩된 단백질은 아세틸전달효소 패밀리에 속하고, 그리고 폴리아민 물질대사의 이화 경로에서 속도 제한 효소이다. 이것은 스페르미딘 및 스페르민의 아세틸화를 촉매하고, 그리고 폴리아민의 세포내 농도의 조절 및 세포로부터 밖으로 이들의 수송에 관련된다. 이러한 유전자에서 결합은 가시모양 탈모성 모낭각화증 (KFSD)과 연관된다. 대안으로 스플라이싱된 전사체가 이러한 유전자에 대해 관찰되었다.
- [0191] 일부 구체예에서, 표적 유전자는 *TYMP*이다. *TYMP* 유전자 (ECGF1로서 이전에 알려짐)는 티미딘 인산화효소로 불리는 효소를 만들기 위한 명령을 제공한다. 티미딘은 뉴클레오시드로서 알려져 있는 분자인데, 이것은 (화학적 변형 후) DNA의 빌딩 블록으로서 이용된다. 티미딘 인산화효소는 티미딘을 2개의 더 작은 분자, 2-데옥시리보오스 1-인산염 및 티민으로 전환한다. 이러한 화학 반응은 세포에서 뉴클레오시드의 수준을 조절하는 데 도움을 주는, 티미딘의 파괴에서 중요한 단계이다. 티미딘 인산화효소는 미토콘드리아로 불리는 세포 구조에서 적합한 양의 티미딘을 유지하는 데 중요한 역할을 수행한다. 미토콘드리아는 식품으로부터 에너지를, 세포가 이용할 수 있는 형태로 전환한다. 비록 대부분의 DNA는 핵 내에 염색체에서 포장되지만, 미토콘드리아 역시 소량의 자체 DNA (미토콘드리아 DNA 또는 mtDNA로 불림)를 갖는다. 미토콘드리아는 필요에 따라 mtDNA의 새로운 분자를 구축하기 위해 티미딘을 비롯한, 뉴클레오시드를 이용한다. *TYMP* 유전자에서 약 50개의 돌연변이가 미토콘드리아성 신경 위장 뇌병증 (MNGIE) 질환을 앓는 사람들에서 확인되었다. *TYMP* 돌연변이는 티미딘 인산화효소의 활성을 크게 감소시키거나 또는 제거한다. 이러한 효소의 부족은 티미딘이 체내에서 매우 높은 수준으로 빌드업하는 것을 가능하게 한다. 과잉의 티미딘은 mtDNA에 손상을 주어, 이의 통상적인 유지와 수복을 교란하는 것으로 보인다. 결과적으로, 돌연변이가 mtDNA에 축적되어, 이것이 불안정해지도록 유발할 수 있다. 미토콘드리아는 또한, 평소보다 적은 mtDNA (mtDNA 고갈)을 가질 수도 있다. 이들 유전적 변화는 미토콘드리아의 정상적인 기능을 손상시킨다. 비록 mtDNA 이상이 MNGIE 질환에 특유한 소화와 신경학적 문제의 원인이 되긴 하지만, 결합성 미토콘드리아가 상기 장애의 특이적 특징을 어떻게 유발하는 지는 불명확하다.
- [0192] 일부 구체예에서, 참조 유전자는 *STK4*이다. *STK4* 유전자에 의해 인코딩된 단백질은 스트레스 유도된 미토겐-활성화 단백질 키나아제 연쇄 반응의 상류에서 작용하는, 효모 Ste20p 키나아제와 구조적으로 유사한 세포질 키나아제이다. 인코딩된 단백질은 미엘린 염기성 단백질을 인산화할 수 있고, 그리고 자가인산화를 겪는다. 인코딩된 단백질의 카스파제-개열된 단편은 히스톤 H2B를 인산화할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 이러한 단백질에 의해 촉매된 특정 인산화는 아포토시스와 상관되었고, 그리고 이러한 단백질이 이러한 과정에서 관찰된 염색질 압축을 유도하는 것이 가능하다.
- [0193] 일부 구체예에서, 검정은 하기 참조 유전자: *PLGLB2*, *GABARAP*, *NACA*, *EIF1*, *UBB*, *UBC*, *CD81*, *TMBIM6*, *MYL12B*, *HSP90B1*, *CLDN18*, *RAMP2*, *MFAP4*, *FABP4*, *MARCO*, *RGL1*, *ZBTB16*, *C10orf116*, *GRK5*, *AGER*, *SCGB1A1*, *HBB*, *TCF21*, *GMFG*, *HYAL1*, *TEK*, *GNG11*, *ADH1A*, *TGFBR3*, *INPP1*, *ADH1B*, *STK4*, *ACTB*, *CASC3*, *SKP1* 및 *HNRNPA1* 중에서 하나 또는 그 이상; 그리고 하기 표적 유전자: *CTSS*, *FPR1*, *FPR2*, *FPRL1*, *FPRL2*, *CXCR2*, *NCF2*, *S100A12*, *MMP9*, *SAT1*, *TYMP*, *APOBEC3A*, *SELL*, *S100A9* 및 *PADI4* 중에서 하나 또는 그 이상을 수반할 수 있다.
- [0194] 결과가 표준 단위에서 표현되도록, 환자 샘플로부터 산출된 데이터 포인트를 표준에 적합시키는 데 회귀가 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 표준은 하나 또는 그 이상의 세포주로부터 창출된 RNA로 구성된다. 일부 구체예에서, 표준은 합성 RNA로 구성될 수 있다. 표준 내에 각 RNA의 단편의 숫자는 공지될 수 있고, 그리고 표준화된 단위는 각 표적에 대해 존재하는 RNA 분자의 숫자일 수 있다.
- [0195] 검정은 상이한 서열의 또는 유사한 영역에 표적화된 상이한 검출가능 표지를 갖는 구성요소, 동일한 유전자의 상이한 영역에 표적화된 구성요소, 또는 상기 R1a 검정에서 열거된 것들 이외의 유전자의 영역을 표적으로 하는

구성요소를 수반할 수 있다.

- [0196] 결과는 암에 대한 Viomics의 검사 예컨대 Viomics의 NSCLC 검사를 위한 의사 결정 규칙을 이용하여 평가될 수 있다. 한 측이 첫 번째 참조 유전자에 대한 특정 표적 유전자의 비율이고, 그리고 다른 측이 두 번째 참조 유전자에 대한 상기 표적 유전자의 비율인 플롯이 창출될 수 있다.
- [0197] 세포주 대조가 이용될 때, NSCLC 및 정상 샘플 결과는 서로 매우 상이하다. 일부 중첩의 존재에도 불구하고, NSCLC 샘플은 세포주 대조에 적합될 때, 비암 샘플보다 훨씬 큰, 표적 유전자 발현 대 참조 유전자 발현 비율을 일관되게 보여준다.
- [0198] 세포주 대조보다는 합성 RNA 표준이 이용될 때, 유사한 결과가 획득된다. 감소된 중첩은 감소된 횡수의 연속 회석 (6에서 3으로)으로부터 발생하는 표준에서 감소된 가변성에 기인할 수 있다. 연속 회석의 각 단계는 오차를 도입할 수 있다.
- [0199] 결과는 또한, 첫 번째 표적 유전자 발현의 선형 결합 및 두 번째 표적 유전자 발현의 선형 결합 사이의 단일 비율로서 해석될 수 있다. 의사 결정 규칙은 소정의 역치를 초과하는 임의의 점수가 암을 표시하고, 반면 상기 역치 미만의 점수가 암의 결여를 표시한다고 진술할 수 있다. 각 마커에서 계수가 1이고, 따라서 상기 점수가 점수 = 표적 유전자 / (참조 유전자 1 + 참조 유전자 2)로서 계산되도록, 합성 표준이 설계될 수 있다.
- [0200] 예를 들면, 상기 목록에서 선택되는 유전자에 대한 유전자 발현 값은 샘플로부터 결정되고, 그리고 전형적으로 획득되는 값의 범위에 걸쳐 있는 한 세트의 합성 표준 (예를 들면, 연속 회석 계열에서)으로부터 결정된 수준과 비교될 수 있다. 각 유전자에 대해, 환자 샘플로부터 결정된 유전자 발현 수준은, 각 유전자에 대한 측정 수준 값을 적합시키기 위해 합성 표준 템플릿에서 회귀 분석을 수행함으로써 결정된 유전자 발현 수준과 비교된다. 회귀 및 적합 값이 각 유전자에 대해 개별적으로 획득된다. 일단 적합 값이 획득되면, 추가 분석 (예를 들면, 비율 계산)이 행해질 수 있다.
- [0201] 이들 점수는, 역치를 초과하는 점수가 환자 샘플에 의해 표시된 바와 같은 폐암의 고조된 위험을 표시하도록, 역치값과 비교될 수 있다.
- [0202] 각 표준, 계수 및 역치에 대한 정확한 농도는 암 환자 및 암-없는 환자 둘 모두로부터 획득된 샘플의 작은 세트에서 데이터를 수집하고, 이후 선형 모형을 이용하여 이들을 분리함으로써 결정될 수 있다. 선형 모형은 통계학적 방법 예컨대 선형 커널 함수를 이용한 로지스틱 회귀 또는 서포트 벡터 머신을 통해 산출될 수 있거나, 또는 선형 모형은 검사에 의해 산출될 수 있다.
- [0203] 배제 기준은 배제 기준에 부합하는 어떤 샘플도 결과가 보고되지 않도록 실행될 수 있다. 이들 배제 기준은 설명된 구체예 중에서 하나의 전후에 수행된 다른 검사를 포함할 수 있다. 배제 기준은 또한, 검사 그 자체의 결과에 근거될 수 있다. 예를 들면, 일부 구체예에서 매우 적은 양의 마커가 분해된 샘플을 표시하고, 그리고 2개의 참조 유전자의 발현 수준 사이에 예상치 않게 높은 비율이 오염이 있다는 것을 표시할 수 있다. 일부 구체예에서, 만약 2개의 참조 유전자의 비율이 이들 유전자의 측정 수준의 중앙 비율과 비교하여 10, 5, 4, 3 또는 2 배 이상 차이가 나면, 샘플이 배제된다.
- [0204] 일부 구체예에서 상기 방법은 통계학적 거리 결정을 수반할 수 있다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 ROC 곡선을 통해서만 결정되는 고정된 컷오프와는 대조적으로, 결과 사이의 통계학적 거리에 근거하여 검정 결과 (예를 들면, 양성 또는 음성 결과)를 결정한다.
- [0205] 특이성에 근거하여, 결과는 군 (높은 신뢰, 낮은 신뢰 등)으로 분할될 수 있다. 이러한 숫자는 또한, 신뢰에 대한 수치 점수를 창출하기 위해 일부 단순한 공식에 의해 변환될 수 있다.
- [0206] 일부 구체예에서 상기 방법은 인구학적 또는 생활양식 속성(들)과 조합으로 RNA 발현 결과에 근거하여, 환자 내에 존재하는 암의 유형을 예측하기 위한 모형 및 도출을 수반할 수 있다.
- [0207] RNA 추출의 방법
- [0208] RNA 추출을 위한 일반적인 방법은 Ausubel et al. (1997) Current Protocols of Molecular Biology, John Wiley and Sons을 비롯한, 분자생물학의 표준 교과서에서 개시된다. 특히, RNA 단리는 제조업체의 사용설명서 (QIAGEN Inc., Valencia, Calif.)에 따라서, 상업적인 제조업체, 예컨대 Qiagen로부터 정제 키트, 완충액 세트 및 프로테아제를 이용하여 수행될 수 있다. 예를 들면, 배양 중인 세포로부터 전체 RNA는 Qiagen RNeasy 미니칼럼을 이용하여 단리될 수 있다. 다양한 RNA 단리 키트가 상업적으로 가용하고, 그리고 개시된 기술의 방법에서

이용될 수 있다.

- [0209] 일부 구체예에서, 전혈 샘플 내에 RNA는 QIAamp® RNA 혈액 미니 키트 (Qiagen, Germantown, MD)를 이용하여 추출될 수 있다. 생물학적 물질, 예를 들면 전혈로부터 전체 RNA를 정제하기 위해, 상기 생물학적 물질은 고체 지지체와 접촉되기 전, RNA 용해/결합 용액과 접촉된다. RNA 용해/결합 용액은 생물학적 물질을 용해하고, 그리고 이것을 고체 지지체에 첨가하기 전 RNA를 방출하는 데 이용된다. 추가적으로, RNA 용해/결합 용액은 유해한 효소 예컨대 RNA분해효소의 유해한 효과를 예방한다. RNA 용해/결합 용액은 배양된 세포 또는 백혈구를 펠렛에 용해하거나, 또는 배양 평판, 예컨대 표준 96 웰 평판에 부착하거나 또는 이들에서 수집된 세포를 용해하는 데 성공적으로 이용될 수 있다. 만약 생물학적 물질이 조직 덩어리 또는 작은 입자로 구성되면, RNA 용해/결합 용액은 이의 효과적인 용해 능력으로 인해, 이런 조직 덩어리를 슬러리로 분쇄하는 데 효과적으로 이용될 수 있다. RNA 용해/결합 용액 용적은 세포 수 또는 조직 크기에 따라서 정량 증가되거나 또는 정량 감소될 수 있다. 일단 생물학적 물질이 용해되면, 용해물이 고체 지지체에 직접적으로 첨가될 수 있거나, 또는 용해물로부터 큰 미립자를 제거하기 위해 사전 정리 막을 거칠 수 있다. 적합한 제품의 실례는 Gentra 고체상 RNA 사전 정리 칼럼 (Gentra Systems, Inc., Minneapolis, Minn.)이다.
- [0210] 대안으로, RNA 용해/결합 용액은 고체 지지체에 직접적으로 첨가되고, 그것에 의하여 하나의 단계를 제거하고 상기 방법을 더욱 단순화할 수 있다. 이러한 후자 방법에서, RNA 용해/결합 용액은 고체 지지체에 적용될 수 있고, 그리고 이후, 생물학적 물질을 처리된 고체 지지체와 접촉시키기 전, 고체 지지체 상에서 건조될 수 있다. 예를 들면, 한 구체예에서, 적합한 용적의 RNA 용해/결합 용액이 Spin-X® 바스켓 (Costar, Corning N.Y.)에 배치된 고체 지지체에 직접적으로 첨가되고, 상기 바스켓은 2 ml 스핀 튜브에 더욱 배치된다. 고체 지지체는 40-80℃ 사이의 온도에서 적어도 12 시간 동안 건조 때까지 가열되고, 그 후 임의의 과잉의 결합되지 않은 RNA 용해/결합 용액이 제거되고, 그리고 이후 건조 하에 보관된다. 생물학적 물질은 RNA 용해/결합 용액으로 전처리된 고체 지지체에 직접적으로 첨가될 수 있고, 그리고 이것이 적절하게 용해되고 핵산이 방출되고 고체 지지체에 결합될 때까지, 적어도 1 분, 예컨대 적어도 5 분 동안 인큐베이션되도록 허용될 수 있다.
- [0211] 생물학적 물질이 세포 또는 바이러스 물질을 포함할 때, RNA 용해/결합 용액과의 직접적인 접촉, 또는 RNA 용해/결합 용액으로 전처리된 고체 지지체와의 접촉은 세포 및 핵막, 또는 바이러스 외피가 가용화하고 및/또는 파괴하도록 유발하고, 그것에 의하여 핵산뿐만 아니라 다른 오염 물질 예컨대 단백질, 인지질 등을 방출한다. 방출된 핵산은 RNA-복합화 리튬 염의 존재에서 고체 지지체에 선택적으로 결합한다. 임의적 완원제를 갖는 것은 높은 RNA분해효소-내포 조직에서 필요할 수 있는, RNA분해효소 활성에서 감소를 제공하는 데 도움을 준다.
- [0212] 이러한 인큐베이션 기간 후, 나머지 생물학적 물질은 핵산이 고체 지지체에 결합된 상태로 남겨지도록, 적합한 수단 예컨대 원심분리, 피펫팅, 압력, 진공에 의해, 또는 이들 수단 및 RNA 세척 용액의 통합 이용에 의해 임의적으로 제거된다. 단백질, 인지질 등을 포함하는 나머지 비-핵산 생물학적 물질은 원심분리에 의해 먼저 제거될 수 있다. 이것을 행위함으로써, 용해물 내에 결합되지 않은 오염체가 고체 지지체로부터 분리된다. 복수의 세척 단계는 고체 지지체로부터 실제적으로 모든 오염체를 제거하고, 그리고 고체 지지체에 우선적으로 결합된 RNA를 뒤에 남긴다.
- [0213] 차후에, 결합된 RNA는 당업자에게 공지된 적절한 양의 RNA 용리 용액을 이용하여 용리될 수 있다. 고체 지지체는 이후, 고체 지지체로부터 RNA를 방출하기 위해 원심분리되거나, 또는 압력 또는 진공이 진행될 수 있고, 그리고 이후 적합한 용기에서 수집될 수 있다.
- [0214] 일부 구체예에서 상기 방법은 환자의 샘플로부터 cfRNA를 추출하고 추출된 cfRNA를 검정함으로써 시작될 수 있다. 예를 들면, O'Driscoll, L. et al. (2008) "Feasibility and relevance of global expression profiling of gene transcripts in serum from breast cancer patients using whole genome microarrays and quantitative RT-PCR." Cancer Genomics Proteomics 5:94-104를 참조하는데, 이것은 본원에서 온전히 참조로서 편입된다. 일부 구체예에서, 데이터의 신뢰도를 담보하기 위해, 일관되고 반복적인 방법이 혈장 또는 RNA의 다른 출처로부터 cfRNA를 분리하는 데 이용된다. 혈액으로부터 cfRNA를 획득하기 위해, 비록 다른 방법 또한 예기되긴 하지만, 아래에 열거된 프로토콜이 이용될 수 있다.
- [0215] cfRNA 분자는 예를 들면, Qiagen의 QIAamp® 순환 핵산 키트를 이용하여 혈장 또는 다른 샘플로부터 정제될 수 있다. 이러한 키트에서 프로토콜은 문서 "QIAamp Circulating Nucleic Acid Handbook", Second Edition, January 2011에서 설명되고, 이것은 본원에서 온전히 참조로서 편입된다. 이러한 프로토콜은 1mL의 혈장으로부터 순환성 전체 핵산을 정제하기 위한 방법의 한 구체예를 제공한다. 간단히 말하면, 용해 시약 및 프로테아제가 비활성 운반체 RNA와 함께 첨가된다. 전체 핵산 (DNA와 RNA)이 칼럼에 결합되고, 상기 칼럼이 여러 번 세척

되고, 이후 상기 칼럼으로부터 용리된다.

- [0216] 예를 들면 상기 프로토콜은 아래와 같은 단계를 실행함으로써 수행될 수 있다. 100 μ l, 200 μ l, 또는 300 μ l QIAGEN® 프로테이나아제 K를 50 ml 원심분리기 튜브 내로 피펫팅한다. 1 ml, 2 ml, 또는 3 ml의 혈청 또는 혈장을 상기 50 ml 튜브에 첨가한다. 0.8 ml, 1.6 ml, 또는 2.4 ml 완충액 ACL (1.0 μ g 운반체 RNA 내포)을 첨가한다. 캡을 닫고, 그리고 가시적인 와동이 튜브에서 확실하게 형성되도록, 30 s 동안 펄스 와동에 의해 혼합한다. 효율적인 용해를 담보하기 위해, 샘플 및 완충액 ACL을 철저히 혼합하여 균질한 용액을 산출한다. 상기 절차는 이러한 시점에서 중단되지 않아야 한다.
- [0217] 용해 인큐베이션을 시작하기 위해, 60 °C에서 30 분 동안 인큐베이션한다. 튜브를 실험실 벤치에 다시 배치시키고, 그리고 1.8 ml, 3.6 ml, 또는 5.4 ml 완충액 ACB를 상기 튜브 내에 용해물에 첨가한다. 캡을 닫고, 그리고 15-30 초 동안 펄스 와동에 의해 철저히 혼합한다. 튜브 내에 용해물-완충액 ACB 혼합물을 얼음 위에서 5 분 동안 인큐베이션한다. QIAamp® 미니 칼럼을 QIAvac® 24 Plus 상에 VacConnector 내로 삽입한다. 20 ml 튜브 익스텐더를 열린 QIAamp® 미니 칼럼 내로 삽입한다. 샘플의 누출을 방지하기 위해, 튜브 익스텐더가 QIAamp® 미니 칼럼 내로 확고하게 삽입되도록 한다.
- [0218] 건식 스핀을 위해 수집관을 아래로 유지한다. 용해물-완충액 ACB 혼합물을 QIAamp® 미니 칼럼의 튜브 익스텐더 내로 적용한다. 진공 펌프를 켜다. 모든 용해물이 칼럼을 통해 완전히 뽑아내졌을 때, 진공 펌프를 끄고 압력을 0 mbar로 해제한다. 튜브 익스텐더를 조심스럽게 제거하고 폐기한다. 큰 샘플 용해물 용적 (3 ml 샘플로 시작할 때 약 11 ml)은 진공력에 의해 QIAamp® 미니 막을 통과하는 데 10 분까지 소요될 수도 있다는 점에 주의한다. 진공압의 빠르고 편의한 해제를 위해, 진공 조절자가 이용되어야 한다 (QIAvac® 연결 시스템의 일부). 교차 오염을 방지하기 위해, 튜브 익스텐더를 인접한 QIAamp® 미니 칼럼 위로 이동하지 않도록 조심해야 한다.
- [0219] 600 μ l 완충액 ACW1을 QIAamp® 미니 칼럼에 적용한다. 칼럼의 뚜껑을 열린 상태로 두고 진공 펌프를 켜다. 모든 완충액 ACW1이 QIAamp® 미니 칼럼을 통해 뽑아내진 후, 진공 펌프를 끄고 압력을 0 mbar로 해제한다. 750 μ l 완충액 ACW2를 QIAamp® 미니 칼럼에 적용한다. 칼럼의 뚜껑을 열린 상태로 두고 진공 펌프를 켜다. 모든 완충액 ACW2가 QIAamp® 미니 칼럼을 통해 뽑아내진 후, 진공 펌프를 끄고 압력을 0 mbar로 해제한다. 750 μ l의 에탄올 (96-100%)을 QIAamp® 미니 칼럼에 적용한다. 칼럼의 뚜껑을 열린 상태로 두고 진공 펌프를 켜다. 모든 에탄올이 스핀 칼럼을 통해 뽑혀내진 후, 진공 펌프를 끄고 압력을 0 mbar로 해제한다. QIAamp® 미니 칼럼의 뚜껑을 닫는다. 이것을 진공 매니폴드로부터 이전하고, 그리고 VacConnector를 폐기한다. QIAamp® 미니 칼럼을 깨끗한 2 ml 수집관에 배치하고, 그리고 3 분 동안 전속력 (20,000 x g; 14,000 rpm)으로 원심분리한다.
- [0220] QIAamp® 미니 칼럼을 새로운 2 ml 수집관 내로 배치한다. 뚜껑을 열고, 그리고 막을 완전히 건조시키기 위해 조립물을 56 °C에서 10 분 동안 인큐베이션한다. QIAamp® 미니 칼럼을 깨끗한 1.5 ml 용리 튜브 (제공됨)에 배치하고 단계 14로부터 2 ml 수집관을 폐기한다. 20-150 μ l의 완충액 AVE를 QIAamp® 미니 막의 중심에 조심스럽게 적용한다. 뚜껑을 닫고 실온에서 3 분 동안 인큐베이션한다. 용리 완충액 AVE가 실온 (15-25°C)에 평형화되도록 한다. 만약 용리가 작은 용적 (<50 μ l)에서 행위되면, 용리 완충액은 결합된 DNA의 완전한 용리를 위해 막의 중심 위에 분여되어야 한다. 용리 용적은 탄력적이고 하류 적용의 요건에 따라서 조정될 수 있다. 회수된 용출물 용적은 QIAamp® 미니 칼럼에 적용된 용리 용적보다 5 μ l까지 적을 것이다. 핵산을 용리하기 위해 마이크로원심분리기에서 1 분 동안 전속력 (20,000 x g; 14,000 rpm)으로 원심분리한다. 상기 실례 QIAamp® Circulating Nucleic Acid Handbook 1/2011은 당업자의 지식에서 대표적이고, 그리고 이것은 제한하기 보다는 예시적이다. 이들 방법에 대한 변이체 또는 cfRNA 정제에 대한 별개의 접근법을 비롯한, 대안적 구체예가 본원에서 예기되고, 그리고 본원에서 개시된 방법과 조성물은 임의의 특정 cfRNA 정제 방법에 한정되지 않는다. 예시적인 RNA 방법은 아래의 실시예 1에서 더욱 논의된다.
- [0221] i. 유전자 발현 수준을 검출하는 염기서열분석-기반 방법
- [0222] 일부 구체예에서, RNA 수준은 염기서열분석 기술을 이용하여 검정될 수 있다. 염기서열분석 기술의 실례는 한 가지 또는 그 이상의 기술 예컨대 파이로염기서열분석, 예를 들면, '454' 방법 (Margulies et al., (2005) *Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors*. Nature 437:376-380; Ronaghi, et al. (1996) *Real-time DNA sequencing using detection of pyrophosphate release*. Anal. Biochem. 242:84-89), 'Solexa' 또는 Illumina-유형 염기서열분석 (Fedurco et al., (2006), *BTA, a novel reagent for DNA attachment of glass and efficient generation of solid-phase amplified DNA colonies*. Nucleic Acid Research 34, e22; Turcatti et al. (2008), *A new class of cleavable fluorescent nucleotides: synthesis and optimization as reversible terminators for DNA sequencing by synthesis*. Nucleic Acid Research 36,

e25), SOLiD 염기서열분석 기술 (Shendure, J. et al. (2005) *Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome*. Science 309, 1728-1732; McKernan, K. et al, (2006) *Reagents, methods, and libraries for bead-based sequencing*. US 특허 출원 20080003571), 헬리스코프 기술 (Harris, T.D. et al. (2008) *Single-molecule DNA sequencing of a viral genome*. Science 320, 106-109), Ion Torrent 기술 (Rothberg et al., (2011) *An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing*. Nature 475, 348-352), SMRT 염기서열분석 기술 (Pacific Biosciences), 또는 GridION 나노포어-기반 염기서열 분석 (Oxford Nanopore Technologies; <http://www.nanoporetech.com/technology/the-gridion-system/the-gridion-system>)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일부 구체예에서 수많은 이른바 '차세대' DNA 염기서열 분석 방법이 Shendure and Ji, "Next-generation DNA sequencing", Nature Biotechnology 26(10):1135-1145 (2008)에서 또는 당업자에게 가용한 다른 문헌에서 설명된 바와 같이 이용될 수 있다. DNA 서열의 결정을 위한 다른 방법 역시 적용 가능하고, 그리고 본원에서 개시된 구체예는 임의의 다른 방법을 배제하고 특정 좌위에서 염기 동일성을 결정하는 임의의 특정 방법에 한정되지 않는다.

[0223] 일부 구체예에서, 클론 증폭된 분자 및 단일 핵산 분자의 대량으로 병렬 염기서열분석을 가능하게 하는 차세대 염기서열분석 (NGS) 기술이 이용된다. NGS의 무제한적 실험에는 가역성 염료 종결자를 이용한 합성에 의한 염기서열 분석, 그리고 결찰에 의한 염기서열분석을 포함한다.

[0224] 일부 구체예에서, 검출되는 적어도 하나의 RNA 분자, 적어도 하나의 첫 번째 어댑터, 적어도 하나의 두 번째 어댑터, 그리고 이중 가닥 특이적 RNA 리가아제를 포함하는 결찰 반응 조성물이 형성된다. 첫 번째 어댑터는 3' 단부 상에 적어도 2개의 리보뉴클레오타이드를 포함하는 첫 번째 올리고뉴클레오타이드, 그리고 첫 번째 올리고뉴클레오타이드와 두 번째 올리고뉴클레오타이드가 함께 혼성화될 때 단일 가닥 부분을 포함하는 두 번째 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 두 번째 어댑터는 5' 인산염 기를 포함하는 세 번째 올리고뉴클레오타이드, 그리고 세 번째 올리고뉴클레오타이드와 네 번째 올리고뉴클레오타이드가 함께 혼성화될 때 단일 가닥 부분을 포함하는 네 번째 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 첫 번째 어댑터 및 두 번째 어댑터는 이중 가닥 특이적 RNA 리가아제에 의해 결찰 반응 조성물 내에서 RNA 분자에 결찰되어, 결찰된 산물을 형성한다. 첫 번째 어댑터 및 두 번째 어댑터는 그들의 구조로 인해 RNA 분자와 지향성 방식으로 어닐링하고, 그리고 각 어댑터는 순차적으로 보다는, 자신이 어닐링되는 RNA 분자에 동시에 또는 거의 동시에 결찰된다 (예를 들면, 두 번째 어댑터 및 RNA 분자가 리가아제와 조합되고 두 번째 어댑터가 RNA 분자의 3' 단부에 결찰될 때, 차후에 첫 번째 어댑터가 결찰된 RNA 분자-두 번째 어댑터와 조합되고, 그리고 첫 번째 어댑터가 이후, 상기 RNA 분자-두 번째 어댑터의 5' 단부에 결찰되며, 두 번째 어댑터를 RNA 분자에 결찰하는 단계 및 첫 번째 어댑터를 RNA 분자에 결찰하는 단계 사이에 개재성 정제 단계가 있다, 참조: 예를 들면, Elbashir et al, Genes and Development 15: 188-200, 2001; Berezikov et al., Nat. Genet. Supp. 38: S2-S7, 2006). 성분이 결찰 반응 조성물에 첨가되는 순서는 제한적이지 않고, 그리고 이들 구성요소는 임의의 순서로 첨가될 수 있는 것으로 인지된다. 성분을 첨가하는 과정 동안, 어댑터가 반응 조성물의 모든 성분이 첨가되기 전 리가아제의 존재에서 상응하는 RNA 분자로 결찰될 수 있고, 예를 들면 그러나 제한 없이, 두 번째 어댑터가 첫 번째 어댑터가 첨가되기 전 리가아제의 존재에서 상응하는 RNA 분자로 결찰될 수 있고, 그리고 한 어댑터가 RNA 분자에 결찰되는 시간 및 다른 어댑터가 RNA 분자에 결찰되는 시간 사이에 정제 절차가 없으면, 이런 반응은 본 교시의 의도된 범위 내에 있는 것으로 또한 인식되어야 한다. RNA-지향된 DNA 중합효소 (때때로 RNA-의존성 DNA 중합효소로서 지칭됨)는 결찰된 산물과 조합되어 반응 혼합물을 형성하고, 이것은 역전사된 산물에 적합한 조건하에 인큐베이션된다. 역전사된 산물은 리보핵산분해효소, 전형적으로 리보핵산분해효소 H (RNA분해효소 H)와 조합되고, 그리고 역전사된 산물로부터 리보뉴클레오타이드 중에서 적어도 일부가 절단되어 증폭 주형이 형성된다.

[0225] 그 다음, 증폭 주형은 적어도 하나의 정방향 프라이머, 적어도 하나의 역방향 프라이머, 그리고 DNA-지향된 DNA 중합효소 (때때로 DNA-의존성 DNA 중합효소로서 지칭됨)와 조합되어 증폭 반응 조성물을 형성한다. 증폭 반응 조성물은 증폭된 산물이 산출될 수 있게 하는 데 적합한 조건하에 열순환처리된다. 일부 구체예에서, 적어도 한 가지 종류의 증폭된 산물이 검출된다. 일부 구체예에서, 리포터 프로브 및/또는 핵산 염료가 샘플 내에 RNA 종류 중에서 적어도 한 가지의 존재를 간접적으로 검출하는 데 이용된다. 일정한 구체예에서, 증폭 반응 조성물은 리포터 프로브, 예를 들면 그러나 제한 없이 TaqMan® 프로브, 분자 비콘, Scorpion.TM. 프라이머 또는 기타 유사한 것, 또는 핵산 염료, 예를 들면 그러나 제한 없이, SYBR.RTM. Green 또는 다른 핵산 결합 염료 또는 핵산 삽입 염료를 더욱 포함한다. 본 교시의 일정한 구체예에서, 검출하는 것은 정량적 PCR을 제한 없이 포함하는, 실시간 또는 종결점 검출 기술을 포함한다. 일부 구체예에서, 증폭된 산물의 적어도 일부의 서열이 결정되는데, 이것은 상응하는 RNA 분자가 확인될 수 있도록 한다. 일부 구체예에서, 라이브러리-특이적 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 증폭된 산물의 라이브러리가 시작 물질에서 RNA 분자로부터 산출되는데, 여기서 증폭된 산물 종류의

적어도 일부는 바코드 서열 또는 혼성화 태그, 또는 통상적인 마커 또는 친화성 태그를 제한 없이 포함하는 라이브러리-특이적 식별자, 예를 들면 그러나 제한 없이 라이브러리-특이적 뉴클레오타이드 서열을 공유한다. 일부 구체예에서, 2개 또는 그 이상의 라이브러리가 조합되고 분석되며, 이후 결과가 라이브러리-특이적 식별자에 근거하여 디콘볼루션된다.

[0226] 일부 구체예에서, DNA-지향된 DNA 중합효소 활성 및 RNA-지향된 DNA 중합효소 활성 둘 모두를 포함하는 DNA 중합효소 단지 하나만 역전사 반응 조성물에서 이용되고 어떤 추가 중합효소도 이용되지 않는다. 다른 방법 구체예에서, RNA-지향된 DNA 중합효소 및 DNA-지향된 DNA 중합효소 둘 모두 역전사 반응 조성물에 첨가되고 어떤 추가 중합효소도 증폭 반응 조성물에 첨가되지 않는다.

[0227] 일부 구체예에서, 샘플 내에서 RNA 분자를 검출하기 위한 방법은 샘플을 적어도 하나의 첫 번째 어댑터, 적어도 하나의 두 번째 어댑터, 그리고 이중 가닥 특이적 RNA 리가아제 활성을 포함하는 폴리캡티드를 조합하여 결합 반응 조성물을 형성하되, 적어도 하나의 첫 번째 어댑터 및 적어도 하나의 두 번째 어댑터가 샘플의 RNA 분자에 결합되어 동일한 결합 반응 조성물 내에 결합된 산물을 형성하는 단계, 그리고 결합된 산물의 RNA 분자 또는 이의 대용물을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 첫 번째 어댑터는 10 내지 60개 뉴클레오타이드의 길이를 갖고 3' 단부 상에서 적어도 2개의 리보뉴클레오타이드를 포함하는 첫 번째 올리고뉴클레오타이드, 그리고 첫 번째 올리고뉴클레오타이드에 실제로 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하고 첫 번째 올리고뉴클레오타이드 및 두 번째 올리고뉴클레오타이드가 이중나선일 때 1 내지 8개 뉴클레오타이드의 단일 가닥 5' 부분을 더욱 포함하는 두 번째 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 두 번째 어댑터는 10 내지 60개 뉴클레오타이드의 길이를 갖고 5' 인산염 기를 포함하는 세 번째 올리고뉴클레오타이드, 그리고 세 번째 올리고뉴클레오타이드에 실제로 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하고 세 번째 올리고뉴클레오타이드 및 네 번째 올리고뉴클레오타이드가 이중나선일 때 1 내지 8개 뉴클레오타이드의 단일 가닥 3' 부분을 더욱 포함하는 네 번째 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구체예에서, 단일 가닥 부분은 독립적으로, 즉중성 뉴클레오타이드 서열, 또는 RNA 분자의 부분에 상보적인 서열을 갖는다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 세 번째 올리고뉴클레오타이드는 상이한 뉴클레오타이드 서열을 갖는다. 결합 반응 조성물 내에서, 검출되는 RNA 분자는 적어도 하나의 첫 번째 어댑터의 단일 가닥 부분 및 적어도 하나의 두 번째 어댑터의 단일 가닥 부분과 혼성화한다.

[0228] 일부 구체예에서, RNA 분자 또는 이의 대용물을 검출하는 단계는 결합된 산물을 i) RNA-지향된 DNA 중합효소, ii) DNA 의존성 DNA 중합효소 활성 및 RNA 의존성 DNA 중합효소 활성을 포함하는 DNA 중합효소, 또는 iii) RNA-지향된 DNA 중합효소 및 DNA-지향된 DNA 중합효소를 조합하는 단계; 결합된 산물을 역전사하여 역전사된 산물을 형성하는 단계; 역전사된 산물로부터 리보뉴클레오타이드 중에서 적어도 일부를 리보핵산분해효소 H로 절단하여 증폭 주형을 형성하는 단계; 증폭 주형을 적어도 하나의 정방향 프라이머, 적어도 하나의 역방향 프라이머, 그리고 결합된 산물이 i)의 경우에서와 같이 조합될 때 DNA-지향된 DNA 중합효소를 조합하여, 증폭 반응 조성물을 형성하는 단계; 증폭 반응 조성물을 순환시켜 적어도 하나의 증폭된 산물을 형성하는 단계, 그리고 증폭된 산물의 적어도 일부의 서열을 결정하고, 그것에 의하여 RNA 분자를 검출하는 단계를 포함한다.

[0229] 일부 구체예에서, RNA 라이브러리를 산출하기 위한 방법은 다수의 상이한 RNA 분자를 다수의 첫 번째 어댑터 종류, 다수의 두 번째 어댑터 종류, 그리고 이중 가닥 특이적 RNA 리가아제와 조합하여 결합 반응 조성물을 형성하되, 적어도 하나의 첫 번째 어댑터가 3' 단부 상에 적어도 2개의 리보뉴클레오타이드를 포함하는 첫 번째 올리고뉴클레오타이드 및 첫 번째 올리고뉴클레오타이드와 두 번째 올리고뉴클레오타이드가 함께 혼성화될 때 단일 가닥 부분을 포함하는 두 번째 올리고뉴클레오타이드를 포함하고, 그리고 적어도 하나의 두 번째 어댑터가 5' 인산염 기를 포함하는 세 번째 올리고뉴클레오타이드 및 세 번째 올리고뉴클레오타이드와 네 번째 올리고뉴클레오타이드가 함께 혼성화될 때 단일 가닥 부분을 포함하는 네 번째 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 단계, 그리고 적어도 하나의 첫 번째 어댑터 및 적어도 하나의 두 번째 어댑터를 RNA 분자에 결합하여 다수의 상이한 결합된 산물 종류를 형성하되, 첫 번째 어댑터 및 두 번째 어댑터가 동일한 결합 반응 조성물 내에 RNA 분자에 결합되는 단계를 포함한다. 상기 방법은 다수의 결합된 산물 종류를 RNA-지향된 DNA 중합효소와 조합하는 단계, 다수의 결합된 산물 종류 중에서 적어도 일부를 역전사하여 다수의 역전사된 산물 종류를 형성하는 단계, 다수의 역전사된 산물 종류 중에서 적어도 일부로부터 리보뉴클레오타이드 중에서 적어도 일부를 리보핵산분해효소 H (RNA분해효소 H)로 절단하여 다수의 증폭 주형 종류를 형성하는 단계, 다수의 증폭 주형 종류를 적어도 하나의 정방향 프라이머, 적어도 하나의 역방향 프라이머 및 DNA-지향된 DNA 중합효소와 조합하여 증폭 반응 조성물을 형성하는 단계, 그리고 증폭 반응 조성물을 순환시켜 다수의 증폭된 산물 종류를 포함하는 라이브러리를 형성하되, 증폭된 산물 종류 중에서 적어도 일부가 라이브러리 내에 다른 증폭된 산물 종류 중에서 적어도 일부와 공통된 확인 서열을 포함하는 단계를 더욱 포함한다.

- [0230] 일부 구체예에서, 증폭된 산물의 적어도 일부의 서열이 결정되고, 그것에 의하여 관심되는 RNA 분자가 검출된다. 용어 "염기서열분석"은 본원에서 넓은 의미에서 이용되고, 그리고 연장 산물 또는 벡터 삽입물의 적어도 일부를 제한 없이 포함하는, RNA의 적어도 일부에서 적어도 일부 연속 뉴클레오티드의 순서가 확인될 수 있게 하는, 당해 분야에서 공지된 임의의 기술을 지칭한다. 염기서열분석 기술의 일부 무제한적 실례는 생어의 디데옥시 종결자 방법 및 Maxam과 Gilbert의 화학적 개열 방법뿐만 아니라 이들 방법의 변형; 혼성화, 예를 들면 그러나 제한 없이, 마이크로어레이 또는 비드, 예컨대 비드 어레이에 증폭된 산물의 혼성화에 의한 염기서열 분석; 파이로염기서열분석 (참조: 예를 들면, Ronaghi et al., Science 281:363-65, 1998); 그리고 제한 지도 작성을 포함한다. 일부 염기서열분석 방법은 모세관 전기이동 및 겔 전기이동을 제한 없이 포함하는 전기이동; 질량 분광분석; 그리고 단일 분자 검출을 포함한다. 일부 구체예에서, 염기서열분석은 직접적인 염기서열분석, 이중나선 염기서열분석, 순환 염기서열분석, 단일-염기 연장 염기서열분석 (SBE), 고체상 염기서열분석, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서, 염기서열분석은 기기, 예를 들면 그러나 제한 없이 ABI PRISM® 377 DNA 서열분석기, ABI PRISM® 310, 3100, 3100-Avant, 3730 또는 3730xl 유전자 분석기, ABI PRISM® 3700 DNA 분석기, 또는 Applied Biosystems SOLiD. ® 시스템 (이들 모두 Applied Biosystems로부터), 유전체 서열분석기 20 시스템 (Roche Applied Science), 또는 질량분광계를 이용하여 염기서열분석 산물을 검출하는 것을 포함한다. 일정한 구체예에서, 염기서열분석은 유제 PCR (참조: 예를 들면, Williams et al., Nature Methods 3(7):545-50, 2006)을 포함한다. 일정한 구체예에서, 염기서열분석은 고처리량 염기서열분석 기술, 예를 들면 그러나 제한 없이, 대량으로 병렬 시그너처 염기서열분석 (MPSS)을 포함한다. MPSS에 관한 설명은 그 중에서도 특히, Zhou et al., Methods of Molecular Biology 331:285-311, Humana Press Inc.; Reinartz et al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics, 1:95-104, 2002; Jongeneel et al., Genome Research 15:1007-14, 2005에서 발견될 수 있다. 일부 구체예에서, 염기서열분석은 dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dUTP, dITP, 또는 이들의 조합을 제한 없이 포함하고 dNTP의 디데옥시리보뉴클레오티드 버전을 포함하는 dNTP를 증폭된 산물 내로 통합하는 것을 포함한다.
- [0231] 핵산 분자의 적어도 일부의 서열을 결정하는 데 유용한 다른 예시적인 기술은 유제-기반 PCR, 그 이후에 임의의 적합한 대량으로 병렬 염기서열분석 또는 다른 고처리량 기술을 제한 없이 포함한다. 일부 구체예에서, 상응하는 RNA 분자를 검출하기 위해 증폭된 산물의 적어도 일부의 서열을 결정하는 단계는 증폭된 산물을 정량하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 염기서열분석은 예를 들면, "Reagents, Methods, and Libraries For Bead-Based Sequencing"이라는 명칭의 PCT 특허 출원 공보 WO 06/084132 및 "Reagents, Methods, and Libraries for Gel-Free Bead-Based Sequencing."이라는 명칭의 W007/121489에서 설명된 바와 같은 SOLiD® 시스템 (Applied Biosystems)을 이용하여 실행된다. 일부 구체예에서, 증폭된 산물을 정량하는 것은 실시간 또는 종결점 정량적 PCR 또는 둘 모두를 포함한다. 일부 구체예에서, 증폭된 산물을 정량하는 것은 검출되는 RNA 분자의 발현 프로파일, 예컨대 mRNA 발현 프로파일 또는 miRNA 발현 프로파일을 산출하는 것을 포함한다. 일정한 구체예에서, 증폭된 산물을 정량하는 것은 낮은 밀도 어레이를 제한 없이 포함하는 미소유체공학 장치를 포함할 수 있는 하나 또는 그 이상의 5'-뉴클레아제 검정, 예를 들면 그러나 제한 없이, TaqMan® 유전자 발현 검정 및 TaqMan® miRNA 검정을 포함한다. 당해 분야에서 공지된 임의의 적합한 발현 프로파일링 기술이 개시된 방법의 다양한 구체예에서 이용될 수 있다.
- [0232] 당업자는 이용된 염기서열분석 방법이 전형적으로 본원 발명의 방법의 제한이 아니라는 것을 인지할 것이다. 오히려, 검출되는 상응하는 증폭된 산물 또는 RNA의 적어도 일부, 또는 증폭된 산물로부터 유래된 벡터 삽입물의 적어도 일부의 적어도 일부 연속 뉴클레오티드의 순서를 제공하는 임의의 염기서열분석 기술이 전형적으로 본원 발명의 방법에서 이용될 수 있다. 염기서열분석 기술에 관한 설명은 그 중에서도 특히, McPherson, 특히 Chapter 5에서; Sambrook and Russell; Ausubel et al.; Siuzdak, The Expanding Role of Mass Spectrometry in Biotechnology, MCC Press, 2003, 특히 Chapter 7; 및 Rapley에서 발견될 수 있다. 일부 구체예에서, 엑소 뉴클레아제 I 및 새우 알칼리 인산분해효소 절단, 예를 들면 그러나 제한 없이 ExoSAP-IT® 시약 (USB Corporation)을 제한 없이 포함하는 효소 분해에 의해, 통합되지 않은 프라이머 및/또는 dNTP가 염기서열분석 단계에 앞서 제거된다. 일부 구체예에서, 통합되지 않은 프라이머, dNTP 및/또는 ddNTP는 적합하면, 겔 또는 칼럼 정제, 침강, 여과, 비드, 자성 분리, 또는 혼성화-기반 풀아웃에 의해 제거된다 (참조: 예를 들면, ABI PRISM® Duplex.TM. 384 Well F/R 서열 포획 키트, Applied Biosystems P/N 4308082).
- [0233] 당업자는 일정한 구체예에서, 이용된 염기서열분석/재염기서열분석 기술의 리드 길이가, 효과적으로 검출될 수 있는 RNA 분자의 크기에서 인자일 수 있다는 것을 인지할 것이다 (참조: 예를 들면, Kling, Nat. Biotech. 21(12):1425-27). 일부 구체예에서, 첫 번째 샘플로부터 유래된 RNA 분자로부터 산출된 증폭된 산물은 첫 번째

확인 서열 (본원에서 때때로 "바코드"로서 지칭됨) 또는 다른 마커로 표지화되고, 두 번째 샘플로부터 유래된 RNA 분자로부터 산출된 증폭된 산물은 두 번째 확인 서열 또는 두 번째 마커로 표지화되고, 그리고 첫 번째 확인 서열을 포함하는 증폭된 산물 및 두 번째 확인 서열을 포함하는 증폭된 산물은 상응하는 샘플에서 상응하는 RNA 분자의 서열을 결정하기에 앞서 한 데 모아진다. 일정한 구체예에서, 3개 또는 그 이상의 상이한 RNA 라이브러리가 조합되고, 이들은 각각, 상기 라이브러리에 특이적인 식별자 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 어댑터, 두 번째 어댑터, 정방향 프라이머, 역방향 프라이머, 또는 이들의 조합은 확인 서열 또는 확인 서열의 보체를 포함한다.

[0234] 일부 구체예에서, 염기서열분석은 상업적으로 가용한 기술, 예컨대 Affymetrix Inc. (Sunnyvale, Calif.)로부터 혼성화에 의한 염기서열분석 플랫폼, 454 Life Sciences (Bradford, Conn.), Illumina/Solexa (Hayward, Calif.) 및 Helicos Biosciences (Cambridge, Mass.)로부터 합성에 의한 염기서열분석 플랫폼, 그리고 아래에 설명된 바와 같이, Applied Biosystems (Foster City, Calif.)로부터 결찰에 의한 염기서열분석 플랫폼을 이용하는 것을 포함한다. Helicos Biosciences의 합성에 의한 염기서열분석을 이용하여 수행된 단일 분자 염기서열 분석에 더하여, 다른 단일 분자 염기서열분석 기술은 Pacific Biosciences의 SMRT® 기술, ION TORRENT® 기술, 그리고 예를 들면, Oxford Nanopore Technologies에 의해 개발된 나노포어 염기서열분석을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0235] 일부 구체예에서, 상기 방법은 (a) 복수의 첫 번째 프라이머에서 2개 또는 그 이상의 첫 번째 프라이머의 3' 영역 및 RNA 샘플 내에 2개 또는 그 이상의 RNA 분자 사이에 복합체가 형성되는 조건하에, 복수의 첫 번째 프라이머를 RNA 샘플에 혼성화하되, 첫 번째 프라이머의 3' 영역이 무작위 뉴클레오타이드 서열 및 첫 번째 뉴클레오타이드 서열 태그를 포함하는 단계; (b) 복합체의 복수의 첫 번째 프라이머를 역전사에 의해 연장하고, 그것에 의하여 2개 또는 그 이상의 RNA 분자의 상보성 DNA (cDNA) 분자를 산출하는 단계; (c) (i) 복수의 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자에서 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자의 3' 오버행 및 cDNA 분자의 3' 영역 사이에 복합체가 형성되고, 여기서 3' 오버행이 두 번째 무작위 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 그리고 (ii) 복수의 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자에서 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자의 상보성 두 번째 가닥의 5' 단부가 cDNA 분자의 3' 단부에 인접하는 조건하에, 두 번째 뉴클레오타이드 서열 태그를 포함하는 복수의 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자를 2개 또는 그 이상의 cDNA 분자에 혼성화하는 단계; (d) 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자의 상보성 두 번째 가닥의 5' 단부를 2개 또는 그 이상의 cDNA 분자의 3' 단부에 부착하고, 그것에 의하여 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자의 부착되지 않은 가닥을 산출하는 단계; (e) 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자의 부착되지 않은 가닥을 제거하고, 그것에 의하여 첫 번째와 두 번째 뉴클레오타이드 서열 태그를 포함하는 복수의 단일 가닥 cDNA 분자를 형성하는 단계; 그리고 (f) 복수의 단일 가닥 cDNA 분자를 이중 가닥 cDNA 분자로 전환하고, 그것에 의하여 RNA 샘플 내에 RNA 분자의 특정 가닥을 나타내는 cDNA 라이브러리를 창출하는 단계에 의해, RNA 샘플 내에 RNA 분자의 특정 가닥을 나타내는 상보성 DNA (cDNA) 라이브러리를 창출하는 것을 포함한다.

[0236] 다른 구체예에서, 상기 방법은 (a) 복수의 첫 번째 프라이머에서 2개 또는 그 이상의 첫 번째 프라이머의 3' 영역 및 RNA 샘플 내에 2개 또는 그 이상의 RNA 분자 사이에 복합체가 형성되는 조건하에 복수의 첫 번째 프라이머를 RNA 샘플에 혼성화하되, 단일 가닥 프라이머의 3' 영역이 무작위 뉴클레오타이드 서열 및 첫 번째 뉴클레오타이드 서열 태그를 포함하는 단계; (b) 복합체의 첫 번째 프라이머를 역전사에 의해 연장하고, 그것에 의하여 2개 또는 그 이상의 RNA 분자의 상보성 DNA (cDNA) 분자를 산출하는 단계; (c) 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자를 cDNA 분자에 부착하고, 여기서 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자의 5' 단부가 cDNA 분자에 부착되고 RNA 분자가 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자의 3' 단부에 부착되지 않는 조건하에, (c) 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드 분자가 cDNA 분자에 부착되고, 여기서 이중 가닥 DNA 분자가 두 번째 뉴클레오타이드 서열 태그를 포함하는 단계; (d) 상기 RNA 분자를 제거하는 단계; 그리고 (e) 상기 cDNA 분자로부터 상보성 두 번째 가닥 DNA 분자를 합성하고, 그것에 의하여 RNA 샘플 내에 RNA 분자의 특정 가닥을 나타내는 cDNA 라이브러리를 형성하는 단계에 의해, RNA 샘플 내에 RNA 분자의 특정 가닥을 나타내는 cDNA 라이브러리를 창출하는 것을 포함한다.

[0237] 일부 구체예에서, 프라이머는 비무작위 서열, 예를 들면 이러한 구체예의 일부 형태에서, 표적과 혼성화하는 무작위 또는 비무작위 비-폴리-T 또는 비-폴리-T 서열로 끝날 수 있는 폴리 T 또는 폴리 A 서열을 이용하여 폴리뉴클레오타이드에 혼성화할 수 있다. 다른 실례로서, 프라이머는 엑손 서열을 실제적으로 보완하거나 또는 엑손 서열과 실제적으로 동일한 서열에 상응하는 서열을 포함할 수 있다. 복수의 폴리뉴클레오타이드가 동시에 표적화될 때, 복수의 폴리뉴클레오타이드를 표적으로 하는 프라이머는 동일하거나 또는 상이할 수 있다.

[0238] 일부 구체예에서, 대량으로 병렬 염기서열분석은 Illumina의 합성에 의한 염기서열분석 및 가역적 종결자-기반 염기서열분석 화학을 이용한다 (예를 들면 Bentley et al., Nature 6:53-59 [2009]에서 설명된 바와 같이). 일

부 구체예에서, Illumina의 염기서열분석 기술은 올리고뉴클레오타이드 앵커가 결합되는 평면의 광학적으로 투명한 표면에 RNA 전사체의 상보성 DNA (cDNA)의 부착에 의존한다. 주형 cDNA는 5'-인산화된 평활 말단을 산출하기 위해 단부 수복되고, 그리고 클레노브 단편의 중합효소 활성이 단일 A 염기를 평활 인산화된 DNA 단편의 3' 단부에 부가하는 데 이용된다. 이러한 부가는 올리고뉴클레오타이드 어댑터에 결합을 위한 DNA 단편을 만들어내는데, 이들은 결합 효율을 증가시키기 위해 그들의 3' 단부에서 단일 T 염기의 오버행을 갖는다. 어댑터 올리고뉴클레오타이드는 흐름 셀 앵커에 상보적이다. 제한 회색 조건 하에, 어댑터-변형된, 단일 가닥 주형 DNA가 흐름 셀에 추가되고 혼성화에 의해 앵커에 고정된다. 부착된 DNA 단편은 동일한 주형의 약 1,000개 사본을 각각 내포하는, 수억 개의 클러스터를 갖는 초고밀도 염기서열분석 흐름 셀을 창출하기 위해 연장되고 가교 증폭된다. 한 구체예에서, 상보성 DNA (cDNA)는 클러스터 증폭이 진행되기 전, PCR을 이용하여 증폭된다.

[0239] 일부 구체예에서, 주형은 제거가능 형광 염료를 갖는 가역적 종결자를 이용하는 견실한 4-컬러 DNA 합성에 의한 염기서열분석 기술을 이용하여 염기서열분석된다. 높은-민감도 형광 검출이 레이저 여기 및 내부 전반사 광학을 이용하여 달성된다. 약 20-40 bp, 예를 들면, 36 bp의 짧은 서열 리드가 반복-마스킹 적용된 참조 유전체에 대해 정렬되고, 그리고 참조 유전체에 대한 이들 짧은 서열 리드의 고유한 매핑이 특수하게 개발된 데이터 분석 파이프라인 소프트웨어를 이용하여 확인된다. 비-반복-마스킹 적용된 참조 유전체 또한 이용될 수 있다. 반복-마스킹 적용된 또는 비-반복-마스킹 적용된 참조 유전체가 이용되는지와 상관없이, 참조 유전체에 고유하게 매핑하는 리드만 계수된다. 첫 번째 리드의 완료 후, 단편의 반대쪽으로부터 두 번째 리드를 가능하게 하기 위해 주형이 원지에서 재생될 수 있다. 따라서, DNA 단편의 단일 말단 또는 쌍 말단 염기서열분석이 이용될 수 있다. 샘플 내에 존재하는 DNA 단편의 부분적인 염기서열분석이 수행되고, 그리고 미리 결정된 길이, 예를 들면, 36 bp의 리드를 포함하는 서열 태그가 공지된 참조 유전체에 매핑되고 계수된다. 한 구체예에서, cDNA 분자의 클론 확대된 사본의 한쪽 단부가 뉴클레오타이드 데이터베이스의 효율적인 대규모 정렬 (ELAND) 소프트웨어를 이용하는, Illumina 유전체 분석기에 대한 생물정보학적 정렬 분석에 의해 염기서열분석되고 처리된다.

[0240] *ii. RNA 발현 수준을 검출하는 PCR-기반 방법*

[0241] RNA 추출 방법에 의해 생산된 샘플은 고도로 순수하고 PCR 저해제가 없을 수 있고, 그리고 예를 들면, 다양한 유형의 암의 검정으로서 RNA 상대적 발현을 검정하기 위해 일부 구체예에서 이용된 바와 같은 qPCR에 적합할 수 있다.

[0242] 일부 구체예에서 상기 방법은 앰플리콘을 산출하기 위해 PCR 또는 qPCR을 수행하는 단계를 포함한다. PCR 및 qPCR 프로토콜은 본원에서 하기에 예시되고, 그리고 표적 유전자 및 참조 유전자의 검출 및/또는 확인을 위해 본원에서 설명된 조성물을 이용한 용도에 직접적으로 적용되거나 또는 용도에 맞게 조정될 수 있다.

[0243] 일부 구체예는 정량적 PCR (qPCR) (또한 실시간 PCR로서 지칭됨)을 포함하는 방법을 제공한다. qPCR은 정량적 계측을 제공할 수 있고, 그리고 또한 감소된 시간 및 오염의 유익성을 제공한다. 본원에서 이용된 바와 같이, "정량적 PCR" ("qPCR" 또는 더욱 구체적으로 "실시간 qPCR")은 PCR 증폭의 진행의 직접적인 모니터링을 지칭하는데, 그 이유는 이것이 반응 산물의 반복된 샘플링에 대한 필요 없이 발생하기 때문이다. qPCR에서, 반응 산물은 신호전달 기전 (예를 들면, 형광)을 통해 모니터링될 수 있는데, 그 이유는 신호가 배경 수준을 초과하여 상승한 후, 그러나 반응이 안정기에 도달하기 전, 이들이 산출되고 추적되기 때문이다. 형광의 검출가능 또는 "역치" 수준을 달성하는 데 필요한 주기의 횟수 (본원에서 주기 역치 또는 "CT"로서 지칭됨)는 PCR 과정의 시작 시점에서 증폭가능 표적의 농도에 따라 직접적으로 변하고, 신호 강도의 계측을 가능하게 하여 샘플 내에서 표적 핵산의 양의 척도를 실시간으로 제공한다.

[0244] PCR 및 qPCR 반응을 설정하기 위해, 반응 혼합물은 적합한 완충액, 염 등 및 적합한 농도의 핵산 중합효소와 조합으로, 주형 핵산 (예를 들면, 아래에 설명된 바와 같은 음성 대조의 경우를 제외하고, 검사 샘플 내에 존재하는 바와 같음) 및 올리고뉴클레오타이드 프라이머 및/또는 프로브를 최소한도로 포함한다. 본원에서 이용된 바와 같이, "핵산 중합효소"는 뉴클레오타이드 삼인산염의 중합화를 촉매하는 효소를 지칭한다. 일반적으로, 상기 효소는 표적 서열에 어닐링된 프라이머의 3' 단부에서 합성을 개시할 것이고, 그리고 합성이 종료될 때까지 주형을 따라서 5'-3' 방향으로 진행할 것이다. 적합한 농도는 본원에서 설명된 방법에서 이러한 반응을 촉매하는 것을 포함한다. 본원에서 개시된 방법에서 유용한 공지된 DNA 중합효소는 예를 들면, 대장균 (*E. coli*) DNA 중합효소 I, T7 DNA 중합효소, 테르무스 쉐모필루스 (*Thermus thermophilus*) (Tth) DNA 중합효소, 바실루스 스테아로써모필루스 (*Bacillus stearothermophilus*) DNA 중합효소, 쉐모코쿠스 리토랄리스 (*Thermococcus litoralis*) DNA 중합효소, 테르무스 아쿠아티쿠스 (*Thermus aquaticus*) (Taq) DNA 중합효소 및 피로코쿠스 후리오수스 (*Pyrococcus furiosus*) (Pfu) DNA 중합효소, FASTSTART™ Taq DNA 중합효소, APTATAQ™ DNA 중합효소 (Roche),

KLIENTAQ 1™ DNA 중합효소 (AB peptides Inc.), HOTGOLDSTAR™ DNA 중합효소 (Eurogentec), KAPATAQ™ HotStart DNA 중합효소, KAPA2G™ Fast HotStart DNA 중합효소 (Kapa Biosystemss), PHUSION™ Hot Start DNA 중합효소 (Finnzymes), 또는 기타 유사한 것을 포함한다.

[0245] 상기 구성요소에 더하여, 본원 발명의 방법의 반응 혼합물은 프라이머, 프로브 및 데옥시리보뉴클레오타이드 삼인산염 (dNTP)을 포함한다.

[0246] 통상적으로 반응 혼합물은 4가지 자연 발생 뉴클레오타이드 염기, 예를 들면, dATP, dTTP, dCTP 및 dGTP에 상응하는 4가지 상이한 유형의 dNTP를 더욱 포함할 것이다. 일부 구체예에서, 각 dNTP는 전형적으로 약 10 내지 5000 μ M, 통상적으로 약 20 내지 1000 μ M, 약 100 내지 800 μ M, 또는 약 300 내지 600 μ M의 범위 안에 있는 양으로 존재할 것이다.

[0247] 반응 혼합물은 일가 이온의 공급원, 이가 양이온의 공급원, 그리고 완충제를 포함하는 수성 완충액 배지를 더욱 포함할 수 있다. 일가 이온의 임의의 편의한 공급원, 예컨대 염화칼륨, 아세트산칼륨, 아세트산암모늄, 글루타민산칼륨, 염화암모늄, 황산암모늄 등이 이용될 수 있다. 이가 양이온은 마그네슘, 망간, 아연 등일 수 있는데, 여기서 양이온은 전형적으로 마그네슘일 것이다. 염화마그네슘, 아세트산마그네슘 등을 비롯한, 마그네슘 양이온의 임의의 편의한 공급원이 이용될 수 있다. 완충액 내에 존재하는 마그네슘의 양은 0.5 내지 10 mM의 범위 안에 있을 수 있고, 그리고 약 1 내지 약 6 mM, 또는 약 3 내지 약 5 mM의 범위 안에 있을 수 있다. 완충액 내에 존재할 수 있는 대표적인 완충제 또는 염은 트리스, 트리스, HEPES, MOPS 등을 포함하는데, 여기서 완충제의 양은 전형적으로 약 5 내지 150 mM, 통상적으로 약 10 내지 100 mM, 그리고 더 통상적으로 약 20 내지 50 mM의 범위 안에 있을 것이고, 여기서 일정한 바람직한 구체예에서 완충제는 약 6.0 내지 9.5의 범위 안에 있는 pH, 예를 들면, 약 pH 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 또는 9.5를 제공하는 데 충분한 양으로 존재할 것이다. 완충액 배지 내에 존재할 수 있는 다른 작용제는 킬레이트화제, 예컨대 EDTA, EGTA 등을 포함한다. 일부 구체예에서, 반응 혼합물은 BSA, 또는 기타 유사한 것을 포함할 수 있다. 이에 더하여, 일부 구체예에서, 반응물은 특히, 시약이 시간의 추이에서 저장될 수 있는 마스터 믹스로서 제공될 때, 냉동보호제, 예컨대 트레할로스를 포함할 수 있다.

[0248] 반응 혼합물을 제조할 때, 다양한 구성 성분이 임의의 편의한 순서로 조합될 수 있다. 예를 들면, 반응 혼합물을 생산하기 위해, 완충액이 프라이머, 중합효소, 그리고 이후 주형 핵산과 조합될 수 있거나, 또는 모든 다양한 구성 성분이 동일한 시간에 조합될 수 있다.

[0249] 대안으로, 예를 들면, Quantifast PCR 믹스 (Qiagen), TAQMAN® Universal PCR 마스터 믹스 (Applied Biosystems), OMNIMIX® 또는 SMARTMIX® (Cepheid), IQ™ 슈퍼믹스 (Bio-Rad Laboratories), LIGHTCYCLER® FastStart (Roche Applied Science, Indianapolis, IN), 또는 BRILLIANT® QPCR 마스터 믹스 (Stratagene, La Jolla, CA)를 비롯한, 상업적으로 가용한 예혼합된 시약이 제조업체의 사용설명서에 따라서 본원에서 개시된 방법에서 활용될 수 있거나, 또는 반응 조건을 향상시키기 위해 변형될 수 있다 (예를 들면, 필요에 따라, 완충액 농도, 양이온 농도, 또는 dNTP 농도의 변형).

[0250] 반응 혼합물은 프라이머 연장 반응 조건 ("중합효소-기반 핵산 증폭 산물을 제공하는 데 충분한 조건"), 예를 들면, 주형 가닥을 주형으로서 이용한, 프라이머 분자의 단부에 뉴클레오타이드의 부가에 의한 중합효소-매개된 프라이머 연장을 허용하는 조건이 진행될 수 있다. 많은 구체예에서, 프라이머 연장 반응 조건은 증폭 조건인데, 이들 조건은 복수의 반응 주기를 포함하고, 여기서 각 반응 주기는 (1) 변성 단계, (2) 어닐링 단계 및 (3) 중합화 단계를 포함한다. 아래에 논의된 바와 같이, 일부 구체예에서, 증폭 프로토콜은 어닐링에 전용된 특정한 시간을 포함하지 않고, 그리고 그 대신에 변성과 연장에 전용된 특정한 시간만을 포함한다. 반응 주기의 횟수는 수행되는 적용에 따라서 변할 것이지만, 통상적으로 적어도 15회, 더 통상적으로 적어도 20회, 그리고 높게는 60회 또는 그 이상일 수 있고, 여기서 상이한 주기의 횟수는 전형적으로 약 20 내지 40의 범위 안에 있을 것이다. 약 25회 이상, 통상적으로 약 30회 이상의 주기가 수행되는 방법의 경우에, 효소적 프라이머 연장에 적합한 조건이 유지되도록 추가 중합효소를 반응 혼합물 내로 도입하는 것이 편의하거나 또는 바람직할 수 있다.

[0251] 변성 단계는 반응 혼합물을 상승된 온도로 가열하고, 그리고 반응 혼합물 내에 존재하는 임의의 이중 가닥 또는 혼성화된 핵산이 해리하는 데 충분한 기간 동안 혼합물을 상승된 온도에서 유지하는 것을 포함한다. 변성을 위해, 반응 혼합물의 온도는 약 3 내지 120 초의 범위 안에 있는 기간, 통상적으로 약 3 초 동안 약 85 내지 100 °C, 통상적으로 약 90 내지 98 °C, 그리고 더 통상적으로 약 93 내지 96 °C의 범위 안에 있는 온도로 상승되고 상기 온도에서 유지될 것이다.

- [0252] 변성 이후에, 반응 혼합물은 혼합물 내에 존재하는 주형 핵산 (존재하면)에 프라이머 어닐링, 그리고 예를 들면, 프라이머 연장 산물의 효소적 생산에 충분한 조건하에 프라이머가 혼성화되는 핵산을 주형으로서 이용하여, 프라이머가 5'에서 3' 방향으로 연장되도록 하는 방식으로 프라이머 단부에 뉴클레오타이드의 중합화에 충분한 조건이 진행될 수 있다. 일부 구체예에서, 어닐링 및 연장 과정은 동일한 단계에서 발생한다. 반응 혼합물이 이들 조건을 달성하기 위해 낮아지는 온도는 통상적으로 최적 효율 및 특이성을 제공하도록 선택될 것이고, 그리고 일반적으로 약 50 내지 85℃, 통상적으로 약 55 내지 70℃, 그리고 더 통상적으로 약 60 내지 68℃의 범위 안에 있을 것이다. 일부 구체예에서, 어닐링 조건은 약 15 초 내지 30 분, 통상적으로 약 20 초 내지 5 분, 또는 약 30 초 내지 1 분의 범위 안에 있는 기간, 또는 약 30 초 동안 유지될 수 있다.
- [0253] 이러한 단계는 각 단계에 대한 온도 및 시간 길이의 변동 및 최적화를 갖는 각각의 어닐링 단계 및 연장 단계 중에서 한 가지를 임의적으로 포함할 수 있다. 2 단계 어닐링 및 연장에서, 어닐링 단계는 상기와 같이 진행하도록 허용된다. 주형 핵산에 프라이머의 어닐링 이후에, 반응 혼합물은 상기와 같이 프라이머 단부에 뉴클레오타이드의 중합화를 제공하는 데 충분한 조건이 더욱 진행될 것이다. 중합화 조건을 달성하기 위해, 반응 혼합물의 온도는 전형적으로 약 65 내지 75℃, 통상적으로 약 67 내지 73℃의 범위 안에 있는 온도로 상승되거나 또는 상기 온도에서 유지되고, 그리고 약 15 초 내지 20 분, 통상적으로 약 30 초 내지 5 분의 범위 안에 있는 기간 동안 유지될 것이다. 일부 구체예에서, 본원에서 개시된 방법은 별개의 어닐링과 연장 단계를 포함하지 않는다. 오히려, 이들 방법은 어닐링에 특이적으로 전용된 어떤 단계도 없이, 변성과 연장 단계를 포함한다.
- [0254] 변성, 어닐링 및 연장의 상기 주기는 전형적으로 유전자 증폭기로서 알려져 있는 자동화 장치를 이용하여 수행될 수 있다. 이용될 수 있는 유전자 증폭기는 본원의 다른 곳에서뿐만 아니라 U.S. 특허 번호 5,612,473; 5,602,756; 5,538,871; 5,475,610에서 설명되고; 이들의 개시는 본원에서 참조로서 편입된다.
- [0255] 본원에서 설명된 방법은 표적 핵산 서열을 검출하기 위한 비-PCR 기초된 적용에서 또한 이용될 수 있는데, 여기서 이런 표적은 고체 지지체 위에 고정될 수 있다. 핵산 서열을 고체 지지체 상에 고정시키는 방법은 Ausubel et al, eds. (1995) Current Protocols in Molecular Biology (Greene Publishing and Wiley-Interscience, NY)에서, 그리고 제조업체, 예를 들면, 막의 경우: Pall Corporation, Schleicher & Schuell; 자성 비드의 경우: Dynal; 배양 평판의 경우: Costar, Nalgenunc; 비드 어레이 플랫폼의 경우: Luminex 및 Becton Dickinson; 그리고 본원에서 제공된 구체예에 따라서 유용한 다른 지지체의 경우, CPG, Inc.에 의해 제공된 프로토콜에서 설명된다.
- [0256] 유사한 증폭 또는 검출/정량 결과를 야기하는, 다양한 시약의 정확한 양에서 및 PCR 또는 다른 적합한 증폭 절차에 대한 조건 (예를 들면, 완충액 조건, 순환 시간 등)에서 변동은 등가물인 것으로 고려된다. 한 구체예에서, 주제 qPCR 검출은 샘플 내에서 표적 핵산의 50개보다 적은 사본 (바람직하게는 25개보다 적은 사본, 더 바람직하게는 15개보다 적은 사본, 훨씬 바람직하게는 10개보다 적은 사본, 예를 들면, 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 사본)을 검출하는 민감도를 갖는다.
- [0257] 일부 구체예에서 상기 방법은 주형 RNA의 PCR 증폭을 수반할 수 있다. RNA 샘플로부터 DNA 오염을 제거하기 위해, DNA분해효소 처리가 수행될 수 있다. 표적 RNA는 역전사효소로 cDNA로 전환될 수 있고, 그리고 이러한 단계는 PCR 반응 내에서 이용된 동일한 프라이머 중에서 하나 또는 그 이상을 이용할 수 있다. 표적 cDNA는 예를 들면, 혈장으로부터 유래된 cDNA 또는 다른 cDNA를 증폭하기 위한 일관되고 반복적인 방법에 의해 증폭될 수 있다. 일부 구체예에서, cDNA에서 하나 또는 그 이상의 표적이 Taqman® 화학을 통해 증폭되고 정량될 수 있다. 이러한 프로토콜은 RNA 양을 검출하기 위한 유일하게 적합한 프로토콜이 아닐 수도 있다. 하지만, cDNA 합성과 증폭을 위한 일관된 프로토콜을 이용하는 것이 중요할 수 있는데, 그 이유는 프로토콜에서 변동이 궁극적인 결과에 대한 큰 효과를 나타낼 수 있기 때문이다.
- [0258] 일부 구체예에서, 제조업체의 프로토콜에 따라서 제공된 프라이머/프로브를 이용하여, Qiagen 검정 #QF00119602가 qPCR에 이용될 수 있다. Agilent의 Universal RNA가 qPCR에서 표준으로서 이용될 수 있다.
- [0259] 복수의 실행 전체에 대하여 결과를 표준화하는 데 RNA 표준이 이용될 수 있다. 이러한 표준은 상이한 희석도에서 실행될 수 있다. 일부 구체예에서 합성 표준이 이용될 수 있다. 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 마커에 대한 정상 범위 및 컷오프가 조사될 수 있고, 그리고 합성 표준이 획득되고 직접적으로 이용될 수 있거나, 또는 이들이 예측된 수준, 예컨대 마커의 예측된 수준과 유사한 수준에 있도록 희석되거나 또는 조합될 수 있다. 일부 구체예에서 합성 표준은 환자 샘플에서 예측된 수준의 크기 자릿수에서 또는 이러한 크기 자릿수 내에 (예를 들면, 10배 높은 또는 10배 낮은) 수준으로 존재한다. 일부 구체예에서 합성 표준은 환자 샘플에 대해 예측된 수준보다 5x의 차이 (5배 높은 또는 5배 낮은)에서 또는 이러한 차이 내에 존재한다. 일부 구체예에서 합성 표

준은 환자 샘플에 대해 예측된 수준보다 2x의 차이 (2배 높은 또는 2배 낮은)에서 또는 이러한 차이 내에 존재한다.

[0260] 많은 방법이 합성 표준에서 각 합성 RNA의 적합한 수준을 결정하는 데 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 이들을 대표하는 몇 가지 샘플이 실행되고 결과 (예를 들면, Ct 값 또는 표준에 대한 적합 값)가 기록될 수 있다. 각 합성 RNA는 이후, 동일한 검정이 진행될 수 있고, 그리고 결과가 샘플과 동일한 척도 (예를 들면, Ct 점수 또는 표준에 대한 적합 값)에서 계측될 수 있다. 검사 시에, 어떤 표준이 이용되어야 하는 지가 결정될 수 있다. 예를 들면, 50개 샘플이 실행될 수 있고, 그리고 33-38의 범위 안에 있는 Ct 점수가 소정의 유전자에 대해 획득된다. μL 당 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 개 사본의 표준은 24, 28, 32, 36, 40, 또는 44의 Ct 점수를 산출할 수 있다. 따라서, 검정 셋업 동안 수행된 10^4 및 10^3 으로의 희석도에서, 10^5 표준을 이용하는 것이 결정될 수 있다. 이러한 전략을 이용하면, 장래 샘플을 커버하는 데 단지 본래 표준 및 2가지 희석도만 필요하다. 동일한 멀티플렉스에서 다른 표준에 대한 적합한 농도를 선택하기 위해 유사한 방법이 이용될 수 있었다. 이러한 방법을 이용하면, 검정되는 각 전사체에 대해 상이한 농도가 이용될 수 있고, 따라서 비록 멀티플렉스에서 상이한 유전자 사이에 큰 불일치가 있긴 하지만, 단일 표준이 이용될 수 있다. 본원에서 개시된 방법을 이용함으로써, 폭넓은 범위의 측정 수준의 전사체가 표준 템플릿에서 감소된 숫자의 증폭 반응으로 검정될 수 있다.

[0261] 예를 들면, 만약 유전자 A가 100 내지 10,000개 사본 / μl 의 범위 안에 있고 유전자 B가 1,000,000 내지 100,000,000개 사본의 범위 안에 있는 것으로 예상되면, 10,000개 사본 유전자 A 및 100,000,000개 사본 유전자 B의 혼합된 합성 표준이 창출되고, 그것에 의하여 샘플에 대해 예상된 전체 범위를 커버하기 위해 10배 연속 희석에서 단지 3개의 표준만 필요할 수 있다. 이런 합성 표준을 이용하는 것은 일부 구체예에서, 유전자 a 및 유전자 B 둘 모두의 예상된 범위를 커버하는 표준 곡선을 산출하기 위해 qPCR 반응 플레이트에서 실행되어야 하는 표준 또는 대조 샘플의 숫자를 극적으로 감소시킬 수 있다. 이러한 방법은 또한, 연속 희석 동안 배합으로부터 피펫팅에 의해 도입된 작은 오차의 위험을 최소화할 것이다.

[0262] 일부 구체예에서, 역전사효소 PCR (RT-PCR)이 바이오마커의 RNA 수준, 예를 들면, mRNA 또는 miRNA 수준을 결정하는 데 이용될 수 있다. RT-PCR은 유전자 발현의 패턴을 특정화하고, 밀접하게 관련된 RNA를 식별하고, 그리고 RNA 구조를 분석하기 위해, 약물 처리와 함께 또는 이것 없이, 정상 조직 및 종양 조직 내에 상이한 샘플 모집단에서 바이오마커의 이런 RNA 수준을 비교하는 데 이용될 수 있다.

[0263] 전형적으로, 첫 번째 단계는 샘플로부터 RNA, 예를 들면, mRNA의 단리이다. 시작 물질은 인간 샘플, 예를 들면, 인간 종양 또는 종양 세포주 및 상응하는 정상 조직 또는 세포주, 각각으로부터 단리된 전체 RNA일 수 있다. 따라서 RNA는 샘플, 예를 들면, 종양 세포 또는 종양 세포주로부터 단리되고, 그리고 건강한 공여자로부터 한 데 모아진 DNA와 비교될 수 있다. 만약 mRNA의 출처가 일차 종양이면, mRNA가 추출될 수 있다.

[0264] RNA가 mRNA, miRNA 또는 다른 유형의 RNA를 포함하는지와 상관없이, RT-PCR에 의한 유전자 발현 프로파일링은 RNA 주형의 cDNA로의 역전사, 그 이후에 PCR 반응에서 증폭을 포함할 수 있다. 통상적으로 이용되는 역전사효소는 조류 골수아세포종 바이러스 역전사효소 (AMV-RT) 및 몰로니 뮐린 백혈병 바이러스 역전사효소 (MLLV-RT)를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 역전사 단계는 전형적으로, 상황 및 발현 프로파일링의 목적에 따라서, 특이적 프라이머, 무작위 육합체, 스템 루프 프라이머, 또는 올리고-dT 프라이머를 이용하여 시발된다. 예를 들면, 추출된 RNA는 제조업체의 사용설명서에 따라서, GeneAmp RNA PCR 키트 (Perkin Elmer, Calif., USA)를 이용하여 역전사될 수 있다. 파생된 cDNA는 이후, 후속 PCR 반응에서 주형으로서 이용될 수 있다.

[0265] 일부 구체예에서, PCR 단계는 5'-3' 뉴클레아제 활성을 갖지만, 3'-5' 교정 엔도뉴클레아제 활성을 결여하는 Taq DNA 중합효소를 이용한다. TaqMan PCR은 자체의 표적 앰플리콘에 결합된 혼성화 프로브를 가수분해하는 Taq 또는 Tth 중합효소의 5'-뉴클레아제 활성을 전형적으로 활용하지만, 동등한 5' 뉴클레아제 활성을 갖는 임의의 효소가 이용될 수 있다. 2개의 올리고뉴클레오타이드 프라이머가 PCR 반응을 대표하는 앰플리콘을 산출하는 데 이용된다. 세 번째 올리고뉴클레오타이드 또는 프로브가 이들 2개 PCR 프라이머 사이에 위치한 뉴클레오타이드 서열을 검출하도록 설계된다. 상기 프로브는 Taq DNA 중합효소 효소에 의해 비-연장 가능하고, 그리고 리포터 형광 염료 및 퀀처 형광 염료로 표지화된다. 리포터 염료로부터 임의의 레이저-유도된 방출은 이들 2가지 염료가 프로브 상에 있을 만큼 서로 가까이 위치될 때 퀀칭 염료에 의해 퀀칭된다. 증폭 반응 동안, Taq DNA 중합효소 효소는 프로브를 주형-의존성 방식으로 개열한다. 결과의 프로브 단편은 용해 상태에서 해리되고, 그리고 방출된 리포터 염료로부터 신호는 두 번째 형광단의 퀀칭 효과가 없다. 리포터 염료의 하나의 분자는 합성되는 각 새로운 분자에 대해 자유롭고, 그리고 퀀칭되지 않은 리포터 염료의 검출은 데이터의 정량적 해석을 위한 기초를 제공

한다.

[0266] 일부 구체예에서, TaqMan™ RT-PCR은 상업적으로 가용한 설비, 예컨대 예를 들면, ABI PRISM 7700™ Sequence Detection System™ (Perkin-Elmer-Applied Biosystems, Foster City, Calif., USA), 또는 라이트사이클러 (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany)를 이용하여 수행될 수 있다. 한 구체예에서, 5' 뉴클레아제 절차가 실시간 정량적 PCR 장치 예컨대 ABI PRISM 7700™ 서열 검출 System™에서 실행된다. 상기 시스템은 유전자증폭기, 레이저, 전하 결합 소자 (CCD), 카메라 및 컴퓨터로 구성된다. 상기 시스템은 유전자증폭기 상에서 96 웰 형식으로 샘플을 증폭한다. 증폭 동안, 레이저-유도된 형광 신호가 모든 96 웰에 대해 섬유 광학 케어블을 통해 실시간으로 수집되고 CCD에서 검출된다. 상기 시스템은 기기를 작동하고 데이터를 분석하기 위한 소프트웨어를 포함한다. TaqMan 데이터는 초기에 Ct, 또는 역치 주기로서 표현된다. 모든 주기 동안 형광 값이 기록되고, 그리고 증폭 반응에서 상기 지점까지 증폭된 산물의 양을 나타낸다. 형광 신호가 통계학적으로 유의한 것으로 처음 기록될 때 지점이 역치 주기 (Ct)이다.

[0267] 일부 구체예에서, 오차 및 샘플간 변동의 효과를 최소화하기 위해, 내부 표준을 이용하여 RT-PCR이 수행된다. 이상적인 내부 표준은 상이한 조직 사이에서 일정한 수준으로 발현되고, 그리고 실험 처리에 의해 영향을 받지 않는다. 유전자 발현의 패턴을 정규화하는 데 빈번하게 이용되는 RNA는 하우스키핑 유전자 글리세르알데히드-3-인산염-탈수소효소 (GAPDH) 및 β -액틴에 대한 mRNA이다.

[0268] 일부 구체예에서, 실시간 정량적 PCR은 이중-표지화 FRET 불소형성 프로브 (예를 들면, TaqMan™ 프로브)를 이용하여 PCR 산물 축적을 측정할 수 있다. 실시간 PCR은 정량적 경쟁 PCR (여기서 각 표적 서열에 대한 내부 경쟁자가 정규화에 이용된다), 그리고 샘플 내에 내포된 정규화 유전자, 또는 RT-PCR을 위한 하우스키핑 유전자를 이용한 정량적 비교 PCR 둘 모두와 양립성이다. 참조: 예를 들면 Held et al. (1996) Genome Research 6:986-994.

[0269] 일부 구체예에서, PCR 플랩 검정이 샘플 내에서 RNA를 측정하는 데 이용될 수 있다. 실시예 1에서 상세하게 논의된 바와 같이, QuARTS 및 LQAS/TELQAS 플랩 검정 기술은 중합효소-기반 표적 DNA 증폭 과정을 침습성 개열-기반 신호 증폭 과정과 조합한다. 샘플로부터 유래된 RNA의 정량을 위해 역전사 및 이들 플랩 검정 기술을 조합하는 검정이 아래에 설명된다.

[0270] iii. 유전자 발현 수준을 검출하는 대안적 방법

[0271] 일부 구체예에서, RNA 수준은 마이크로어레이, nCounter 또는 유사한 것에 혼성화를 통해 검정될 수 있다. 예를 들면, 차별적 발현 연구에서 통상적으로 이용되는 한 부류의 어레이는 마이크로어레이 또는 올리고뉴클레오타이드 어레이를 포함한다. 이들 어레이는 기질 상에서 직접적으로 합성되는 다수의 프로브를 활용하고, 그리고 상보성 혼성화의 원리에 근거하여 복합 RNA 또는 메시지 모집단을 규문하는 데 이용된다. 전형적으로, 이들 마이크로어레이는 관심되는 유전자 또는 뉴클레오타이드 서열의 선택된 영역에 걸쳐 있는 상대적으로 작은 길이 (20mer - 25mer)의 16 내지 20개 올리고뉴클레오타이드 프로브 쌍의 세트를 제공한다. 올리고뉴클레오타이드 어레이에서 이용된 프로브 쌍은 또한, 동일한 RNA 또는 메시지 가닥에 혼성화하도록 설계되는 완전 정합 및 부정합 프로브를 포함할 수 있다. 완전 정합 프로브는 관심되는 메시지에 완전히 상보적인 공지된 서열을 내포하고, 반면 부정합 프로브는 완전 정합 프로브와 상이한 적어도 하나의 부정합 뉴클레오타이드를 내포한다는 점을 제외하고, 자체의 서열에 대하여 완전 정합 프로브와 유사하다. 발현 분석 동안, 샘플 뉴클레오타이드 모집단으로부터 메시지의 혼성화 효율이 많은 메시지에 대한 발현 수준을 동시에 검증하고 정량하기 위해 완전 정합 및 부정합 프로브에 대하여 사정된다. 일부 구체예에서 전체 유전자 어레이가 마이크로어레이에 인쇄된다. 일부 구체예에서 표적 유전자 중에서 적어도 하나 및 참조 유전자 중에서 적어도 하나를 포함하는 유전자의 부분집합이 마이크로어레이 상에 포함된다.

[0272] 일부 구체예에서, Nanostring technologies에 의해 제안된 장치 예컨대 nCounter이 예를 들면, 분석을 용이하게 하는 데 이용될 수 있다. nCounter 분석 시스템은 완전히 자동화된 예비 스테이션, 디지털 분석기, CodeSet (분자 바코드), 그리고 분석을 수행하는 데 필요한 모든 시약과 소모성품목을 포함하는 통합 시스템이다. nCounter 시스템 상에서 분석은 하나의 단순 작업 흐름에서 용해 상태 혼성화, 혼성화후 처리, 디지털 데이터 획득, 그리고 정규화로 구성된다. 일부 구체예에서 상기 과정은 자동화된다. 일부 구체예에서 바코드화된 프로브의 맞춤 또는 예비 설계된 세트가 분석의 일부로서 시스템 제어의 포괄적인 세트와 예혼합될 수 있다.

[0273] 일부 구체예는 유전자 발현 수준을 검출하기 위한 제자리 혼성화 검정을 이용한다. 제자리 혼성화 검정에서, 세포가 고체 지지체, 전형적으로 유리 슬라이드에 고정된다. 일부 구체예에서, 세포는 열 또는 알칼리로 변성될

수 있다. 이들 세포는 이후, 표지화되는 특이적 프로브의 어닐링을 허용하기 위해 중간 온도에서 혼성화 용액과 접촉된다. 프로브는 바람직하게는, 방사성동위원소 또는 형광 리포터로 표지화된다.

[0274] 일부 구체예에서, FISH (형광 제자리 혼성화)는 고도의 서열 유사성이 보이는 서열의 부분에만 결합하는 형광 프로브를 이용한다. FISH는 세포에서 특정한 폴리뉴클레오티드 서열을 검출하고 국지화하기 위해 일부 구체예에서 이용되는 세포유전학적 기술이다. 예를 들면, FISH는 염색체상에서 DNA 서열을 검출하는 데 이용될 수 있다. FISH는 또한, 조직 샘플 내에 특정한 RNA, 예를 들면, mRNA를 검출하고 국지화하는 데 이용될 수 있다. FISH에서 고도의 서열 유사성이 보이는 특이적 뉴클레오티드 서열에 결합하는 형광 프로브가 이용된다. 형광 프로브가 결합되는 지의 여부 및 어디에 결합되는 지를 찾아내는 데 형광 현미경검사가 이용될 수 있다. 특이적 뉴클레오티드 서열, 예를 들면, 전위, 융합, 절단, 중복 및 다른 염색체 이상을 검출하는 것에 더하여, FISH는 세포와 조직 내에 특이적 유전자 사본수 및/또는 유전자 발현의 시공간 패턴을 규정하는 데 도움을 줄 수 있다.

[0275] 일부 구체예에서, 비교 유전체 혼성화 (CGH)는 샘플로부터 유래된 상이한 DNA 또는 RNA 서열의 사본수, 또는 하나의 샘플에서 상이한 DNA 또는 RNA 서열의 사본수를 다른 샘플에서 실제적으로 동일한 서열의 사본수와 비교하기 위해 제자리 혼성화의 동역학을 이용한다. CGH의 많은 유용한 적용에서, DNA 또는 RNA는 개별 세포 또는 세포 모집단으로부터 단리된다. 비교는 정성적 또는 정량적일 수 있다. 사본수 정보는 참조 유전체 상에서 상이한 위치 사이에 혼성화 신호의 강도의 비교로부터 유래한다. CGH의 방법, 기술 및 적용은 U.S. 특허 번호 6,335,167에서 및 U.S. 출원 일련 번호 60/804,818에서 설명되고, 이들의 관련한 부분은 본원에서 참조로서 편입된다.

[0276] *B. 정량적 단백질 분석*

[0277] 일부 구체예에서, 유전자 발현의 수준은 단백질 발현 수준을 검출함으로써 결정된다. 단백질-기반 검출 기술은 면역침화성 검정을 포함한다. 특이적 단백질을 용액 샘플로부터 면역침전시키거나, 또는 예를 들면, 폴리아크릴아미드 겔에 의해 분리된 단백질을 면역블롯팅하기 위해, 항체가 이용될 수 있다. 면역세포화학적 방법 역시 조직 또는 세포에서 특이적 단백질 다형성을 검출하는 데 이용될 수 있다.

[0278] 다른 구체예에서, 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA), 방사면역검정 (RIA), 면역방사 검정 (IRMA) 및 면역효소 검정 (IEMA), 그리고 단일클론 또는 다중클론 항체를 이용한 샌드위치 검정을 비롯한, 대안적 항체-기반 기술이 또한 이용될 수 있다. 예를 들면, U.S. 특허 번호 4,376,110 및 4,486,530을 참조하는데, 이들 둘 모두 본원에서 참조로서 편입된다.

[0279] 일부 구체예에서, 면역조직화학이 단백질 수준을 검출하는 데 이용된다. 면역조직화학 (IHC)은 세포에서 조직 결합 항체의 항원 (예를 들면, 단백질)을 조직 내에 항원으로 특이적으로 국지화하는 과정이다. 항원 결합 항체는 예를 들면, 가시화를 통해 자신의 검출을 가능하게 하는 태그에 접합되거나 또는 융합될 수 있다. 일부 구체예에서, 태그는 컬러-생성 반응을 촉매할 수 있는 효소, 예컨대 알칼리 인산분해효소 또는 양고추냉이 과산화효소이다. 상기 효소는 항체에 융합될 수 있거나, 또는 예를 들면, 비오틴-아비딘 시스템을 이용하여 비공유적으로 결합될 수 있다. 대안으로, 항체는 형광단, 예컨대 플루오레세인, 로다민, DyLight Fluor 또는 Alexa Fluor로 태깅될 수 있다. 항원 결합 항체는 직접적으로 태깅될 수 있거나, 또는 이것은 태그를 보유하는 검출 항체에 의해 그 자체로 인식될 수 있다. IHC를 이용하면, 하나 또는 그 이상의 단백질이 검출될 수 있다. 유전자 산물의 발현은 대조 수준과 비교하여 이의 염색 강도에 관련될 수 있다.

[0280] 일부 구체예에서, 액체 크로마토그래피 또는 질량 분광분석이 단백질 수준을 검출하는 데 이용될 수 있다. HPLC-현미경검사 탠덤 질량 분광분석 기술에서, 단백질분해성 절단이 단백질에서 수행되고, 그리고 결과의 펩티드 혼합물이 역상 크로마토그래피 분리에 의해 분리된다. 탠덤 질량 분광분석이 이후, 수행되고, 그리고 그것으로부터 수집된 데이터가 분석된다. 참조: Gatlin et al., Anal. Chem., 72:757-763 (2000).

[0281] 이들 방법을 수행하는 데 필요한 유전자 발현 수준 데이터를 획득하기 위한, 그리고 본원에서 개시된 조성물과 키트에서 이용을 위한 다수의 방법과 장치뿐만 아니라 어떤 단일 데이터 추적 방법 또는 장치도 제한하는 것으로 간주되지 않아야 한다.

[0282] **II. 메틸화 마커 분석**

[0283] 일부 구체예에서, 마커는 100개 또는 그 이하의 염기의 영역이거나, 마커는 500개 또는 그 이하의 염기의 영역이거나, 마커는 1000개 또는 그 이하의 염기의 영역이거나, 마커는 5000개 또는 그 이하의 염기의 영역이거나, 또는 일부 구체예에서, 마커는 하나의 염기이다. 일부 구체예에서 마커는 높은 CpG 밀도 프로모터 내에 있다.

- [0284] 본 기술은 샘플 유형에 의해 제한되지 않는다. 예를 들면, 일부 구체예에서 샘플은 대변 샘플, 조직 샘플, 객담, 혈액 샘플 (예를 들면, 혈장, 혈청, 전혈), 배출물, 또는 소변 샘플이다.
- [0285] 게다가, 본 기술은 메틸화 상태를 결정하는 데 이용된 방법에서 제한되지 않는다. 일부 구체예에서 검정하는 것은 메틸화 특이적 중합효소 연쇄 반응, 핵산 염기서열분석, 질량 분광분석, 메틸화 특이적 뉴클레아제, 질량-기반 분리, 또는 표적 포획을 이용하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정하는 것은 메틸화 특이적 올리고뉴클레오티드의 이용을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 기술은 메틸화 상태를 결정하기 위한 대량으로 병렬 염기서열분석 (예를 들면, 차세대 염기서열분석), 예를 들면, 합성에 의한 염기서열분석, 실시간 (예를 들면, 단일-분자) 염기서열분석, 비드 유제 염기서열분석, 나노포어 염기서열분석 등을 이용한다.
- [0286] 본 기술은 차별적으로 메틸화된 영역 (DMR)을 검출하기 위한 시약을 제공한다. 일부 구체예에서, 올리고뉴클레오티드가 제공되는데, 상기 올리고뉴클레오티드는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *SIPR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*; 또는 *ZNF781*, *BARX1* 및 *EMX1*로 구성된 군; *SHOX2*, *SOBP*, *ZNF781*, *CYP26C1*, *SUCLG2* 및 *SKI*로 구성된 군; *SLC12A8*, *KLHDC7B*, *PARP15*, *OPLAH*, *BCL2L11*, *MAX.chr12.526*, *HOXB2* 및 *EMX1*로 구성된 군; *SHOX2*, *SOBP*, *ZNF781*, *BTACT*, *CYP26C1* 및 *DLX4*로 구성된 군; *SHOX2*, *SOBP*, *ZNF781*, *CYP26C1*, *SUCLG2* 및 *SKI*로 구성된 군; *SOBP* 및/또는 *HOXA9*와 함께, *ZNF781*, *BARX1* 및 *EMX1*로 구성된 군; *BARX1*, *FLJ45983*, *SOBP*, *HOPX*, *IFFO1* 및 *ZNF781*로 구성된 군; 그리고 *BARX1*, *FAM59B*, *HOXA9*, *SOBP* 및 *IFFO1*로 구성된 군을 규정하는 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 마커에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역에 상보적인 서열을 포함한다.
- [0287] 키트 구체예, 예를 들면, 중아황산염 시약; 및 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *SIPR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역을 포함하고 압 (예를 들면, 폐압)을 앓지 않는 개체와 연관된 메틸화 상태를 갖는 대조 핵산을 포함하는 키트가 제공된다. 일부 구체예에서, 키트는 중아황산염 시약 및 본원에서 설명된 바와 같은 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 키트는 중아황산염 시약; 그리고 이런 염색체 영역으로부터 유래된 서열을 포함하고 폐압을 앓는 개체와 연관된 메틸화 상태를 갖는 대조 핵산을 포함한다.
- [0288] 본 기술은 조성물 (예를 들면, 반응 혼합물)의 구체예에 관련된다. 일부 구체예에서 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *SIPR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역을 포함하는 핵산, 그리고 중아황산염 시약을 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 구체예는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *SIPR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역을 포함하는 핵산, 그리고 본원에서 설명된 바와 같은 올리고뉴클레오티드

를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구체예는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역을 포함하는 핵산, 그리고 메틸화 특이적 제한 효소를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구체예는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역을 포함하는 핵산, 그리고 중합효소를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0289] 개체로부터 획득된 샘플 내에 신생물 (예를 들면, 폐 암종)을 선별검사하기 위한 추가의 관련된 방법 구체예, 예를 들면, *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역에서 염기를 포함하는 샘플 내에 마커의 메틸화 상태를 결정하는 단계; 개체 샘플로부터 유래된 마커의 메틸화 상태를 폐암을 앓지 않는 개체로부터 획득된 정상적인 대조 샘플로부터 유래된 마커의 메틸화 상태와 비교하는 단계; 및 개체 샘플 및 정상적인 대조 샘플의 메틸화 상태에서 차이의 신뢰 구간 및/또는 p 값을 결정하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 일부 구체예에서, 신뢰 구간은 90%, 95%, 97.5%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9% 또는 99.99%이고, 그리고 p 값은 0.1, 0.05, 0.025, 0.02, 0.01, 0.005, 0.001, 또는 0.0001이다. 방법의 일부 구체예는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *S1PR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역을 포함하는 핵산을 중아황산염 시약과 반응시켜, 중아황산염-반응된 핵산을 생산하는 단계; 중아황산염-반응된 핵산을 염기서열분석하여 중아황산염-반응된 핵산의 뉴클레오티드 서열을 제공하는 단계; 중아황산염-반응된 핵산의 뉴클레오티드 서열을 폐암을 앓지 않는 개체로부터 획득된 염색체 영역을 포함하는 핵산의 뉴클레오티드 서열과 비교하여 이들 두 서열에서 차이를 확인하는 단계; 및 차이가 존재할 때, 개체가 신생물을 앓는 것으로 확인하는 단계를 제공한다.

[0290] 개체로부터 획득된 샘플 내에 폐암을 선별검사하기 위한 시스템이 본 기술에 의해 제공된다. 시스템의 예시적인 구체예는 예를 들면, 개체로부터 획득된 샘플 내에 폐암을 선별검사하기 위한 시스템을 포함하는데, 상기 시스템은 샘플의 메틸화 상태를 결정하도록 설정된 분석 구성요소, 샘플의 메틸화 상태를 데이터베이스에서 기록된 대조 샘플 또는 참조 샘플 메틸화 상태와 비교하도록 설정된 소프트웨어 구성요소, 그리고 사용자에게 암-연관된 메틸화 상태를 경고하도록 설정된 경고 구성요소를 포함한다. 경고는 일부 구체예에서, 복수의 검정 (예를 들면, 복수의 마커, 예를 들면, *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*,

SLC12A8, BHLHE23, CAPN2, FGF14, FLJ34208, BIN2_Z, DNMT3A, FERMT3, NFIX, S1PR4, SKI, SUCLG2, TBX15 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역의 메틸화 상태를 결정하고, 그리고 복수의 결과에 근거하여 보고를 위한 값 또는 결과를 계산함)으로부터 결과를 접수하는 소프트웨어 구성요소에 의해 결정된다. 일부 구체예는 사용자 (예를 들면, 예컨대 의사, 간호사, 임상 의 등)에게 보고를 위한 값 또는 결과 및/또는 경고를 계산하는 데 이용을 위해 본원에서 제공된 *EMX1, GRIND2, ANKRD13B, ZNF781, ZNF671, IFFO1, HOPX, BARX1, HOXA9, LOC100129726, SPOCK2, TSC22D4, MAX.chr8.124, RASSF1, ST8SIA1, NKX6_2, FAM59B, DIDO1, MAX_Chr1.110, AGRN, SOBP, MAX_chr10.226, ZMIZ1, MAX_chr8.145, MAX_chr10.225, PRDM14, ANGPT1, MAX.chr16.50, PTGDR_9, DOCK2, MAX_chr19.163, ZNF132, MAX chr19.372, TRH, SP9, DMRTA2, ARHGEF4, CYP26C1, PTGDR, MATK, BCAT1, PRKCB_28, ST8SIA_22, FLJ45983, DLX4, SHOX2, HOXB2, MAX.chr12.526, BCL2L11, OPLAH, PARP15, KLHDC7B, SLC12A8, BHLHE23, CAPN2, FGF14, FLJ34208, BIN2_Z, DNMT3A, FERMT3, NFIX, S1PR4, SKI, SUCLG2, TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 각 염색체 영역과 연관된 가중된 파라미터의 데이터베이스를 제공한다. 일부 구체예에서 복수의 검정으로부터 모든 결과가 보고되고, 그리고 일부 구체예에서, 개체에서 폐암 위험을 표시하는, 복수의 검정으로부터 하나 또는 그 이상의 결과의 복합에 기초된 점수, 값 또는 결과를 제공하기 위해 하나 또는 그 이상의 결과가 이용된다.

[0291] 시스템의 일부 구체예에서, 샘플은 *EMX1, GRIND2, ANKRD13B, ZNF781, ZNF671, IFFO1, HOPX, BARX1, HOXA9, LOC100129726, SPOCK2, TSC22D4, MAX.chr8.124, RASSF1, ST8SIA1, NKX6_2, FAM59B, DIDO1, MAX_Chr1.110, AGRN, SOBP, MAX_chr10.226, ZMIZ1, MAX_chr8.145, MAX_chr10.225, PRDM14, ANGPT1, MAX.chr16.50, PTGDR_9, DOCK2, MAX_chr19.163, ZNF132, MAX chr19.372, TRH, SP9, DMRTA2, ARHGEF4, CYP26C1, PTGDR, MATK, BCAT1, PRKCB_28, ST8SIA_22, FLJ45983, DLX4, SHOX2, HOXB2, MAX.chr12.526, BCL2L11, OPLAH, PARP15, KLHDC7B, SLC12A8, BHLHE23, CAPN2, FGF14, FLJ34208, BIN2_Z, DNMT3A, FERMT3, NFIX, S1PR4, SKI, SUCLG2, TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역을 포함하는 핵산을 포함한다. 일부 구체예에서 상기 시스템은 핵산을 단리하기 위한 구성요소, 샘플을 수집하기 위한 구성요소, 예컨대 대변 샘플을 수집하기 위한 구성요소를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 시스템은 *EMX1, GRIND2, ANKRD13B, ZNF781, ZNF671, IFFO1, HOPX, BARX1, HOXA9, LOC100129726, SPOCK2, TSC22D4, MAX.chr8.124, RASSF1, ST8SIA1, NKX6_2, FAM59B, DIDO1, MAX_Chr1.110, AGRN, SOBP, MAX_chr10.226, ZMIZ1, MAX_chr8.145, MAX_chr10.225, PRDM14, ANGPT1, MAX.chr16.50, PTGDR_9, DOCK2, MAX_chr19.163, ZNF132, MAX chr19.372, TRH, SP9, DMRTA2, ARHGEF4, CYP26C1, PTGDR, MATK, BCAT1, PRKCB_28, ST8SIA_22, FLJ45983, DLX4, SHOX2, HOXB2, MAX.chr12.526, BCL2L11, OPLAH, PARP15, KLHDC7B, SLC12A8, BHLHE23, CAPN2, FGF14, FLJ34208, BIN2_Z, DNMT3A, FERMT3, NFIX, S1PR4, SKI, SUCLG2, TBX15* 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역을 포함하는 핵산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서 데이터베이스는 폐암을 앓지 않는 개체로부터 획득된 핵산 서열을 포함한다. 핵산, 예를 들면, 한 세트의 핵산이 또한 제공되는데, 각 핵산은 *EMX1, GRIND2, ANKRD13B, ZNF781, ZNF671, IFFO1, HOPX, BARX1, HOXA9, LOC100129726, SPOCK2, TSC22D4, MAX.chr8.124, RASSF1, ST8SIA1, NKX6_2, FAM59B, DIDO1, MAX_Chr1.110, AGRN, SOBP, MAX_chr10.226, ZMIZ1, MAX_chr8.145, MAX_chr10.225, PRDM14, ANGPT1, MAX.chr16.50, PTGDR_9, DOCK2, MAX_chr19.163, ZNF132, MAX chr19.372, TRH, SP9, DMRTA2, ARHGEF4, CYP26C1, PTGDR, MATK, BCAT1, PRKCB_28, ST8SIA_22, FLJ45983, DLX4, SHOX2, HOXB2, MAX.chr12.526, BCL2L11, OPLAH, PARP15, KLHDC7B, SLC12A8, BHLHE23, CAPN2, FGF14, FLJ34208, BIN2_Z, DNMT3A, FERMT3, NFIX, S1PR4, SKI, SUCLG2, TBX15*, 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역을 포함하는 서열을 갖는다.

[0292] 관련된 시스템 구체예는 설명된 바와 같은 핵산의 세트, 그리고 핵산의 세트와 연관된 핵산 서열의 데이터베이스를 포함한다. 일부 구체예는 중아황산염 시약을 더욱 포함한다. 그리고, 일부 구체예는 핵산 서열분석기를 더욱 포함한다.

[0293] 일정한 구체예에서, 인간 개체로부터 획득된 샘플을 특징화하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 a) 인간 개체로부터 샘플을 획득하는 단계; b) 샘플 내에서 하나 또는 그 이상의 마커의 메틸화 상태를 검정하되, 상기 마커가 마커의 하기 군: *EMX1, GRIND2, ANKRD13B, ZNF781, ZNF671, IFFO1, HOPX, BARX1, HOXA9, LOC100129726, SPOCK2, TSC22D4, MAX.chr8.124, RASSF1, ST8SIA1, NKX6_2, FAM59B, DIDO1, MAX_Chr1.110, AGRN, SOBP, MAX_chr10.226, ZMIZ1, MAX_chr8.145, MAX_chr10.225, PRDM14, ANGPT1, MAX.chr16.50, PTGDR_9, DOCK2, MAX_chr19.163, ZNF132, MAX chr19.372, TRH, SP9, DMRTA2, ARHGEF4, CYP26C1, PTGDR, MATK, BCAT1, PRKCB_28, ST8SIA_22, FLJ45983, DLX4, SHOX2, HOXB2, MAX.chr12.526, BCL2L11, OPLAH, PARP15, KLHDC7B,*

SLC12A8, BHLHE23, CAPN2, FGF14, FLJ34208, BIN2_Z, DNMT3A, FERMT3, NFIX, S1PR4, SKI, SUCLG2, TBX15 및 *ZNF329*, 바람직하게는 상기 언급된 바와 같은 마커의 임의의 부분집합에서 선택되는 주해를 갖는 염색체 영역에서 염기를 포함하는 단계; 및 c) 검정된 마커의 메틸화 상태를 신생물을 낳지 않는 개체에서 검정된 마커의 메틸화 상태와 비교하는 단계를 포함한다.

[0294] 일부 구체예에서, 본 기술은 생물학적 샘플 내에서 본원에서 확인된 마커 중에서 한 가지 또는 그 이상의 존재 및 메틸화 상태를 사정하는 것에 관련된다. 이들 마커는 본원에서 논의된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 차별적으로 메틸화된 영역 (DMR)을 포함한다. 메틸화 상태가 본 기술의 구체예에서 사정된다. 따라서, 본원에서 제공된 기술은 유전자의 메틸화 상태가 계속되는 방법에서 제한되지 않는다. 예를 들면, 일부 구체예에서 메틸화 상태는 유전체 스캐닝 방법에 의해 계속된다. 예를 들면, 한 가지 방법은 제한 랜드마크 유전체 스캐닝 (Kawai et al. (1994) *Mol. Cell. Biol.* **14**: 7421-7427)을 수반하고, 그리고 다른 실례는 메틸화 특이적 임의적으로 시발된 PCR (Gonzalzo et al. (1997) *Cancer Res.* **57**: 594-599)을 수반한다. 일부 구체예에서, 특정한 CpG 부위에서 메틸화 패턴에서 변화는 메틸화 특이적 제한 효소, 특히 메틸화 민감성 효소로 유전체 DNA의 절단, 그 이후에 관심 영역의 서던 분석 (절단-서던 방법)에 의해 모니터링된다. 일부 구체예에서, 메틸화 패턴에서 변화를 분석하는 것은 하나 또는 그 이상의 메틸화 특이적 제한 효소로 유전체 DNA의 절단, 그리고 분석된 영역의 메틸화 상태를 표시하는 개열 또는 비-개열에 대해 영역의 분석을 포함하는 과정을 수반한다. 일부 구체예에서, 처리된 DNA의 분석은 PCR 증폭을 포함하고, 증폭 결과는 상기 DNA가 제한 효소에 의해 개열되었는지의 여부를 표시한다. 일부 구체예에서, 관심되는 DNA의 메틸화 상태를 분석하기 위해, 생산된 증폭 산물의 존재, 부재, 양, 크기 및 서열 중에서 한 가지 또는 그 이상이 사정된다. 참조: 예를 들면, Melnikov, et al., (2005) *Nucl. Acids Res.* **33**(10):e93; Hua, et al., (2011) *Exp. Mol. Pathol.* **91**(1):455-60; 및 Singer-Sam et al. (1990) *Nucl. Acids Res.* **18**: 687. 이에 더하여, DNA의 중아황산염 처리를 메틸화 분석을 위한 시작점으로서 활용하는 다른 기술이 보고되었다. 이들은 메틸화 특이적 PCR (MSP) (Herman et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 9821-9826) 및 중아황산염-전환된 DNA로부터 증폭된 PCR 산물의 제한 효소 절단 (Sadri and Hornsby (1996) *Nucl. Acids Res.* **24**: 5058-5059; 및 Xiong and Laird (1997) *Nucl. Acids Res.* **25**: 2532-2534)을 포함한다. 유전자 돌연변이의 검출 (Kuppuswamy et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**: 1143-1147) 및 대립유전자 특이적 발현의 정량 (Szabo and Mann (1995) *Genes Dev.* **9**: 3097-3108; 및 Singer-Sam et al. (1992) *PCR Methods Appl.* **1**: 160-163)을 위한 PCR 기술이 개발되었다. 이런 기술은 PCR-산출된 주형에 어닐링하고 검정되는 단일 뉴클레오티드의 5' 직전에 종로되는 내부 프라이머를 이용한다. U.S. 특허 번호 7,037,650에서 설명된 바와 같은 "정량적 Ms-SNuPE 검정"을 이용한 방법이 일부 구체예에서 이용된다.

[0295] 일부 구체예에서, 마커의 메틸화 상태를 검정하기 위한 설계는 검정 기술에 의해 규문되는 마커의 표적 영역 내에 개별 CpG 좌위에서 배경 메틸화를 분석하는 것을 포함한다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 질환, 예를 들면, 암으로 진단된 개체로부터 단리된 샘플로부터 유래된 마커 DNA의 다수의 개별 사본 (예를 들면, >10,000, 바람직하게는 >100,000개의 개별 사본)이 메틸화의 빈도를 결정하기 위해 조사되고, 그리고 이들 데이터는 질환이 없는 개체로부터 단리된 샘플로부터 유래된 마커 DNA의 유사하게 다수의 개별 사본과 비교된다. 더 높은 신호 대 잡음, 예를 들면, 더 높은 검출가능 메틸화 및/또는 감소된 배경 메틸화를 갖는 CpG 좌위가 검정 설계에서 이용을 위해 선택될 수 있도록, 샘플로부터 유래된 마커 DNA 내에 개별 CpG 좌위에서 질환 연관 메틸화의 빈도 및 배경 메틸화의 빈도가 비교될 수 있다. 예를 들면, U.S. 특허 번호 9,637,792 및 10,519,510을 참조하는데, 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입된다. 일부 구체예에서, 모든 CpG 좌위가 검정 결과에 근거하여 "메틸화된" 또는 "메틸화되지 않는"으로 분류되는 마커에 대한 미리 결정된 메틸화 상태를 갖도록 (예를 들면, 모두가 메틸화되거나 또는 어느 것도 메틸화되지 않도록), 높은 신호 대 잡음 CpG 좌위의 군 (예를 들면, 마커 영역 내에 2, 3, 4, 5개, 또는 그 이상의 개별 CpG 좌위)이 검정에 의해 동시규문된다.

[0296] 메틸화 상태의 평가 시에, 메틸화 상태는 종종, 특정 부위를 포함하는 샘플 내에 DNA의 전체 모집단에 비하여 특정 부위에서 (예를 들면, 단일 뉴클레오티드에서, 특정 영역 또는 좌위에서, 관심되는 더 긴 서열에서, 예를 들면, DNA의 ~100-bp, 200-bp, 500-bp, 1000-bp 하위서열 또는 그 이상까지) 메틸화되는 DNA의 개별 가닥의 비율 또는 백분율로서 표현된다. 전통적으로, 비메틸화된 핵산의 양은 교정기를 이용한 PCR에 의해 결정된다. 이후, 공지된 양의 DNA가 중아황산염 처리되고, 그리고 결과의 메틸화 특이적 서열이 실시간 PCR 또는 다른 지수적 증폭 중 어느 한 가지, 예를 들면, QuARTS 검정 (예를 들면, U.S. 특허 번호 8,361,720; 8,715,937; 8,916,344; 9,212,392, 그리고 U.S. 특허 출원 일련 번호 15/841,006에 의해 제공된 바와 같음)을 이용하여 결정된다.

[0297] 예를 들면, 일부 구체예에서, 방법은 외부 표준을 이용함으로써 비메틸화된 표적에 대한 표준 곡선을 산출하는

단계를 포함한다. 표준 곡선은 적어도 2개의 지점으로부터 구축되고, 그리고 비메틸화된 DNA에 대한 실시간 Ct 값을 공지된 정량적 표준에 관련시킨다. 이후, 메틸화된 표적에 대한 두 번째 표준 곡선이 적어도 2개의 지점 및 외부 표준으로부터 구축된다. 이러한 두 번째 표준 곡선은 메틸화된 DNA에 대한 Ct를 공지된 정량적 표준에 관련시킨다. 그 다음, 검사 샘플 Ct 값이 메틸화된 및 비메틸화된 모집단에 대해 결정되고, 그리고 DNA의 유전체 당량이 첫 2가지 단계에 의해 생성된 표준 곡선으로부터 계산된다. 관심되는 부위에서 메틸화의 백분율은 모집단 내에 DNA의 총량에 비하여 메틸화된 DNA의 양, 예를 들면, (메틸화된 DNA의 숫자) / (메틸화된 DNA의 숫자 + 비메틸화된 DNA의 숫자) x 100으로부터 계산된다.

[0298] 이들 방법을 실시하기 위한 조성물과 키트 역시 본원에서 제공된다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 마커에 대해 특이적인 시약 (예를 들면, 프라이머, 프로브)이 단독으로 또는 세트 (예를 들면, 복수의 마커를 증폭하기 위한 프라이머 쌍의 세트)로 제공된다. 검출 검정을 수행하기 위한 추가 시약 (예를 들면, QuARTS, PCR, 염기서열분석, 중아황산염, 또는 다른 검정을 수행하기 위한 효소, 완충액, 양성 및 음성 대조)이 또한 제공될 수 있다. 일부 구체예에서, 방법을 수행하는 데 필요한, 충분한, 또는 유용한 하나 또는 그 이상의 시약을 내포하는 키트가 제공된다. 시약을 내포하는 반응 혼합물 역시 제공된다. 반응 혼합물을 완성하기 위해서로 추가되고 및/또는 검사 샘플에 추가될 수 있는 복수의 시약을 내포하는 마스터 믹스 시약 세트가 더욱 제공된다.

[0299] 이들 검정 기술에 적합한, DNA를 분리하기 위한 방법은 당해 분야에서 공지된다. 특히, 일부 구체예는 본원에서 온전히 참조로서 편입되는 U.S. 특허 출원 일련 번호 13/470,251 ("Isolation of Nucleic Acids")에서 설명된 바와 같은 핵산의 분리를 포함한다.

[0300] 유전체 DNA는 상업적으로 가용한 키트의 이용을 비롯한, 임의의 수단에 의해 분리될 수 있다. 간단히 말하면, 관심되는 DNA가 세포 막에 의해 캡슐화되는 경우에, 생물학적 샘플은 일반적으로 효소적, 화학적 또는 기계적 수단에 의해 파괴되고 용해된다. 이후, DNA 용액에서 예를 들면, 프로테이나아제 K로 절단에 의해, 단백질 및 다른 오염체가 청소될 수 있다. 이후, 유전체 DNA가 상기 용액으로부터 회수된다. 이것은 염석, 유기 추출, 또는 고체상 지지체에 DNA의 결합을 비롯한 다양한 방법에 의하여 실행될 수 있다. 방법의 선택은 시간, 비용, 그리고 DNA의 필요한 양을 비롯한 여러 인자에 의해 영향을 받을 것이다. 신생물 물질 또는 전신생물 물질을 포함하는 모든 임상적 샘플 유형, 예를 들면, 세포주, 조직학적 슬라이드, 생검, 파란된 포매된 조직, 체액, 대변, 결장 배출액, 소변, 혈액 혈장, 혈청, 전혈, 분리된 혈액 세포, 혈액으로부터 분리된 세포, 그리고 이들의 조합이 본원 발명 방법에서 이용에 적합하다.

[0301] 본 기술은 샘플을 준비하고 검사를 위한 핵산을 제공하는 데 이용된 방법에서 제한되지 않는다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 예를 들면, U.S. 특허 출원 일련 번호 61/485386에서 상술된 바와 같은 직접적인 유전자 포획을 이용하여, 또는 관련된 방법에 의해, 대변 샘플로부터 또는 혈액으로부터 또는 혈장 샘플로부터 DNA가 분리된다.

[0302] 본 기술은 폐암과 연관될 수 있거나, 또는 폐암의 부재를 확립하기 위해 조사될 수 있는 임의의 샘플의 분석에 관계한다. 예를 들면, 일부 구체예에서 샘플은 환자로 부터 획득된 조직 및/또는 생물학적 유체를 포함한다. 일부 구체예에서, 샘플은 분비물을 포함한다. 일부 구체예에서, 샘플은 객담, 혈액, 혈청, 혈장, 위 분비물, 폐 조직 샘플, 폐 세포, 또는 대변으로부터 회수된 폐 DNA를 포함한다. 일부 구체예에서, 개체는 인간이다. 이런 샘플은 당해 분야에서 공지된, 예컨대 담당자에게 명백할 수 많은 수단에 의해 획득될 수 있다.

[0303] A. 폐암을 검출하기 위한 메틸화 검정

[0304] 후보 메틸화 DNA 마커가 선택된 폐암 사례 및 폐 대조 조직의 비편향된 전체 메틸롬 염기서열분석에 의해 확인되었다. 상위 마커 후보는 119명의 대조 (이들 중에서 37명은 양성 결절을 가졌다) 및 모든 폐암 아형을 포괄하는 136명의 사례를 포함하는 255명의 독립된 환자에서 더욱 평가되었다. 환자 조직 샘플로부터 추출된 DNA는 중아황산염 처리되고, 그리고 이후 후보 마커 및 정규화 유전자로서 β -액틴 (ACTB)이 정량적 대립유전자 특이적 실시간 표적 및 신호 증폭 (QuARTS 증폭)에 의해 검정되었다. QuARTS 검정 화학은 메틸화 마커 선택 및 선별검사에 대한 높은 식별을 산출한다.

[0305] 개별 마커 후보의 수신자 조작 특성 분석에서, 곡선 아래 면적 (AUC)은 0.512 내지 0.941의 범위 안에 있었다. 100% 특이성에서, 8개의 메틸화 마커 (*SLC12A8*, *KLHDC7B*, *PARP15*, *OPLAH*, *BCL2L11*, *MAX.12.526*, *HOXB2* 및 *EMX1*)의 통합 패널은 폐암의 모든 아형에 대하여 98.5%의 민감도를 산출하였다. 게다가, 이들 8개의 마커 패널을 이용하면, 양성 폐 결절이 가양성을 나타내지 않았다.

[0306] B. 메틸화 검출 검정 및 키트

[0307] 본원에서 설명된 마커는 다양한 메틸화 검출 검정에서 용도를 발견한다. 5-메틸시토신의 존재에 대해 핵산을 분석하기 위해 가장 빈번하게 이용되는 방법은 DNA에서 5-메틸시토신의 검출을 위한 Frommer 등에 의해 설명된 중아황산염 방법 (본원에서 모든 점에서 명시적으로 온전히 참조로서 편입되는 Frommer et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 1827-31) 또는 이들의 변이에 기초된다. 5-메틸시토신을 매핑하는 중아황산염 방법은 시토신은 아황산수소염 이온 (중아황산염으로서 또한 알려져 있음)과 반응하지만, 5-메틸시토신은 그렇지 않다는 관찰 결과에 기초된다. 반응은 통상적으로, 하기 단계에 따라서 수행된다: 먼저, 시토신이 아황산수소염과 반응하여 술폰화된 시토신을 형성한다. 그 다음, 술폰화된 반응 중간체의 자연발생적 탈아미노화가 술폰화된 우라실을 야기한다. 최종적으로, 술폰화된 우라실이 알칼리성 조건하에 탈술폰화되어 우라실을 형성한다. 우라실은 아데닌과 염기쌍을 이루고 (따라서 티민처럼 행동하고), 반면 5-메틸시토신은 구아닌과 염기쌍을 이루기 (따라서 시토신처럼 행동하기) 때문에, 검출이 가능하다. 이것으로 예를 들면, 중아황산염 유전체 염기서열분석 (Grigg G, & Clark S, *Bioessays* (1994) 16: 431-36; Grigg G, *DNA Seq.* (1996) 6: 189-98)에 의해, 예를 들면 U.S. 특허 번호 5,786,146에서 개시된 바와 같은 메틸화 특이적 PCR (MSP)에 의해, 또는 서열 특이적 프로브 개열을 포함하는 검정, 예를 들면, QuARTS 플랩 엔도뉴클레아제 검정 (참조: 예를 들면, Zou et al. (2010) "Sensitive quantification of methylated markers with a novel methylation specific technology" *Clin Chem* 56: A199; 및 U.S. 특허 번호 8,361,720; 8,715,937; 8,916,344; 9,212,392)을 이용하여, 비메틸화된 시토신으로부터 메틸화된 시토신의 식별이 가능하다.

[0308] 일부 전통적인 기술은 분석되는 DNA를 아가로오스 매트릭스에서 에워싸고, 그것에 의하여 DNA의 확산과 복원을 예방하는 단계 (중아황산염은 단일 가닥 DNA와만 반응한다), 그리고 침전과 정제 단계를 급속 투석으로 대체하는 단계를 포함하는 방법에 관련된다 (Olek A, et al. (1996) "A modified and improved method for bisulfite based cytosine methylation analysis" *Nucleic Acids Res.* 24: 5064-6). 따라서 개별 세포를 메틸화 상태에 대해 분석하여, 방법의 유용성과 민감도를 예증하는 것이 가능하다. 5-메틸시토신을 검출하기 위한 전통적인 방법의 개요는 Rein, T., et al. (1998) *Nucleic Acids Res.* 26: 2255에 의해 제공된다.

[0309] 중아황산염 기술은 전형적으로, 중아황산염 처리 다음에 공지된 핵산의 짧은, 특이적 단편을 증폭하고, 이후 염기서열분석 (Olek & Walter (1997) *Nat. Genet.* 17: 275-6) 또는 프라이머 연장 반응 (Gonzalzo & Jones (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 2529-31; WO 95/00669; U.S. 특허 번호 6,251,594)에 의해 산물을 검정하여 개별 시토신 위치를 분석하는 것을 수반한다. 일부 방법은 효소적 절단 (Xiong & Laird (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 2532-4)을 이용한다. 혼성화에 의한 검출 또한 당해 분야에서 설명되었다 (Olek et al., WO 99/28498). 추가적으로, 개별 유전자에 대하여 메틸화 검출을 위한 중아황산염 기술의 이용이 설명되었다 (Grigg & Clark (1994) *Bioessays* 16: 431-6; Zeschnick et al. (1997) *Hum Mol Genet.* 6: 387-95; Feil et al. (1994) *Nucleic Acids Res.* 22: 695; Martin et al. (1995) *Gene* 157: 261-4; WO 9746705; WO 9515373).

[0310] 다양한 메틸화 검정 절차가 본 기술에 따라서 중아황산염 처리와 병용될 수 있다. 이들 검정은 핵산 서열 내에 하나 또는 복수의 CpG 디뉴클레오타이드 (예를 들면, CpG 섬)의 메틸화 상태의 결정이 가능하다. 이런 검정은 다른 기술 중에서, 중아황산염-처리된 핵산의 염기서열분석, PCR (서열 특이적 증폭을 위한), 서던 블롯 분석, 그리고 메틸화 특이적 제한 효소, 예를 들면, 메틸화 민감성 또는 메틸화 의존성 효소의 이용을 수반한다.

[0311] 예를 들면, 유전체 염기서열분석은 중아황산염 처리를 이용함으로써 메틸화 패턴 및 5-메틸시토신 분포의 분석을 위해 단순화되었다 (Frommer et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 1827-1831). 추가적으로, 중아황산염-전환된 DNA로부터 증폭된 PCR 산물의 제한 효소 절단이 예를 들면, Sadri & Hornsby (1997) *Nucl. Acids Res.* 24: 5058-5059에 의해 설명된 바와 같이 또는 COBRA (통합 중아황산염 제한 분석)로서 알려져 있는 방법 (Xiong & Laird (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 2532-2534)에서 구현된 바와 같이 메틸화 상태를 사정하는 데 용도를 발견한다.

[0312] COBRA™ 분석은 소량의 유전체 DNA 내에 특정한 좌위에서 DNA 메틸화 수준을 결정하는 데 유용한 정량적 메틸화 검정이다 (Xiong & Laird, *Nucleic Acids Res.* 25:2532-2534, 1997). 간단히 말하면, 제한 효소 절단이 아황산수소나트륨-처리된 DNA의 PCR 산물에서 메틸화 의존성 서열 차이를 드러내는 데 이용된다. 메틸화 의존성 서열 차이는 먼저, Frommer et al. (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:1827-1831, 1992)에 의해 설명된 절차에 따른 표준 중아황산염 처리에 의해 유전체 DNA 내로 도입된다. 이후, 중아황산염 전환된 DNA의 PCR 증폭이 관심되는 CpG 섬에 대해 특이적인 프라이머를 이용하여 수행되고, 그 이후에 제한 엔도뉴클레아제 절단, 겔 전기이동, 그리고 특정한, 표지화된 혼성화 프로브를 이용한 검출이 뒤따른다. 본래 DNA 샘플 내에 메틸화 수준은 광범위한

DNA 메틸화 수준 전체에 대하여 선형 정량적 방식으로, 절단된 및 절단되지 않는 PCR 산물의 상대적 양에 의해 표현된다. 이에 더하여, 이러한 기술은 미세절개된 파라핀 포매된 조직 샘플로부터 획득된 DNA에 신뢰성 있게 적용될 수 있다.

- [0313] COBRA™ 분석을 위한 전형적인 시약 (예를 들면, 전형적인 COBRA™-기반 키트에서 발견된 대로)은 다음을 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다: 특정한 좌위 (예를 들면, 특정한 유전자, 마커, 유전자의 영역, 마커의 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬 등)에 대한 PCR 프라이머; 제한 효소 및 적합한 완충액; 유전자-혼성화 올리고뉴클레오티드; 대조 혼성화 올리고뉴클레오티드; 올리고뉴클레오티드 프로브에 대한 키나아제 표지화 키트; 및 표지화된 뉴클레오티드. 추가적으로, 중아황산염 전환 시약은 DNA 변성 완충액; 술폰화 완충액; DNA 회수 시약 또는 키트 (예를 들면, 침전, 한외여과, 친화성 칼럼); 탈술폰화 완충액; 그리고 DNA 회수 구성요소를 포함할 수 있다.
- [0314] 검정 예컨대 "MethyLight™" (형광-기반 실시간 PCR 기술) (Eads et al., Cancer Res. 59:2302-2306, 1999), Ms-SNuPE™ (메틸화 민감성 단일 뉴클레오티드 프라이머 연장) 반응 (Gonzalzo & Jones, Nucleic Acids Res. 25:2529-2531, 1997), 메틸화 특이적 PCR ("MSP"; Herman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:9821-9826, 1996; U.S. 특허 번호 5,786,146), 그리고 메틸화된 CpG 섬 증폭 ("MCA"; Toyota et al., Cancer Res. 59:2307-12, 1999)은 단독으로, 또는 이들 방법 중에서 한 가지 또는 그 이상과 조합으로 이용된다.
- [0315] "HeavyMethyl™" 검정 기술은 중아황산염-처리된 DNA의 메틸화 특이적 증폭에 기초하여 메틸화 차이를 사정하기 위한 정량적 방법이다. 증폭 프라이머 사이에 CpG 위치를 커버하거나, 또는 이들 프라이머에 의해 커버된 메틸화 특이적 차단 프로브 ("차단제")는 핵산 샘플의 메틸화 특이적 선택적 증폭을 가능하게 한다.
- [0316] 용어 "HeavyMethyl™ MethyLight™" 검정은 MethyLight™ 검정이 증폭 프라이머 사이의 CpG 위치를 커버하는 메틸화 특이적 차단 프로브와 조합되는 MethyLight™ 검정의 변이인 HeavyMethyl™ MethyLight™ 검정을 지칭한다. HeavyMethyl™ 검정은 또한, 메틸화 특이적 증폭 프라이머와 병용될 수 있다.
- [0317] HeavyMethyl™ 분석을 위한 전형적인 시약 (예를 들면, 전형적인 MethyLight™-기반 키트에서 발견된 대로)은 다음을 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다: 특정한 좌위 (예를 들면, 특정한 유전자, 마커, 유전자의 영역, 마커의 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬, 또는 중아황산염 처리된 DNA 서열 또는 CpG 섬 등)에 대한 PCR 프라이머; 차단 올리고뉴클레오티드; 최적화된 PCR 완충액 및 데옥시뉴클레오티드; 그리고 Taq 중합효소.
- [0318] MSP (메틸화 특이적 PCR)는 메틸화 특이적 제한 효소의 용도와 무관하게, CpG 섬 내에 CpG 부위의 사실상 모든 군의 메틸화 상태를 사정하는 것이 가능하다 (Herman et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:9821-9826, 1996; U.S. 특허 번호 5,786,146). 간단히 말하면, 비메틸화된 시토신을 우라실로 전환하지만, 메틸화된 시토신에서는 그렇지 않는 아황산수소나트륨에 의해 DNA가 변형되고, 그리고 산물이 메틸화된 대 비메틸화된 DNA에 대해 특이적인 프라이머로 차후에 증폭된다. MSP는 단지 소량의 DNA만을 필요로 하고, 소정의 CpG 섬 좌위의 0.1% 메틸화된 대립유전자에 민감하고, 그리고 파라핀 포매된 샘플로부터 추출된 DNA 상에서 수행될 수 있다. MSP 분석을 위한 전형적인 시약 (예를 들면, 전형적인 MSP-기반 키트에서 발견된 대로)은 다음을 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다: 특정한 좌위 (예를 들면, 특정한 유전자, 마커, 유전자의 영역, 마커의 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬 등)에 대한 메틸화된 및 비메틸화된 PCR 프라이머; 최적화된 PCR 완충액 및 데옥시뉴클레오티드, 그리고 특이적 프로브.
- [0319] MethyLight™ 검정은 PCR 단계 후 어떤 추가 조작도 필요로 하지 않는 형광-기반 실시간 PCR (예를 들면, TaqMan®)을 활용하는 고처리량 정량적 메틸화 검정이다 (Eads et al., Cancer Res. 59:2302-2306, 1999). 간단히 말하면, MethyLight™ 과정은 표준 절차 (중아황산염 과정이 비메틸화된 시토신 잔기를 우라실로 전환한다)에 따라서, 아황산수소나트륨 반응에서, 메틸화 의존성 서열 차이의 혼합된 풀로 전환되는 유전체 DNA의 혼합된 샘플로 시작된다. 형광-기반 PCR이 이후, 예를 들면, 공지된 CpG 디뉴클레오티드와 중첩되는 PCR 프라이머를 이용하여, "편향된" 반응에서 수행된다. 서열 식별은 증폭 과정의 수준 및 형광 검출 과정의 수준 둘 모두에서 발생한다.
- [0320] MethyLight™ 검정은 핵산, 예를 들면, 유전체 DNA 샘플에서 메틸화 패턴에 대한 정량 검사로서 이용되는데, 여기서 서열 식별은 프로브 혼성화의 수준에서 발생한다. 정량적 버전에서, PCR 반응은 특정 추정 메틸화 부위와 중첩되는 형광 프로브의 존재에서 메틸화 특이적 증폭을 제공한다. 입력 DNA의 양에 대한 비편향된 대조는 프라이머 및 프로브 중에서 어느 것도 CpG 디뉴클레오티드 위에 가로놓이지 않는 반응에 의해 제공된다. 대안으로,

편향된 PCR 풀을, 공지된 메틸화 부위를 커버하지 않는 대조 올리고뉴클레오타이드 (예를 들면, HeavyMethyl™ 및 MSP 기술의 형광-기반 버전) 또는 잠재적인 메틸화 부위를 커버하는 올리고뉴클레오타이드 중 어느 한 가지로 탐침함으로써, 유전체 메틸화에 대한 정성 검사가 달성된다.

[0321] MethyLight™ 과정은 임의의 적합한 프로브 (예를 들면, "TaqMan®" 프로브, Lightcycler® 프로브 등)와 병용된다. 예를 들면, 일부 적용에서 이중 가닥 유전체 DNA가 아황산수소나트륨으로 처리되고, 그리고 TaqMan® 프로브를 이용한, 예를 들면, MSP 프라이머 및/또는 HeavyMethyl 차단제 올리고뉴클레오타이드 및 TaqMan® 프로브를 이용한 PCR 반응의 2개 세트 중 한 가지가 진행된다. TaqMan® 프로브는 형광 "리포터" 및 "퀀처" 분자로 이중 표지화되고, 그리고 PCR 주기에서 정방향 또는 역방향 프라이머보다 약 10℃ 높은 온도에서 용해되도록, 상대적으로 높은 GC 함량 영역에 대해 특이적이도록 설계된다. 이를 통해 TaqMan® 프로브는 PCR 어닐링/연장 단계 동안 완전히 혼성화된 상태로 남아있을 수 있게 된다. Taq 중합효소가 PCR 동안 새로운 가닥을 효소적으로 합성함에 따라서, 이것은 어닐링된 TaqMan® 프로브에 궁극적으로 도달할 것이다. 이후, TaqMan® 프로브를 절단하여, 실시간 형광 검출 시스템을 이용한 현재 퀀칭되지 않는 신호의 정량적 검출을 위한 형광 리포터 분자를 방출함으로써, Taq 중합효소 5'에서 3' 엔도뉴클레아제 활성이 상기 프로브를 대체할 것이다.

[0322] MethyLight™ 분석을 위한 전형적인 시약 (예를 들면, 전형적인 MethyLight™-기반 키트에서 발견된 대로)은 다음을 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다: 특정한 좌위 (예를 들면, 특정한 유전자, 마커, 유전자의 영역, 마커의 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬 등)에 대한 PCR 프라이머; TaqMan® 또는 Lightcycler® 프로브; 최적화된 PCR 완충액 및 데옥시뉴클레오타이드; 그리고 Taq 중합효소.

[0323] QM™ (정량적 메틸화) 검정은 유전체 DNA 샘플에서 메틸화 패턴에 대한 대안적 정량 검사인데, 여기서 서열 식별은 프로브 혼성화의 수준에서 발생한다. 이러한 정량적 버전에서, PCR 반응은 특정 추정 메틸화 부위와 중첩되는 형광 프로브의 존재에서 비편향된 증폭을 제공한다. 입력 DNA의 양에 대한 비편향된 대조는 프라이머 및 프로브 중 어느 것도 CpG 디뉴클레오타이드 위에 가로놓이지 않는 반응에 의해 제공된다. 대안으로, 편향된 PCR 풀을, 공지된 메틸화 부위를 커버하지 않는 대조 올리고뉴클레오타이드 (예를 들면, HeavyMethyl™ 및 MSP 기술의 형광-기반 버전) 또는 잠재적인 메틸화 부위를 커버하는 올리고뉴클레오타이드 중 어느 한 가지로 탐침함으로써, 유전체 메틸화에 대한 정성 검사가 달성된다.

[0324] QM™ 과정은 증폭 과정에서, 임의의 적합한 프로브, 예를 들면, "TaqMan®" 프로브, Lightcycler® 프로브와 병용될 수 있다. 예를 들면, 이중 가닥 유전체 DNA가 아황산수소나트륨으로 처리되고, 그리고 비편향된 프라이머 및 TaqMan® 프로브가 진행된다. TaqMan® 프로브는 형광 "리포터" 및 "퀀처" 분자로 이중 표지화되고, 그리고 PCR 주기에서 정방향 또는 역방향 프라이머보다 약 10℃ 높은 온도에서 용해되도록, 상대적으로 높은 GC 함량 영역에 대해 특이적이도록 설계된다. 이를 통해 TaqMan® 프로브는 PCR 어닐링/연장 단계 동안 완전히 혼성화된 상태로 남아있을 수 있게 된다. Taq 중합효소가 PCR 동안 새로운 가닥을 효소적으로 합성함에 따라서, 이것은 어닐링된 TaqMan® 프로브에 궁극적으로 도달할 것이다. 이후, TaqMan® 프로브를 절단하여, 실시간 형광 검출 시스템을 이용한 현재 퀀칭되지 않는 신호의 정량적 검출을 위한 형광 리포터 분자를 방출함으로써, Taq 중합효소 5'에서 3' 엔도뉴클레아제 활성이 상기 프로브를 대체할 것이다. QM™ 분석을 위한 전형적인 시약 (예를 들면, 전형적인 QM™-기반 키트에서 발견된 대로)은 다음을 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다: 특정한 좌위 (예를 들면, 특정한 유전자, 마커, 유전자의 영역, 마커의 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬 등)에 대한 PCR 프라이머; TaqMan® 또는 Lightcycler® 프로브; 최적화된 PCR 완충액 및 데옥시뉴클레오타이드; 그리고 Taq 중합효소.

[0325] Ms-SNuPE™ 기술은 DNA의 중아황산염 처리, 그 이후에 단일 뉴클레오타이드 프라이머 연장에 기초하여, 특정한 CpG 부위에서 메틸화 차이를 사정하기 위한 정량적 방법이다 (Gonzalzo & Jones, Nucleic Acids Res. 25:2529-2531, 1997). 간단히 말하면, 유전체 DNA가 아황산수소나트륨과 반응되어, 비메틸화된 시토신은 우라실로 전환되는 반면, 5-메틸시토신은 변하지 않는 상태로 남아있다. 이후, 중아황산염-전환된 DNA에 대해 특이적인 PCR 프라이머를 이용하여 원하는 표적 서열의 증폭이 수행되고, 그리고 결과의 산물이 단리되고 관심되는 CpG 부위에서 메틸화 분석을 위한 주형으로서 이용된다. 소량의 DNA가 분석될 수 있고 (예를 들면, 미세절개된 병리 섹션), 그리고 이것은 CpG 부위에서 메틸화 상태를 결정하기 위한 제한 효소의 활용을 회피한다.

[0326] Ms-SNuPE™ 분석을 위한 전형적인 시약 (예를 들면, 전형적인 Ms-SNuPE™-기반 키트에서 발견된 대로)은 다음을 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다: 특정한 좌위 (예를 들면, 특정한 유전자, 마커, 유전자의 영역, 마커의 영역, 중아황산염 처리된 DNA 서열, CpG 섬 등)에 대한 PCR 프라이머; 최적화된 PCR 완충액 및 데옥시뉴클레오타이드; 젤 추출 키트; 양성 대조 프라이머; 특정한 좌위에 대한 Ms-SNuPE™ 프라이머; 반응 완충액 (Ms-

SNuPE 반응을 위한); 그리고 표지화된 뉴클레오타이드. 추가적으로, 중아황산염 전환 시약은 다음을 포함할 수 있다: DNA 변성 완충액; 술폰화 완충액; DNA 회수 시약 또는 키트 (예를 들면, 침전, 환외여과, 친화성 칼럼); 탈술폰화 완충액; 그리고 DNA 회수 구성요소.

[0327] 감소된 표현 중아황산염 염기서열분석 (RRBS)은 모든 비메틸화된 시토신을 우라실로 전환하기 위한 핵산의 중아황산염 처리로 시작되고, 그 이후에 제한 효소 절단 (예를 들면, CG 서열을 포함하는 부위를 인식하는 효소 예컨대 MspI에 의한) 및 어댑터 리간드에 연계한 후 단편의 완전한 염기서열분석이 뒤따른다. 제한 효소의 선택은 CpG 밀집 영역에 대한 단편을 농축시켜, 분석 동안 복수의 유전자 위치에 매핑될 수 있는 중복 서열의 숫자를 감소시킨다. 따라서, RRBS는 염기서열분석을 위한 제한 단편의 부분집합을 선택함으로써 (예를 들면, 예비 겔 전기이동을 이용한 크기 선택에 의해), 핵산 샘플의 복잡성을 감소시킨다. 전체 유전체 중아황산염 염기서열분석과는 대조적으로, 제한 효소 절단에 의해 생산된 모든 단편은 적어도 하나의 CpG 디뉴클레오타이드에 대한 DNA 메틸화 정보를 내포한다. 따라서, RRBS는 프로모터, CpG 섬, 그리고 이들 영역에서 제한 효소 절단 부위의 높은 빈도를 갖는 다른 유전체 특질에 대해 샘플을 농축하고, 그리고 따라서 하나 또는 그 이상의 유전체 좌위의 메틸화 상태를 사정하기 위한 검정을 제공한다.

[0328] RRBS에 대한 전형적인 프로토콜은 핵산 샘플을 제한 효소 예컨대 MspI로 절단, 오버행에 충전 및 A-테일링, 어댑터 결합, 중아황산염 전환, 그리고 PCR의 단계를 포함한다. 참조: 예를 들면, et al. (2005) "Genome-scale DNA methylation mapping of clinical samples at single-nucleotide resolution" *Nat Methods* **7**: 133-6; Meissner et al. (2005) "Reduced representation bisulfite sequencing for comparative high-resolution DNA methylation analysis" *Nucleic Acids Res.* **33**: 5868-77.

[0329] 일부 구체예에서, 정량적 대립유전자 특이적 실시간 표적 및 신호 증폭(QuARTS) 검정이 메틸화 상태를 평가하는 데 이용된다. 일차 반응에서 증폭 (반응 1) 및 표적 프로브 개열 (반응 2); 그리고 이차 반응에서 FRET 개열 및 형광 신호 생성 (반응 3)을 비롯한, 3가지 반응이 각 QuARTS 검정에서 순차적으로 발생한다. 표적 핵산이 특이적 프라이머로 증폭될 때, 플랩 서열을 갖는 특이적 검출 프로브가 앰플리콘에 느슨하게 결합한다. 표적 결합 부위에서 특정한 침습성 올리고뉴클레오타이드의 존재는 5' 뉴클레아제, 예를 들면, FEN-1 엔도뉴클레아제가 검출 프로브 및 플랩 서열 사이를 절단함으로써 플랩 서열을 방출하도록 유발한다. 플랩 서열은 상응하는 FRET 카세트의 비-헤어핀 부분에 상보적이다. 따라서, 플랩 서열은 FRET 카세트 상에서 침습성 올리고뉴클레오타이드로서 기능하고, 그리고 FRET 카세트 형광단 및 퀀처 사이의 개열을 야기하고, 이것은 형광 신호를 발생시킨다. 개열 반응은 표적마다 복수의 프로브를 절단하고, 그리고 따라서 플랩마다 복수의 형광단을 방출하여, 지수적 신호 증폭을 제공할 수 있다. QuARTS는 상이한 염료를 갖는 FRET 카세트를 이용함으로써, 단일 반응 웰에서 복수의 표적을 검출할 수 있다. 예를 들면, Zou et al. (2010) "Sensitive quantification of methylated markers with a novel methylation specific technology" *Clin Chem* **56**: A199), 그리고 U.S. 특허 번호 8,361,720; 8,715,937; 8,916,344; 9,212,392를 참조하는데, 이들은 각각 본원에서 모든 점에서 참조로서 편입된다.

[0330] 일부 구체예에서, 중아황산염-처리된 DNA는 정량에 앞서 정제된다. 이것은 당해 분야에서 공지된 임의의 수단, 예컨대 그러나 제한 없이 예를 들면, Microcon™ 칼럼 (Millipore™에 의해 제조됨)에 의한 환외여과에 의해 수행될 수 있다. 정제는 변형된 제조업체의 프로토콜 (참조: 예를 들면, PCT/EP2004/011715, 이것은 온전히 참조로서 편입됨)에 따라서 실행된다. 일부 구체예에서, 중아황산염 처리된 DNA는 고체 지지체, 예를 들면, 자성 비드에 결합되고, 그리고 상기 DNA가 상기 지지체에 결합되어 있는 동안 탈술폰화 및 세척이 발생한다. 이런 구체예의 실례는 예를 들면, WO 2013/116375 및 U.S. 특허 번호 9,315,853에서, 그리고 U.S. 특허 출원 일련 번호 63/058,179에서 제공되는데, 이들은 각각 본원에서 온전히 참조로서 편입된다. 일정한 바람직한 구체예에서, 지지체 결합된 DNA는 지지체 상에서 탈술폰화 및 세척 직후에 메틸화 검정이 진행된다. 일부 구체예에서, 탈술폰화된 DNA는 검정에 앞서 지지체로부터 용리된다.

[0331] 일부 구체예에서, 처리된 DNA의 단편은 본원 발명에 따른 프라이머 올리고뉴클레오타이드의 세트 (참조: 예를 들면 도 5) 및 증폭 효소를 이용하여 증폭된다. 여러 DNA 분질의 증폭이 하나의 동일한 반응 용기에서 동시에 실행될 수 있다. 전형적으로, 증폭은 증합효소 연쇄 반응 (PCR)을 이용하여 실행된다.

[0332] 이들 검정 기술에 적합한 DNA를 분리하기 위한 방법은 당해 분야에서 공지된다. 특히, 일부 구체예는 본원에서 온전히 참조로서 편입되는 U.S. 특허 번호 9,000,146; 9,163,278; 10,704,081에서 설명된 바와 같은 핵산의 분리를 포함한다.

[0333] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 마커는 대변 샘플에서 수행된 QuARTS 검정에서 용도를 발견한다. 일부 구체예에서, DNA 샘플을 생산하기 위한 방법, 그리고 특히, 고도로 정제된, 낮은-존재비 핵산을 작은 용적 (예를 들

면, 100 마이크로리터 이하, 60 마이크로리터 이하)으로 포함하고 DNA 샘플을 검사하는 데 이용된 검정 (예를 들면, PCR, INVADER, QuARTS 검정 등)을 저해하는 물질이 실제로 및/또는 실질적으로 없는 DNA 샘플을 생산하기 위한 방법이 제공된다. 이런 DNA 샘플은 환자로부터 채취된 샘플 내에 존재하는 유전자, 유전자 변이체 (예를 들면, 대립유전자), 또는 유전자 변형 (예를 들면, 메틸화)의 존재를 정성적으로 검출하는, 또는 이의 활성, 발현 또는 양을 정량적으로 계측하는 진단 검정에서 용도를 발견한다. 예를 들면, 일부 암은 특정 돌연변이체 대립유전자 또는 특정 메틸화 상태의 존재와 상관되고, 그리고 따라서 이런 돌연변이체 대립유전자 또는 메틸화 상태를 검출하고 및/또는 정량하는 것은 암의 진단과 치료에서 예측값을 갖는다.

[0334] 많은 귀중한 유전자 마커는 샘플 내에서 극히 적은 양으로 존재하고, 그리고 이런 마커를 생성하는 사건 중 대부분은 희귀하다. 결과적으로, 심지어 민감한 검출 방법 예컨대 PCR도 검정의 검출 역치에 부합하거나 또는 이를 대체하는 데 필요한 만큼의 낮은 존재비 표적을 제공하기 위해서는 대량의 DNA를 필요로 한다. 게다가, 심지어 적은 양의 저해성 물질의 존재도 이런 적은 양의 표적을 검출하는 데 지향된 이들 검정의 정확도와 정밀도를 훼손한다. 따라서, 이런 DNA 샘플을 생산하기 위한 용적과 농도의 필수적인 관리를 제공하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0335] 일부 구체예에서, 샘플은 혈액, 혈청, 혈장, 또는 타액을 포함한다. 일부 구체예에서, 개체는 인간이다. 이런 샘플은 당해 분야에서 공지된, 예컨대 당업자에게 명백할 수 많은 수단에 의해 획득될 수 있다. 샘플에 원심분리 및 여과를 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 당업자에게 공지된 다양한 기술을 진행함으로써, 무세포 또는 실제적으로 무세포 샘플이 획득될 수 있다. 비록 샘플을 획득하기 위해 침습성 기술을 이용하지 않는 것이 일반적으로 선호되긴 하지만, 샘플 예컨대 조직 균질액, 조직 절편, 그리고 생검 검체를 획득하는 것이 여전히 선호될 수 있다. 본 기술은 샘플을 준비하고 검사를 위한 핵산을 제공하는 데 이용된 방법에서 제한되지 않는다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 예를 들면, U.S. 특허 번호 8,808,990 및 9,169,511에서, 그리고 WO 2012/155072에서 상술된 바와 같이 직접적인 유전자 포획을 이용하여, 또는 관련된 방법에 의해, 대변 샘플로부터 또는 혈액으로부터 또는 혈장 샘플로부터 DNA가 단리된다.

[0336] 마커의 분석은 별개로, 또는 하나의 검사 샘플 내에 추가 마커와 동시에 실행될 수 있다. 예를 들면, 여러 마커가 복수 샘플의 효율적인 처리를 위해, 그리고 더 큰 진단 및/또는 예후 정확도를 잠재적으로 제공하기 위해 하나의 검사로 통합될 수 있다. 이에 더하여, 당업자는 동일한 개체로부터 획득된 복수 샘플을 검사하는 (예를 들면, 연속 시점에서) 것의 가치를 인식할 것이다. 연속 샘플의 이런 검사는 시간의 추이에서 마커 메틸화 상태에서 변화의 확인을 가능하게 할 수 있다. 메틸화 상태에서 변화뿐만 아니라 메틸화 상태에서 변화의 부재는 사건의 개시로부터 근사 시간, 구조가능 조직의 존재와 양, 약물 요법의 타당성, 다양한 요법의 유용성 확인, 그리고 장래 사건의 위험을 비롯한, 개체의 결과의 확인을 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 질환 상태에 관한 유용한 정보를 제공할 수 있다.

[0337] 바이오마커의 분석은 다양한 물리적 형식에서 실행될 수 있다. 예를 들면, 마이크로역가 평판 또는 자동화의 이용이 다수의 검사 샘플의 처리를 용이하게 하는 데 이용될 수 있다. 대안으로, 예를 들면, 보행 수송 또는 응급실 세팅에서 적시적인 방식으로 즉각적인 치료와 진단을 용이하게 하기 위해, 단일 샘플 형식이 개발될 수 있었다.

[0338] 본 기술의 구체예는 키트의 형태로 제공되는 것으로 예기된다. 키트는 본원에서 설명된 조성물, 장치, 기구 등의 구체예 및 키트의 사용설명서를 포함한다. 이런 사용설명서는 샘플로부터 피분석물을 준비하기 위한, 예를 들면, 샘플을 수집하고 샘플로부터 핵산을 준비하기 위한 적합한 방법을 설명한다. 키트의 개별 구성요소는 적합한 용기 및 패키징 (예를 들면, 바이알, 박스, 블리스터 팩, 앰풀, 향아리, 병, 튜브, 기타 등등)에서 포장되고, 그리고 이들 구성요소는 키트의 사용자에게 의한 편의한 보관, 선적 및/또는 이용을 위해 적합한 용기 (예를 들면, 박스 또는 박스들)에서 함께 포장된다. 액체 구성요소 (예를 들면, 완충액)는 사용자에게 의해 재구성되는 동결 건조된 형태로 제공될 수 있는 것으로 이해된다. 키트는 키트의 성과를 사정하기 위한, 검증하기 위한 및/또는 확실하게 하기 위한 대조 또는 참조를 포함할 수 있다. 예를 들면, 샘플 내에 존재하는 핵산의 양을 검정하기 위한 키트는 비교를 위한 공지된 농도의 동일하거나 또는 다른 핵산을 포함하는 대조 및 일부 구체예에서, 대조 핵산에 대해 특이적인 검출 시약 (예를 들면, 프라이머)을 포함할 수 있다. 키트는 임상 환경에서 이용에 적합하고, 그리고 일부 구체예에서, 사용자의 가정에서 이용에 적합하다. 키트의 이들 구성요소는 일부 구체예에서, 샘플로부터 핵산 용액을 준비하기 위한 시스템의 기능성을 제공한다. 일부 구체예에서, 시스템의 일정한 구성요소는 사용자에게 의해 제공된다.

[0339] **III. 적용**

- [0340] 일부 구체예에서, 진단 검정은 개체에서 질환 또는 장애의 존재를 확인한다. 일부 구체예에서, 질환은 암 (예를 들면, 폐암)이다.
- [0341] 일부 구체예에서, 일탈적 메틸화가 폐암과 연관되는 마커 (예를 들면, 표 1에서 열거된 마커에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 마커, 또는 바람직하게는 *EMX1*, *GRIND2*, *ANKRD13B*, *ZNF781*, *ZNF671*, *IFFO1*, *HOPX*, *BARX1*, *HOXA9*, *LOC100129726*, *SPOCK2*, *TSC22D4*, *MAX.chr8.124*, *RASSF1*, *ST8SIA1*, *NKX6_2*, *FAM59B*, *DIDO1*, *MAX_Chr1.110*, *AGRN*, *SOBP*, *MAX_chr10.226*, *ZMIZ1*, *MAX_chr8.145*, *MAX_chr10.225*, *PRDM14*, *ANGPT1*, *MAX.chr16.50*, *PTGDR_9*, *DOCK2*, *MAX_chr19.163*, *ZNF132*, *MAX_chr19.372*, *TRH*, *SP9*, *DMRTA2*, *ARHGEF4*, *CYP26C1*, *PTGDR*, *MATK*, *BCAT1*, *PRKCB_28*, *ST8SIA_22*, *FLJ45983*, *DLX4*, *SHOX2*, *HOXB2*, *MAX.chr12.526*, *BCL2L11*, *OPLAH*, *PARP15*, *KLHDC7B*, *SLC12A8*, *BHLHE23*, *CAPN2*, *FGF14*, *FLJ34208*, *BIN2_Z*, *DNMT3A*, *FERMT3*, *NFIX*, *SIPR4*, *SKI*, *SUCLG2*, *TBX15* 및 *ZNF329* 중에서 하나 또는 그 이상)가 이용된다. 일부 구체예에서, 검정은 참조 유전자 (예를 들면, β -액틴, *ZDHHC1*, *B3GALT6*. 참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 10,465,248 및 WO 2018/017740, 이들은 각각 본원에서 모든 점에서 참조로서 편입됨)의 검출을 더욱 포함한다.
- [0342] 일부 구체예에서, 일탈적 발현이 폐암과 연관되는 마커 (바람직하게는 표 3에서 열거된 하나 또는 그 이상의 마커: *S100A9*, *SELL*, *PADI4*, *APOB3CA*, *S100A12*, *MMP9*, *FPR1*, *TYMP* 및 *SAT1*)가 이용되고, 그리고 샘플 내에서 하나 또는 그 이상의 RNA (예를 들면, mRNA) 또는 단백질의 계측에 의해 검출된다. 일부 구체예에서, 검정은 참조 유전자 (예를 들면, 표 3에서 도시된 바와 같음)의 검출을 더욱 포함한다.
- [0343] 일부 구체예에서, 본 기술은 환자 (예를 들면, 폐암을 앓거나, 초기 단계 폐암을 앓거나, 또는 폐암이 재발할 수 있는 환자)를 치료하는 데 용도를 발견하고, 상기 방법은 본원에서 제시된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 마커의 메틸화 상태를 결정하는 단계 및 메틸화 상태를 결정하는 단계의 결과에 근거하여 치료를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 치료는 제약학적 화합물의 투여, 백신, 수술 수행, 환자 영상화, 다른 검사 수행일 수 있다. 바람직하게는, 상기 용도는 임상적 선별검사의 방법, 예후 사정의 방법, 요법의 결과를 모니터링하는 방법, 특정 치료적 처치에 반응할 가능성이 가장 높은 환자를 확인하기 위한 방법, 환자 또는 개체를 영상화하는 방법, 그리고 약물 선별검사와 개발을 위한 방법에서 용도이다.
- [0344] 일부 구체예에서, 본 기술은 개체에서 폐암을 진단하기 위한 방법에서 용도를 발견한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "진단하는" 및 "진단"은 개체가 소정의 질환 또는 장애를 앓고 있거나, 또는 장애에 소정의 질환 또는 장애가 발달할 수 있는 지의 여부를 당업자가 추정하고 심지어 결정할 수 있는 방법을 지칭한다. 당업자는 종종, 하나 또는 그 이상의 진단 지표, 예컨대 예를 들면 바이오마커, 다시 말하면 질환의 존재, 중증도, 또는 부재를 표시하는 메틸화 상태에 근거하여 진단을 내린다.
- [0345] 진단과 함께, 임상적 암 예후는 가장 효과적인 요법을 계획하기 위해 암의 공격성 및 종양 재발의 가능성을 결정하는 것에 관계한다. 만약 더 정확한 예후가 이루어질 수 있거나 또는 심지어 암이 발달할 잠재적 위험이 사정될 수 있으면, 환자에 대한 적합한 요법 및 일부 사례에서, 덜 심각한 요법이 선택될 수 있다. 암 바이오마커의 사정 (예를 들면, 메틸화 상태 결정)은 치료를 필요로 하지 않거나 또는 제한된 치료를 필요로 할, 좋은 예후 및/또는 암이 발달할 낮은 위험을 겪는 개체를, 더 집중적인 치료로부터 유익성을 얻을 지도 모르는, 암이 발달하거나 또는 암의 재발을 겪을 가능성이 더 높은 개체로부터 분리하는 데 유용하다.
- [0346] 따라서, 본원에서 이용된 바와 같이, "진단을 내리는" 또는 "진단하는"은 암이 발달할 위험을 결정하거나 또는 예후를 결정하는 것을 더욱 포괄하는데, 이것은 본원에서 개시된 진단 바이오마커의 척도에 근거하여, 임상적 결과 (의학적 치료와 함께 또는 이것 없이)를 예측하거나, 적합한 치료 (또는 치료가 효과적일 지의 여부)를 선택하거나, 또는 현재 치료를 모니터링하고 이러한 치료를 잠재적으로 변화시키는 것을 제공할 수 있다.
- [0347] 게다가, 본 기술의 일부 구체예에서, 진단 및/또는 예후를 용이하게 하기 위해, 시간의 추이에서 바이오마커의 복수의 결정이 이루어질 수 있다. 바이오마커에서 시간 변화는 임상적 결과를 예측하고, 폐암의 진행을 모니터링하고 및/또는 암에 대항하여 지향된 적합한 요법의 효능을 모니터링하는 데 이용될 수 있다. 이런 구체예에서 예를 들면, 효과적인 요법의 코스 동안 시간의 추이에서 생물학적 샘플 내에 본원에서 개시된 하나 또는 그 이상의 바이오마커 (및 잠재적으로 하나 또는 그 이상의 추가 바이오마커(들), 만약 모니터링되면)의 메틸화 상태에서 변화를 보게 될 것으로 예상될지도 모른다.
- [0348] 본 기술은 개체에서 암의 예방 또는 치료를 개시하거나 또는 계속할 지를 결정하기 위한 방법에서 또한 용도를 발견한다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 일정한 기간에 걸쳐 개체로부터 일련의 생물학적 샘플을 제공하는 단계; 일련의 생물학적 샘플을 분석하여 각각의 생물학적 샘플에서 본원에서 개시된 적어도 하나의 바이오마커의

메틸화 상태를 결정하는 단계; 및 각각의 생물학적 샘플에서 바이오마커 중 하나 또는 그 이상의 메틸화 상태에서 임의의 예측 가능한 변화를 비교하는 단계를 포함한다. 일정한 기간에 걸쳐 바이오마커의 메틸화 상태에서 임의의 변화가 암이 발달할 위험을 예측하고, 임상적 결과를 예측하고, 암의 예방 또는 치료를 개시하거나 또는 계속할 지를 결정하고, 그리고 현재 요법이 암을 효과적으로 치료하는 지를 결정하는 데 이용될 수 있다. 예를 들면, 첫 번째 시점이 치료의 개시에 앞서 선택될 수 있고, 그리고 두 번째 시점이 치료의 개시 후 어느 때에 선택될 수 있다. 메틸화 상태가 상이한 시점 및 언급된 정성적 및/또는 정량적 차이로부터 취해진 각 샘플에서 예측될 수 있다. 상이한 샘플로부터 바이오마커 수준의 메틸화 상태에서 변화는 개체에서 폐암이 발달할 위험, 예후, 치료 효능 결정 및/또는 암의 진행과 상관될 수 있다.

[0349] 바람직한 구체예에서, 본원 발명의 방법과 조성물은 초기 단계에서, 예를 들면, 질환의 증상이 나타나기 전 질환의 치료 또는 진단을 위한 것이다. 일부 구체예에서, 본원 발명의 방법과 조성물은 임상 단계에서 질환의 치료 또는 진단을 위한 것이다.

[0350] 상기에서 언급된 바와 같이, 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 진단 또는 예후 바이오마커의 복수의 결정이 이루어질 수 있고, 그리고 마커에서 시간 변화가 진단 또는 예후를 결정하는 데 이용될 수 있다. 예를 들면, 진단 마커가 초기 시간에, 그리고 두 번째 시간에 다시 한 번 결정될 수 있다. 이런 구체예에서, 초기 시간부터 두 번째 시간까지 마커에서 증가는 암의 특정 유형 또는 중증도, 또는 소정의 예후를 진단할 수 있다. 유사하게, 초기 시간부터 두 번째 시간까지 마커에서 감소가 암의 특정 유형 또는 중증도, 또는 소정의 예후를 표시할 수 있다. 게다가, 하나 또는 그 이상의 마커의 변화의 정도는 암의 중증도 및 장래 부작용에 관련될 수 있다. 당업자는 일정한 구체예에서 비교 예측이 복수의 시점에서 동일한 바이오마커로 이루어질 수 있긴 하지만, 또한 소정의 바이오마커가 하나의 시점에서 예측되고 두 번째 바이오마커가 두 번째 시점에서 예측될 수 있고, 그리고 이들 마커의 비교가 진단 정보를 제공할 수 있다고 이해할 것이다.

[0351] 본원에서 이용된 바와 같이, 관용구 "예후를 결정하는"는 당업자가 개체에서 질환의 코스 또는 결과를 예측할 수 있는 방법을 지칭한다. 용어 "예후"는 질환의 코스 또는 결과를 100% 정확도로 예측하는 능력을 지칭하지 않거나, 또는 심지어 소정의 코스 또는 결과가 바이오마커의 메틸화 상태에 근거하여 예상하기에, 발생할 가능성이 다소간 있다는 것을 지칭하지 않는다. 그 대신에, 당업자는 용어 "예후"가 일정한 코스 또는 결과가 발생할 증가된 확률; 다시 말하면, 소정의 질환을 나타내지 않는 개체와 비교할 때, 소정의 질환을 나타내는 개체에서 코스 또는 결과가 일어날 가능성이 더 높다는 것을 지칭한다고 이해할 것이다. 예를 들면, 질환을 나타내지 않는 개체에서, 소정의 결과 (예를 들면, 폐암을 앓는)의 기회가 매우 낮을 수 있다.

[0352] 일부 구체예에서, 통계학적 분석은 예후 지표를 불리한 결과에 대한 소인과 연관시킨다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 암을 앓지 않는 환자로부터 획득된 정상적인 대조 샘플에서와 상이한 메틸화 상태는 통계학적 유의성의 수준에 의해 결정된 대로, 개체가 대조 샘플에서 메틸화 상태와 더 유사한 수준을 갖는 개체보다 암을 앓을 가능성이 더 높다는 것을 신호할 수 있다. 추가적으로, 기준선 (예를 들면, "정상적인") 수준으로부터 메틸화 상태에서 변화는 개체 예후를 반영할 수 있고, 그리고 메틸화 상태에서 변화의 정도는 부작용의 중증도에 관련될 수 있다. 통계학적 유의성은 종종, 2개 또는 그 이상 모집단을 비교하고 신뢰 구간 및/또는 p 값을 결정함으로써 결정된다. 예를 들면, Dowdy and Wearden, Statistics for Research, John Wiley & Sons, New York, 1983을 참조하는데, 이것은 본원에서 온전히 참조로서 편입된다. 본 요부의 예시적인 신뢰 구간은 90%, 95%, 97.5%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9% 및 99.99%이고, 반면 예시적인 p 값은 0.1, 0.05, 0.025, 0.02, 0.01, 0.005, 0.001 및 0.0001이다.

[0353] 다른 구체예에서, 본원에서 개시된 예후 또는 진단 바이오마커의 메틸화 상태에서 변화의 역치 정도가 확립될 수 있고, 그리고 생물학적 샘플 내에서 바이오마커의 메틸화 상태에서 변화의 정도가 메틸화 상태에서 변화의 역치 정도와 단순히 비교된다. 본원에서 제공된 바이오마커에 대한 메틸화 상태에서 바람직한 역치 변화는 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 50%, 약 75%, 약 100% 및 약 150%이다. 또 다른 구체예에서, 예후 또는 진단 지표 (바이오마커 또는 바이오마커의 조합)의 메틸화 상태가 소정의 결과를 향한 연관된 성향에 직접적으로 관련되는 "계산도표"가 확립될 수 있다. 당업자는 모집단 평균이 아닌 개별 샘플 치수가 참조되기 때문에 이러한 치수에서 불확실성이 마커 농도에서 불확실성과 동일하다는 것을 양해하는 조건하에, 2개의 수치 값을 관련시키기 위한 이런 계산도표의 이용을 알고 있다.

[0354] 일부 구체예에서, 생물학적 샘플로부터 획득된 결과가 대조 샘플로부터 획득된 결과와 비교될 수 있도록, 대조 샘플이 생물학적 샘플과 동시에 분석된다. 추가적으로, 생물학적 샘플에 대한 검정 결과가 비교될 수 있는 표준 곡선이 제공될 수 있는 것으로 예기된다. 이런 표준 곡선은 바이오마커의 메틸화 상태를 검정 단위, 예를 들면,

형광 신호 강도 (만약 형광 표지가 이용되면)의 함수로서 제시한다. 복수의 공여자로부터 채취된 샘플을 이용하면, 정상 조직에서 하나 또는 그 이상의 바이오마커의 대조 메틸화 상태뿐만 아니라 폐암을 앓는 공여자로부터 채취된 조직 내에 하나 또는 그 이상의 바이오마커의 "위험한 환경에 있는" 수준에 대한 표준 곡선이 제공될 수 있다.

[0355] 마커의 분석은 별개로, 또는 하나의 검사 샘플 내에 추가 마커와 동시에 실행될 수 있다. 예를 들면, 여러 마커가 복수 샘플의 효율적인 처리를 위해, 그리고 더 큰 진단 및/또는 예후 정확도를 잠재적으로 제공하기 위해 하나의 검사로 통합될 수 있다. 이에 더하여, 당업자는 동일한 개체로부터 획득된 복수 샘플을 검사하는 (예를 들면, 연속 시점에서) 것의 가치를 인식할 것이다. 연속 샘플의 이런 검사는 시간의 추이에서 마커 메틸화 상태에서 변화의 확인을 가능하게 할 수 있다. 메틸화 상태에서 변화뿐만 아니라 메틸화 상태에서 변화의 부재는 사건의 개시로부터 근사 시간, 구조가능 조직의 존재와 양, 약물 요법의 타당성, 다양한 요법의 유용성 확인, 그리고 장래 사건의 위험을 비롯한, 개체의 결과의 확인을 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 질환 상태에 관한 유용한 정보를 제공할 수 있다.

[0356] 바이오마커의 분석은 다양한 물리적 형식에서 실행될 수 있다. 예를 들면, 마이크로역가 평판 또는 자동화의 이용이 다수의 검사 샘플의 처리를 용이하게 하는 데 이용될 수 있다. 대안으로, 예를 들면, 보행 수송 또는 응급실 세팅에서 적시적인 방식으로 즉각적인 치료와 진단을 용이하게 하기 위해, 단일 샘플 형식이 개발될 수 있었다.

[0357] 일부 구체예에서, 만약 대조 메틸화 상태와 비교할 때, 샘플 내에 적어도 하나의 바이오마커의 메틸화 상태에서 계측 가능한 차이가 있으면, 개체는 폐암을 앓는 것으로 진단된다. 반대로, 메틸화 상태에서 변화 없음이 생물학적 샘플에서 확인될 때, 개체는 폐암을 앓지 않는 것으로, 암의 위험에 처해 있지 않는 것으로, 또는 암의 위험이 낮은 것으로 확인될 수 있다. 이점에 관하여, 폐암을 앓거나 또는 이의 위험에 처해 있는 개체는 암 또는 이의 위험이 낮은 내지 실제적으로 없는 개체와 식별될 수 있다. 폐암이 발달할 위험이 있는 개체는 더 집중적인 및/또는 규칙적인 선별검사 일정에 배치될 수 있다. 다른 한편으로, 위험이 낮은 내지 실제적으로 없는 개체는 장래 선별검사, 예를 들면, 본 기술에 따라서 수행된 선별검사와 같은 시간에서, 폐암의 위험이 이들 개체에서 나타났다는 것이 암시될 때까지, 선별검사 절차를 받는 것을 피할 수 있다.

[0358] 앞서 언급된 바와 같이, 본 기술의 방법의 구체예에 따라서, 하나 또는 그 이상의 바이오마커의 메틸화 상태에서 변화를 검출하는 것은 정성적 결정일 수 있거나 또는 이것은 정량적 결정일 수 있다. 따라서, 개체가 폐암을 앓거나, 또는 폐암이 발달할 위험에 처해 있는 것으로 진단하는 단계는 일정한 역치 계측이 이루어진다는 것을 암시한다. 예를 들면, 생물학적 샘플 내에서 하나 또는 그 이상의 바이오마커의 메틸화 상태가 미리 결정된 대조 메틸화 상태와 달라진다는 것을 암시한다. 상기 방법의 일부 구체예에서, 대조 메틸화 상태는 바이오마커의 임의의 검출가능 메틸화 상태이다. 대조 샘플이 생물학적 샘플과 동시에 검사되는 상기 방법의 다른 구체예에서, 미리 결정된 메틸화 상태는 대조 샘플에서 메틸화 상태이다. 상기 방법의 다른 구체예에서, 미리 결정된 메틸화 상태는 표준 곡선에 근거되고 및/또는 이것에 의해 확인된다. 상기 방법의 다른 구체예에서, 미리 결정된 메틸화 상태는 특징적인 상태 또는 상태의 범위이다. 따라서, 미리 결정된 메틸화 상태는 실시되는 방법의 구체예 및 원하는 특이성 등에 부분적으로 근거하여, 당업자에게 명백할 허용되는 범위 내에서 선택될 수 있다.

[0359] 일부 구체예에서, 폐암을 앓거나 또는 앓는 것으로 의심되는 개체로부터 획득된 샘플은 하나 또는 그 이상의 메틸화 마커, 그리고 상이한 유형의 폐암, 예를 들면, 비소세포 암 (선암종, 대세포 암종, 편평상피 세포 암종) 및 소세포 암종을 식별하는 데이터를 제공하는 적합한 검정 방법을 이용하여 선별검사된다. 예를 들면, 선암종 및 소세포 암종에서는 고도로 메틸화 (정상적인 백혈구연층 내에 좌위에서 평균 메틸화와 비교하여, 평균 메틸화로서 도시됨)되지만, 대세포 또는 편평상피 세포 암종에서는 그렇지 않는 마커 참조 번호 AC27 (도 2; PLEC); 임의의 다른 샘플 유형에서보다 선암종에서 더 고도로 메틸화되는 마커 참조 번호 AC23 (도 1; ITPRIPL1); 임의의 다른 샘플 유형에서보다 대세포 암종에서 더 고도로 메틸화되는 마커 참조 번호 LC2 (도 2; DOCK2)); 임의의 다른 샘플 유형에서보다 소세포 암종에서 더 고도로 메틸화되는 마커 참조 번호 SC221 (도 3; ST8SIA4); 및 임의의 다른 샘플 유형에서보다 편평상피 세포 암종에서 더 고도로 메틸화되는 마커 참조 번호 SQ36 (도 4, DOK 1)을 참조한다.

[0360] 본원에서 설명된 바와 같이 선택된 메틸화 마커는 개체로부터 획득된 샘플의 분석이 폐 신생물의 존재를 드러내고, 그리고 또한 폐암 유형, 예를 들면, 소세포 암종 대 비소세포 암종을 식별하는 데 충분한 정보를 제공하도록, 단독으로 또는 조합으로 (예를 들면, 패널로) 이용될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 마커 또는 마커의 조

합은 선암종, 대세포 암종 및 편평상피 세포 암종을 식별하고; 및/또는 미결 또는 혼합된 병리의 암종을 특징화하는 데 충분한 데이터를 더욱 제공한다. 다른 구체예에서, 메틸화 마커 또는 이들의 조합은 식별 데이터 없이, 존재하는 폐 암종의 유형에 상관없이 양성 결과 (예를 들면, 폐 신생물의 존재를 표시하는 결과)를 제공하도록 선택된다.

[0361] 최근 몇 년 동안, 전이성 종양 세포를 대표하는 순환성 상피 세포가 암을 앓는 많은 환자의 혈액에서 검출될 수 있다는 것이 명확해졌다. 희귀한 세포의 분자 프로파일링은 생물학적 연구 및 임상 연구에서 중요하다. 적용은 질환 예후 및 개인맞춤된 치료를 위한 암 환자의 말초혈에서 순환성 상피 세포 (CEpCs)의 특징화의 범위 안에 있다 (참조: 예를 들면, Cristofanilli M, et al. (2004) *N Engl J Med* 351:781-791; Hayes DF, et al. (2006) *Clin Cancer Res* 12:4218-4224; Budd GT, et al., (2006) *Clin Cancer Res* 12:6403-6409; Moreno JG, et al. (2005) *Urology* 65:713-718; Pantel et al., (2008) *Nat Rev* 8:329-340; 및 Cohen SJ, et al. (2008) *J Clin Oncol* 26:3213-3221). 따라서, 본원 발명의 구체예는 혈장 또는 전혈에서 메틸화 마커의 존재를 확인함으로써 개체에서 전이성 암의 존재를 검출하기 위한 조성물과 방법을 제공한다.

[0362] 멀티플렉스 역전사 및 사전 증폭, 그 이후에 LQAS PCR-플랩 검정을 포함하는 검정 (LQAS 검정을 동반한 통합 역전사 및 사전 증폭은 RT-TELQAS 검정 ("역전사 - 표적 농축 긴 프로브 정량적 증폭 신호")으로서 지칭된다) 또한 본원에서 설명된다. RT-TELQAS 검정에서, 샘플로부터 유래된 표적 RNA, 예를 들면, 전체 RNA는 예를 들면, 20U의 MMLV 역전사효소, 1.5U의 GoTaq® DNA 중합효소, 10mM MOPS 완충액, pH7.5, 7.5mM MgCl₂, 250 μM 각 dNTP 및 올리고뉴클레오타이드 프라이머 (예를 들면, 동물량 (예를 들면, 200nM 각 프라이머)으로 또는 상이한 표적 RNA의 증폭 효율을 조정하기 위해 변형된 양으로, 12개의 표적에 대해, 12개의 프라이머 쌍/24개의 프라이머)를 내포하는 RT- 사전 증폭 반응에서 처리되고, 그리고 포함된 프라이머 쌍에 상응하는 표적 서열의 사전 증폭을 제공하기 위해, 역전사를 위한 중간 온도 (예를 들면, 42°C)에서 인큐베이션되고, 그 이후에 한정된 횟수의 열 주기 (예를 들면, 10회 주기의 95°C, 63°C, 70°C)가 뒤따른다. 열 주기 후, RT-사전 증폭 반응의 분취량 (예를 들면, 10 μL)이 아래에 설명된 바와 같이, LQAS PCR-플랩 검정에서 이용된다. RT-TELQAS 및 RT-LQAS 검정에서 검출에 적합한 RNA는 RNA 표적의 임의의 특정 유형에 한정되지 않는다. 예를 들면 조직으로부터 모든 방식의 RNA, 혈액으로부터 세포 또는 순환성 무세포 RNA, 예컨대 단백질-코딩 전령 RNA (mRNA), 마이크로 RNA (miRNA), piRNA, tRNA, 그리고 다른 비코딩 RNA 분자 (ncRNA) (참조: 예를 들면, SU Umu, et al. "A comprehensive profile of circulating RNAs in human serum," *RNA Biology* 15(2):242-250 (2018), 이것은 본원에서 온전히 참조로서 편입됨)가 아래에 설명된 RT-TELQAS 및 RT-LQAS 방법을 이용하여 검정될 수 있다.

[0363] 바람직한 구체예에서, 이들 방법은 표준 PCR 완충액과 비교하여 상대적으로 높은 Mg⁺⁺ 및 낮은 KCl (예를 들면, 6-10 mM, 바람직하게는 7.5 mM Mg⁺⁺ 및 0.0 내지 0.8 mM KCl)을 포함하는 PCR-플랩 검정 완충액을 포함하는 반응 혼합물에서 수행된다. 전형적인 PCR 완충액은 1.5 mM MgCl₂, 20 mM 트리스-HCl, pH 8 및 50 mM KCl이고, 그리고 PCR-플랩 검정 완충액은 7.5 mM MgCl₂, 10 mM MOPS, 0.3 mM 트리스-HCl, pH 8.0, 0.8 mM KCl, 0.1 μg/μL BSA, 0.0001% Tween-20 및 0.0001% IGEPAL CA-630을 포함한다. 놀랍게도, 아래에 설명된 RT-LQAS 및 RT-TELQAS 방법에서, RT-LQAS 플랩 검정의 역전사 및 TELQAS 방법의 RT-사전 증폭을 비롯한, 모든 증폭 단계가 동일한 PCR-플랩 검정 완충액에서 수행된다. 멀티플렉스 사전 증폭이 이용될 때, 동일한 프라이머 쌍이 사전 증폭 표적 농축 및 정량적 PCR-플랩 검정에 이용될 수 있다, 다시 말하면, 이들 프라이머는 네스티드 프라이머일 필요가 없다. 예를 들면, U.S. 특허 번호 10,704,081을 참조하는데, 이것은 본원에서 참조로서 편입된다.

[0364] 실험 실시예

[0365] 하기 실시예는 본원 발명을 한정하는 것이 아닌, 예시하기 위해 제공된다. 이해를 용이하게 하기 위해, 기술적인 제안을 해석하는 데 도움을 주는 특정한 구체예가 제공된다, 다시 말하면, 이들 구체예는 단지 예시적인 목적만을 위한 것이며, 어떤 방식으로든 발명의 범위를 한정하지 않는다. 별도로 명시되지 않으면, 구체예는 특정한 조건을 지시하지 않고, 전통적인 조건 또는 제조업체의 권장된 조건과 일치한다.

[0366] 실시예 1

[0367] RNA 단리, DNA 단리, 단백질 단리를 위한 방법.

[0368] 하기는 분석에 앞서 RNA 단리, DNA 단리, 그리고 단백질 샘플 준비를 위한 예시적인 방법을 제공한다.

[0369] 혈액으로부터 RNA 단리

- [0370] 혈액 샘플이 후속 RNA 검출에 적합한 혈액 수집관 (예를 들면, PAXgene 혈액 RNA 튜브; Qiagen, Inc.)에서 수집된다. 샘플이 즉시 검정되거나 또는 장래 분석 때까지 동결될 수 있다. RNA가 표준 방법, 예를 들면, Qiasymphony PAXgene 혈액 RNA 키트 (Prod. ID: 762635)에 의해 제조업체의 사용설명서에 따라서 샘플로부터 추출된다. RT-LQAS에서 검사하기에 앞서, RNA 샘플이 회석될 수 있다 (예를 들면, 10mM 트리스-HCl, pH 8.0, 0.1mM EDTA에서 1:50).
- [0371] **세포 및 혈장으로부터 DNA 단리**
- [0372] 세포주의 경우에, 유전체 DNA가 예를 들면, "Maxwell® RSC ccfDNA 혈장 키트 (Promega Corp., Madison, WI)를 이용하여, 세포 조건부 배지로부터 단리될 수 있다. 키트 프로토콜에 따라서, 1 mL의 세포 조건부 배지 (CCM)가 혈장 대신에 이용되고, 그리고 키트 절차에 따라서 처리된다. 용리 용적은 100 μ L이고, 이중에 70 μ L가 중아황산염 전환에 일반적으로 이용된다.
- [0373] 4 mL의 혈장 샘플로부터 DNA를 단리하기 위한 예시적인 절차는 아래와 같다:
- [0374] · 4 mL의 혈장 샘플에, 300 μ L의 프로테이나아제 K (20mg/mL)이 첨가되고 혼합된다.
- [0375] · 3 μ L의 1 μ g/ μ L의 어류 DNA를 혈장-프로테이나아제 K 혼합물에 첨가한다.
- [0376] · 2 mL의 혈장 용해 완충액을 혈장에 첨가한다.
- [0377] 혈장 용해 완충액은
- [0378] - 4.3M 구아니딘 티오시안산염
- [0379] - 10% IGEPAL CA-630 (옥틸페녹시 폴리(에틸렌옥시)에탄올, 분지됨)
- [0380] (45 mL의 4.8 M 구아니딘 티오시안산염과 조합된 5.3g의 IGEPAL CA-630)이다
- [0381] · 500 rpm에서 진탕하면서, 혼합물을 55 $^{\circ}$ C에서 1 시간 동안 인큐베이션한다.
- [0382] · 다음을 첨가하고 혼합한다:
- [0383] o 3 mL의 혈장 용해 완충액
- [0384] o 2 mL의 100% 이소프로판올
- [0385] o 200 μ L 자성 실리카 결합 비드 (16 μ g의 비드/ μ L)
- [0386] (각 첨가 후 임의적으로 혼합하고 및/또는 혼합물에 첨가하기 전 용해 완충액 및 이소프로판올을 임의적으로 예혼합한다)
- [0387] · 500 rpm에서 진탕하면서 30 $^{\circ}$ C에서 30 분 동안 인큐베이션한다.
- [0388] · 튜브(들)를 자석 위에 배치하고 비드가 집합되도록 한다. 상층액을 흡인하고 폐기한다.
- [0389] · 결합 비드를 내포하는 용기에 750 μ L GuHCl-EtOH를 첨가하고 혼합한다.
- [0390] GuHCl-EtOH 세척 완충액은
- [0391] - 3M GuHCl (구아니딘 염산염)
- [0392] - 57% EtOH (에틸 알코올)이다
- [0393] · 400 rpm에서 1 분 동안 흔든다.
- [0394] · 샘플을 딥 웰 평판 또는 2 mL 마이크로원심분리 튜브에 전달한다.
- [0395] · 튜브를 자석 위에 배치하고 비드가 10 분 동안 집합되도록 한다. 상층액을 흡인하고 폐기한다.
- [0396] · 1000 μ L 세척 완충액 (10 mM 트리스 HCl, 80% EtOH)을 비드에 첨가하고, 그리고 진탕하면서 30 $^{\circ}$ C에서 3 분 동안 인큐베이션한다.
- [0397] · 튜브를 자석 위에 배치하고 비드가 집합되도록 한다. 상층액을 흡인하고 폐기한다.
- [0398] · 500 μ L 세척 완충액을 비드에 첨가하고, 그리고 진탕하면서 30 $^{\circ}$ C에서 3 분 동안 인큐베이션한다.

- [0399] · 튜브를 자석 위에 배치하고 비드가 집합되도록 한다. 상층액을 흡인하고 폐기한다.
- [0400] · 250 μ L 세척 완충액을 첨가하고, 그리고 진탕하면서 30 $^{\circ}$ C에서 3 분 동안 인큐베이션한다.
- [0401] · 튜브를 자석 위에 배치하고 비드가 집합되도록 한다. 남아있는 완충액을 흡인하고 폐기한다.
- [0402] · 250 μ L 세척 완충액을 첨가하고, 그리고 진탕하면서 30 $^{\circ}$ C에서 3 분 동안 인큐베이션한다.
- [0403] · 튜브를 자석 위에 배치하고 비드가 집합되도록 한다. 남아있는 완충액을 흡인하고 폐기한다.
- [0404] · 진탕하면서, 비드를 70 $^{\circ}$ C에서 15 분 동안 건조시킨다.
- [0405] · 125 μ L 용리 완충액 (10 mM 트리스 HCl, pH 8.0, 0.1 mM EDTA)을 비드에 첨가하고, 그리고 진탕하면서 65 $^{\circ}$ C에서 25 분 동안 인큐베이션한다.
- [0406] · 튜브를 자석 위에 배치하고 비드가 10 분 동안 집합되도록 한다.
- [0407] · DNA를 내포하는 상층액을 흡인하고 이것을 새로운 용기 또는 튜브로 이전한다.
- [0408] 중아황산염 전환
- [0409] *I. 아황산수소암모늄을 이용한 DNA의 숯산화*
- [0410] 1. 각 튜브에서, 64 μ L DNA, 7 μ L 1 N NaOH, 그리고 0.2 mg/mL BSA 및 0.25 mg/mL의 어류 DNA를 내포하는 9 μ L의 운반체 용액을 조합한다.
- [0411] 2. 42 $^{\circ}$ C에서 20 분 동안 인큐베이션한다.
- [0412] 3. 120 μ L의 45% 아황산수소암모늄을 첨가하고 66 $^{\circ}$ 에서 75 분 동안 인큐베이션한다.
- [0413] 4. 4 $^{\circ}$ C에서 10 분 동안 인큐베이션한다.
- [0414] *II. 자성 비드를 이용한 탈숯산화*
- [0415] 재료
- [0416] · 자성 비드 (Promega MagneSil 상자성 입자, Promega 카탈로그 번호 AS1050, 16 μ g/ μ L).
- [0417] · 결합 완충액: 6.5-7 M 구아니딘 염산염.
- [0418] · 전환후 세척 완충액: 10 mM 트리스 HCl (pH 8.0)을 포함하는 80% 에탄올.
- [0419] · 탈숯산화 완충액: 70% 이소프로필 알코올, 0.1 N NaOH가 탈숯산화 완충액용으로 선택되었다.
- [0420] 본질적으로 아래에 설명된 바와 같은 온도 및 혼합 속도에서 샘플을 혼합하거나 또는 인큐베이션하기 위한 임의의 적합한 장치 또는 기술을 이용하여, 샘플이 혼합된다. 예를 들면, 열혼합기 (Eppendorf)가 샘플의 혼합 또는 인큐베이션에 이용될 수 있다. 예시적인 탈숯산화는 아래와 같다:
- [0421] 1. 병을 1 분 동안 와동함으로써, 비드 스톱을 철저하게 혼합한다.
- [0422] 2. 50 μ L의 비드를 2.0 mL 튜브 (예를 들면, USA Scientific로부터) 내로 분취한다.
- [0423] 3. 750 μ L의 결합 완충액을 비드에 첨가한다.
- [0424] 4. 단계 I로부터 150 μ L의 숯화된 DNA를 첨가한다.
- [0425] 5. 혼합한다 (예를 들면, 30 $^{\circ}$ C에서 30 분 동안 1000 RPM).
- [0426] 6. 튜브를 자석 스탠드 위에 배치하고 5 분 동안 그대로 둔다. 튜브가 스탠드 위에 있는 상태에서, 상층액을 제거하고 폐기한다.
- [0427] 7. 1,000 μ L의 세척 완충액을 첨가한다. 혼합한다 (예를 들면, 30 $^{\circ}$ C에서 3 분 동안 1000 RPM).
- [0428] 8. 튜브를 자석 스탠드 위에 배치하고 5 분 동안 그대로 둔다. 튜브가 스탠드 위에 있는 상태에서, 상층액을 제거하고 폐기한다.
- [0429] 9. 250 μ L의 세척 완충액을 첨가한다. 혼합한다 (예를 들면, 30 $^{\circ}$ C에서 3 분 동안 1000 RPM).

- [0430] 10. 튜브를 자성 선반 위에 배치한다; 1 분 후 상층액을 제거하고 폐기한다.
- [0431] 11. 200 μ L의 탈선폰화 완충액을 첨가한다. 혼합한다 (예를 들면, 30 $^{\circ}$ C에서 5 분 동안 1000 RPM).
- [0432] 12. 튜브를 자성 선반 위에 배치한다; 1 분 후 상층액을 제거하고 폐기한다.
- [0433] 13. 250 μ L의 세척 완충액을 첨가한다. 혼합한다 (예를 들면, 30 $^{\circ}$ C에서 3 분 동안 1000 RPM).
- [0434] 14. 튜브를 자성 선반 위에 배치한다; 1 분 후 상층액을 제거하고 폐기한다.
- [0435] 15. 250 μ L의 세척 완충액을 튜브에 첨가한다. 혼합한다 (예를 들면, 30 $^{\circ}$ C에서 3 분 동안 1000 RPM).
- [0436] 16. 튜브를 자성 선반 위에 배치한다; 1 분 후 상층액을 제거하고 폐기한다.
- [0437] 17. 뚜껑이 열린 상태에서 모든 튜브를 30 $^{\circ}$ C에서 15 분 동안 인큐베이션한다.
- [0438] 18. 튜브를 자성 선반으로부터 이전하고 70 μ L의 용리 완충액을 비드에 직접적으로 첨가한다.
- [0439] 19. 비드를 용리-완충액과 함께 인큐베이션한다 (예를 들면, 40 $^{\circ}$ C에서 45 분 동안 1000 RPM).
- [0440] 20. 튜브를 자성 선반 위에 약 1 분 동안 배치한다; 상층액을 이전하고 보관한다.
- [0441] 전환된 DNA는 이후, 아래에 설명된 바와 같은 검출 검정, 예를 들면, 사전 증폭 및/또는 플랩 엔도뉴클레아제 검정에서 이용된다.
- [0442] 핵산의 중아황산염 처리의 추가 구체예에 대해, 본원에서 모든 점에서 온전히 참조로서 편입되고 본원에서 설명된 기술에서 적용될 수 있는 US 10,704,081 및 2020년 7월 29일 제출된 U.S. 특허 출원 일련 번호 63/058,179를 또한 참조한다.
- [0443] 일부 구체예에서, RNA와 DNA가 개체로부터 획득된 혈액의 상이한 샘플로부터 분리된다. 예를 들면, 혈액은 RNA의 최적 보존 및/또는 단리용으로 설정된 첫 번째 수집관 및 DNA의 최적 보존 및 단리용으로 설정된 두 번째 수집관에 수집될 수 있고, 그리고 RNA와 DNA가 이러한 방식으로 수집된 혈액의 일부로부터 추출될 수 있다. 다른 구체예에서, RNA와 DNA는 둘 모두, 예를 들면, DNA와 RNA 둘 모두의 최적 보존 및 단리용으로 설정된 수집관 (예를 들면, 무세포 DNA 및 무세포 RNA 둘 모두의 보존과 단리를 위한, NORGEN Biotek Corp.로부터 cf-DNA/cf-RNA 보존 튜브 (카탈로그 63950))을 이용하여, 단일 수집된 혈액 샘플로부터 추출된다.
- [0444] 일부 구체예에서, RNA와 DNA는 예를 들면, RT-LQAS/RT-TELQAS 반응에서 함께 검정된다. 일부 구체예에서, RNA와 DNA는 전술된 바와 같이, 별개로 분리되고 및/또는 예를 들면, 중아황산염으로 별개로 처리되고, 반면 일부 구체예에서, RNA와 DNA는 함께 처리된다, 예를 들면, 둘 모두 중아황산염 처리 및 후속 정제 동안 존재하고 검정 반응에 함께 첨가된다.
- [0445] **플랩 엔도뉴클레아제 검정**
- [0446] QuARTS 및 LQAS/TELQAS 플랩 검정 기술은 중합효소-기반 표적 DNA 증폭 과정을 침습성 개열-기반 신호 증폭 과정과 조합한다. QuARTS 기술은 예를 들면, U.S. 특허 번호 8,361,720; 8,715,937; 8,916,344; 9,212,392에서 설명되고, 그리고 더 긴 표적 특이적 영역을 갖는 프로브 올리고뉴클레오타이드를 이용한 플랩 검정 (긴 프로브 정량적 증폭된 신호, "LQAS")은 U.S. 특허 10,648,025에서 설명되며, 이들은 각각 본원에서 모든 점에서 온전히 참조로서 편입된다. 본원에서 설명된 QuARTS 검정에서, 플랩 올리고뉴클레오타이드는 12개 염기의 표적 특이적 영역을 갖고, 반면 LQAS 검정은 적어도 13개 염기의 표적 특이적 영역을 갖는 플랩 올리고뉴클레오타이드를 이용하고 증폭을 위해 상이한 열 주기 절차를 이용한다. QuARTS 및 LQAS 반응에 의해 생성된 형광 신호는 실시간 PCR과 유사한 방식으로 모니터링되고, 샘플 내에서 표적 핵산의 양의 정량을 가능하게 한다.
- [0447] 예시적인 QuARTS 반응은 전형적으로, 대략 200-600 nmol/L (예를 들면, 500 nmol/L)의 각 프라이머 및 검출 프로브, 대략 100 nmol/L의 침습성 올리고뉴클레오타이드, 대략 600-700 nmol/L의 각 FRET 카세트 (예를 들면, Hologic, Inc.에 의해 상업적으로 공급된 대로 FAM; 예를 들면, BioSearch Technologies에 의해 상업적으로 공급된 대로 HEX; 및 예를 들면, BioSearch Technologies에 의해 상업적으로 공급된 대로, 그리고 "블랙홀" 원치, 예를 들면, BHQ-1, BHQ-2 또는 BHQ-3을 포함하는 Quasar 670, BioSearch Technologies), 6.675 ng/ μ L FEN-1 엔도뉴클레아제 (예를 들면, Cleavase® 2.0, Hologic, Inc.), 30 μ L 반응 용적에서 1 단위 Taq DNA 중합효소 (예를 들면, GoTaq® DNA 중합효소, Promega Corp., Madison, WI), 10 mmol/L 3-(n-모르폴리노) 프로판술폰산 (MOPS), 7.5 mmol/L $MgCl_2$, 그리고 250 μ mol/L의 각 dNTP를 포함한다. 예시적인 QuARTS 주기 조건은 아래의 표

에서 도시된 바와 같다. 일부 적용에서, 정량 주기 (C_q)의 분석은 샘플 내에서 표적 DNA 가닥의 초기 숫자의 척도 (예를 들면, 사본수)를 제공한다.

시기	온도/시간	주기의 횟수
변성	95°C / 3'	1
증폭 1	95°C / 20"	10
	67°C / 30"	
	70°C / 30"	
증폭 2	95°C / 20"	37
	53°C / 1'	
	70°C / 30"	
냉각	40°C / 30"	1

[0448]

[0449]

예시적인 LQAS 반응은 전형적으로, 대략 200-600 nmol/L의 각 프라이머, 대략 100 nmol/L의 침습성 올리고뉴클레오타이드, 대략 500 nmol/L의 각 플랩 올리고뉴클레오타이드 프로브 및 FRET 카세트를 포함한다. LQAS 반응은 예를 들면, 하기 열 주기 조건이 진행될 수 있다:

시기	온도/시간	주기의 횟수
변성	95°C / 3'	1
증폭	95°C / 20"	40
	63°C / 1'	
	70°C / 30"	
냉각	40°C / 30"	1

[0450]

[0451]

QuARTS 및 LQAS 검정을 위한 멀티플렉스 표적화된 사전 증폭

[0452]

중아황산염-전환된 DNA의 멀티플렉스 표적화된 사전 증폭

[0453]

입력 샘플로부터 중아황산염-처리된 DNA 중에서 대부분 또는 전부를 사전 증폭하기 위해, 큰 용적의 처리된 DNA가 단일, 큰-용적 멀티플렉스 증폭 반응에서 이용될 수 있다. 예를 들면, DNA가 전술된 바와 같이, 예를 들면, Maxwell Promega 혈액 키트 # AS1400을 이용하여, 세포주 (예를 들면, DFC1032 세포주 (선암종); H1755 세포주 (신경내분비)로부터 추출된다. DNA는 예를 들면, 전술된 바와 같이 중아황산염 전환된다.

[0454]

사전 증폭이 예를 들면, 7.5 mM MgCl₂, 10 mM MOPS, 0.3 mM 트리스-HCl, pH 8.0, 0.8 mM KCl, 0.1 µg/µL BSA, 0.0001% Tween-20, 0.0001% IGEPAL CA-630, 250 µM 각 dNTP, 올리고뉴클레오타이드 프라이머 (예를 들면, 동물량 (예를 들면, 200-500 nM 각 프라이머의 범위를 포함하지만 이들에 한정되지 않음)으로, 또는 상이한 표적 영역의 증폭 효율을 균형 잡도록 조정된 개별 프라이머 농도에서, 12개의 표적에 대해, 12개의 프라이머 쌍 / 24개의 프라이머), 0.025 단위/µL HotStart GoTaq 농도, 그리고 부피로 20 내지 50%의 중아황산염-처리된 표적 DNA (예를 들면, 50 µL 반응 혼합물 내로 10 µL의 표적 DNA, 또는 125 µL 반응 혼합물 내로 50 µL의 표적 DNA)를 내포하는 반응 혼합물에서 수행된다. 열 주기 횟수 및 온도가 반응의 용적 및 증폭 용기에 적합하도록 선택된다. 예를 들면, 반응은 아래와 같이 순환될 수 있다:

시기	온도 / 시간	주기의 횟수
예비인큐베이션	95℃ / 5'	1
증폭 1	95℃ / 30"	10-12
	64℃ / 30"	
	72℃ / 30"	
냉각	4℃ / 유지	1

[0455]

[0456]

열 주기 후, 사전 증폭 반응의 분취량 (예를 들면, 10 μ L)이 어류 DNA와 함께 또는 이것 없이, 10 mM 트리스, 0.1 mM EDTA에서 500 μ L로 희석된다. 희석된 사전 증폭된 DNA의 분취량 (예를 들면, 10 μ L)이 예를 들면, 전술된 바와 같이, QuARTS PCR-플랩 검정에서 이용된다. 2015년 10월 30일 제출된 U.S. 특허 출원 일련 번호 62/249,097; 2016년 10월 26일 제출된 출원 일련 번호 15/335,096, 그리고 2016년 10월 26일 제출된 PCT/US16/58875를 또한 참조하고, 이들은 각각 본원에서 모든 점에서 온전히 참조로서 편입된다.

[0457]

통합 사전 증폭 및 LQAS 검정은 TELQAS 검정 ("표적 농축 긴 프로브 정량적 증폭된 신호")으로서 지칭된다.

[0458]

사전 증폭된 샘플을 이용하여, QuARTS 및 TELQAS 반응은 아래와 같이 설정된다:

마스터믹스 (반응마다)	반응마다 용적 (μ L)
물 (분자생물학적 등급)	15.50
10X 올리고 믹스*	3.00
20X QuARTS/LQAS 효소 믹스**	1.50
총 마스터믹스 용적	20.0
반응 믹스	
마스터믹스	20
사전 증폭된 샘플	10
최종 반응 용적	10

[0459]

[0460]

*10X 올리고뉴클레오타이드 믹스 = 2 μ M 각 프라이머 및 5 μ M 각 프로브 및 FRET 올리고뉴클레오타이드

[0461]

**20X 효소 믹스는 1 단위/ μ L GoTaq 핫 스타트 중합효소 (Promega), 292 ng/ μ L 클리바제 2.0 플랩 엔도뉴클레아제 (Hologic)를 내포한다.

[0462]

상기에서 언급된 바와 같이, QuARTS 검정에서 플랩 올리고뉴클레오타이드는 12개 염기의 표적 특이적 영역을 갖고, 반면 LQAS 검정은 적어도 13개 염기의 표적 특이적 영역을 갖는 플랩 올리고뉴클레오타이드를 이용하고 상이한 열 주기 조건이 진행된다.

[0463] QuARTS 반응은 하기 열 주기 조건이 진행된다:

QuARTS 검정 반응 주기:				신호 획득
시기	온도 / 시간	램프 비율 (초당 °C)	주기의 횟수	
예비인큐 배이션	95°C / 3 분	4.4	1	아니요
증폭 1	95°C / 20 초	4.4	5	아니요
	63°C / 30 초	2.2		아니요
	70°C / 30 초	4.4		아니요
	70°C / 30 초	4.4		아니요
증폭 2	95°C / 20 초	4.4	40	아니요
	53°C / 1 분	2.2		예
	70°C / 30 초	4.4		아니요
냉각	40°C / 30 초	2.2	1	아니요

[0464]

[0465] TELQAS 반응은 하기 열 주기 조건이 진행된다:

TELQAS 검정 반응 주기:				신호 획득
시기	온도 / 시간	램프 비율 (초당 °C)	주기의 횟수	
예비인큐 배이션	95°C / 3 분	4.4	1	아니요
증폭	95°C / 20 초	4.4	40	아니요
	63°C / 1 분	2.2		예
	70°C / 30 초	4.4		아니요
	70°C / 30 초	4.4		아니요
냉각	40°C / 30 초	2.2	1	아니요

[0466]

[0467] **RNA 검출을 위한 LQAS/TELQAS ("RT-LQAS" 또는 "RT-TELQAS")**

[0468] 예시적인 RT-LQAS 반응은 20U의 MMLV 역전사효소 (MMLV-RT), 219 ng의 Cleavase® 2.0, 1.5U의 GoTaq® DNA 중합효소, 200 nM의 각 프라이머, 500 nM 각 프로브 및 FRET 올리고뉴클레오타이드, 10 mM MOPS 완충액, pH 7.5, 7.5 mM MgCl₂, 그리고 250 μM 각 nNTP를 내포한다. 예시적인 프로토콜은 아래와 같다:

- [0469] 1. 필요한 올리고뉴클레오타이드 믹스를 -20°C 냉동기로부터 이전하고 해동되도록 한다.
- [0470] 2. -80°C로부터 대조를 실온에서 짧은 시간 동안 해동하고, 이후 얼음 위에 배치한다.
- [0471] 3. -80°C로부터 샘플 평판을 실온에서 짧은 시간 동안 해동하고, 이후 얼음 위에 배치한다.
- [0472] 4. 적절하게 크기산정된 튜브에서 올리고 혼합물에 대한 마스터 믹스를 준비한다.

[0473] 5. MMLV-RT 1:20을 H₂O에서 희석한다.

mRNA 역전사 10X 마스터 믹스 제제	
성분	μL/반응
뉴클레아제 없는-H ₂ O (Promega)	14.5
NF H ₂ O에서 희석된 MMLV-RT	1.0
10X 올리고 믹스	3.00
20X 효소 믹스	1.5
총 용적 마스터 믹스 (μL)	20.0
샘플 용적 (μL)	10
최종 RT- LQAS 반응 용적 (μL)	30

[0474]

[0475] 6. 평판 레이아웃마다, 매트릭스 피펫 또는 8-통로 P20 피펫을 이용하여, 20 μL의 마스터 믹스를 96 웰 RT-LQAS 평판 내로 피펫팅한다.

[0476] 7. 10 μL의 샘플, 대조, 교정기 (평판 레이아웃마다)를 부하한다.

[0477] 8. 평판을 밀봉하고 짧게 원심분리한다.

[0478] 9. 하기 반응 조건에서 평판을 돌린다.

[0479] 반응은 전형적으로, 형광 데이터를 실시간으로 (예를 들면, 연속적으로, 또는 일부 또는 전체 주기에서 동일한 지점에서) 수집하도록 설정된 유전자 증폭기에서 실행된다. 예를 들면, Roche LightCycler 480 기기 또는 Applied Biosystem QuantStudioX 실시간 PCR 기기가 하기 조건하에 이용될 수 있다:

RT-LQAS 검정 반응 주기:				
시기	온도 / 시간	램프 비율 (초당 °C)	주기의 횟수	신호 획득
역전사 예비인 큐베이 션	42°C / 30 분	4.4	1	아니요
	95°C / 3 분	4.4	1	아니요
증폭	95°C / 20 초	4.4	45	아니요
	63°C / 1 분	2.2		단일
	70°C / 30 초	4.4		아니요
냉각	40°C / 30 초	2.2	1	아니요

[0480]

[0481] 일부 구체예에서, RT- LQAS 검정은 전술된 바와 같이, 멀티플렉스 역전사 및 예를 들면, 샘플 내에서 2, 5, 10, 12개, 또는 그 이상의 표적 (또는 1개 표적 이상의 수많은 표적)을 사전 증폭하기 위한 사전 증폭의 단계를 포함할 수 있고 "RT-TELQAS"로서 지칭될 수 있다. 바람직한 구체예에서, RT- 사전 증폭은 예를 들면, 20U의 MMLV 역전사효소, 1.5U의 GoTaq® DNA 중합효소, 10mM MOPS 완충액, pH7.5, 7.5mM MgCl₂, 250 μM 각 dNTP, 그리고 올리고뉴클레오타이드 프라이머 (예를 들면, 동물량 (예를 들면, 200nM 각 프라이머)으로, 또는 상이한 표적의 증폭 효율을 균형 잡도록 조정된 개별 프라이머 농도에서, 12개의 표적에 대해, 12개의 프라이머 쌍/24개의 프라이머)를 내포하는 반응 혼합물에서 수행된다. 열 주기 횟수 및 온도가 반응의 용적 및 증폭 용기에 적합하도록 선택된다. 예를 들면, 반응은 아래와 같이 순환될 수 있다:

시기	온도 / 시간	주기의 횟수
RT	42°C / 30'	1
	95°C / 3'	1
증폭	95°C / 20"	10
	63°C / 30"	
	70°C / 30"	
	70°C / 30"	
냉각	4°C / 유지	1

[0482]

[0483]

열 주기 후, RT-사전 증폭 반응의 분취량 (예를 들면, 10 μ L)이 어류 DNA와 함께 또는 이것 없이, 10 mM 트리스, 0.1 mM EDTA에서 500 μ L로 희석된다. 희석된 사전 증폭된 DNA의 분취량 (예를 들면, 10 μ L)이 전술된 바와 같이, LQAS/TELQAS PCR-플랩 검정에서 이용된다. 일부 구체예에서, LQAS/TELQAS PCR 플랩 검정은 추가량의 동일한 프라이머 쌍을 이용하여 수행된다.

[0484]

실시예 2

[0485]

메틸화 마커의 선택 및 검사

[0486]

마커 선택 과정:

[0487]

감소된 표현 중아황산염 염기서열분석 (RRBS) 데이터가 16건의 선암종 폐암, 11건의 대세포 폐암, 14건의 소세포 폐암, 24건의 편평상피 세포 폐암 및 18건의 비암 폐로부터 조직에서 획득되었을 뿐만 아니라 백혈구연층 샘플의 RRBS 결과가 26명의 건강한 환자로부터 획득되었다.

[0488]

인간 유전체 서열의 중아황산염-전환된 형태로 정렬 후, 각 샘플 유형 (다시 말하면, 조직 또는 백혈구연층)에 대해 각 CpG 섬에서 평균 메틸화가 계산되었고, 그리고 마커 영역이 하기 기준에 근거하여 선택되었다:

[0489]

- 영역이 50개 염기쌍 또는 그 이상이 되도록 선택되었다.

[0490]

- QuARTS 플랩 검정 설계의 경우에, 영역이 a) 프로브 영역, b) 정방향 프라이머 결합 영역 및 c) 역방향 프라이머 결합 영역 각각 하에서 최소한 1개의 메틸화된 CpG를 갖도록 선택되었다. 정방향과 역방향 프라이머의 경우에, 메틸화된 CpG가 프라이머의 3' 단부에는 가깝지만, 3' 말단 뉴클레오타이드에서는 그렇지 않도록 요망된다. 예시적인 플랩 엔도뉴클레아제 검정 올리고뉴클레오타이드는 도 5에서 도시된다.

[0491]

- 바람직하게는, 관심 영역 내에 임의의 CpG에서 백혈구연층 메틸화는 > 0.5% 이내이다.

[0492]

- 바람직하게는, 관심 영역 내에 암 조직 메틸화는 > 10%이다.

[0493]

- 조직 분석용으로 설계된 검정의 경우에, 관심 영역 내에 정상 조직 메틸화는 바람직하게는 <0.5%이다.

[0494]

상이한 폐암 조직 유형에 대한 RRBS 데이터는 도 2-5에서 도시된다. 상기 기준에 근거하여, 아래의 표에서 도시된 마커가 선택되었고, 그리고 도 5에서 도시된 바와 같이, 이들에 대한 QuARTS 플랩 검정이 설계되었다.

[0495] 표 1

마커 명칭	유전체 좌표
AGRN	chr1:968467-968582, 가닥=+
ANGPT1	chr8:108509559-108509684, 가닥=-
ANKRD13B	chr17:27940470-27940578, 가닥=+
ARHGEF4	chr2:131792758-131792900, 가닥=-
B3GALT6	chr1: 1163595-1163733, 가닥=+
BARX1	chr9:96721498-96721597, 가닥=-
BCAT1	chr12:25055868-25055986, 가닥=-
BCL2L11	chr2: 111876620-111876759, 가닥=-
BHLHE23	chr20:61638462-61638546, 가닥=-
BIN2	chr12:51717898-51717971, 가닥=-
BIN2_Z	chr12:51718088-51718165, 가닥=+
CAPN2	chr1:223936858-223936998, 가닥=+
chr17_737	chr17:73749814-73749919, 가닥=-
chr5_132	chr5:132161371-132161482, 가닥=+
chr7_636	chr7:104581684-104581817, 가닥=-
CYP26C1	chr10: 94822396-94822502, 가닥=+
D1D01	chr20:61560669-61560753, 가닥=-
DLX4	chr17:48042426-48042820, 가닥=-
DMRTA2	chr1:50884390-50884519, 가닥=-
DNMT3A	chr2:25499967-25500072, 가닥=-
DOCK2	chr5:169064370- 169064454, 가닥=-
EMX1	chr2: 73147685-73147792, 가닥=+
FAM59B	chr2:26407701-26407828, 가닥=+
FERMT3	chr11:63974820-63974959, 가닥=+
FGF14	chr13:103046888-103046991, 가닥=+
FLJ34208	chr3:194208249-194208355, 가닥=+
FLJ45983	chr10:8097592-8097699, 가닥=+
GRIN2D	chr19:48918160-48918300, 가닥=-
HIST1H2BE	chr6:26184248-26184340, 가닥=+
HOPX	chr4:57521932-57522261 5'패드=0 3'패드=0 가 닥=-
IFFO1	chr12:6665277-6665348 가닥=+
HOXA9	chr7:27205002-27205102, 가닥=-
HOXB2	chr17:46620545-46620639, 가닥=-
KLHDC7B	chr22: 50987199-50987256, 가닥=+
LOC100129726	chr2:43451705-43451810, 가닥=+
MATK	chr19:3786127-3786197, 가닥=+
MAX.chr10.22541891-22541946	chr10:22541881-22541975, 가닥=+
MAX.chr10.22624430-22624544	chr10:22624411-22624553, 가닥=-
MAX.chr12.52652268-52652362	chr12:52652262-52652377, 가닥=-
MAX.chr16.50875223-50875241	chr16:50875167-50875274, 가닥=-
MAX.chr19.16394469-16394575	chr19:16394457-16394593, 가닥=-
MAX.chr19.37288426-37288480	range=chr19:37288396-37288512, 가닥=-

[0496]

MAX.chr8.124173236-124173370	chr8:124173231-124173386, 가닥=-
MAX.chr8.145105646-145105653	chr8:145105572-145105685, 가닥=-
MAX.Chr1.110	chr1:110627118-110627224 가닥=-
NFIX	chr19:13207426-13207513, 가닥=+
NKX2-6	chr8:23664052-23664145, 가닥=-
OPLAH	chr8:145106777-145106865, 가닥=-
PARP15	chr3:122296692-122296805, 가닥=+
PRDM14	chr8:70981945-70982039, 가닥=-
PRKAR1B	chr7:644172-644237, 가닥=+
PRKCB_28	chr16:23847607-23847698, 가닥=-
PTGDR	chr14:52735270-52735400, 가닥=-
PTGDR_9	chr14:52735221-52735300, 가닥=+
RASSF1	chr3:50378408-50378550, 가닥=-
SHOX2	chr3:157821263-157821382, 가닥=-
SHROOM1	chr5:132161371-132161426, 가닥=+
SIPR4	chr19:3179921-3180068 가닥=-
SKI	chr1:2232328-2232423, 가닥=+
SLC12A8	chr3:124860704-124860791, 가닥=+
SOBP	chr6:107956176-107956234, 가닥=+
SP9	chr2:175201210-175201341, 가닥=-
SPOCK2	chr10:73847236-73847324, 가닥=-
ST8SIAL1	chr12:22487518-22487630, 가닥=+
ST8SIAL1_22	chr12:22486873-22487009, 가닥=-
SUCLG2	chr3:67706477-677065610, 가닥=-
TBX15 영역 1	chr1:119527066-119527655, 가닥=+
TBX15 영역 2	chr1:119532813-119532920 가닥=-
TRH	chr3:129693481-129693580, 가닥=+
TSC22D4	chr7:100075328-100075445, 가닥=-
ZDHHC1	chr16:67428559-67428628, 가닥=-
ZM1Z1	chr10:81002910-81003005, 가닥=+
ZNF132	chr19:58851403-58851529, 가닥=-
ZNF329	chr19:58861889-58862028, 가닥=-
ZNF671	chr19:58238790-58238906, 가닥=+
ZNF781	chr19:38183018-38183137, 가닥=-

[0497]

[0498]

[0499]

[0500]

백혈구연증과의 교차반응성에 대한 선택된 마커의 분석.

1) 백혈구연증 선별검사

건강한 환자의 10 mL 혈액으로부터 획득된 백혈구연증으로부터 추출된 DNA에서, 상기 목록으로부터 마커가 선별 검사되었다. DNA가 Promega Maxwell RSC 시스템 (Promega Corp., Fitchburg, WI)을 이용하여 추출되고 Zymo EZ DNA Methylation™ 키트 (Zymo Research, Irvine, CA)를 이용하여 전환되었다. 중아황산염-전환된 β-액틴 DNA ("BTACT")와의 바이플렉스 반응을 이용하여, 그리고 표적 유전체 DNA의 대략 40,000개 가닥을 이용하여, 이들 샘플은 교차반응성을 검사하기 위해, 전술된 바와 같은 QuARTS 플랩 엔도뉴클레아제 검정을 이용하여 검사되었다. 이렇게 함으로써, 3개의 마커에 대한 이들 검정은 유의미한 교차반응성을 보였다:

마커	% 교차반응성
HIST1H2B	72.93%
chr7_636	3495.47%
chr5_132	0.20%

[0501]

[0502]

[0503]

2) 조직 선별검사

264개의 조직 샘플이 아래의 표 2에 도시된 바와 같이, 다양한 상업적인 및 비상업적인 공급원 (Asuragen, BioServe, ConversantBio, Cureline, Mayo Clinic, M D Anderson 및 PrecisionMed)으로부터 획득되었다.

사례의 숫자	병리	아형	상세
82	정상	해당 없음	68명의 흡연자, 34명의 흡연 미경험자, 17명은 흡연 여부 불명
37	정상	양성 결절	
7	NSCLC	세기관지폐포	
13	NSCLC	대세포	
2	NSCLC	신경내분비	
42	NSCLC	편평상피 세포	
68	NSCLC	선암종	
4	SCLC	소세포	
9	NSCLC	카르시노이드	

[0504]

[0505]

조직 절편이 병리학자에 의해 조사되었는데, 상기 병리학자는 현미해부를 감독하기 위해 조직학적으로 식별되는 병변에 동그라미를 표시하였다. 전체 핵산 추출이 Promega Maxwell RSC 시스템을 이용하여 수행되었다. 포르말린-고정된, 과라핀 포매된 (FFPE) 슬라이드가 굽어내졌고, 그리고 RNA분해효소 처리 단계가 생략된 제조업체의 절차를 이용하여, DNA가 Maxwell® RSC DNA FFPE 키트 (#AS1450)를 이용하여 추출되었다. 동일한 절차가 FFPE 컬에 이용되었다. 동결된 펀치 생검 샘플의 경우에, RNA분해효소 단계가 생략된, Maxwell® RSC 혈액 DNA 키트 (#AS1400)와 함께 RSC DNA FFPE 키트로부터 용해 완충액을 이용하는 변형된 절차가 활용되었다. 샘플이 10 mM 트리스, 0.1 mM EDTA, pH 8.5 및 10 μ L에서 용리되고 6가지 멀티플렉스 PCR 반응을 셋업하는 데 이용되었다.

[0506]

하기 멀티플렉스 PCR 프라이머 믹스가 10X 농도에서 만들어졌다 (10X=2 μ M 각 프라이머):

[0507]

· 멀티플렉스 PCR 반응 1은 하기 마커 각각으로 구성되었다: BARX1, LOC100129726, SPOCK2, TSC22D4, PARP15, MAX.chr8.145105646-145105653, ST8SIA1_22, ZDHHC1, BIN2_Z, SKI, DNMT3A, BCL2L11, RASSF1, FERMT3 및 BTACT.

[0508]

· 멀티플렉스 PCR 반응 2는 하기 마커 각각으로 구성되었다: ZNF671, ST8SIA1, NKX6-2, SLC12A8, FAM59B, DIDO1, MAX_Chr1.110, AGRN, PRKCB_28, SOBP 및 BTACT.

[0509]

· 멀티플렉스 PCR 반응 3은 하기 마커 각각으로 구성되었다: MAX.chr10.22624430-22624544, ZMIZ1, MAX.chr8.145105646-145105653, MAX.chr10.22541891-22541946, PRDM14, ANGPT1, MAX.chr16.50875223-50875241, PTGDR_9, ANKRD13B, DOCK2 및 BTACT.

[0510]

· 멀티플렉스 PCR 반응 4는 하기 마커 각각으로 구성되었다: MAX.chr19.16394489-16394575, HOXB2, ZNF132, MAX.chr19.37288426-37288480, MAX.chr12.52652268-52652362, FLJ45983, HOXA9, TRH, SP9, DMRTA2 및 BTACT.

[0511]

· 멀티플렉스 PCR 반응 5는 하기 마커 각각으로 구성되었다: EMX1, ARHGEF4, OPLAH, CYP26C1, ZNF781, DLX4, PTGDR, KLHDC7B, GRIN2D, chr17_737 및 BTACT.

[0512]

· 멀티플렉스 PCR 반응 6은 하기 마커 각각으로 구성되었다: TBX15, MATK, SHOX2, BCAT1, SUCLG2, BIN2, PRKAR1B, SHROOM1, S1PR4, NFIX 및 BTACT.

[0513]

각 멀티플렉스 PCR 반응은 0.2 μ M 반응 완충액, 0.2 μ M 각 프라이머, 0.05 μ M Hotstart Go Taq (5U/ μ L)의 최종 농도로 셋업되어, 50 μ L의 최종 반응 용적을 위해 10 μ L의 DNA 주형과 조합되는 40 μ L의 마스터 믹스가 생성되었다.

[0514]

멀티플렉스 PCR에 대한 열 프로파일은 5 분 동안 95° 의 예비인큐베이션 시기, 30 초 동안 95° , 30 초 동안 64° , 30 초 동안 72° 에서 증폭의 10회 주기, 그리고 추가 처리 때까지 유지되는 4° 의 냉각 시기를 수반하였다. 일단 멀티플렉스 PCR이 완료되면, PCR 산물은 20ng/ μ L의 어류 DNA의 회색제를 이용하여 1:10 희석되었고 (예를 들면, 물 또는 완충액에서, 본원에서 참조로서 편입되는 US 특허 번호 9,212,392를 참조한다), 그리고 10 μ L의 희석된 증폭된 샘플이 각 QuARTS 검정 반응에 이용되었다.

[0515]

각 QuARTS 검정이 2개의 메틸화 마커 및 참조 유전자로서 BTACT로 구성되는 트리플렉스 형태로 설정되었다.

[0516]

· 멀티플렉스 PCR 산물 1로부터, 하기 7가지 트리플렉스 QuARTS 검정이 실행되었다: (1) BARX1, LOC100129726, BTACT; (2) SPOCK2, TSC22D4, BTACT; (3) PARP15, MAXchr8145105646-145105653, BTACT; (4) ST8SIA1_22, ZDHHC1, BTACT; (5) BIN2_Z, SKI, BTACT; (6) DNMT3A, BCL2L11, BTACT; (7) RASSF1, FERMT3 및

BTACT.

- [0517] · 멀티플렉스 PCR 산물 2로부터, 하기 5가지 트리플렉스 QuARTS 검정이 실행되었다: (1) ZNF671, ST8SIA1, BTACT; (2) NKX6-2, SLC12A8, BTACT; (3) FAM59B, DDO1, BTACT; (4) MAX_Chr1110, AGRN, BTACT; (5) PRKCB_28, SOBP 및 BTACT.
- [0518] · 멀티플렉스 PCR 산물 3으로부터, 하기 5가지 트리플렉스 QuARTS 검정이 실행되었다: (1) MAXchr1022624430-22624544, ZMIZ1, BTACT; (2) MAXchr8145105646-145105653, MAXchr1022541891-22541946, BTACT; (3) PRDM14, ANGPT1, BTACT; (4) MAXchr1650875223-50875241, PTGDR_9, BTACT; (5) ANKRD13B, DOCK2 및 BTACT.
- [0519] · 멀티플렉스 PCR 산물 4로부터, 하기 5가지 트리플렉스 QuARTS 검정이 실행되었다: (1) MAXchr1916394489-16394575, HOXB2, BTACT; (2) ZNF132, MAXchr1937288426-37288480, BTACT; (3) MAXchr1252652268-52652362, FLJ45983, BTACT; (4) HOXA9, TRH, BTACT; (5) SP9, DMRTA2 및 BTACT.
- [0520] · 멀티플렉스 PCR 산물 5로부터, 하기 5가지 트리플렉스 QuARTS 검정이 실행되었다: (1) EMX1, ARHGEF4, BTACT; (2) OPLAH, CYP26C1, BTACT; (3) ZNF781, DLX4, BTACT; (4) PTGDR, KLHDC7B, BTACT; (5) GRIN2D, chr17_737 및 BTACT.
- [0521] · 멀티플렉스 PCR 산물 6으로부터, 하기 5가지 트리플렉스 QuARTS 검정이 실행되었다: (1) TBX15, MATK, BTACT; (2) SHOX2, BCAT1, BTACT; (3) SUCLG2, BIN2, BTACT; (4) PRKAR1B, SHROOM1, BTACT; (5) S1PR4, NFIX 및 BTACT.
- [0522] **3)데이터 분석:**
- [0523] 조직 데이터 분석을 위해, 정상 조직에서 <0.5 % 메틸화 및 암 조직에서 >10% 메틸화의 RRBS 기준에 근거하여 선택된 마커가 포함되었다. 이것은 추가 분석을 위한 51개의 마커를 발생시켰다.
- [0524] 마커 민감도를 결정하기 위해, 다음이 수행되었다:
- [0525] 1. 특정한 마커에 대해 획득된 가닥 값을 ACTB (β -액틴)의 가닥 값으로 나눔으로써, 각 마커에 대한 % 메틸화가 계산되었다.
- [0526] 2. 각 마커에 대한 최대 %메틸화가 정상 조직에서 결정되었다. 이것은 100% 특이성으로서 규정된다.
- [0527] 3. 각 마커에 대한 암 조직 양성이 상기 마커에 대한 최대 정상 조직 % 메틸화 이상을 갖는 암 조직의 숫자로서 결정되었다.
- [0528] 이들 51개의 마커에 대한 민감도는 아래에 도시된다.

[0529] 표 2

마커	정상에 대한 최대 % 메틸화	암 (N=136)		
		# 음성	# 양성	민감도
BARX1	1.665	66	70	51%
LOC100129726	1.847	109	27	20%
SPOCK2	0.261	86	50	37%
TSC22D4	0.618	70	66	49%
MAX_chr8.124	0.293	45	91	67%
RASSF1	1.605	79	57	42%
ZNF671	0.441	73	63	46%
ST8SIA1	1.56	119	17	13%
NKX6_2	15.58	102	34	25%
FAM59B	0.433	85	51	38%
DID01	2.29	93	43	32%
MAX_Chrl.110	0.076	85	51	38%
AGR1	2.16	66	70	51%
SOBP	38.5	110	26	19%
MAX_chr10.226	0.7	52	84	62%
ZNF121	0.025	72	64	47%
MAX_chr8.145	5.56	57	79	58%
MAX_chr10.225	0.77	72	64	47%
PRDM14	0.22	35	101	74%
ANGPT1	1.6	99	37	27%
MAX_chr16.50	0.27	92	44	32%
PTGDR_9	4.62	82	54	40%
ANKRD13B	7.03	93	43	32%
DOCK2	0.001	71	65	48%
MAX_chr19.163	0.61	56	80	59%
ZNF132	1.3	83	53	39%
MAX_chr19.372	0.676	79	57	42%
HOXA9	16.7	53	83	61%
TRH	2.64	61	75	55%
SP9	14.99	75	61	45%
DMRTA2	7.9	55	81	60%
ARHGEF4	7.41	113	23	17%
CYP26C1	39.2	101	35	26%
ZNF781	5.28	44	92	68%
PTGDR	6.13	76	60	44%
GRIN2D	16.1	113	23	17%
MATK	0.04	93	43	32%
BCAT1	0.64	75	61	45%
PRKCB_28	1.68	57	79	58%
ST8SIA_22	1.934	55	81	60%
FLJ45983	8.34	39	97	71%
DLX4	15.1	41	95	70%
SHOX2	7.48	32	104	76%

[0530]

EMX1	11.34	34	102	75%
HOXB2	0.114	61	75	55%
MAX_chr12.526	5.58	34	102	75%
BCL2L11	10.7	44	92	68%
OPLAH	5.11	29	107	79%
PARP15	3.077	42	94	69%
KLHDC7B	8.86	38	98	72%
SLC12A8	0.883	34	102	75%

[0531]

[0532]

마커의 조합이 특이성 및 민감도를 증가시키는 데 이용될 수 있다. 예를 들면, 8개 마커 *SLC12A8*, *KLHDC7B*, *PARP15*, *OPLAH*, *BCL2L11*, *MAX_chr12.526*, *HOXB2* 및 *EMX1*의 조합은 100% 특이성에서, 검사된 모든 암 조직에 대한 98.5% 민감도 (134/136 암)를 야기하였다.

[0533]

일부 구체예에서, 예를 들면, 특정 암 유형 또는 유형의 조합에 대해 민감도와 특이성을 보여주는 마커의 이용에 의해, 특정 유형의 폐암 조직, 예를 들면, 선암종, 대세포 암종, 편평상피 세포 암종, 또는 소세포 암종과 연관된 민감하고 특이적인 검출을 위한 마커가 선택된다.

[0534]

조직에서 검정된, 메틸화된 DNA 마커의 이러한 패널은 정상적인 폐 조직 및 양성 결절에서 여전히 음성이면서,

모든 유형의 폐암에 대한 극히 높은 식별을 달성한다. 마커의 이러한 패널에 대한 검정은 또한, 혈액 또는 체액-기반 검사에 적용될 수 있고, 그리고 예를 들면, 폐암 선별검사 및 양성 결정으로부터 악성 결정의 식별에서 용도를 발견한다.

[0535] 실시예 3

[0536] 혈장 샘플에서 30-마커 세트의 검사

[0537] 실시예 2에서 마커의 목록으로부터, 30개 마커가 295명의 개체 (폐암을 앓는 64명, 231명의 정상적인 대조)로부터 획득된 혈장 샘플로부터 유래된 DNA를 검사하는 데 이용을 위해 선택되었다. DNA가 각 개체로부터 획득된 2 mL의 혈장으로부터 추출되고 실시예 1에서 설명된 바와 같이 중아황산염으로 처리되었다. 중아황산염-전환된 DNA의 분취량이 실시예 1에서 설명된 바와 같이, 2번의 멀티플렉스 QuARTS 검정에서 이용되었다. 분석을 위해 선택된 마커는 아래와 같다:

[0538] 1. BARX1

[0539] 2. BCL2L11

[0540] 3. BIN2_Z

[0541] 4. CYP26C1

[0542] 5. DLX4

[0543] 6. DMRTA2

[0544] 7. DNMT3A

[0545] 8. EMX1

[0546] 9. FERMT3

[0547] 10. FLJ45983

[0548] 11. HOXA9

[0549] 12. KLHDC7B

[0550] 13. MAX.chr10.22624430-22624544

[0551] 14. MAX.chr12.52652268-52652362

[0552] 15. MAX.chr8.124173236-124173370

[0553] 16. MAX.chr8.145105646-145105653

[0554] 17. NFIX

[0555] 18. OPLAH

[0556] 19. PARP15

[0557] 20. PRKCB_28

[0558] 21. S1PR4

[0559] 22. SHOX2

[0560] 23. SKI

[0561] 24. SLC12A8

[0562] 25. SOBP

[0563] 26. SP9

[0564] 27. SUCLG2

[0565] 28. TBX15

[0566] 29. ZDHHC1

[0567] 30. ZNF781

[0568] 이들 마커에 대한 표적 서열, 중아황산염 전환된 표적 서열, 그리고 검정 올리고뉴클레오티드는 도 5에서 도시된 바와 같았다. 각 전환된 표적에 대해 이용된 프라이머 및 플랩 올리고뉴클레오티드 (프로브)는 아래와 같았다:

[0569] 표 3

마커	올리고뉴클레오티드 명칭	구성요소	서열 (5'-3')	서열 번호:
BARX1	BARX1_FP	정방향 프 라이머	CGTTAATTTGTTAGATAGAGGGCG	23
	BARX1_RP	역방향 프 라이머	ACGATCGTCCGAACAACC	24
	BARX1_Pb_A5	플랩 올리고뉴클레오티드	CCACGGACGCGCTACGAAAA/306/	25
SLC12A8	SLC12A8_FP	정방향 프 라이머	TTAGGAGGGTGGGGTTCG	289
	SLC12A8_RP	역방향 프 라이머	CTTTCCTCGCAAAACCGC	290
	SLC12A8_Pb_A1	플랩 올리고뉴클레오티드	CCACGGACGGGAGGGGTAGG/306/	291
PARP15	PARP15_FP	정방향 프 라이머	GGTTGAGTTTGGGGTTCG	236
	PARP15_RP	역방향 프 라이머	CGTAACGTAAAACTCTACGCC	237
	PARP15_Pb_A5	플랩 올리고뉴클레오티드	CCACGGACGCGCTCGAACTAC/306/	238
MAX.Chr8.124	MAX.Chr8.124_FP	정방향 프 라이머	GGTTGAGTTTTCGGGTTTTAG	203
	MAX.Chr8.124_RP	역방향 프 라이머	CCTCCCCACGAAATCGC	204
	MAX.Chr8.124_Pb_A1	플랩 올리고뉴클레오티드	CGCCGAGGGCGGGTTTTCGT/306/	205
SHOX2	SHOX2_FP	정방향 프 라이머	GTTGAGTTTAGGGTAGCG	269
	SHOX2_RP	역방향 프 라이머	CCGCACAAAAACCGCA	270
	SHOX2_Pb_A5	플랩 올리고뉴클레오티드	CCACGGACGATCCGCAAAACGC/306/	271
ZDHHC1	ZDHHC1_FP	정방향 프 라이머	GTCGGGTCGATAGTTTACG	348
	ZDHHC1RP_V3	역방향 프 라이머	ACTCGAACTCACGAAAAACG	349
	ZDHHC1프로브_v3_A1	플랩 올리고뉴클레오티드	CGCCGAGGGACGAACGCACG/306/	350
BIN2_Z	BIN2_FP_Z	정방향 프 라이머	GGGTTTATTTTAGGTAGCGTTCG	50
	BIN2_RP_Z	역방향 프 라이머	CGAAATTCGAACAAAAATTAAACTCGA	51
	BIN2_Pb_A5_Z	플랩 올리고뉴클레오티드	CCACGGACGGTTCGAGGTTAG/306/	52
SKI	SKI_FP	정방향 프 라이머	ACGGTTTTTCGTTATTTTACGG	279

[0570]

		라이머		
	SKI_RP	역방향 프	CAACGCCTAAAAACACGACTC	280
		라이머		
	SKI_Pb_A1	플랩 올리		
		고뉴클레오		
		티드	CGCCGAGGGGCGGTTGTTGG/306/	281
DNMT3A	DNMT3A_FP	정방향 프	GTTACGAATAAAGCGTTGGCG	93
	DNMT3A_RP	라이머		
		역방향 프	AACGAAACGCTTTATCGCGA	94
		라이머		
	DNMT3A_Pb_A5	플랩 올리		
		고뉴클레오		
		티드	CCACGGACGGAGTGGCGTTC/306/	95
BC2L11	BCL2L11_FP	정방향 프	CGTAATGTTTCGCGTTTTTCG	35
	BCL2L11_RP	라이머		
		역방향 프	ACTTTCTTCTACGTAATTCITTTCCGA	36
		라이머		
	BCL2L11_Pb_A1	플랩 올리		
		고뉴클레오		
		티드	CGCCGAGGGGCGGGTCGGGC/306/	37
TBX15	TBX15_Reg2_FP	정방향 프	AGGAAATGCGGGTTTTCG	332
	TBX15_Reg2_RP	라이머		
		역방향 프	CCAAAAATCGTCGCTAAAAATCAAC	334
		라이머		
	TBX15_Reg2_Pb_A5	플랩 올리		
		고뉴클레오		
		티드	CCACGGACGGCGCATTCAC/306/	335
FERMT3	FERMT3_FP	정방향 프	GTTTTGGGGATTATATCGATTTCG	118
	FERMT3_RP	라이머		
		역방향 프	CCCAATAACCCGCAAAATAAC	119
		라이머		
	FERMT3_Pb_A1	플랩 올리		
		고뉴클레오		
		티드	CGCCGAGGGGACTGACCTC/306/	120
PRKCB_28	PRKCB_28_FP	정방향 프	GGAAGGTGTTTTCGCG	249
	PRKCB_28_RP	라이머		
		역방향 프	CTTCTACAACCACTACACCGA	250
		라이머		
	PRKCB_28_Pb_A5	플랩 올리		
		고뉴클레오		
		티드	CCACGGACGGCGCGTTTAT/306/	251
SOBP_HM	SOBP_HM_FP	정방향 프	TTTCGGCGGGTTTCGAG	294
	SOBP_HM_RP	라이머		
		역방향 프	CGTACGTTTCACGATAACGT	295
		라이머		
	SOBP_HM_Pb_A1	플랩 올리		
		고뉴클레오		
		티드	CGCCGAGGGGCGGTCGCGGT/306/	296
MAX_chr8. 145	MAX_Chr8.145_F	정방향 프		
	P	라이머	GCGGTATTAGTTAGTTTTAGTCG	211
	MAX_Chr8.145_R	역방향 프		
	P	라이머	ACAACCOCTAAACCTAAATATCGT	212

[0571]

	MAX.Chr8.145_P b_A5	플랩 올리 고뉴클레오 티드	CCACGGACGGACGGCGTTTT/306/	213
MAX.chr10 .226	MAX.Chr10.226_ FP	정방향 프 라이머	GGGAAATTGTATTTCGTAAAAATCG	178
	MAX.Chr10.226_ RP	역방향 프 라이머	ACAACCTAACTTATCTACGTAACATCGT	179
	MAX.Chr10.226_ Pb_A1	플랩 올리 고뉴클레오 티드	CGCCGAGGGCGGTAAAGAAA/306/	180
	MAX.Chr12.52_F P	정방향 프 라이머	TCGTTGTTTTTGTGTTATCG	183
MAX.chr12 .52	MAX.Chr12.52_R P	역방향 프 라이머	AACCGAAATACAACATAAAACGC	184
	MAX.Chr12.52Pb A1	플랩 올리 고뉴클레오 티드	CCACGGACGGGAACCCGCAA/306/	185
FLJ45983	FLJ45983_FP	정방향 프 라이머	GGGCGCGAGTATAGTCG	133
	FLJ45983_RP	역방향 프 라이머	CAACGCGACTAATCCGC	134
	FLJ45983_Pb_A1	플랩 올리 고뉴클레오 티드	CGCCGAGGCCGTCACTCCA/306/	135
	HOXA9_FP	정방향 프 라이머	TGGGTAATTATTACGTGGATTCTG	148
HOXA9	HOXA9_RP	역방향 프 라이머	ACTCATCCGCGACGTC	149
	HOXA9_Pb_A5	플랩 올리 고뉴클레오 티드	CCACGGACGGGACGCCCAACA/306/	150
BMX1	BMX1_FP	정방향 프 라이머	GGCGTCGCGTTTTTAGAGAA	108
	BMX1_RP	역방향 프 라이머	TTCCTTTTGTGTTGTATAAAATTTCGTT	109
	BMX1PbA1	플랩 올리 고뉴클레오 티드	CGCCGAGGATCGGGTTTTAG/306/	110
	SP9_FP	정방향 프 라이머	TAGCGTCGAATGGAAGTTCGA	315
SP9	SP9_RP	역방향 프 라이머	GCGCGTAAACATAACGCACC	317
	SP9_Pb_A5	플랩 올리 고뉴클레오 티드	CCACGGACGCCGTACGAATCC/306/	318
DMRTA2	DMRTA2_FP	정방향 프 라이머	TGGTGTTTACGTTGCGTTTTTCGT	88
	DMRTA2_RP	역방향 프 라이머	CGCAACAACGACGACC	89
	DMRTA2_Pb_A1	플랩 올리 고뉴클레오 티드	CGCCGAGGGGAACGATCACG/306/	90

[0572]

OPLAH	F프라이머OPLAH	정방향 프 라이머	cGTcGcGTTTTcGGTTATAcG	231
	R프라이머OPLAH	역방향 프 라이머	CGCGAAAACATAAAAAACCGCG	232
	프로브A5OPLAH	클립 홀리 고뉴클레오 티드	CCACGGACG-GCACCGTAAAAAC/3C6/	233
		정방향 프 라이머		
CYP26C1	CYP26C1_FP	정방향 프 라이머	TGGTTTTTGGTTATTTCGGAATCGT	70
	CYP26C1_RP	역방향 프 라이머	GCGCGTAATCAACGCTAAC	71
		클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	CYP26C1_Pb_A1	정방향 프 라이머	CGCCGAGGCGACGATCTAAC/3C6/	72
ZNF781	ZNF781F.프라이 머	정방향 프 라이머	CGTTTTTTTGGTTTTTCGAGTGGC	373
	ZNF781R.프라이 머	역방향 프 라이머	TCAATAACTAACTCAACGCGTC	374
		클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	ZNF781프로 브_A5	정방향 프 라이머	CCACGGACGGCGGATTATCG/3C6/	375
DLX4	DLX4_FP	정방향 프 라이머	TGAGTGCCTAGTGTTCGG	80
	DLX4_RP	역방향 프 라이머	CTCCTCTACTAAAACGTACGATAAACA	81
		클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	DLX4_Pb_A1	정방향 프 라이머	CGCCGAGGATCGTATAAAC/3C6/	82
SUCLG2	SUCLG2_HM_FP	정방향 프 라이머	TGTTGGGTTTTTAATCGTTTCG	321
	SUCLG2_HM_RP	역방향 프 라이머	TCACGCCATCTTTACCGC	322
		클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	SUCLG2_HM_Pb_A 5	정방향 프 라이머	CCACGGACGGCGAAAATCTACA/3C6/	323
KLHDC7B	KLHDC7B_FP	정방향 프 라이머	AGTTTTCGGGTTTGGAGTTCGTTA	158
	KLHDC7B_RP	역방향 프 라이머	CCAAATCCAAACCGCGC	159
		클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	KLHDC7B_Pb_A1	정방향 프 라이머	CGCCGAGGACGGCGGTAGTT/3C6/	160
S1PR4_HM	S1PR4_HM_FP	정방향 프 라이머	TTATATAGGCGAGGTTCGCT	284
	S1PR4_HM_RP	역방향 프 라이머	CTTACGTATAAATAATACAACACCGAAT	285
		클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	S1PR4_HM_Pb_A5	정방향 프 라이머	CCACGGACGAGTACCAACA/3C6/	286
NFIX_HM	NFIX_HM_FP	정방향 프 라이머	TGTTTCGGCGGTGACGCG	221

[0573]

참조 DNA	NFIX_HM_RP	역방향 프 라이머	TCTAACCTATTTAACCAACCGA	222
		클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	NFIX_HM_Pb_A1	정방향 프 라이머	CGCCGAGGGCGGTAAAGTG/3C6/	223
	홀리고뉴클레오 티드 명칭	구성요소 서열 (5'-3')		
제브라피 시 합성 (RASSF1) BT 전환 (+)	ZF_RASSF1_FP	BT 정방향 프라이머	TGCGTATGGTGGCGAG	394
	ZF_RASSF1_RP	BT 역방향 프라이머	CCTAATTACACGTCAACCAATCGAA	395
		BT 클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	ZF_RASSF1_Pb_A 5	정방향 프 라이머	CCACGGACGGCGGTGCGTTT/3C6/	397
B3GALT6*	B3GALT6_FP_V2	정방향 프 라이머	GGTTATTTTGGTTTTTGAGTTTCGG	386
	B3GALT6_RP	역방향 프 라이머	TCCAACCTACTATATTACGCGAA	387
		클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	B3GALT6_Pb_A1	정방향 프 라이머	CCACGGACGGCGGATTAGGG/3C6/ GTGTTTGTTTTTTGATTAGGTGTTAAG	388
BTACT	ACTB_BT_FP65	정방향 프 라이머	A	381
	ACTB_BT_RP65	역방향 프 라이머	CTTACACCAACCTCATAACCTTATC	382
		클립 홀리 고뉴클레오 티드		
	ACTBBTPbA3	정방향 프 라이머	GACGCGGAGATAGTTGTGG/3C6/	383

[0574]

[0575]

*B3GALT6 마커는 암 메틸화 마커 및 참조 표적 둘 모두로서 이용된다. 2016년 7월 19일 제출된 U.S. 특허 출원 일련 번호 62/364,082를 참조하고, 이것은 본원에서 온전히 참조로서 편입된다.

[0576] † 제브라피시 참조 DNA의 경우에, 2016년 7월 19일 제출된 U.S. 특허 출원 일련 번호 62/364,049를 참조하고, 이것은 본원에서 온전히 참조로서 편입된다.

[0577] 전술된 바와 같이 혈장으로부터 준비된 DNA는 실시예 1에서 설명된 바와 같이, 2번의 멀티플렉스 사전 증폭 반응에서 증폭되었다. 멀티플렉스 사전 증폭 반응은 하기 마커 조합을 증폭하기 위한 시약을 포함하였다.

[0578] 표 4

멀티플렉스 믹스 1	멀티플렉스 믹스 2
B3GALT6 (참조)	B3GALT6 (참조)
ZF_RASSF1 (참조)	ZF_RASSF1 (참조)
BARX1	CYP26C1
BCL2L11	DLX4
BCL2L11	DMRTA2
BIN2_Z	EMX1
DNMT3A	HOXA9
FERMT3	KLHDC7B
PARP15	MAX_chr8.125
PRKCB_28	MAX_chr10.226
SHOX2	NFIX
SLC12A8	OPLAH
SOBP	S1PR4
TBX15_Reg2	SP9
ZDHHC1	SUCLG2
	ZNF781

[0579]

[0580] 사전 증폭 이후에, 사전 증폭된 혼합물의 분취량이 10 mM 트리스 HCl, 0.1 mM EDTA에서 1:10 희석되고, 이후 실시예 1에서 설명된 바와 같이, 트리플렉스 QuARTS PCR-플랩 검정에서 검정되었다. 군 1 트리플렉스 반응은 멀티플렉스 믹스 1로부터 사전 증폭된 물질을 이용하였고, 그리고 군 2 반응은 멀티플렉스 믹스 2로부터 사전 증폭된 물질을 이용하였다. 트리플렉스 조합은 아래와 같았다:

[0581] 군 1:

[0582] ZF_RASSF1-B3GALT6-BTACT (ZBA 트리플렉스)

[0583] BARX1-SLC12A8-BTACT (BSA2 트리플렉스)

[0584] PARP15-MAX_chr8.124-BTACT (PMA 트리플렉스)

[0585] SHOX2-ZDHHC1-BTACT (SZA2 트리플렉스)

[0586] BIN2_Z-SKI-BTACT (BSA 트리플렉스)

[0587] DNMT3A-BCL2L11-BTACT (DBA 트리플렉스)

[0588] TBX15-FERMT3-BTACT (TFA 트리플렉스)

[0589] PRKCB_28-SOBP-BTACT (PSA2 트리플렉스)

[0590] 군 2:

[0591] ZF_RASSF1-B3GALT6-BTACT (ZBA 트리플렉스)

[0592] MAX_chr8.145-MAX_chr10.226-BTACT (MMA2 트리플렉스)

[0593] MAX_chr12.526-FLJ45983-BTACT (MFA 트리플렉스)

[0594] HOXA9-EMX1-BTACT (HEA 트리플렉스)

[0595] SP9-DMRTA2-BTACT (SDA 트리플렉스)

[0596] OPLAH-CYP26C1-BTACT (OCA 트리플렉스)

[0597] ZNF781-DLX4-BTACT (ZDA 트리플렉스)

[0598] SUCLG2-KLHDC7B-BTACT (SKA 트리플렉스)

[0599] S1PR4-NFIX-BTACT (SNA 트리플렉스)

[0600] 각 트리플렉스 약어는 각 유전자 명칭의 첫 번째 문자 (예를 들면, HOXA9-EMX1-BTACT의 조합 = "HEA")를 이용한다. 만약 마커의 상이한 조합에 대해 또는 다른 실험으로부터 약어가 반복되면, 상기 약어를 갖는 두 번째 군은 번호 2를 포함한다. 상기 열거된 트리플렉스의 각 구성원에 대한 FRET 카세트에서 이용된 염료 리포터는 각각, FAM-HEX-Quasar670이다.

[0601] 표적 DNA 서열을 내포하는 플라스미드가 정량적 반응을 보정하는 데 이용되었다. 각 교정기 플라스미드에 대해, 어류 DNA 희석제 (10 mM 트리스-HCl, 0.1 mM EDTA에서 20 ng/mL 어류 DNA)에서 μ l당 표적 가닥의 10 내지 10^6 개 사본을 갖는 일련의 10X 교정기 희석 스톱이 제조되었다. 트리플렉스 반응을 위해, 트리플렉스물의 표적 각각을 내포하는 플라스미드를 갖는 통합 스톱이 이용되었다. μ L당 1×10^5 개 사본에서 각 플라스미드를 갖는 혼합물이 제조되고 1:10 연속 희석을 창출하는 데 이용되었다. 미지의 샘플에서 가닥이 Cp 대 Log (플라스미드의 가닥)을 플롯팅함으로써 산출된 표준 곡선을 이용하여 다시 계산되었다.

[0602] 수신자 조작 특성 (ROC) 곡선 분석을 이용하여, 각 마커에 대한 곡선 아래 면적 (AUC)이 계산되었고, 그리고 상위 95 Pct 커버리지 간격에 의해 분류된 아래의 표에서 도시된다.

[0603] 표 5

마커 명칭	AUC	90% 특이성에서 민감도
CYP26C1	0.940	80%
SOBP	0.929	80%
SHOX2	0.905	73%
SUCLG2	0.905	64%
NFIX	0.895	63%
ZDHHC1	0.890	69%
BIN2_Z	0.872	59%
DLX4	0.856	56%
FLJ45983	0.834	67%
HOXA9	0.824	53%
TBX15	0.813	53%
ACTB	0.803	50%
S1PR4	0.802	55%
SP9	0.782	38%
FERMT3	0.773	36%
ZNF781	0.769	55%
B3GALT6	0.746	39%
BTACT	0.742	44%
BCL2L11	0.732	39%
PARP15	0.673	31%
DNMT3A	0.689	20%
MAX.chr12.526	0.668	33%
MAX.chr10.226	0.671	30%
SLC12A8	0.655	19%
BARX1	0.663	25%
KLHDC7B	0.604	10%
OPLAH	0.571	14%
MAX.chr8.145	0.572	16%
SKI	0.521	14%

[0604]

[0605] 이들 마커는 암 환자로부터 샘플을 정상 개체로부터 샘플과 식별하는 데 매우 잘 작동하였다 (상기 ROC 표 참조). 조합으로 이들 마커의 이용은 민감도를 향상시켰다. 예를 들면, 상기 데이터 및 마커 SHOX2, SOBP, ZNF781, BTACT, CYP26C1 및 DLX4를 이용한 6-마커 적합의 로지스틱 적합을 이용하면, ROC 곡선 분석은 0.973의

곡선 아래 면적 (AUC)을 제공하였다. 이러한 6-마커 적합을 이용하면, 93% 특이성에서 92.2%의 민감도가 획득된다. *SHOX2*, *SOBP*, *ZNF781*, *CYP26C1*, *SUCLG2* 및 *SKI*를 이용하는 것은 0.97982의 AUC를 갖는 ROC 곡선을 제공하였다.

[0606] **실시예 4**

[0607] 두 번째 독립된 연구 군으로부터 획득된 보관 혈장이 맹검 방식으로 검사되었다. 각 군에 대한 폐암 사례 및 대조 (겉보기엔 건강한 흡연자)는 연령 및 성별에서 균형화되었다 (23건의 사례, 80건의 대조). 멀티플렉스 PCR, 그 이후에 실시예 1에서 설명된 바와 같은 QuARTS (정량적 대립유전자 특이적 실시간 표적 및 신호 증폭) 검정을 이용하여, 혈장으로부터 추출된 DNA에서 메틸화된 DNA 마커의 포스트-중아황산염 정량이 수행되었다. 폐암 검출을 위한 최적 마커 패널을 확인하기 위해, 이러한 실험에서 실시예 3으로부터 상위 개별 메틸화 마커가 검사되었다 (2 ml/환자).

[0608] 결과: 13개의 고성능 메틸화된 DNA 마커가 검사되었다 (*CYP26C1*, *SOBP*, *SUCLG2*, *SHOX2*, *ZDHHC1*, *NFIX*, *FLJ45983*, *HOXA9*, *B3GALT6*, *ZNF781*, *SP9*, *BARX1* 및 *EMX1*). 데이터가 2가지 방법: 로지스틱 회귀 적합 및 회귀 분할 트리 접근법을 이용하여 분석되었다. 로지스틱 적합 모형은 0.96의 AUC 및 91%의 전체 민감도 및 90% 특이성을 갖는 4-마커 패널 (*ZNF781*, *BARX1*, *EMX1* 및 *SOBP*)을 확인하였다. 회귀 분할 트리 접근법을 이용한 데이터의 분석은 0.96의 AUC 및 96%의 전체 민감도 및 94%의 특이성을 갖는 4개의 마커 (*ZNF781*, *BARX1*, *EMX1* 및 *HOXA9*)를 확인하였다. 양쪽 접근법의 경우에, B3GALT6이 전체 DNA 입력의 표준화 마커로서 이용되었다. 혈장에서 검정된 메틸화된 DNA 마커의 이들 패널은 모든 유형의 폐암에 대해 높은 민감도와 특이성을 달성하였다.

[0609] **실시예 5**

[0610] **폐암 식별**

[0611] 전술된 방법을 이용하여, 특이적 유형의 폐암과 연관된 메틸화를 검출하는 데 고성능을 나타내는 메틸화 마커가 선택된다.

[0612] 폐암을 앓는 것으로 의심되는 개체의 경우에, 샘플, 예를 들면, 혈장 샘플이 수집되고, 그리고 DNA가 예를 들면 실시예 1에서 설명된 바와 같이 샘플로부터 단리되고 중아황산염 시약으로 처리된다. 상이한 메틸화 마커 또는 메틸화 마커의 조합에 대한 상이한 인지 가능한 신호를 제공하고, 그것에 의하여 개체에서 한 가지 또는 그 이상의 상이한 유형의 폐 암종 (예를 들면, 선암종, 대세포 암종, 편평상피 세포 암종 및/또는 소세포 암종)의 존재를 특이적으로 확인하도록 설정된 데이터 세트를 제공하도록 설정된, 실시예 1에서 설명된 바와 같은 멀티플렉스 PCR, 그 이후에 QuARTS 플랩 엔도뉴클레아제 검정을 이용하여, 전환된 DNA가 분석된다. 바람직한 구체예에서, 폐 암종의 존재를 표시하고, 그리고 존재하면, 폐 암종의 한 가지 또는 그 이상의 확인된 유형의 존재를 더욱 표시하는 검정 결과의 존재 또는 부재를 암시하는 보고서가 산출된다. 일부 구체예에서, 개체로부터 샘플이 기간의 코스 또는 치료의 코스에 걸쳐 수집되고, 그리고 암 병리에서 변화를 모니터링하기 위해 검정 결과가 비교된다.

[0613] 상이한 유형의 폐암에 민감한 마커 및 마커 패널은 예를 들면, 존재하는 암의 유형(들) 분류, 혼합된 병리 확인 및/또는 시간의 추이에서 및/또는 치료에 대한 반응으로 암 진행의 모니터링에서 용도를 발견한다.

[0614] **실시예 6**

[0615] 실시예 1에서 설명된 바와 같은 멀티플렉스 PCR, 그 이후에 QuARTS (정량적 대립유전자 특이적 실시간 표적 및 신호 증폭) 검정을 이용하여, 혈장으로부터 추출된 DNA에서 메틸화된 DNA 마커의 포스트-중아황산염 정량이 수행되었다. 이들 마커에 대한 표적 서열, 중아황산염 전환된 표적 서열 및 검정 올리고뉴클레오티드는 도 5에서 도시된 바와 같았다. 각 전환된 표적에 이용된 프라이머 및 플랩 올리고뉴클레오티드 (프로브)는 아래와 같았다:

[0616] 표 6

마커	올리고뉴클레오타이드 명칭	구성요소	서열 (5'-3')	서열 번호:	부문
BARX1	BARX1_FP	프라이머	CGTTAATTGTAGATAGAGGGCG	23	5-FAM
	BARX1_RP	프라이머		26	
	_유니버설		TCGGAACAACCGCCTAC		
	BARX1_Pb_A5_63_v6	플랩 올리고뉴클레오타이드	A G G C C A C G G A C G CGAAAAATCCACGC/3C6/	406	
FLJ45983	FLJ45983_FP_v4	프라이머	CGAGGTTATGGAGGTGACG	409	5-FAM
	FLJ45983_RP_v4	프라이머	CGAATACTACCCGTAAACACG	410	
	FLJ45983_Pb_A5_63_v4	플랩 올리고뉴클레오타이드	A G G C C A C G G A C G GGCGGATTAGTCGCG/3C6/	411	
	HOXA9_FP	프라이머	TGGGTAAATTATTACGTGGATTCTG	148	5-FAM
HOXA9	HOXA9_RP_v2	프라이머	CAACTCATCCGCGACG	423	
	HOXA9_Pb_A5_63	플랩 올리고뉴클레오타이드	A G G C C A C G G A C G GTGACGCCCAACAA/3C6/	424	
	HOPX_214_9_FP	프라이머	GTAGCGGTAGGGATTATGTCG	417	5-FAM
HOPX	HOPX_214_9_RP	프라이머	TTTCCACCTAATCTCTATAAAACCGC	418	
	HOPX_214_9_Pb_A5	플랩 올리고뉴클레오타이드	A G G C C A C G G A C G CTCGCATCTCCGC/3C6/	419	
	ZNF781_F. 프라이머	프라이머	CGTTTTTTTGTTTTTCGAGTGGC	373	5-FAM
ZNF781	ZNF781_R. 프라이머	프라이머	TCAATAACTAAACTCACC CGCTC	374	
	ZNF781_Pb_A5_63_v2	플랩 올리고뉴클레오타이드	A G G C C A C G G A C G GCGGATTTATCGGGTTATAGT/3C6/	436	
	HOXB2_FP	프라이머	GTTAGAGACGTTTTTCGGGG	153	1-HEX
HOXB2	HOXB2_RP	프라이머	AAAAACAAAATCGACCGCGA	154	
	HOXB2_Pb_A1_63	플랩 올리고뉴클레오타이드	C G C G C C G A G G GCGTTAGGATTATTTTTTTTTTTCG	425	
	IPF01_FP_HQ_교정됨	프라이머	CGGGATAGAGTCGATTAAATTAGGC	428	1-HEX
IPF01	IPF01_RP	프라이머	TAACITCCCTCGACCG	429	
	IPF01_Pb_A1_63	플랩 올리고뉴클레오타이드	C G C G C C G A G G CGGTTGCGTAGCGG/3C6/	430	

[0617]

	SOBP_HM_FP	프라이머	TTTCGGGGGTTTCGAG	294	1-HEX
SOBP	SOBP_HM_RP	프라이머	CGTACGTTTCAGATAACGT	295	
	SOBP_HM_Pb_A1_63	플랩 올리고뉴클레오타이드	C G C G C C G A G G TTACAAACCGCACCG/3C6/	431	
	TRH_FP	프라이머	TTTTCGTTGATTTTATTCGAGTCGTC	432	1-HEX
TRH	TRH_RP	프라이머	GAACCTCTTCAAAATAACCGC	433	
	TRH_Pb_A1_63	플랩 올리고뉴클레오타이드	C G C G C C G A G G CGTTTGGGTAGATATAAGC/3C6/	434	
	FAM59B_F_P_V3	프라이머	GTCGAGGTTTGGTGGC	406	1-HEX
FAM59B	FAM59B_R_P_V3	프라이머	CTCGTCGAAATCGAAACGC	407	
	FAM59B_Pb_A1_63_v3	플랩 올리고뉴클레오타이드	C G C G C C G A G G GCGATAGCGTTTTTATTTGTCG/3C6/	408	

[0618]

[0619] *모든 메틸화 검정은 중아황산염-전환된 B3GALT6 마커에 대한 검정과 트리플렉스화되고 Quasar에 보고되었다:

마커	올리고뉴클레오타이드 명칭	구성요소	서열 (5'-3')	서열 번호:	
<i>B3GALT6</i> <i>7B</i> (<i>BST</i>)	B3GALT6_			386	3-Quasar
	FP_V2	프라이머	GGTTTATTTTGGTTTTTGAGTTTTCGG	387	
	RP	프라이머	TCCAACCTACTATATTACGCGAA		
	B3GALT6_	플랩 홀		436	
	Pb_A3_63	리코뉴클레오타이드	A C G G A C G C G G A G GCGGATTAGGGTATTTAAGGAG/306/		

[0620]

[0621] 전술된 바와 같이 혈장으로부터 준비된 DNA는 실시예 1에서 설명된 바와 같이, 멀티플렉스 사전 증폭 반응에서 증폭되었다. 사전 증폭 이후에, 사전 증폭된 혼합물의 분취량이 10 mM 트리스 HCl, 0.1 mM EDTA에서 1:10 희석되었고, 이후 실시예 1에서 설명된 바와 같이, 트리플렉스 QuARTS PCR-플랩 검정에서 검정되었다. 트리플렉스 조합은 아래와 같았다:

트리플렉스 검정
<i>BARX1/HOXB2/B3GALT6</i> (BHB)
<i>FLJ45983/IFFO1/B3GALT6</i> (FIB)
<i>HOXA9/SOBP/B3GALT6</i> (HSB)
<i>HOPX 2149/TRH/B3GALT6</i> (HTB)
<i>ZNF781/FAM59B/B3GALT6</i> (ZFB)

[0622]

[0623] 표적 DNA 서열을 내포하는 플라스미드가 정량적 반응을 보정하는 데 이용되었다. 각 교정기 플라스미드에 대해, 어류 DNA 희석제 (10 mM 트리스-HCl, 0.1 mM EDTA에서 20 ng/mL 어류 DNA)에서 μ l당 표적 가닥의 10 내지 10^6 개 사본을 갖는 일련의 10X 교정기 희석 스톱이 제조되었다. 트리플렉스 반응을 위해, 트리플렉스의 표적 각각을 내포하는 플라스미드를 갖는 통합 스톱이 이용되었다. μ L당 1×10^5 개 사본에서 각 플라스미드를 갖는 혼합물이 제조되고 1:10 연속 희석을 창출하는 데 이용되었다. 미지의 샘플에서 가닥이 Cp 대 Log (플라스미드의 가닥)을 플롯팅함으로써 산출된 표준 곡선을 이용하여 다시 계산되었다.

[0624] *B3GALT6* 가닥에 상대적인 % 메틸화를 이용한 수신자 조작 특성 (ROC) 곡선 분석을 이용하여, 각 마커에 대한 곡선 아래 면적 (AUC)이 계산되었고 아래의 표에서 도시된다.

마커 명칭	AUC
<i>BARX1</i>	0.754
<i>FLJ45983</i>	0.709
<i>HOXA9</i>	0.800
<i>HOPX</i>	0.654
<i>ZNF781</i>	0.760
<i>HOXB2</i>	0.700
<i>IFFO1</i>	0.788
<i>SOBP</i>	0.717
<i>FAM59B</i>	0.685

[0625]

[0626] 마커 *BARX1*, *FLJ45983*, *SOBP*, *HOPX*, *IFFO1* 및 *ZNF781*을 이용한 6-마커 로지스틱 적합을 이용하면, ROC 곡선 분석은 0.85881의 곡선 아래 면적 (AUC)을 보여준다. 조합으로 마커의 이용은 단일 마커와 비교하여 민감도를 향상시켰다.

[0627]

실시예 7

[0628]

폐암 검출 민감도를 향상시키기 위한 mRNA 및 메틸화 마커의 조합

[0629] *FPR1* mRNA (포르밀 펩티드 수용체 1)의 발현 수준은 혈액에서 검출 가능한 폐암 마커인 것으로 이전에 밝혀졌다 (Morris, S., *et al.*, *Int J Cancer.*, (2018) 142:2355-2362). 일부 구체예에서, 전술된 메틸화 마커 검정은 하나 또는 그 이상의 발현 마커의 계측과 병용된다. 예시적인 통합 검정은 동일한 개체로부터 획득된 샘플 또는 샘플들 내에서 *FPR1* mRNA 수준의 계측 및 메틸화 마커 DNA(들)의 검출을 포함한다 (예를 들면 실시예 1-6에서 설명된 바와 같이).

[0630] *FPR1* 서열 (NM_001193306.1 호모 사피엔스 (*Homo sapiens*) 포르밀 펩티드 수용체 1 (*FPR1*), 전사체 변이체 1, mRNA는 서열 번호:437에서 도시된다. Morris, *et al.*, 위와 같음에 의해 설명된 바와 같이, 혈액 샘플이 후속 RNA 검출에 적합한 혈액 수집관 (예를 들면, PAXgene 혈액 RNA 튜브; Qiagen, Inc.)에서 수집된다. 샘플이 즉시 검정되거나 또는 장래 분석 때까지 동결될 수 있다. RNA가 표준 방법, 예를 들면, Qiasymphony PAXgene 혈액 RNA 키트에 의해 샘플로부터 추출된다. RNA, 예를 들면, mRNA 마커의 수준이 샘플 내에 존재하는 특정한 RNA의 계측을 위한 적합한 검정, 예를 들면, RT-PCR을 이용하여 결정된다. 일부 구체예에서, 역전사 단계를 포함하는 QuARTS 플랩 엔도뉴클레아제 검정 반응이 이용된다. 예를 들면, U.S. 특허 출원 번호 15/587,806을 참조하는데, 이것은 본원에서 참조로서 편입된다. 바람직한 구체예에서, RT-PCR 또는 RT-QuARTS 검정을 위한 검정 프로브 및 /또는 프라이머는 상기 검정이 상응하는 유전체 좌위를 검출하기 보다는 mRNA 표적을 특이적으로 검출하도록, 엑손 접합부(들)에 걸쳐 있도록 설계된다.

[0631] 예시적인 RT-QuARTS 반응은 20U의 MMLV 역전사효소 (MMLV-RT), 219 ng의 Cleavase® 2.0, 1.5U의 GoTaq® DNA 중합효소, 200nM의 각 프라이머, 각각 500nM의 프로브 및 FRET 올리고뉴클레오타이드, 10mM MOPS 완충액, pH7.5, 7.5mM MgCl₂, 그리고 250 μM 각 dNTP를 내포한다. 반응은 전형적으로, 형광 데이터를 실시간으로 (예를 들면, 연속적으로, 또는 일부 또는 전부 주기에서 동일한 지점에서) 수집하도록 설정된 유전자 증폭기에서 실행된다. 예를 들면, Roche LightCycler 480 시스템이 하기 조건하에 이용될 수 있다: 30 분 동안 42°C (RT 반응), 3 분 동안 95°C, 20 초 동안 95°C, 30 초 동안 63°C, 30 초 동안 70°C의 10회 주기, 그 이후에 20 초 동안 95°C, 1 분 동안 53°C, 30 초 동안 70°C의 35회 주기, 그리고 30 초 동안 40 °C에서 유지.

[0632] 일부 구체예에서, RT-QuARTS 검정은 예를 들면, 실시예 1에서 전술된 바와 같이 샘플 내에서 2, 5, 10, 12개, 또는 그 이상의 표적 (또는 1개 표적 이상의 수많은 표적)을 사전 증폭하기 위한 멀티플렉스 사전 증폭의 단계를 포함할 수 있다. 바람직한 구체예에서, RT- 사전 증폭은 예를 들면, 20U의 MMLV 역전사효소, 1.5U의 GoTaq® DNA 중합효소, 10mM MOPS 완충액, pH7.5, 7.5mM MgCl₂, 250 μM 각 dNTP, 그리고 올리고뉴클레오타이드 프라이머 (예를 들면, 동물량 (예를 들면, 200nM 각 프라이머)으로, 또는 상이한 표적 영역의 증폭 효율을 균형 잡도록 조정된 개별 프라이머 농도에서, 12개의 표적에 대해, 12개의 프라이머 쌍/24개의 프라이머)를 내포하는 반응 혼합물에서 수행된다. 열 주기 횟수 및 온도가 반응의 용적 및 증폭 용기에 적합하도록 선택된다. 예를 들면, 반응은 아래와 같이 순환될 수 있다:

시기	온도 / 시간	주기의 횟수
RT	42°C / 30'	1
	95°C / 3'	1
증폭 1	95°C / 20"	10
	63°C / 30"	
	70°C / 30"	
냉각	4°C / 유지	1

[0633]

[0634] 열 주기 후, 사전 증폭 반응의 분취량 (예를 들면, 10 μL)이 어류 DNA와 함께 또는 이것 없이, 10 mM 트리스, 0.1 mM EDTA에서 500 μL로 희석된다. 희석된 사전 증폭된 DNA의 분취량 (예를 들면, 10 μL)이 예를 들면, 전술된 바와 같이, QuARTS PCR-플랩 검정에서 이용된다.

[0635] 일부 구체예에서, DNA 표적, 예를 들면, 메틸화된 DNA 마커 유전자, 돌연변이 마커 유전자 및/또는 RNA 마커에 상응하는 유전자 등은 예를 들면 상기 실시예 1에서 설명된 바와 같이, QuARTS 검정 반응에서, 역전사된 cDNA와

함께 증폭되고 검출될 수 있다. 일부 구체예에서, DNA와 cDNA는 단일-튜브 반응에서 다시 말하면, 시약을 조합하고 출력 데이터를 수집하는 사이에 임의의 지점에서 반응 용기를 개봉할 필요 없이 공동증폭되고 검출될 수 있다. 다른 구체예에서, 동일한 샘플로부터 또는 상이한 샘플로부터 마커 DNA는 중아황산염 전환 단계와 함께 또는 이것 없이, 별개로 분리될 수 있고, 그리고 RT-QuARTS 검정에서 샘플 RNA와 조합될 수 있다. 또 다른 구체예에서, RNA 및/또는 DNA 샘플은 전술된 바와 같이 사전 증폭될 수 있다.

[0636] Morris에서, 하우스키핑 유전자 (*HNRNP1*)에 비하여 *FPR1* mRNA 비율의 ROC 곡선 분석은 89%의 특이성에서 68%의 민감도를 야기하였고, 그리고 메틸화 마커 *BARX1*, *FAM59B*, *HOXA9*, *SOBP* 및 *IFFO1*을 이용한 ROC 곡선 분석은 92.3%의 특이성에서 77.2%의 민감도를 야기한다. 이들 검정을 함께 이용하는 것은 82%의 특이성에서 92.7%의 이론적 민감도를 야기한다.

[0637] 이러한 분석은 하나 또는 그 이상의 메틸화 마커의 검출과 함께 *FPR1* mRNA의 수준에 대한 통합 검정이 어느 한 쪽 방법 단독과 비교하여 향상된 민감도를 갖는 검정을 야기한다는 것을 보여준다. 상이한 부류의 마커를 조합하는 암 검출 검정은 암의 초기와 후기 질환 단계 사이의 생물학적 차이뿐만 아니라 암의 상이한 생물학적 반응 또는 출처를 검출할 수 있는 이점을 갖는다. *FPR1* 이외에 또는 이것에 더하여, mRNA 표적, 예컨대 *LunX* mRNA (Yu, et al., 2014, Chin J Cancer Res., 26:89-94)를 비롯한 다른 RNA 표적이 증강된 민감도를 위해 메틸화 마커와 조합될 수 있다는 것은 당업자에게 명백할 것이다.

[0638] 실시예 8

[0639] 폐암 검출 민감도를 향상시키기 위한 mRNA 마커 및 DNA 마커의 조합의 RT-LQAS 검정

[0640] RNA의 경우에, 혈액이 RNA 검정을 위해 PAXgene 혈액 RNA 튜브에, 그리고 DNA 검정을 위해 BD 진공채혈기 PPT 혈장 준비 튜브 (BD Biosciences)에 수집되었고, 그리고 샘플이 제조업체의 사용설명서에 따라서 보관되었다. RNA 샘플이 제조업체의 사용설명서에 따라서 QIAAsymphony PAXgene 혈액 RNA 키트 (ID: 762635)를 이용하여 Qiagen QIAAsymphony 기기에서 추출되었다. RT-LQAS에서 검사하기에 앞서, RNA 샘플은 10mM TrisHCl, pH 8.0, 0.1mM EDTA에서 1:50 희석되었다. DNA가 실시예 1에서 설명된 바와 같이 추출되었다. 샘플은 아래와 같았다:

[0641] RNA 연구:

[0642] 폐암을 앓는 개체로부터 155개의 샘플

[0643] 건강한, 정상 개체로부터 317개의 샘플

[0644] DNA 연구:

[0645] 폐암을 앓는 개체로부터 102개의 샘플

[0646] 건강한, 정상 개체로부터 142개의 샘플

[0647] 아래의 표 3에 도시된 바와 같이, 8개의 mRNA 및 3개의 참조 유전자의 조합을 검출을 위한 프라이머 및 프로브가 설계되었다.

[0648] 표 3

부호	명칭	기능
<i>PRF1</i>	포르밀 펩티드 수용체 1 수탁 번호: NM_001193306	단백질이 숙주 방어 및 염증에 서 중요하다
<i>S100A12</i>	S100 칼슘 결합 단백질 A12 수탁 번호: NM_005621	염증 과정 및 면역 반응의 조 절에서 일정한 역할을 수행한 다
<i>TYMP</i>	티미딘 인산화효소 수탁 번호: NM_001113755	생체내에서 혈관신생을 증진한 다
<i>AP0EBEC3A</i>	아포지질단백질 B mRNA 편집 효소 촉 매 아단위 3A 수탁 번호: NM_145699	활성 DNA 탈메틸화의 과정을 통한 유전자 발현의 후성적 조 절에서 일정한 역할을 수행할 수 있다
<i>NMP2</i>	기질 금속단백질분해효소 9 수탁 번호: NM_004994	세포외 기질의 국부 단백질분 해에서 및 백혈구 이주에서 필 수적인 역할을 수행할 수 있다
<i>SELL</i>	셀렉틴 L 수탁 번호: NM_000655	이차 림프성 장기 및 염증 부 위 내로 이주를 용이하게 하 는, 내피 세포 상에서 백혈구 의 결합 및 후속 롤링에 필요 함
<i>S100A9</i>	S100 칼슘 결합 단백질 A9 수탁 번호: NM_002965	염증 과정 및 면역 반응의 조 절에서 일정한 역할을 수행한 다
<i>PADI4</i>	펩티달 아르기닌 디아미나제 4 수탁 번호: NM_012387	염증 및 면역 반응을 야기하는 과립구 및 대식세포 발달에서 일정한 역할을 수행할 수 있다
참조 유전 자	명칭	기능
<i>CASC3</i>	CASC3 엑손 접합부 복합체 아단위 수탁 번호: NM_007359	단백질이 엑손 접합부 복합체 (EJC)의 코어 구성요소이다
<i>SKP1</i>	S-기 키나아제 연관된 단백질 수탁 번호: NM_006930	SCF (SKP1-CUL1-F-박스 단백 질) 유비퀴틴 리가아제 복합체 의 구성요소
<i>STK4</i>	세린/트레오닌 키나아제 4 수탁 번호: NM_006282	스트레스-활성화, 친아포토시 스성 키나아제
<i>HNRNP A1</i>	이질성 핵 리보핵산단백질 A1 수탁 번호: NM_002136	RNA 결합 단백질

[0649]

[0650] 상기 열거된 표적 핵산에 대한 프라이머 및 플랩 올리고뉴클레오타이드 프로브는 도 6에서 도시된다. RT-LQAS 검
정이 상기 실시예 1에서 설명된 바와 같이 수행되었다. 상기 분석은 다음에 의해 계산된 % RNA 수준을 이용하였
다:

[0651] • RT-LQAS 및 교정기에 대한 합성 RNA 표적을 이용하여 mRNA 수준의 가닥 값 계산;

[0652] • 3개의 참조 유전자 (*CASC3*, *SKP1*, *STK4*)의 가닥 수준 평균화;

[0653] • 계측된 마커의 mRNA 가닥을, 3개의 참조 유전자의 가닥의 평균으로 나눔;

[0654] • %RNA의 ROC 분석 수행

[0655] 이들 RNA 마커를 개별적으로 이용하고 수신자 조작 특성 (ROC) 곡선 분석을 이용하여 분석된 LQAS 검정 성과에
서, 각 RNA 마커에 대한 곡선 아래 면적 (AUC)이 계산되었고 아래에 요약된다:

RNA 마커	AUC	90% 특이성에서 민감도
<i>SIOOA9</i>	0.76286	45.80%
<i>SELL</i>	0.72854	43.90%
<i>PADI4</i>	0.81801	57.40%
<i>APOE3CA</i>	0.72034	38.10%
<i>SIOOA12</i>	0.76801	50.10%
<i>MMP2</i>	0.76518	49.70%
<i>FPR1</i>	0.66952	27.10%
<i>TYMP</i>	0.54448	16.80%

[0656]

[0657]

폐암을 앓는 개체로부터 102개의 샘플 및 건강한 정상 개체로부터 142개 샘플을 이용하여 RNA 및 메틸화된 DNA 둘 모두의 분석이 수행되었다. 높은 성과 mRNA 마커 쌍 *PADI4* 및 *SELL*을 이용하면, 통합 RNA 마커의 로지스틱 적합은 0.85626의 곡선 아래 면적을 가졌고, 그리고 90% 특이성에서 63.7% 민감도를 보여주었다. 높은 성과 DNA 메틸화 마커 쌍 *HOXA9* 및 *IFFO1*을 이용하면, 통합 DNA 메틸화 검정의 로지스틱 적합은 0.091677의 곡선 아래 면적을 가졌고, 그리고 90% 특이성에서 78.4% 민감도를 보여주었다. 이들 mRNA 마커 및 DNA 메틸화 마커의 결과를 조합하는 것은 0.95070의 곡선 아래 면적을 산출하였고, 그리고 90% 특이성에서 90.2% 민감도를 보여주었다.

[0658]

실시예 9

[0659]

폐암 검출 민감도를 향상시키기 위한 단백질 (예를 들면, 자가항체) 및 메틸화 마커의 조합

[0660]

폐 및 다른 고형 종양에서 종양 관련 항원은 자가항체의 형태에서 체액성 면역 반응을 촉발할 수 있고, 그리고 이들 항체는 질환 경과에서 극초기에, 예를 들면, 증상의 표현에 앞서 존재하는 것으로 관찰되었다. (참조: Chapman CJ, Murray A, McElveen JE, *et al.* *Thorax* 2008;**63**:228-233, 이것은 본원에서 모든 점에서 온전히 참조로서 편입됨). 하지만, 폐 암종을 검출하기 위한 자가항체 검출의 민감도는 상대적으로 낮다. 예를 들면, 종양 항원 NY-ESO-1 (수탁 # P78358, 서열 번호: 442로서 도시된 서열; CTAG1B로서 또한 알려져 있음)에 대한 자가항체는 기존 문헌에서 비 소세포 폐암 (NSCLC; Chapman, *위와 같음*)에 대한 좋은 마커인 것으로 밝혀지긴 했지만, 이것은 단독으로 유용할 만큼 충분히 민감하지는 않다. 하나 또는 그 이상의 메틸화 마커의 검출과 조합으로 하나 또는 그 이상의 종양 관련 자가항체의 검출은 더 큰 민감도를 갖는 검정을 제공한다.

[0661]

혈액 샘플이 수집되고, 그리고 자가항체가 Chapman, *위와 같음*에 의해 설명된 바와 같이, 표준 방법, 예를 들면, ELISA 검출을 이용하여 검출된다. 샘플로부터 단리된 DNA에서 메틸화 및/또는 돌연변이 마커를 검출하는 것은 상기 실시예 1에서 설명된 바와 같이 행워진다.

[0662]

NY-ESO-1 자가항체의 검출 단독은 95% 특이성에서 40%의 민감도를 야기한다 (Türeci, *et al.*, *Cancer Letters* 236(1):64 (2006). 상기 논의된 바와 같이, *BARX1*, *FAM59B*, *HOXA9*, *SOBP* 및 *IFFO1* 마커의 조합의 메틸화를 검정하는 것은 92.3% 특이성에서 77.2%의 민감도를 야기한다. 이러한 자가항체 마커의 분석을, 메틸화 마커의 이러한 조합에 대한 검정과 조합하는 것은 87.7%의 특이성에서 86.3%의 통합 이론적 민감도를 야기한다.

[0663]

이러한 분석은 하나 또는 그 이상의 메틸화 마커의 분석과 함께 자가항체의 수준의 통합 검정이 어느 한쪽 방법 단독과 비교하여 향상된 민감도를 갖는 검정을 야기한다는 것을 보여준다. 상이한 부류의 마커를 조합하는 암 검출 검정은 암의 초기와 후기 질환 단계 사이의 생물학적 차이뿐만 아니라 암의 상이한 생물학적 반응 또는 출처를 검출할 수 있는 이점을 갖는다.

[0664]

실시예 10

[0665]

폐암 검출 민감도를 향상시키기 위한 mRNA, 메틸화 마커(들) 및 단백질 (예를 들면, 자가항체)의 조합

[0666]

개체에서 폐암 및 다른 암의 증강된 검출을 위해, 개체로부터 획득된 샘플 또는 샘플들 내에서 하나 또는 그 이상의 RNA, 마커 DNA 및 자가항체의 조합의 분석이 수행될 수 있다. 샘플 준비 및 DNA, RNA와 단백질 검출을 위한 방법은 상기 논의된 바와 같다.

[0667]

실시예 7에서 논의된 바와 같이, Morris, *et al.*에 의해 보고된 바와 같은 하우스키핑 유전자 (*HNRNPA1*)에 상대적인 *FPR1* mRNA 비율의 분석은 89%의 특이성에서 68%의 민감도를 야기하였다 (Morris, *위와 같음*); Chapman에

의해 보고된 바와 같이, NY-ESO-1 자가항체의 검출 단독은 95% 특이성에서 40%의 민감도를 야기하였고; 그리고 *BARX1*, *FAM59B*, *HOXA9*, *SOBP* 및 *IFFO1* 마커의 조합의 메틸화를 검정하는 것은 92.3% 특이성에서 77.2%의 민감도를 야기한다. mRNA의 분석, 자가항체 마커의 분석, 그리고 메틸화 마커의 이러한 조합에 대한 검정을 조합하는 것은 77.9%의 특이성에서 95.6%의 통합 이론적 민감도를 야기하는데, 이것은 하나 또는 그 이상의 메틸화 마커의 분석과 함께 mRNA의 수준 및 자가항체의 수준의 통합 검정이 이들 방법 중에서 한 가지 단독과 비교하여 향상된 민감도를 갖는 검정을 야기한다는 것을 보여준다.

[0668] 전술된 바와 같은 검정은 하나 또는 그 이상의 항원을 검출하기 위한 검정의 추가에 의해 더욱 증강될 수 있다. 당업자는 항원의 검출이 개별적으로 또는 임의의 조합으로, RNA(들), 메틸화 마커 유전자(들) 및/또는 자가항체(들) 중 어느 것의 검출에 추가될 수 있고, 그리고 전체 민감도를 더욱 증강할 것이라는 것을 인지할 것이다.

[0669] **실시예 11**

[0670] **상이한 시기 암을 앓는 개체로부터 획득된 샘플 내에 RNA 발현**

[0671] 혈액 샘플이 I 기, II 기, III 기 및 IV 기 비소세포 폐암 ("NSCLC")을 앓는 것으로 알려진 환자로부터 수집되었다. 비교를 위해, 혈액 샘플이 또한, 비-흡연자 및 담배 흡연자 둘 모두에 대해, 폐암을 앓는 것으로 알려진 적이 없는 사람들 (추정적으로 "무암성" 개체)로부터 수집되었다. 폐암을 앓는 것으로 알려진 적이 없는 사람들이 실제로는 달리 검출되지 않은 암을 앓을 가능성이 일부 있었다. 이들 환자의 존재는 본 검사에 대한 가양성율의 과다추정을 야기할 것이다 ("건강한 개체"로부터 "가양성"이 실제로 이들 개체에서 암의 존재를 나타낼 수 있기 때문에). 혈액 샘플이 PAXgene 혈액 RNA 튜브에 수집되고, 그리고 실온에서, 또는 샘플 분해를 최소화하기 위해 얼음 위에서 검사 시설로 발송되었다. 샘플이 검사 시설에서 접수된 후, 각 혈액 샘플로부터 백혈구 RNA가 QIAamp® RNA 혈액 미니 키트로 추출되었다.

[0672] RNA가 추출된 후, Illumina TruSeq 가닥 전체 RNA 라이브러리 예비 인간/생쥐/쥐 프로토콜이 각 혈액 샘플의 RNA로부터 cDNA 라이브러리를 준비하는 데 이용되었다. 그 다음, 전체 전사체를 프로파일링하고 각 유전자의 RNA 발현 수준을 획득하기 위해, 각 혈액 샘플의 cDNA 라이브러리가 Illumina NextSeq 550 시스템에서 염기서열 분석되었다. 하기의 결과가 획득되었다.

[0673] 도 7-10을 참조하면, 백혈구 RNA에서 전체 전사체 분석으로부터, 건강한 개체 및 폐암 환자 사이에 유의미한 유전자 발현 변화를 보여주는 표적 유전자가 확인되었다. 이들 유전자 발현 변화는 아마도, 환자에서 종양에 대한 면역 세포의 면역 반응을 반영하였다. 이들 결과는 적어도 이들 개시된 표적 유전자의 RNA 발현 수준을 예측하는 것이 개체에서 폐암의 존재를 예측하는 것을 가능하게 한다는 것을 보여주었다.

[0674] 도 7의 패널 C에서 도시된 바와 같이, 각 데이터 포인트는 개체의 혈액 샘플로부터 표적 유전자 *FPR1*의 RNA 발현 수준 (y 축)을 나타냈다. x 축은 개체를 건강한 비-흡연자, 건강한 담배 흡연자, 그리고 I 기-IV 기 NSCLC 환자별로 군화하였다. 건강한 개체와 비교하여, I 기-III 기 NSCLC는 *FPR1* 유전자 발현 수준에서 유의미한 증가를 수반하였다. 이에 더하여, 정상적인 담배 흡연자의 경우에 *FPR1* 유전자 발현이 약간 증가되었다.

[0675] 도 7의 패널 A와 B는 훈련 세트로서 배정된 데이터의 비율 및 검증 세트로서 배정된 데이터의 비율에 대한 수신자 조작 특성 (ROC) 곡선을 보여주었다. 각 선택된 RNA 발현 역치 수준 (패널 C의 y-값에서 슬라이스)에서, 진양성율 및 가양성율이 계산되었다. 특정 질환을 앓는 것으로 정확하게 확인된 NSCLC 환자의 백분율은 진양성율 (민감도)을 규정하였고, 반면 NSCLC를 앓지 않는 것으로 정확하게 확인된 건강한 사람들의 백분율은 특이성을 규정하였다. 가양성율은 $(1 - \text{특이성})$ 으로서 규정되었다. 어렵집작의 경우에, ROC 곡선은 대각선일 것이고, 그리고 곡선 아래 면적 (AUC)은 0.5일 것이다. 검증 세트에 대한 AUC는 0.82이었는데, 이것은 *FPR1* 유전자 발현이 NSCLC 위험을 예측한다는 것을 증명하였다.

[0676] 유사하게, 도 8의 패널 C에서, 각 데이터 포인트는 개체의 백혈구 샘플로부터 표적 유전자 *S100A12*의 RNA 발현 수준 (y 축)을 나타냈다. x 축은 개체를 건강한 비-흡연자, 건강한 담배 흡연자, 그리고 I 기-IV 기 NSCLC 환자별로 군화하였다. 건강한 개체와 비교하여, I 기-III 기 NSCLC는 *S100A12* 유전자 발현 수준에서 유의미한 증가를 수반하였다. 도 8의 패널 A와 B는 훈련 세트로서 배정된 데이터의 비율 및 검증 세트로서 배정된 데이터의 비율에 대한 ROC 곡선을 보여주었다. 검증 세트에 대한 AUC는 0.93이었는데, 이것은 *S100A12* 유전자 발현이 NSCLC 위험을 예측하고 *FPR1*을 표적 유전자로서 이용하는 것보다 훨씬 우수하다는 것을 증명하였다.

[0677] 도 9의 패널 C에서, 각 데이터 포인트는 개체의 백혈구 샘플로부터 표적 유전자 *MMP9*의 RNA 발현 수준 (y 축)을 나타냈다. x 축은 개체를 건강한 비-흡연자, 건강한 담배 흡연자, 그리고 I 기-IV 기 NSCLC 환자별로 군화하였다. 건강한 개체와 비교하여, I 기-III 기 NSCLC는 *MMP9* 유전자 발현 수준에서 유의미한 증가를 수반하였다. 이

에 더하여, 담배 흡연자의 경우에 *MMP9* 유전자 발현이 약간 증가하였다. 도 9의 패널 A와 B는 훈련 세트로서 배정된 데이터의 비율 및 검증 세트로서 배정된 데이터의 비율에 대한 ROC 곡선을 보여주었다. 검증 세트에 대한 AUC는 0.93이었는데, 이것은 *MMP9* 유전자 발현이 NSCLC 위험을 예측하고 *FPR1*을 표적 유전자로서 이용하는 것보다 훨씬 우수하다는 것을 증명하였다.

[0678] 도 10의 패널 C에서, 각 데이터 포인트는 개체의 백혈구 샘플로부터 표적 유전자 *SAT1*의 RNA 발현 수준 (y 축)을 나타냈다. x 축은 개체를 건강한 비-흡연자, 건강한 담배 흡연자, 그리고 I 기-IV 기 NSCLC 환자별로 군화하였다. 건강한 개체와 비교하여, I 기-III 기 NSCLC는 *SAT1* 유전자 발현 수준에서 유의미한 증가를 수반하였다. 도 10의 패널 A와 B는 훈련 세트로서 배정된 데이터의 비율 및 검증 세트로서 배정된 데이터의 비율에 대한 ROC 곡선을 보여주었다. 검증 세트에 대한 AUC는 0.79이었는데, 이것은 *SAT1* 유전자 발현이 NSCLC 위험을 예측한다는 것을 증명하였다.

[0679] 이들 실험 결과는 이들 개시된 표적 유전자의 RNA 발현 수준을 검출하는 것이 개체에서 폐암의 존재를 예측하는 것을 가능하게 한다는 것을 보여주었다.

[0680] 실시예 12

[0681] RNA 발현 수준을 참조 유전자로부터 발현과 비교

[0682] 도 11-13은 표적 유전자의 RNA 발현 수준을 참조 유전자와 비교하는 것이 개체에서 폐암의 존재의 더 나은 예측을 가능하게 할 수 있다는 것을 보여준다.

[0683] 도 11의 패널 A에서 도시된 바와 같이, 각 데이터 포인트는 1) 건강한 개체, 2) 양성 폐 종양을 앓는 개체, 또는 3) 폐암으로 진단된 개체로부터 채취된 백혈구 샘플을 나타낸다. x 축 (*FPR1* FPKM)은 맨 *FPR1* 발현 수준의 백만 킬로베이스당 단편 정규화를 나타낸다. y 축 (*FPR1* 비율)은 *FPR1* 발현의 수준 대 참조 유전자 *STK4* 발현의 수준의 비율을 나타낸다. 도 11의 패널 B에서 도시된 바와 같이, *FPR1* 비율에 대한 ROC 분석이 수행되었고, 그리고 AUC가 0.89인 것으로 밝혀졌는데, 이것은 *FPR1* 발현 단독을 이용하는 것의 예측력을 증가하였다 (도 7).

[0684] 도 12의 패널 A에서 도시된 바와 같이, 각 데이터 포인트는 1) 건강한 개체, 2) 양성 폐 종양을 앓는 개체, 또는 3) 폐암으로 진단된 개체로부터 획득된 백혈구 샘플을 나타낸다. x 축 (*S100A12* FPKM)은 맨 *S100A12* 발현 수준의 백만 킬로베이스당 단편 정규화를 나타낸다. y 축 (*S100A12* 비율)은 *S100A12* 발현 수준 대 참조 유전자 *STK4* 발현 수준의 비율을 나타냈다. 도 12의 패널 B에서 도시된 바와 같이, *S100A12* 비율에 대한 ROC 분석이 수행되었고, 그리고 AUC가 0.94이었는데, 이것은 *S100A12* 발현 단독을 이용하는 것의 예측력을 증가하였다 (도 8).

[0685] 도 13의 패널 A에서 도시된 바와 같이, 각 데이터 포인트는 건강한 개체, 양성 폐 종양을 앓는 개체, 또는 폐암을 앓는 개체로부터 획득된 백혈구 샘플을 나타낸다. x 축 (*MMP9* FPKM)은 맨 *MMP9* 발현 수준의 백만 킬로베이스당 단편 정규화를 나타낸다. y 축 (*MMP9* 비율)은 *MMP9* 발현 수준 대 참조 유전자 *STK4* 발현 수준의 비율을 나타냈다. 도 13의 패널 B에서 도시된 바와 같이, *MMP9* 비율에 대한 ROC 분석이 수행되었고, 그리고 AUC가 0.94이었는데, 이것은 *MMP9* 발현 단독을 이용하는 것의 예측력을 증가하였다 (도 9).

[0686] 이들 실험 결과는 표적 유전자의 RNA 발현 수준을 개시된 참조 유전자와 비교하는 것이 개체에서 폐암의 존재의 더 나은 예측을 야기한다는 것을 증명하였다.

[0687] 실시예 13

[0688] 마커 유전자의 조합으로부터 RNA 발현 수준

[0689] 도 14-16은 2개의 표적 유전자의 RNA 발현 수준을 함께 이용하는 것이 개체에서 폐암의 존재를 예측하는 것을 가능하게 하였다는 것을 보여준다.

[0690] 도 14에서, 실시예 12로부터 2개의 가장 예측적 표적 유전자, 예를 들면, *S100A12* 및 *MMP9*의 데이터를 이용하여, 이성분 분류기 (파선에 의해 표시됨)가 학습되었다. *S100A12*는 Y 축 상에 있고 *MMP9*는 X 축 상에 있다. 도시된 데이터는 FPKM 정규화된다. 각 데이터 포인트는 1) 건강한 비-흡연자, 2) 건강한 담배 흡연자, 3) I 기 NSCLC를 앓는 개체, 4) II 기 NSCLC를 앓는 개체, 5) III 기 NSCLC를 앓는 개체, 또는 6) IV 기 NSCLC를 앓는 개체로부터 획득된 혈액 샘플을 나타낸다. 상기 분류기는 I 기 NSCLC의 경우 0.87의 민감도, I 기-III 기 NSCLC의 경우 0.88의 민감도, 그리고 0.9의 특이성을 가졌다. 이것은 *S100A12* 및 *MMP9*의 유전자 발현 데이터를 조합하는 것이 폐암 위험에 대한 좋은 예측력을 야기하였다는 것을 증명한다.

[0691] 대안으로, 도 15는 *S100A12* 및 *SAT1*의 유전자 발현 데이터를 이용하였고, 그리고 도 16은 *S100A12* 및 *TYMP*의 유

전자 발현 데이터를 이용하였다. 각 데이터 포인트는 1) 건강한 개체, 2) 양성 폐 종양을 앓는 개체, 또는 3) 폐암으로 진단된 개체로부터 획득된 혈액 샘플을 나타낸다. 도 15는 군 사이의 거리를 최대화하도록 선택된 유전자를 보여준다. 이것은 데이터에 대한 검출 오차 및 분석전 변수의 영향을 최소화한다. 도 16은 *SI00A12*에 대한 직교 마커를 발견하려고 시도한다. *TYMP*는 양성 결절을 암으로부터 분리하는 데 매우 좋은 것으로 밝혀졌는데, 이러한 결과는 이것이 CT 스캔에서 발견된 결절에 대한 좋은 반사 검사의 일부로서 이용될 수 있다는 것을 의미하였다.

[0692] 특허, 특허 출원, 기사, 서적, 논문 및 인터넷 웹 페이지를 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 본 출원에서 인용된 모든 문헌 및 유사 자료는 어떤 목적으로든 명시적으로 온전히 참조로서 편입된다. 별도로 규정되지 않으면, 본원에서 인용된 모든 기술 용어와 과학 용어는 본원에서 설명된 다양한 구체예가 속하는 분야의 평균적 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 편입된 참고문헌에서 용어의 정의가 본 교시에서 제공된 정의와 상이한 것으로 나타날 때, 본 교시에서 제공된 정의가 우선할 것이다.

[0693] 발명의 일정한 구체예가 설명되긴 했지만, 이들 구체예는 단지 실례로만 제시되었고, 그리고 발명의 범위를 한정하는 것으로 의도되지 않는다. 실제로, 본원에서 설명된 신규한 방법과 시스템은 다양한 다른 형태로 구현될 수 있다. 게다가, 본 기술의 설명된 조성물, 방법, 시스템 및 용도의 다양한 변형, 생략, 치환 및 변동은 설명된 바와 같은 본 기술의 범위와 사상으로부터 벗어나지 않으면서, 당업자에게 명백할 것이다. 비록 본 기술이 특정한 예시적인 구체예와 관련하여 설명되긴 했지만, 청구된 바와 같은 발명은 이런 특정한 구체예에 부당하게 한정되지 않아야 하는 것으로 이해되어야 한다. 실제로, 약리학, 생화학, 의학, 또는 관련된 분야에서 당업자에게 명백한, 본원 발명을 실행하기 위한 설명된 방식의 다양한 변형은 하기 청구항의 범위 안에 있는 것으로 의도된다. 첨부된 청구항 및 이들의 등가물은 발명의 범위와 사상의 범위 안에 들어갈 이런 형태 또는 변형을 커버하는 것으로 의도된다. 따라서, 본원 발명의 범위는 첨부된 청구항을 참조함으로써만 규정된다.

[0694] 본원 발명의 범위는 본 섹션에서 또는 본 명세서 내에 다른 곳에서 바람직한 구체예의 특정한 개시에 의해 한정되는 것으로 의도되지 않고, 그리고 본 섹션에서 또는 본 명세서 내에 다른 곳에서 제시된 또는 장래에 제시될 청구항에 의해 규정될 수 있다. 청구항의 언어는 이들 청구항에서 이용된 언어에 기초하여 넓게 해석되어야 하고, 그리고 본 명세서에서 또는 출원의 등록 업무 동안 설명된 실례에 한정되지 않으며, 이들 실례는 비-배타적인 것으로 해석되어야 한다.

[0695] 특정한 양상, 구체예 또는 실례와 함께 설명된 특질, 물질, 특징, 또는 그룹은 본 섹션에서 또는 본 명세서 내에 다른 곳에서 설명된 구체예 또는 실례가 만약 임의의 다른 양상과 양립할 수 없는 경우가 아니라면, 그것에 적용 가능한 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서 (임의의 첨부된 청구항, 요약 및 도면 포함)에서 개시된 모든 특질 및/또는 이렇게 개시된 임의의 방법 또는 과정의 모든 단계는 이런 특질 및/또는 단계 중에서 적어도 일부가 상호간에 배타적인 조합을 제외하고, 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 보호는 임의의 전술된 구체예에 관한 상세에 한정되지 않는다. 보호는 본 명세서 (임의의 첨부된 청구항, 요약 및 도면 포함)에서 개시된 특질의 임의의 신규한 것, 또는 임의의 신규한 조합, 또는 이렇게 개시된 임의의 방법 또는 과정의 단계의 임의의 신규한 것, 또는 임의의 신규한 조합까지 확장된다.

[0696] 게다가, 별개의 실행의 문맥에서 본원 발명에서 설명되는 일정한 특질이 또한, 단일 실행에서 조합으로 실행될 수 있다. 반대로, 단일 실행의 문맥에서 설명되는 다양한 특질이 또한, 별개로 또는 임의의 적합한 하위조합으로 복수의 실행에서 실행될 수 있다. 게다가, 비록 특질이 상기에서 일정한 조합으로 작동하는 것으로 설명될 수도 있지만, 청구된 조합으로부터 하나 또는 그 이상의 특질이 일부 사례에서, 조합으로부터 절단될 수 있고, 그리고 조합이 하위조합 또는 하위조합의 변동으로서 청구될 수 있다.

[0697] 게다가, 작업이 특정 순서로 도면에서 묘사되거나 또는 명세서에서 설명될 수도 있지만, 이런 작업은 바람직한 결과를 달성하기 위해, 도시된 특정 순서로 또는 순차적인 순서로, 또는 모든 작업이 수행되도록 수행될 필요가 없다. 묘사되거나 또는 설명되지 않는 다른 작업이 실례 방법과 과정에서 통합될 수 있다. 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 추가 작업이 임의의 설명된 작업 이전, 이후, 동시에, 또는 사이에 수행될 수 있다. 게다가, 이들 작업은 다른 실행에서 재배열되거나 또는 재정렬될 수 있다. 당업자는 일부 구체예에서, 예시되고 및/또는 개시된 과정에서 취해진 실제 단계가 도면에서 도시된 것들과 상이할 수 있다는 것을 인지할 것이다. 구체예에 따라서, 전술된 일정한 단계가 제거될 수 있고, 다른 것들이 추가될 수 있다. 게다가, 상기 개시된 특정한 구체예의 특질과 속성이 상이한 방식으로 조합되어 추가 구체예를 형성할 수 있고, 이들 모두 본원 발명의 범위 안에 들어간다. 또한, 전술된 실행에서 다양한 시스템 구성요소의 분리는 모든 실행에서 이런 분리 필요로 하는 것으로 이해되지는 않아야 하고, 그리고 설명된 구성요소와 시스템이 일반적으로 단일 산물에서 함께 통합되거나 또는

복수의 산물로 포장될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들면, 본원에서 설명된 에너지 저장 시스템에 대한 임의의 구성요소는 별개로 제공되거나, 또는 함께 통합 (예를 들면, 함께 포장, 또는 함께 부착)되어 에너지 저장 시스템을 형성할 수 있다.

[0698]

본원 발명의 목적으로, 일정한 양상, 이점 및 신규한 특질이 본원에서 설명된다. 이와 같은 모든 이점이 임의의 특정 구체예에 따라서 반드시 달성될 수 있는 것은 아니다. 따라서, 예를 들면, 당업자는 본원 발명이 본원에서 교시되거나 또는 제안된 바와 같은 다른 이점을 반드시 달성하는 것은 아니지만, 본원에서 교시된 바와 같은 한 가지 이점 또는 이점의 그룹을 달성하는 방식으로 구현되거나 또는 실행될 수 있다는 것을 인식할 것이다.

도면

도면 1a

신앙을 마거 명하 검조번호	영색제	시작 위치	종지 위치	평균 BC점	평균 배정장 점	평균 신앙을 배정	평균 대배도 배정	평균 수배도 배정	평균 평점장 점 배정	평균 규정대지 신앙을 배정	정하/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SO/BC	UND/BC
AC1	10	81002926	81002992	0%	1%	21%	15%	22%	8%	32%	1.31	42.51	30.95	45.31	15.74	64.67
AC2	2	73147720	73147790	1%	3%	24%	36%	50%	28%	59%	3.25	26.10	38.89	54.76	30.96	64.51
AC3	20	37435530	37435681	1%	1%	21%	6%	5%	9%	8%	1.55	33.32	9.43	7.37	15.07	12.88
AC4	19	3785837	3785923	0%	1%	19%	20%	5%	7%	56%	4.69	66.90	68.62	19.25	26.13	195.13
AC5	2	74726554	74726617	1%	4%	38%	47%	68%	31%	49%	3.10	27.46	34.21	49.28	22.18	35.41
AC6	12	25056015	25056162	0%	1%	10%	18%	25%	10%	35%	1.51	27.62	50.51	68.55	27.10	95.52
AC7	12	52400959	52401020	1%	1%	12%	19%	3%	1%	19%	1.59	24.05	36.73	5.80	2.58	36.73
AC8	1	156863477	156863554	1%	3%	24%	19%	32%	14%	13%	2.42	20.38	15.89	26.82	11.70	10.87
AC9	8	145106353	145106439	0%	2%	24%	29%	9%	25%	26%	4.89	59.66	71.50	22.47	62.77	65.19
AC10	7	27135634	27135679	0%	0%	10%	10%	7%	1%	40%	1.74	44.26	42.10	28.73	4.44	172.75
AC11	7	27135772	27135823	0%	1%	15%	21%	7%	2%	44%	4.72	91.85	132.84	43.76	10.27	270.65
AC12	8	145106742	145106827	0%	2%	26%	34%	10%	21%	14%	5.40	81.76	108.02	31.02	68.54	45.26
AC13	11	830323	830382	0%	1%	16%	9%	7%	1%	2%	3.56	60.14	31.27	24.44	3.55	5.83
AC14	3	124860573	124860665	0%	1%	12%	34%	12%	37%	39%	1.55	29.73	84.15	28.68	91.45	97.00
AC15	2	97193509	97193639	1%	1%	14%	7%	16%	13%	16%	2.04	26.57	14.00	30.21	23.54	29.84
AC16	1	65731423	65731507	0%	1%	14%	20%	7%	6%	5%	4.05	40.31	57.98	20.18	17.71	15.74
AC17	1	968477	968584	1%	1%	25%	22%	2%	12%	9%	2.07	40.71	35.38	3.80	18.61	15.35
AC18	14	101033514	101033620	0%	2%	18%	7%	40%	5%	14%	4.29	36.37	14.15	82.74	10.45	29.35
AC19	17	27467359	27467467	0%	0%	10%	7%	28%	4%	5%	2.69	61.89	42.49	170.64	26.04	31.95
AC20	8	145105570	145105675	1%	3%	30%	26%	9%	29%	23%	3.15	29.77	25.41	9.23	28.54	22.59
AC21	9	88137543	88137628	1%	1%	13%	9%	3%	7%	13%	1.79	24.24	16.71	5.68	13.54	22.96

도면 1b

신앙을 마거 명하 검조번호	영색제	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 상에서	Entrez ID	유전자 표제
AC1	10	ZMIZ1	NM_020338	+	0	174135	1	57178	아연 핑거, MIZ-유형 내포 1
AC2	2	EMX1	NM_004097	+	0	3117	1	2016	빈 기온 호메오박스 1
AC3	20	PPP1R16B	NM_001172735;NM_015568	+	0	1183;1183	1	26051	단백질 포스포타아제 1, 조절 (저해제) 아단위 168
AC4	19	MATK	NM_002378;NM_139355;NM_139354	-	0	15973;578;578	1	4145	거대핵세포 연관 티로신 키나아제
AC5	2	LBX2	NM_001009812	-	0	3889	1	85474	무당벌레 호메오박스 2
AC6	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_01178094;NM_001178091;NM_001178093	0	46378;46378;-693;46378;-6	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질	
AC7	12	GRASP	NM_181711	+	1	212	1	160622	GRP1 (포스포아노시티드에 대한 일반적인 수용체 1)-연관된 골격 단백질
AC8	1	PEAR1	NM_001080471	+	0	-45	1	375033	헬소판 내피 용접 수용체 1
AC9	8	OPLAH	NM_017570	-	1	9231	1	26873	5-옥소프롤리나아제 (ATP-가수분해)
AC10	7	HOXA1	NM_005522;NM_153620	-	0	-9;-9	1	3198	호메오박스 A1
AC11	7	HOXA1	NM_005522;NM_153620	-	0	-147;-147	1	3198	호메오박스 A1
AC12	8	OPLAH	NM_017570	-	0	8842	1	26873	5-옥소프롤리나아제 (ATP-가수분해)
AC13	11	CD151	NM_004357;NM_139029;NM_139030;NM_001039490	+	1	-2628;-2628;-2628;-2628	1	977	CD151 분자 (Raph 혈액형)
AC14	3	SLC12A8	NM_001195483;NM_024628	0	69670;71036	1	84561	용질 운반체 패밀리 12 (칼륨/염화물 전달체), 구성원 8	
AC15	2	MAX.chr2.97193509-97193639	-	-	0	-	0	-	-
AC16	1	DNAJC6	NM_014787	+	0	994	1	9829	DnaJ (Hsp40) 동족체, 서브패밀리 C, 구성원 6
AC17	1	AGRN	NM_198576	+	0	12975	1	375790	아그린
AC18	14	BEGAIN	NM_001159531;NM_020836	-	0	893;2617	0	57596	뇌-농축된 구아닐레이트 키나아제 연관 동족체 (위)
AC19	17	MYO18A	NM_078471;NM_203318	-	0	40048;40048	0	399687	미오신 XVIIIa
AC20	8	MAX.chr8.145105570-145105675	-	-	0	-	1	-	-
AC21	9	MAX.chr9.88137543-88137628	-	-	0	-	0	-	-

도면1c

선명도 마커 영역 점조번호	영역제	시작 위치	종지 위치	평균 BC-성	평균 배정상-성	평균 진영중 배-성	평균 배제포 배-성	평균 배제포 배-성	평균 배정상과 배-성	평균 규정되지 않은 영역 배-성	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
AC22	19	36909350	36909447	0%	1%	11%	15%	2%	8%	0%	1.86	29.45	41.75	5.10	22.88	1.28
AC23	2	96991058	96991212	0%	1%	15%	6%	4%	7%	4%	6.00	176.53	76.85	44.00	81.37	50.29
AC24	1	2165937	2166058	0%	0%	12%	17%	64%	6%	16%	1.37	45.20	63.35	232.04	20.22	59.05
AC25	19	58661757	58661861	1%	1%	20%	12%	9%	7%	4%	2.71	36.53	22.37	17.50	12.26	8.10
AC26	2	97193166	97193253	0%	1%	13%	8%	18%	12%	21%	1.71	42.20	25.79	55.43	37.48	67.24
AC27	8	145013661	145013775	0%	0%	26%	6%	32%	2%	10%	5.69	361.21	80.01	444.31	30.71	144.38
AC28	17	26699039	26699117	0%	1%	13%	14%	6%	1%	12%	10.25	110.62	119.15	55.00	11.44	105.40
AC29	19	58661880	58662026	1%	1%	15%	6%	7%	3%	4%	2.75	27.79	11.93	12.58	5.88	7.42
AC30	12	50297879	50297912	1%	2%	17%	20%	4%	7%	19%	2.26	22.36	27.00	5.77	9.22	24.93
AC31	1	32237695	32237880	1%	3%	22%	25%	44%	10%	14%	2.78	22.43	25.97	45.37	10.13	14.59
AC32	1	65731622	65731666	1%	2%	27%	35%	11%	12%	17%	2.00	31.36	39.95	13.18	14.20	19.04
AC33	16	23847586	23847684	0%	2%	15%	23%	18%	2%	26%	12.77	119.07	189.49	148.49	13.87	209.78
AC34	7	100075307	100075425	0%	2%	21%	18%	54%	15%	16%	3.87	45.55	39.16	116.74	32.72	34.94
AC35	1	44031599	44031658	0%	2%	24%	18%	21%	21%	18%	4.80	75.23	56.94	66.66	64.67	56.57
AC36	16	23847871	23847925	0%	1%	10%	11%	6%	2%	19%	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
AC37	16	23847938	23848020	0%	1%	15%	12%	10%	2%	15%	25.58	293.90	237.97	199.65	41.02	298.01
AC38	19	3785977	3786032	0%	1%	14%	24%	3%	5%	34%	5.84	54.36	93.77	12.00	19.42	135.15
AC39	19	37288523	37288615	1%	2%	19%	22%	26%	18%	30%	2.72	25.92	30.28	34.88	24.73	40.51
AC40	13	103046898	103046982	0%	0%	14%	10%	1%	1%	13%	1.60	47.29	32.21	2.55	1.96	41.48
AC41	2	25439185	25439264	0%	1%	10%	11%	31%	3%	7%	2.31	25.89	26.41	77.49	6.89	18.37
AC42	20	61638472	61638536	0%	1%	15%	11%	1%	5%	17%	5.21	56.31	41.95	4.97	19.39	63.96
AC43	1	32237893	32237998	1%	2%	19%	29%	52%	10%	27%	2.51	24.19	36.61	65.03	12.62	34.40
AC44	3	50378496	50378540	0%	1%	13%	14%	62%	6%	16%	6.77	84.98	89.94	406.60	38.31	101.31

도면1d

선명도 마커 영역 점조번호	영역제	유전자	전사체	가량	연소에서	Tss 거리	CpG 영역에서	Ensembl ID	유전자 표제
AC22	19	LOC644189	NR_033748	+	0	-3088	1	644189	아실-CoA 티오에스테라아제 4 위유전자
AC23	2	ITPR1L1	NM_178495;NM_001163524;NM_0 01008949;NM_001163523	+	0	-876,-886,-3,-10	1	150771	아노시톨 1,4,5-삼인산신 수용체 상호작용 단백질-유사 1
AC24	1	SKI	NM_003036	+	0	5804	0	6497	y-ski 육종 바이러스 종양유전자 동족체 (조류)
AC25	19	ZNF329	NM_024620	-	0	391	1	79673	아연 핑거 단백질 329
AC26	2	MAX chr2 97193166-97193253	-	-	0	-	1	-	-
AC27	8	PLEC	NM_201381 NM_201383;NM_0004 45;NM_201378;NM_201380;NM_20 1384;NM_201382;NM_201379	1	1	5244;3031;37252;3 40 36;11383;97;4449;1 44 27	0	5339	폴렉틴
AC28	17	SARM1	NM_015077	+	1	53	1	23098	무균 알파 및 TIR 모터포 내포 1
AC29	19	ZNF329	NM_024620	-	0	268	1	79673	아연 핑거 단백질 329
AC30	12	FAIM2	NM_012306	-	0	-159	1	23017	Fas 아포토시스성 저해 분자 2
AC31	1	MAX chr1 32237695-32237880	-	-	0	-	0	-	-
AC32	1	DNAJC6	NM_014787	+	0	1193	1	9829	DnaJ (Hsp40) 동족체, 서브페밀리 C, 구성원 6
AC33	16	PRKCB	NM_002738;NM_212535	+	1	287;287	1	5579	단백질 키나아제 C, 베타
AC34	7	TSC22D4	NM_030935	-	1	1595	1	81628	TSC22 도메인 패밀리, 구성원 4
AC35	1	PTPRF	NM_002840;NM_130440	+	0	35053;35053	1	5792	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, F
AC36	16	PRKCB	NM_002738;NM_212535	+	0	572;572	1	5579	단백질 키나아제 C, 베타
AC37	16	PRKCB	NM_002738;NM_212535	+	0	639;639	1	5579	단백질 키나아제 C, 베타
AC38	19	MATK	NM_002378;NM_139355;NM_1393 54	-	0	15833;438;438	1	4145	거대핵세포 연관 티로신 키나아제
AC39	19	MAX chr1 9.37288523-3728861 5	-	-	0	-	1	-	-
AC40	13	FGF14	NM_175929	-	0	7226	1	2259	섬유모세포 성장 인자 14
AC41	2	MAX chr2 25439185-25439264	-	-	0	-	1	-	-
AC42	20	BHLHE23	NM_080606	-	0	-85	1	128408	기본 나선-루프-나선 패밀리, 구성원 e23
AC43	1	MAX chr1 32237893-32237998	-	-	0	-	1	-	-
AC44	3	RASSF1	NM_170714;NM_007182;NM_1707 12;NM_170713	-	0	-129;-129;-2832;- 3601	1	11186	Ras 연관 (RalGDS/AF-6) 도메인 패밀리 구성원 1

도면1e

신암종 마커 영역 염도 번호	염색체	시작 위치	종지 위치	평균 BC/성	평균 배정상. 성	평균 신암종 배.성	평균 대세포 배.성	평균 소세포 배.성	평균 편평상피 배.성	평균 규정되지 않은 염 배.성	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
AC45	8	99439151	99439192	0%	1%	14%	18%	4%	1%	26%	1.44	31.01	40.63	8.77	1.90	57.44
AC46	19	37288426	37288510	0%	1%	15%	22%	30%	19%	27%	1.79	39.22	55.94	78.85	49.81	69.01
AC47	9	96715209	96715360	1%	3%	24%	15%	29%	10%	6%	3.21	29.13	17.97	35.67	11.96	6.87
AC48	15	65116396	65116440	0%	1%	11%	21%	5%	25%	2%	5.61	51.82	98.18	22.13	114.94	10.41
AC49	17	17627469	17627534	1%	1%	17%	7%	0%	19%	11%	0.77	21.31	8.72	0.57	23.63	14.12

도면1f

신암종 마커 영역 염도 번호	염색체	유전자	전사체	기타	엑손에서	Tss 거리	CpG 성에서	Entrez ID	유전자 표제
AC45	8	KCNK2	NM_020697	+	0	-98	1	3788	칼륨 전압-게이팅 통로, 지연된- 정류기, 서브파밀리 S, 구성원 2
AC46	19	MAX1 9.37288426-3728851 0	-	-	0	-	1	-	-
AC47	9	BARX1	NM_021570	-	1	2399	1	56033	BARX 호메오박스 1
AC48	15	PIF1	NM_025049	-	1	1442	1	80119	PIF1 5'-내지-3' DNA 헬리카아제 동족체 (사카로미세스 세레비시iae)
AC49	17	RAI1	NM_030665	+	1	42683	1	10743	레티노산 유도 1

도면2a

대세포 마커 영역 염도 번호	염색체	시작 위치	종지 위치	평균 BC/성	평균 배정상. 성	평균 신암종 배.성	평균 대세포 배.성	평균 소세포 배.성	평균 편평상피 배.성	평균 규정되지 않은 염 배.성	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
LC1	16	23847871	23847925	0%	1%	10%	11%	6%	2%	19%	SDIV/0	#DIV/0	#DIV/0	#DIV/0	#DIV/0	#DIV/0
LC2	5	169064343	169064446	0%	1%	10%	11%	40%	2%	13%	29.90	255.47	295.59	1054.27	55.31	339.16
LC3	5	42992328	42992393	0%	4%	27%	38%	43%	23%	50%	29.14	179.62	252.75	288.47	156.43	334.25
LC4	7	37488072	37488105	0%	0%	3%	19%	6%	1%	16%	5.21	36.35	238.74	72.25	9.26	203.41
LC5	16	23847938	23848020	0%	1%	15%	12%	10%	2%	15%	25.58	293.90	237.97	199.65	41.02	298.01
LC6	19	17346461	17346549	0%	2%	9%	21%	0%	14%	26%	17.37	84.73	202.32	0.58	132.88	247.58
LC7	16	23847586	23847684	0%	2%	15%	23%	18%	2%	26%	12.77	119.07	189.49	148.49	13.87	209.78
LC8	5	42995328	42995393	0%	4%	12%	28%	50%	30%	55%	24.55	77.50	185.42	325.38	198.95	362.13
LC9	19	58238816	58238942	0%	1%	8%	15%	24%	17%	33%	8.09	94.63	175.66	277.57	203.93	390.90
LC10	7	37488118	37488163	0%	0%	2%	11%	2%	0%	12%	2.85	29.53	155.86	33.00	6.18	159.79
LC11	5	42995477	42995528	0%	5%	20%	35%	60%	39%	62%	18.40	82.13	141.62	245.53	158.96	254.67
LC12	1	110627264	110627325	0%	1%	5%	28%	52%	8%	31%	3.49	23.92	137.94	259.29	39.55	152.65
LC13	19	58011421	58011488	0%	1%	3%	22%	12%	6%	0%	3.89	17.87	129.28	71.80	35.25	1.25
LC14	12	49484143	49484184	0%	1%	5%	15%	5%	2%	9%	6.92	36.99	121.11	43.30	15.20	72.91
LC15	17	26699039	26699117	0%	1%	13%	14%	6%	1%	12%	10.25	110.62	119.15	55.00	11.44	105.40
LC16	20	47443870	47443961	0%	1%	6%	10%	4%	2%	9%	8.85	64.06	110.72	46.66	17.90	96.24
LC17	17	46675164	46675237	0%	1%	8%	20%	6%	7%	11%	4.38	43.34	109.94	35.52	37.61	58.29
LC18	8	145106742	145106827	0%	2%	26%	34%	10%	21%	14%	5.40	81.76	108.02	31.02	68.54	45.26
LC19	17	75447560	75447708	0%	0%	2%	15%	2%	0%	5%	1.28	17.71	107.93	17.41	2.23	37.60
LC20	4	102711879	102711959	0%	2%	8%	23%	12%	11%	19%	8.25	32.43	99.18	50.15	48.17	80.58
LC21	11	14926886	14926955	0%	3%	6%	29%	78%	21%	20%	8.70	18.97	99.05	266.28	70.91	68.97
LC22	17	42287927	42287988	0%	0%	11%	15%	26%	18%	32%	1.27	71.79	95.09	167.27	117.62	206.97
LC23	19	3785977	3786032	0%	1%	14%	24%	3%	5%	34%	5.84	54.36	93.77	12.00	19.42	135.15
LC24	2	182322274	182322403	0%	1%	9%	11%	10%	2%	8%	7.64	78.53	92.41	84.05	18.74	72.85

도면 2b

디테도 마크 영역 참조 번호	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 상에서	Entrez ID	유전자 표제
LC1	16	PRKCB	NM_002738;NM_212535	+	0	572,572	1	5579	단백질 키나아제 C, 베타
LC2	5	DOCK2	NM_004946	+	1	93	1	1794	세포질분열의 현신자 2
LC3	5	MAX.ch r5.42992328-42992393	-	-	0	-	1	-	-
LC4	7	ELMO1	NM_014800	-	0	439	1	9844	탐식 및 세포 운동성 1
LC5	16	PRKCB	NM_002738;NM_212535	+	0	639,639	1	5579	단백질 키나아제 C, 베타
LC6	19	NR2F6	NM_005234	-	1	9690	1	2063	핵 수용체 서브패밀리 2, 그룹 F, 구성원 6
LC7	16	PRKCB	NM_002738;NM_212535	+	1	287,287	1	5579	단백질 키나아제 C, 베타
LC8	5	MAX.ch r5.42995328-42995393	-	-	0	-	1	-	-
LC9	19	ZNF671	NM_024833	1	179	1	79891	아연 핑거 단백질 671	
LC10	7	ELMO1	NM_014800	-	0	393	1	9844	탐식 및 세포 운동성 1
LC11	5	MAX.chr5.42995477-42995528	-	-	0	-	0	-	-
LC12	1	MAX.Chrl.110627264-110627325	-	-	0	-	1	-	-
LC13	19	ZNF773	NM_198542	+	1	113	1	374928	아연 핑거 단백질 773
LC14	12	DHH	NM_021044	-	1	4459	1	50846	데저트 헤지호그
LC15	17	SARM1	NM_015077	+	1	53	1	23098	무균 알파 및 TIR 모티프 내포 1
LC16	20	PREX1	NM_020820	-	0	550	1	57580	포스포티로신인자-3,4,5-트리스포스페이트-의존성 Rac 교환인자 1
LC17	17	HOXB5	NM_002147	-	1	-4061	1	3215	호메오박스 B5
LC18	8	OPLAH	NM_017570	-	0	8842	1	26873	5-옥소코콜리나아제 (ATP-가수분해)
LC19	17	sep9	NM_006640;NM_001113494;NM_01113496;NM_001113492;NM_01113493;NM_001113491	+	0	131964;75396;948;163588;78289;170069	1	10801	셀핀 9
LC20	4	BANK1	NM_017935;NM_001127507	+	1	116;116	1	55024	안키린 반복을 갖는 8-세포 골격 단백질 1
LC21	11	MAX.Chrl.1.14926886-14926955	-	-	0	-	1	-	-
LC22	17	UBTF	NM_001076684;NM_001076683;NM_014233	-	0	8997;10323;7737	1	7343	상류 결합 전사 인자, RNA 중합효소 I
LC23	19	MATK	NM_002378;NM_139355;NM_139354	-	0	15833;438;438	1	4145	거대핵세포 연관 티로신 키나아제
LC24	2	ITGA4	NM_000885	+	1	656	1	3676	인테그린, 알파 4 (항원 CD49D, VLA-4 수용체의 알파 4 아단위)

도면2c

대체표 마커 명목 참조번호	영속세	시각 위치	정지 위치	평균 BC 점	평균 백 점상 점	평균 검은 백 점	평균 대체표 백 점	평균 대체표 백 점	평균 대체표 백 점	평균 대체표 백 점	정상/BC	Aa/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
LC25	3	50378496	50378540	0%	1%	13%	14%	62%	6%	16%	6.77	84.98	89.94	406.60	38.31	101.31
LC26	5	157098339	157098381	0%	1%	9%	18%	11%	2%	13%	5.53	45.71	89.03	53.16	11.52	64.27
LC27	8	124173236	124173386	0%	1%	11%	15%	49%	14%	29%	7.50	63.79	86.89	276.90	78.49	166.63
LC28	4	42153564	42153601	0%	0%	5%	13%	6%	1%	10%	2.47	36.03	85.84	37.84	7.67	70.13
LC29	19	17346401	17346450	0%	1%	5%	15%	2%	6%	14%	5.69	25.74	84.33	13.37	34.47	78.56
LC30	3	124860573	124860665	0%	1%	12%	34%	12%	37%	39%	1.55	29.73	84.15	28.68	91.45	97.00
LC31	7	37488225	37488303	0%	0%	4%	15%	4%	1%	13%	2.22	22.77	82.00	24.55	6.84	70.81
LC32	12	25055873	25055997	0%	1%	10%	22%	29%	12%	40%	4.32	36.00	77.51	103.02	44.17	140.87
LC33	3	194118747	194118919	0%	2%	13%	26%	43%	19%	41%	6.97	38.31	74.49	125.02	55.43	117.27
LC34	8	145106353	145106439	0%	2%	24%	29%	9%	25%	26%	4.89	59.66	71.50	22.47	62.77	65.19
LC35	17	46620564	46620622	0%	1%	11%	34%	21%	12%	29%	2.90	22.12	70.90	43.06	25.10	59.41
LC36	2	173099757	173099817	0%	1%	4%	16%	7%	4%	3%	3.23	17.04	69.46	30.54	19.33	11.52
LC37	19	3785837	3785923	0%	1%	19%	20%	5%	7%	56%	4.69	66.90	68.62	19.25	26.13	195.13
LC38	7	37487776	37487893	0%	1%	3%	12%	6%	0%	11%	3.09	17.32	66.89	32.54	1.97	64.09
LC39	6	6004298	6004338	1%	5%	21%	40%	58%	34%	61%	7.31	33.74	64.23	93.83	54.50	99.42
LC40	10	22541891	22541996	0%	2%	13%	22%	49%	18%	24%	5.71	36.56	63.36	141.74	52.16	69.90
LC41	1	2165937	2166058	0%	0%	12%	17%	64%	6%	16%	1.37	45.20	63.35	232.04	20.22	59.05
LC42	1	223936868	223936997	0%	1%	7%	18%	45%	16%	28%	2.13	26.29	63.20	158.81	57.13	99.50
LC43	5	1295194	1295314	0%	1%	8%	12%	26%	2%	14%	3.69	41.84	62.47	142.53	9.07	77.02
LC44	11	128564667	128564773	0%	0%	3%	13%	7%	3%	25%	2.36	15.22	60.67	32.31	14.64	120.57
LC45	1	65731423	65731507	0%	1%	14%	20%	7%	6%	5%	4.05	40.31	57.98	20.18	17.71	15.74
LC46	7	142494769	142494904	0%	1%	7%	11%	5%	2%	23%	5.22	34.83	57.90	28.83	12.03	123.00

도면 2d

대체포 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	진사체	가닥	역순에서	Tss 거리	CpG 상에서	Entrez ID	유전자 표제
LC25	3	RASSF1	NM_170714;NM_007182;NM_170712;NM_170713	-	0	-129;-129;-2832;-3601	1	11186	Ras 연관 (RafGDS/AF-6) 도메인 패밀리 구성원 1
LC26	5	C5orf52	NM_001145132	+	0	-221	1	100190949	염색체 5 개방 해독을 52
LC27	8	MAX.chr8.124173236-124173386	-	-	0	-	1	-	-
LC28	4	BEND4	NM_001159547;NM_207406	-	0	1331;1331	1	389206	BEN 도메인 내포 4
LC29	19	NR2F6	NM_005234	-	1	9750	1	2063	핵 수용체 서브패밀리 2, 그룹 F, 구성원 6
LC30	3	SLC12A8	NM_001195483;NM_024628	-	0	69670;71036	1	84561	융질 유반체 패밀리 12 (칼륨/염화물 전달체), 구성원 8
LC31	7	ELMO1	NM_014800	-	0	286	1	9844	탐식 및 세포 운동성 1
LC32	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_001178094;NM_001178091;NM_001178093	-	0	46520;46520;-551;46520;136	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질
LC33	3	GP5	NM_004488	-	1	1248	1	2814	당단백질 V (헬스판)
LC34	8	OPLAH	NM_017570	-	1	9231	1	26873	5-옥소프롤리나아제 (ATP-가수분해)
LC35	17	HOXB2	NM_002145	-	1	1829	1	3212	호머옥소스 B2
LC36	2	MAX. Chr2.173099757-173099817	-	-	0	-	1	-	-
LC37	19	MATK	NM_002378;NM_139355;NM_139354	-	0	15973;578;578	1	4145	거대핵세포 연관 티로신 키나아제
LC38	7	ELMO1	NM_014800	-	0	735	1	9844	탐식 및 세포 운동성 1
LC39	6	NRN1	NM_016588	-	0	3335	1	51299	뉴리틴 1
LC40	10	MAX.chr1.022541891-22541996	-	-	0	-	1	-	-
LC41	1	SKI	NM_003036	+	0	5804	0	6497	v-ski 육종 바이러스 종양유전자 동족체 (조류)
LC42	1	CAPN2	NM_001146068;NM_001748	+	0	47574;36750	1	824	칼파인 2, (m//l) 큰 아단위
LC43	5	TERT	NM_001193376;NM_198253	-	0	-32;-32	1	7015	텔로머라아제 역전사효소
LC44	11	FLI1	NM_002017;NM_001167681	+	0	855;2279	1	2313	프린트 백혈병 바이러스 통합 1
LC45	1	DNAJC6	NM_014787	+	0	994	1	9829	DnaJ (Hsp40) 동족체, 서브패밀리 C, 구성원 6
LC46	7	MAX.chr7.142494769-142494904	-	-	0	-	1	-	-

도면 2e

대체도 마커 명 정수번호	영역제	시차 위치	장자 위치	평균 BC 점	평균 배점상·점	평균 신상용 배점	평균 대체도 배점	평균 수색도 배점	평균 장자배점 배점	평균 구경단지 영역 상 배점	정상/BC	A/B/C	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
LC47	1	161275664	161275801	0%	0%	3%	11%	0%	6%	0%	2.20	15.83	57.68	1.19	32.84	2.04
LC48	1	32237619	32237654	1%	5%	32%	35%	60%	14%	28%	7.65	53.16	57.57	100.17	23.82	46.87
LC49	1	44031599	44031658	0%	2%	24%	18%	21%	21%	18%	4.80	75.23	56.94	66.66	64.67	56.57
LC50	20	61560692	61560749	0%	1%	6%	13%	62%	19%	28%	5.65	24.19	56.55	258.74	79.08	115.84
LC51	3	122296709	122296828	0%	3%	17%	23%	65%	25%	61%	5.87	39.97	54.78	151.39	57.49	143.28
LC52	8	145104291	145104342	0%	1%	6%	13%	3%	12%	10%	3.80	26.23	54.77	13.90	49.84	41.94
LC53	4	140201231	140201277	1%	2%	7%	34%	11%	7%	21%	3.04	10.87	54.63	18.35	12.07	33.86
LC54	4	15780145	15780191	0%	2%	5%	16%	19%	8%	19%	5.10	17.13	53.63	61.39	27.48	61.88
LC55	1	111217635	111217682	0%	1%	8%	18%	3%	4%	28%	2.24	22.91	52.55	9.59	10.61	83.04
LC56	3	124860704	124860798	0%	1%	10%	21%	9%	35%	22%	1.98	23.37	51.32	20.78	84.00	51.80
LC57	12	25056015	25056162	0%	1%	10%	18%	25%	10%	35%	1.51	27.62	50.51	68.55	27.10	95.52
LC58	17	48042562	48042606	1%	3%	24%	47%	56%	25%	44%	3.67	25.97	50.24	59.12	26.78	46.42
LC59	12	107713157	107713254	0%	2%	6%	24%	2%	3%	17%	3.60	12.28	49.38	4.01	5.33	34.97
LC60	19	37464151	37464219	0%	1%	6%	20%	19%	17%	40%	2.12	15.10	47.57	43.26	38.92	93.33
LC61	12	65218381	65218413	0%	0%	1%	11%	4%	1%	8%	1.99	6.49	47.47	17.50	5.10	35.85
LC62	10	94834101	94834171	0%	1%	4%	14%	3%	1%	9%	2.24	13.39	46.30	10.38	4.51	27.46
LC63	5	169064211	169064314	0%	1%	9%	15%	30%	2%	22%	3.71	29.12	46.14	93.41	5.35	71.09
LC64	12	4273887	4274003	0%	1%	8%	17%	9%	3%	6%	3.02	22.67	45.94	24.63	7.65	17.15
LC65	12	25055634	25055804	1%	3%	14%	27%	30%	17%	50%	5.65	23.18	44.87	51.11	28.60	83.14
LC66	3	13115009	13115073	1%	2%	46%	40%	16%	3%	42%	2.26	51.11	44.54	17.94	2.82	47.14

도면2f

대체도 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 영역서	Entrez ID	유전자 표현	
LC47	1	MPZ	NM_000530	-	1	4098	0	4359	미열린 단백질 재료	
LC48	1	MAX.chrl	32237619-32237654	-	0	-	0	-	-	
LC49	1	PTPRF	NM_002840;NM_130440	+	0	35053;35053	1	5792	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, F	
LC50	20	DIDO1	NM_033081 NM_001193369;NM_022105;NM_080797;NM_001193370 NM_080796	0	8612;-2789;8612;8612;-2789;-2789	-	1	11083	사망 유도자-말살자 1	
LC51	3	PARP15	NM_001113523	+	0	261	1	165631	폴리 (ADP-리보오스) 중합효소 패밀리, 구성원 15	
LC52	8	MAX.chr8	145104291-145104342	-	0	-	1	-	-	
LC53	4	C4orf49	NM_032623	-	1	261	1	84709	염색체 4 개방 해독물 49	
LC54	4	CD38	NM_001775	+	1	215	1	952	CD38 분자	
LC55	1	KCNA3	NM_002232	1	20	3738	1	3738	칼륨 전압-게이팅 통로, 세아귀 관련 서브패밀리, 구성원 3	
LC56	3	SLC12A8	NM_001195483;NM_024628	0	69539;70905	1	84561	1	84561	융질 운반체 패밀리 12 (칼륨/염화물 전달체), 구성원
LC57	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_001178094;NM_001178091 NM_001178093	0	46378;46378;-693;46378;-6	-	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질	
LC58	17	DLX4	NM_138281	+	0	-3999	1	1748	원위부가 없는 homeobox 4	
LC59	12	BTBD11	NM_001018072	+	1	961	1	121551	BTB (POZ) 도메인 내포 11	
LC60	19	MAX.chrl	9.37464151-37464219	-	0	-	1	-	-	
LC61	12	TBC1D30	NM_015279	+	1	30	1	23329	TBC1 도메인 패밀리, 구성원 3	
LC62	10	CYP26A1	NM_000783;NM_057157	+	1	455;870	1	1592	시토크롬 P450, 패밀리 26, 서브패밀리 A, 폴리펩티드 1	
LC63	5	DOCK2	NM_004946	+	0	-39	0	1794	세포질분열의 현신자 2	
LC64	12	MAX.chr12	4273887-4274003	-	0	-	1	-	-	
LC65	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_001178094;NM_001178091 NM_001178093	0	46759;46759;-312;46759;375	-	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질	
LC66	3	IQSEC1	NM_001134382	-	0	-392	1	9922	IQ motifs 및 Sec7 도메인	

도면 2g

대체도 마커 영역 참조 번호	영역제	시작 위치	종료 위치	평균 BC점	평균 배점상/점	평균 산업용 배점	평균 대체도 배점	평균 소재도 배점	평균 판형상과 배점	평균 규정되지 않은 영역 배점	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
LC67	20	37434670	37434793	0%	1%	7%	10%	1%	1%	10%	2.23	31.25	44.50	2.57	3.70	43.59
LC68	7	100273764	100273857	0%	0%	2%	11%	0%	9%	10%	0.72	7.67	44.09	0.23	37.98	38.77
LC69	2	118981859	118981945	1%	3%	14%	33%	42%	26%	29%	4.14	18.40	42.45	53.71	35.86	36.89
LC70	8	70981960	70982028	1%	4%	26%	36%	65%	26%	58%	5.02	30.29	41.91	74.59	32.63	66.72
LC71	20	61638221	61638352	0%	1%	7%	15%	1%	2%	18%	2.59	20.85	40.85	3.78	6.32	50.89
LC72	5	77268624	77268718	1%	2%	12%	22%	34%	7%	21%	3.72	21.82	40.13	61.10	12.77	38.23
LC73	1	65731622	65731666	1%	2%	27%	35%	11%	12%	17%	2.00	31.36	39.95	13.18	14.20	19.04
LC74	1	78511734	78511827	1%	2%	15%	32%	24%	15%	51%	2.91	18.47	39.63	29.28	18.15	62.64
LC75	7	100075307	100075425	0%	2%	21%	18%	54%	15%	16%	3.87	45.55	39.16	116.74	32.72	34.94
LC76	17	73073700	73073810	0%	0%	0%	15%	8%	17%	0%	1.26	1.07	39.05	21.72	46.29	0.42
LC77	2	73147720	73147790	1%	3%	24%	36%	50%	28%	59%	3.25	26.10	38.89	54.76	30.96	64.51
LC78	12	103352075	103352138	0%	1%	3%	10%	1%	4%	16%	2.48	12.32	38.77	3.39	15.06	62.03
LC79	10	22624410	22624553	1%	2%	7%	30%	63%	11%	58%	2.80	9.42	38.62	82.32	14.11	75.75
LC80	8	98290125	98290161	0%	1%	5%	18%	10%	5%	17%	2.98	10.47	38.51	20.42	10.93	35.54
LC81	2	66808687	66808728	1%	7%	24%	48%	74%	37%	80%	5.37	19.49	38.15	58.88	29.21	63.62
LC82	15	84748786	84748909	1%	1%	9%	19%	1%	5%	13%	2.55	16.56	36.80	1.01	8.97	25.40
LC83	12	52400959	52401020	1%	1%	12%	19%	3%	1%	19%	1.59	24.05	36.73	5.80	2.58	36.73
LC84	1	32237893	32237998	1%	2%	19%	29%	52%	10%	27%	2.51	24.19	36.61	65.03	12.62	34.40
LC85	7	27205013	27205081	1%	7%	29%	50%	83%	42%	48%	5.20	20.79	36.52	60.30	30.77	35.13
LC86	4	8859253	8859363	0%	1%	4%	14%	14%	7%	18%	3.88	9.54	36.29	35.88	18.16	46.41
LC87	20	47444641	47444682	0%	1%	7%	15%	2%	1%	5%	3.03	16.83	36.12	5.94	2.12	11.01

도면2h

대체도 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 섬에서	Enrez ID	유전자 표제
LC67	20	PPP1R168	NM_001172735;NM_015568	+	0	323,323	1	26051	단백질 포스파타아제 1, 조절 (저해제) 아단위 168
LC68	7	GNB2	NM_005273	+	0	2402	1	2783	구아닌 뉴클레오타이드 결합 단백질 (G 단백질), 베타 폴리펩티드 2
LC69	2	MAX.chr2.118981859-118981945	-	-	0	-	1	-	-
LC70	8	PRDM14	NM_024504	-	1	1602	1	63978	PR 도메인 내포 14
LC71	20	BHLHE23	NM_080606	-	1	166	1	128408	기본 나선-루프-나선 패밀리를 구성원 e23
LC72	5	MAX.chr5.77268624-77268718	-	-	0	-	1	-	-
LC73	1	DNAJC6	NM_014787	+	0	1193	1	9829	DnaJ (Hsp40) 동족체, 서브패밀리 C, 구성원 6
LC74	1	GIPC2	NM_017655	+	1	146	1	54810	GIPC PDZ 도메인 내포 패밀리를 구성원 2
LC75	7	TSC22D4	NM_030935	-	1	1595	1	81628	TSC22 도메인 패밀리를 구성원 4
LC76	17	MAX.Chr1.73073700-73073810	-	-	0	-	1	-	-
LC77	2	EMX1	NM_004097	+	0	3117	1	2016	빈 기본 호메오박스 1
LC78	12	ASCL1	NM_004316	+	1	624	1	429	아케트 스쿠트 복합체 동족체 1 (초파리(Drosophila))
LC79	10	MAX.Chr1.022624410-22624553	-	-	0	-	1	-	-
LC80	8	TSPYL5	NM_033512	-	1	51	1	85453	TSPYL-유사 5
LC81	2	MAX.ch.r2.66808687-66808728	-	-	0	-	1	-	-
LC82	15	LOC648809	NR_036652	+	0	-152	1	648809	연장 인자 Tu GTP-결합 도메인-내포 단백질 1 위유전자
LC83	12	GRASP	NM_181711	+	1	212	1	160622	GRP1 (포스포이노시티드에 대한 일반적인 수용체 1)-연관된 골격 단백질
LC84	1	MAX.Chr1.32237893-32237998	-	-	0	-	1	-	-
LC85	7	HOXA9	NM_152739	-	1	136	1	3205	호메오박스 A9
LC86	4	MAX.chr4.8859253-8859363	-	-	0	-	1	-	-
LC87	20	PREX1	NM_020820	-	0	-221	1	57580	포스파티딜이노시톨-3,4,5-트리스포스페이트-의존성 Rac 교환 인자 1

도면2i

대체도 마커 영역 참조번호	염색체	시작 위치	종료 위치	평균 BC 점	평균 배.정상.점	평균 신장중 배.점	평균 대체도 배.점	평균 소세포 배.점	평균 전염상피 배.점	평균 규정되지 않은 암 배.점	정상/BC	A1/BC	LC/BC	SC/BC	SO/BC	UND/BC
LC88	19	54486055	54486134	1%	2%	11%	21%	10%	3%	34%	2.95	18.45	36.01	16.74	5.84	57.48
LC89	2	26407721	26407876	0%	1%	2%	11%	47%	18%	16%	2.39	8.36	36.01	160.15	60.97	56.07
LC90	7	27196035	27196154	1%	3%	21%	31%	37%	18%	56%	3.72	24.32	35.89	42.10	20.22	64.49
LC91	7	158937376	158937476	1%	2%	8%	20%	9%	5%	21%	3.81	14.17	35.70	16.30	8.28	37.29
LC92	12	103352229	103352268	0%	1%	2%	14%	2%	3%	25%	2.42	5.87	35.68	4.29	6.57	62.78
LC93	1	968477	968584	1%	1%	25%	22%	2%	12%	9%	2.07	40.71	35.38	3.80	18.61	15.35
LC94	7	157483370	157483425	0%	1%	9%	14%	1%	3%	23%	3.36	22.18	35.26	3.79	7.43	58.67
LC95	5	178957576	178957695	1%	2%	15%	18%	41%	17%	24%	3.97	29.20	34.94	78.81	31.81	45.24
LC96	17	46675383	46675464	0%	1%	4%	11%	3%	5%	3%	1.83	12.26	34.87	9.04	14.87	8.78
LC97	19	51831114	51831160	1%	2%	17%	20%	26%	4%	26%	4.03	29.10	34.38	43.50	6.23	44.43
LC98	2	74726554	74726617	1%	4%	38%	47%	68%	31%	49%	3.10	27.46	34.21	49.28	22.18	35.41
LC99	14	70654555	70654616	0%	1%	9%	15%	1%	5%	7%	3.08	19.47	33.99	3.28	12.22	15.29
LC100	5	134879621	134879709	1%	2%	5%	21%	40%	6%	35%	3.43	8.06	33.63	65.55	9.28	56.82
LC101	12	107715041	107715084	0%	1%	5%	11%	2%	1%	19%	2.19	16.32	33.62	5.06	2.98	57.40
LC102	14	52734489	52734592	0%	1%	7%	13%	5%	3%	24%	3.42	16.75	33.53	12.05	7.48	59.56
LC103	1	101004818	101004860	0%	1%	10%	16%	3%	2%	23%	3.10	20.44	33.24	5.47	4.02	49.05
LC104	4	13524253	13524378	1%	2%	7%	21%	28%	11%	23%	3.50	10.37	32.37	43.87	17.49	36.14
LC105	10	81002926	81002992	0%	1%	21%	15%	22%	8%	32%	1.31	42.51	30.95	45.31	15.74	64.67
LC106	11	14926627	14926716	1%	1%	5%	16%	62%	16%	11%	1.78	10.57	30.66	119.53	31.77	21.41
LC107	2	176945102	176945135	1%	2%	7%	18%	7%	7%	38%	2.93	11.98	30.46	10.98	11.55	63.00
LC108	1	248020671	248020722	1%	4%	31%	40%	63%	33%	63%	3.31	23.46	30.04	47.26	24.66	47.74
LC109	11	31820365	31820418	1%	4%	19%	39%	74%	21%	59%	3.41	14.93	30.02	57.24	16.07	45.33
LC110	17	26699373	26699456	1%	2%	14%	20%	8%	2%	8%	2.84	21.52	29.85	12.44	3.28	12.27
LC111	1	214158912	214158969	1%	4%	20%	33%	50%	18%	46%	3.39	17.95	29.64	45.85	16.83	41.54

도면2j

대체표 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	진사체	가타	엑손에서	Tss 거리	CpG 상에서	Entrez ID	유전자 표제
LC88	19	CACNG8	NM_031895	+	1	19766	1	59283	칼슘 통로, 전압 의존성, 감마-아단위 8
LC89	2	FAM59B	NM_001191033;NM_001168241	+	1	4137;11762	1	150946	서열 유사성을 갖는 패밀리 59 구성원 8
LC90	7	HOXA7	NM_006896	-	1	261	1	3204	호메오박스 A7
LC91	7	VIPR2	NM_003382	-	0	273	1	7434	혈관작용 장관 펩티드 수용체 2
LC92	12	ASCL1	NM_004316	+	1	778	1	429	아케트 스쿠트 복합체 동족체 1 (조파리(Drosophila))
LC93	1	AGR1	NM_198576	+	0	12975	1	375790	아그린
LC94	7	PTPRN2	NM_130842;NM_002847;NM_130843	-	0	897112;897112;897112	1	5799	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, N 폴리펩티드 2
LC95	5	MAX.chr5.178957576-178957695	-	-	0	-	1	-	-
LC96	17	HOXB5	NM_002147	-	1	4280	1	3215	호메오박스 B5
LC97	19	IGLON5	NM_001101372	+	1	16013	1	402665	gLOH 패밀리 구성원 5
LC98	2	LBX2	NM_001009812	-	0	3889	1	85474	무당발 호메오박스 2
LC99	14	SLC8A3	NM_183002;NM_058240;NM_182932;NM_033262	0	1232;1232;1232;1232	0	6547	용질 운반체 패밀리 8 (나트륨/칼슘 교환체), 구성원 3	
LC100	5	MAX.chr5.134879621-134879709	-	-	0	-	1	-	-
LC101	12	BTBD11	NM_001018072	+	0	2845	0	121551	BTB (POZ) 도메인 내포 11
LC102	14	PTGDR	NM_000953	+	1	59	1	5729	프로스타글란딘 D2 수용체 (DP)
LC103	1	GPR88	NM_022049	+	1	1091	1	54112	G 단백질-연계된 수용체 88
LC104	4	MAX.Chr4.13524253-13524378	-	-	0	-	1	-	-
LC105	10	ZMIZ1	NM_020338	+	0	174135	1	57178	아연 핑거, MIZ-유형 내포 1
LC106	11	MAX.chrf.1.14926627-14926716	-	-	0	-	1	-	-
LC107	2	EVX2	NM_001080458	-	1	3588	1	344191	이브 스냅드 호메오박스 2
LC108	1	TRIM58	NM_015431	+	1	171	1	25893	삼부 모티프 내포 58
LC109	11	PAX6	NM_000280;NM_001604;NM_001127612	-	0	12514;12514;19144	1	5080	패어드 박스 6
LC110	17	SARM1	NM_015077	+	1	387	1	23098	무균 알파 및 TIR 모티프 내포 1
LC111	1	PROX1	NM_002763	+	0	2947	1	5629	프로스페로 호메오박스 1

도면 2k

대체로 마케터 장소번호	연식제	시작 위치	정지 위치	평균 BC/성	평균 패/정상, 성	평균 산업종별/성	평균 대체로 패/성	평균 소재로 패/성	평균 관공상/패/성	평균 유정되지 않은 패/성	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
LC112	11	13984886	13984972	1%	3%	14%	25%	6%	11%	31%	3.40	16.30	29.63	7.65	12.51	36.31
LC113	5	134879362	134879483	0%	1%	5%	13%	35%	5%	17%	3.15	10.56	29.38	80.54	10.94	39.68
LC114	4	8859990	8860023	1%	3%	13%	31%	21%	15%	34%	2.85	12.04	28.82	19.00	14.14	31.74
LC115	14	52735425	52735485	1%	3%	15%	29%	18%	15%	63%	3.09	15.29	28.53	17.82	14.71	61.82
LC116	18	12254306	12254366	0%	1%	3%	10%	1%	2%	5%	2.01	9.00	28.44	3.39	4.24	14.73
LC117	6	2903614	2903705	0%	1%	2%	13%	21%	2%	1%	1.58	3.90	28.42	45.90	4.89	1.60
LC118	8	72755971	72756053	1%	1%	17%	25%	6%	2%	23%	1.61	19.29	28.37	7.16	1.82	25.66
LC119	8	23564059	23564136	1%	2%	12%	23%	30%	12%	50%	2.76	14.60	27.91	36.65	14.91	61.08
LC120	19	30017795	30017896	1%	1%	13%	19%	10%	3%	14%	1.80	18.06	27.33	13.50	4.20	20.21
LC121	12	25056183	25056246	1%	5%	19%	37%	54%	29%	64%	4.03	13.60	27.03	39.72	21.36	47.05
LC122	12	50297879	50297912	1%	2%	17%	20%	4%	7%	19%	2.26	22.36	27.00	5.77	9.22	24.93
LC123	14	52735223	52735373	1%	2%	12%	22%	14%	7%	62%	2.15	14.58	26.97	17.16	8.92	74.66
LC124	2	25439185	25439264	0%	1%	10%	11%	31%	3%	7%	2.31	25.89	26.41	77.49	6.89	18.37
LC125	1	32237695	32237880	1%	3%	22%	25%	44%	10%	14%	2.78	22.43	25.97	45.37	10.13	14.59
LC126	5	32713586	32713669	2%	5%	25%	42%	17%	11%	33%	3.07	15.16	25.58	10.49	6.68	20.46
LC127	8	145105570	145105675	1%	3%	30%	26%	9%	29%	23%	3.15	29.77	25.41	9.23	28.54	22.58
LC128	12	52401041	52401138	1%	1%	12%	16%	1%	2%	12%	1.36	19.11	25.37	2.04	2.89	19.80
LC129	7	27195748	27195829	1%	5%	25%	36%	38%	24%	69%	3.68	17.21	25.20	26.39	16.93	48.45
LC130	2	99439270	99439356	1%	3%	24%	31%	81%	32%	56%	2.54	19.21	25.16	66.32	26.30	45.23

도면21

대체로 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 섬에서	Entrez ID	유전자 표제
LC112	11	SPON1	NM_006108	+	0	973	1	10418	스폰딘 1, 세포의 기질 단백질
LC113	5	MAX.chr5.134879362-134879483	-	-	0	-	0	-	-
LC114	4	MAX.chr4.8859990-8860023	-	-	0	-	1	-	-
LC115	14	PTGDR	NM_000953	+	0	995	1	5729	프로스타글란딘 D2 수용체 (DP)
LC116	18	CIDEA	NM_001279;NR_036468	+	0	-11 ; -53	1	1149	세포 사멸-유도 DFFA-유사 작동제 a
LC117	6	SERPINB9	NM_004155	-	0	-69	1	5272	세르핀 펩티드분해효소 저해제, 분기관 8 (난백알부민), 구성원 9
LC118	8	LOC100132891	NR_033651 ;NR_033652	+	1	-379;614	1	100132891	가설 LOC100132891
LC119	8	NKX2-6	NM_001136271	-	0	-137	1	137814	NK2 전사 인자 관련, 좌위 6 (초파리(Drosophila))
LC120	19	VSTM2B	NM_001146339	+	0	305	1	342865	V-세트 및 막경유 도메인 내포 2B
LC121	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_01178094;NM_001178091 ;NM_001178093	-	0	46210;46210;-861;46210;-174	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질
LC122	12	FAIM2	NM_012306	-	0	-159	1	23017	Fas 아폴로시스시스템 저해 분자 2
LC123	14	PTGDR	NM_000953	+	1	793	1	5729	프로스타글란딘 D2 수용체 (DP)
LC124	2	MAX.chr2.25439185-25439264	-	-	0	-	1	-	-
LC125	1	MAX.chr1.32237695-32237880	-	-	0	-	0	-	-
LC126	5	NPR3	NM_000908	+	0	1922	1	4883	나트륨이노 펩티드 수용체 C/구아닐레이트 시클라아제 C (심방 나트륨이노 펩티드 수용체 C)
LC127	8	MAX.Chr8.145105570-145105675	-	-	0	-	1	-	-
LC128	12	GRASP	NM_181711	+	1	294	1	160622	GRP1 (포스포아노시티드에 대한 일반적인 수용체 1)-연관된 골격 단백질
LC129	7	HXA7	NM_006896	-	0	548	1	3204	호메오박스 A7
LC130	2	C2orf55	NM_207362	-	1	113414	1	343990	염색체 2 개방 해독물 55

도면2m

대체로 마커 영역 참조번호	염색체	시작 위치	종지 위치	평균 BC 점	평균 BC 점 상. 점	평균 BC 점 중. 점	평균 BC 점 하. 점	평균 BC 점 상. 점	평균 BC 점 하. 점	평균 BC 점 상. 점	평균 BC 점 하. 점	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
LC131	10	124910562	124910715	1%	3%	7%	31%	26%	11%	16%	2.57	5.42	24.87	20.86	8.77	13.03	
LC132	7	35293717	35293754	2%	6%	21%	44%	37%	17%	55%	3.29	11.74	24.80	21.20	9.72	31.02	
LC133	1	161275580	161275649	1%	1%	6%	20%	1%	12%	2%	1.19	7.61	24.72	1.32	14.12	2.90	
LC134	17	44896701	44896855	0%	1%	5%	11%	5%	6%	2%	1.54	10.77	24.70	10.80	12.84	3.79	
LC135	6	108440646	108440760	1%	3%	23%	30%	56%	23%	29%	2.73	19.07	24.47	45.83	18.68	23.23	
LC136	6	2903051	2903104	1%	1%	2%	16%	9%	3%	0%	1.13	2.43	24.28	13.65	4.40	0.45	
LC137	12	57618791	57618831	2%	4%	21%	37%	78%	30%	61%	2.91	13.94	23.92	50.79	19.55	39.93	
LC138	21	36042030	36042110	1%	2%	4%	22%	41%	13%	55%	1.88	3.80	23.37	43.13	13.73	57.60	
LC139	2	233352635	233352699	1%	1%	8%	18%	3%	3%	18%	1.40	9.63	22.92	3.72	3.82	21.94	
LC140	14	52536106	52536240	1%	2%	15%	21%	17%	9%	42%	2.36	16.40	22.80	18.91	10.21	46.04	
LC141	10	105036730	105036777	1%	2%	17%	25%	14%	6%	53%	2.01	15.78	22.74	12.57	5.11	48.13	
LC142	1	110627121	110627221	1%	3%	7%	25%	39%	7%	33%	2.37	6.55	22.73	36.30	6.54	30.81	
LC143	8	143592229	143592285	1%	1%	8%	12%	5%	2%	16%	2.49	15.63	22.64	9.72	4.31	29.27	
LC144	7	158938047	158938133	1%	4%	9%	30%	14%	7%	29%	3.07	6.84	22.63	10.90	5.54	22.04	
LC145	17	43339264	43339345	1%	1%	4%	11%	41%	12%	11%	1.45	8.50	22.19	82.48	23.48	21.17	
LC146	10	119312919	119312997	1%	3%	15%	26%	28%	5%	11%	2.57	12.66	22.08	23.61	4.33	9.25	
LC147	17	77179798	77179841	1%	1%	12%	22%	3%	4%	26%	1.14	11.60	21.93	3.21	3.68	26.04	
LC148	4	155412291	155412375	1%	1%	5%	12%	6%	2%	10%	2.01	10.12	21.79	11.77	3.65	19.36	
LC149	8	70947017	70947084	1%	2%	19%	31%	46%	19%	38%	1.50	13.80	21.67	32.73	13.18	26.96	
LC150	15	65116474	65116558	1%	1%	9%	15%	9%	18%	1%	1.58	12.74	21.62	13.62	26.30	1.26	
LC151	14	52535777	52535870	1%	2%	6%	14%	6%	4%	21%	2.36	8.67	21.61	8.65	6.18	32.65	
LC152	12	103352291	103352323	1%	1%	3%	26%	3%	7%	31%	1.13	2.73	21.57	2.19	5.76	25.28	

도면2n

대체포 마커 영역 염색체	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 성에서	Entrez ID	유전자 표제
LC131	10	BUB3	NM_001007793;NM_004725	+	0	-3197,-3197	1	9184	벤즈아미다졸에 의해 제약을 받지 않는 발아 3 동족제 (효모)
LC132	7	TBX20	NM_001166220;NM_001077653	-	0	-6,-6	1	57057	T-박스 20
LC133	1	MPZ	NM_000530	-	1	4182	0	4359	미열린 단백질 제로
LC134	17	WNT3	NM_030753	-	0	-619	1	7473	무시 유형 MMTV 통합 부위 패밀리, 구성원 3
LC135	6	MAX.chr6.108440646-108440760	-	-	0	-	1	-	-
LC136	6	SERPINB9	NM_004155	-	0	494	0	5272	세르핀 캅티드분해효소 저해제, 분기군 B (난백알부민), 구성원 9
LC137	12	NXPH4	NM_007224	+	1	8214	1	11247	뉴렉소필린 4
LC138	21	CLIC6	NM_053277	+	1	343	1	54102	염화물 세포내 통로 6
LC139	2	ECEL1	NM_004826	-	0	-103	1	9427	엔도텔린 전한 효소-유사 1
LC140	14	NID2	NM_007361	-	0	-160	1	22795	니도겐 2 (오스테오니도겐)
LC141	10	INA	NM_032727	+	0	-189	1	9118	인터렉신 뉴런 중간 필라멘트 단백질, 알파
LC142	1	MAX.chr1.110627121-110627221	-	-	0	-	1	-	-
LC143	8	BAI1	NM_001702	+	0	46853	1	575	뇌-특이적 혈관신생 저해제 1
LC144	7	VPR2	NM_003382	-	0	-398	1	7434	혈관작용 장관 캅티드 수용체 2
LC145	17	C17orf46	NM_152343	-	0	215	1	124783	염색체 17 개방 핵돌출 46
LC146	10	MAX.chr10.119312919-119312997	-	-	0	-	1	-	-
LC147	17	RBFox3	NM_001082575	-	0	298765	1	146713	RNA 결합 단백질, fox-1 동족제 ('벌거벗(G. elegans)) 3
LC148	4	DCHS2	NM_001142552;NM_001142553	-	1	586,639	1	54798	다크소우스 2 (조파리(Drosophila))
LC149	8	MAX.chr8.70947017-70947084	-	-	0	-	1	-	-
LC150	15	PIF1	NM_025049	-	1	1364	1	80119	PIF1 5'-내지-3' DNA 헬리카아제 동족제 (사카로미세스 세레비시애(S. cerevisiae))
LC151	14	NID2	NM_007361	-	1	169	1	22795	니도겐 2 (오스테오니도겐)
LC152	12	ASCL1	NM_004316	+	1	840	1	429	아케트 스쿠트 복합체 동족제 1 (조파리(Drosophila))

도면2o

대체포 마커 영역 염색체	염색체	시작 위치	종료 위치	평균 BC 점	평균 BC 점상. 점	평균 상임종 BC 점	평균 대체포 배. 점	평균 대체포 배. 점	평균 상임종 배. 점	평균 규정되지 않은 점 배. 점	정상/BC	AU/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
LC153	9	114075	114141	1%	1%	7%	14%	6%	3%	10%	1.46	11.00	21.51	9.66	4.36	14.91
LC154	2	26407567	26407639	1%	1%	5%	12%	62%	27%	16%	1.73	9.78	21.33	112.60	49.01	28.67
LC155	17	80329497	80329526	2%	4%	15%	35%	15%	7%	18%	2.19	9.12	21.26	9.30	4.01	11.06
LC156	2	946378	946438	1%	1%	10%	13%	4%	3%	20%	2.16	16.72	21.25	7.07	5.17	32.61
LC157	2	87088958	87088997	2%	4%	23%	42%	10%	8%	34%	2.06	11.42	21.20	4.83	4.08	16.97
LC158	1	78511892	78512047	1%	2%	5%	21%	12%	10%	16%	2.00	4.64	21.05	12.33	10.20	15.52
LC159	17	46832435	46832494	2%	4%	18%	51%	64%	10%	45%	1.74	7.35	20.82	26.15	4.19	18.31
LC160	5	1876308	1876340	2%	3%	21%	42%	5%	24%	30%	1.64	10.14	20.71	2.63	11.89	14.89
LC161	4	8859049	8859184	1%	1%	6%	14%	12%	6%	23%	2.12	8.57	20.70	18.12	9.42	34.78
LC162	1	8277482	8277571	1%	2%	10%	22%	48%	31%	59%	1.59	9.26	20.67	45.68	29.57	56.50
LC163	5	10563569	10563607	1%	2%	6%	16%	9%	2%	23%	2.00	7.48	20.66	12.20	2.30	30.00
LC164	2	74726082	74726257	1%	1%	5%	19%	13%	7%	22%	1.42	5.07	20.56	13.46	7.60	23.48
LC165	9	129377645	129377714	1%	1%	2%	12%	2%	7%	4%	1.91	3.68	20.35	3.27	11.71	7.54
LC166	12	106979840	106979932	2%	3%	13%	32%	4%	11%	39%	1.93	7.96	20.27	2.45	7.05	24.97
LC167	3	170137371	170137439	2%	5%	15%	34%	49%	33%	62%	2.78	9.08	20.26	29.02	19.46	36.27
LC168	2	74726270	74726331	1%	1%	6%	24%	22%	9%	22%	1.27	5.44	20.19	19.04	7.96	18.84
LC169	7	50343331	50343395	1%	2%	6%	20%	11%	3%	16%	2.36	5.94	20.12	11.47	2.74	15.82
LC170	8	687683	687729	2%	4%	29%	46%	31%	24%	58%	1.75	12.72	20.04	13.43	10.27	25.10

도면2p

대체로 마커 영역 정조번호	염색체	유전자	전사체	가닥	역센서	Tss 거리	QpG 센서	Entrez ID	유전자 표제
LC153	9	MAX.chr9.114075-114141	-	-	0	-	1	-	-
LC154	2	FAM59B	NM_001191033;NM_001168241	+	1	3983;11608	1	150946	서열 유사성을 갖는 패밀리 59, 구성원 8
LC155	17	UTS2R	NM_018949	+	0	-2703	1	2837	유로텐신 2 수용체
LC156	2	SNTG2	NM_018968	+	0	-175	1	54221	신트로핀, 감마 2
LC157	2	CD8B	NM_004931 NM_172102;NM_0011 78100;NM_172213;NM_172101	-	1	89,89;89,89;89	1	926	CD8b 분자
LC158	1	GIPC2	NM_017655	+	1	304	1	54810	GIPC PDZ 도메인 내포 패밀리, 구성원 2
LC159	17	MAX.chr17.46832435-46832494	-	-	0	-	1	-	-
LC160	5	MAX.chr5.1876308-1876340	-	-	0	-	1	-	-
LC161	4	MAX.chr4.8859049-8859184	-	-	0	-	1	-	-
LC162	1	MAX.chr1.8277482-8277571	-	-	0	-	1	-	-
LC163	5	ANKRD33B	NM_001164440	+	0	-865	1	651746	안키린 반복 도메인 33B
LC164	2	LBX2	NM_001009812	-	0	4361	1	85474	무당벌레 호메오박스 2
LC165	9	LMX1B	NM_002316;NM_001174146;NM_0 01174147	-	0	924;924;924	1	4010	LM 호메오박스 전사 인자 1, 벡타
LC166	12	RFX4	NM_213594	+	0	2808	1	5992	조절 인자 X, 4 (HLA 클래스 II 발현에 영향을 줌)
LC167	3	CLDN11	NM_001185056;NM_005602	+	0	-1656;719	1	5010	클라우딘 11
LC168	2	LBX2	NM_001009812	-	0	4173	1	85474	무당벌레 호메오박스 2
LC169	7	KZF1	NM_006060	+	0	-1046	1	10320	이카로스 패밀리 아연 핑거 1 (이카로스)
LC170	8	MAX.Ch r8.687683-687729	-	-	0	-	1	-	-

도면3aa

소재로 마커 영역 정조번호	염색체	시작 위치	종지 위치	평균 BC 점	평균 배정 점	평균 선형중 배 점	평균 대체로 배 점	평균 소배로 배 점	평균 편향성 배 점	평균 규정되지 않은 점 배 점	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC1	5	42995102	42995171	0%	4%	8%	21%	43%	32%	59%	37.37	88.00	220.17	459.69	335.17	627.38
SC2	11	14926886	14926955	0%	3%	6%	29%	78%	21%	20%	8.70	18.97	99.05	266.28	70.91	68.97
SC3	11	14926795	14926853	0%	2%	9%	26%	78%	27%	10%	6.70	27.57	84.20	249.90	86.19	33.11
SC4	5	42995477	42995528	0%	5%	20%	35%	60%	39%	62%	18.40	82.13	141.62	245.53	158.96	254.67
SC5	9	124132797	124132861	0%	3%	6%	8%	49%	10%	55%	15.58	27.54	37.71	217.46	45.00	246.29
SC6	17	27467359	27467467	0%	0%	10%	7%	28%	4%	5%	2.69	61.89	42.49	170.64	26.04	31.95
SC7	11	14926995	14927132	0%	4%	6%	16%	66%	14%	13%	10.65	16.01	42.26	168.75	35.65	33.15
SC8	6	149803478	149803586	0%	4%	6%	16%	48%	19%	25%	14.98	19.63	54.98	164.84	66.15	87.14
SC9	19	17403238	17403270	0%	2%	3%	4%	46%	5%	22%	8.35	9.57	14.66	154.96	15.55	74.38
SC10	3	122296709	122296828	0%	3%	17%	23%	65%	25%	61%	5.87	39.97	54.78	151.39	57.49	143.28
SC11	10	22541891	22541996	0%	2%	13%	22%	49%	18%	24%	5.71	36.56	63.36	141.74	52.16	69.90
SC12	8	72754556	72754648	1%	4%	18%	23%	65%	21%	50%	8.04	33.54	42.57	119.67	39.04	91.67
SC13	7	100075307	100075425	0%	2%	21%	18%	54%	15%	16%	3.87	45.55	39.16	116.74	32.72	34.94
SC14	8	144328573	144328649	0%	2%	10%	13%	32%	7%	22%	5.38	32.52	41.01	101.81	21.45	68.46
SC15	9	96721507	96721564	1%	3%	11%	22%	77%	19%	28%	2.86	11.67	24.03	83.04	20.71	29.71
SC16	10	22624410	22624553	1%	2%	7%	30%	63%	11%	58%	2.80	9.42	38.62	82.32	14.11	75.75
SC17	8	70981960	70982028	1%	4%	26%	36%	65%	28%	58%	5.02	30.29	41.91	74.59	32.63	66.72
SC18	3	138658597	138658705	1%	4%	15%	29%	50%	25%	58%	6.02	21.20	39.97	68.59	34.74	79.20
SC19	2	99439270	99439356	1%	3%	24%	31%	81%	32%	56%	2.54	19.21	25.16	66.32	26.30	45.23
SC20	14	33402226	33402304	1%	4%	24%	21%	71%	15%	49%	3.48	22.10	19.50	64.55	13.58	45.05
SC21	1	223936705	223936773	1%	4%	15%	30%	65%	24%	31%	4.19	14.48	28.80	62.06	22.68	29.92
SC22	7	27205013	27205081	1%	7%	29%	50%	83%	42%	44%	5.20	20.79	36.52	60.30	30.77	35.13
SC23	17	48042562	48042606	1%	3%	24%	47%	56%	25%	44%	3.67	25.97	50.24	59.12	26.78	46.42
SC24	11	31820365	31820418	1%	4%	19%	39%	74%	21%	59%	3.41	14.93	30.02	57.24	16.07	45.33
SC25	2	71116233	71116269	1%	4%	14%	24%	62%	15%	51%	4.02	12.56	21.37	55.76	13.59	46.07
SC26	2	239140226	239140351	1%	2%	7%	16%	42%	5%	15%	2.14	8.36	19.00	51.66	6.30	17.68
SC27	18	55095158	55095201	1%	5%	11%	31%	64%	13%	42%	3.65	9.00	23.92	50.49	10.38	32.83
SC28	15	89914730	89914776	1%	3%	4%	10%	59%	18%	16%	2.44	3.73	8.26	49.97	15.08	13.65
SC29	2	74726554	74726617	1%	4%	38%	47%	68%	31%	49%	3.10	27.46	34.21	49.28	22.18	35.41

도면3ab

소재도 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	전사체	기타	역순에서	Tss 거리	CpG 성에서	Entrez ID	유전자 표현
SC1	5	MAX.chr5.42995102-42995171	-	-	0	-	0	-	-
SC2	11	MAX.chr11.14926886-14926955	-	-	0	-	1	-	-
SC3	11	MAX.chr11.14926795-14926853	-	-	0	-	1	-	-
SC4	5	MAX.chr5.42995477-42995528	-	-	0	-	0	-	-
SC5	9	STOM	NM_198194;NM_004099	-	0	-252;-252	1	2040	스트마틴
SC6	17	MYO18A	NM_078471 ;NM_203318	-	0	40048;40048	0	399687	미오신 XVIIIa
SC7	11	MAX.chr11.14926995-14927132	-	-	0	-	1	-	-
SC8	6	ZC3H12D	NM_207360	-	0	2670	0	340152	아연 핑거 CCHC-유형 내포 12D
SC9	19	ABHD8	NM_024527	-	1	11044	1	79575	아브히드롤라제 도메인 내포 8
SC10	3	PARP1 5	NM_001113523	+	0	261	1	165631	폴리 (ADP-리보오스) 중합효소 패밀리, 구성원 15
SC11	10	MAX.chr10.22541891-22541996	-	-	0	-	1	-	-
SC12	8	LOC100132891	NR_033651 ;NR_033652	+	1	-1794;-801	1	100132891	가설 LOC100132891
SC13	7	TSC22D4	NM_030935	-	1	1595	1	81628	TSC22 도메인 패밀리, 구성원 4
SC14	8	ZFP41	NM_173832	+	0	-535	1	286128	아연 핑거 단백질 41 동족체 (생쥐)
SC15	9	BARX1	NM_021570	-	0	-3899	1	56033	BARX 호메오박스 1
SC16	10	MAX.chr10.22624410-22624553	-	-	0	-	1	-	-
SC17	8	PRDM14	NM_024504	-	1	1602	1	63978	PR 도메인 내포 14
SC18	3	MAX.chr3.138658597-138658705	-	-	0	-	1	-	-
SC19	2	C2orf55	NM_207362	-	1	113414	1	343990	염색체 2 개방 해독물 55
SC20	14	MAX.chr14.33402226-33402304	-	-	0	-	1	-	-
SC21	1	CAPN2	NM_001146068;NM_001 748	+	0	47411;36587	1	824	칼페인 2, (m/l) 큰 아단위
SC22	7	HOXA9	NM_152739	-	1	136	1	3205	호메오박스 A9
SC23	17	DLX4	NM_138281	+	0	-3999	1	1748	원위부가 없는 호메오박스 4
SC24	11	PAX6	NM_000280;NM_001604;NM_001 1 27612	-	0	12514;12514;19144	1	5080	패어드 박스 6
SC25	2	MAX.chr2.71116233-71116269	-	-	0	-	1	-	-
SC26	2	LOC151174	NR_026926;NR_026925	-	1	92;92	1	151174	가설 LOC1511 74
SC27	18	MAX.chr18.55095158-55095201	-	-	0	-	1	-	-
SC28	15	MAX.chr15.89914730-89914776	-	-	0	-	1	-	-
SC29	2	LBX2	NM_001009812	-	0	3889	1	85474	무당벌레 호메오박스 2

도면3ac

소재도 마커 영역 참조번호	염색체	시점 위치	참조 위치	평균 BC 점	평균 BC점, 점	평균 신장 점	평균 대세포 점	평균 소세포 점	평균 합성점 점	평균 규정되지 않은 강 점	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC30	12	133481464	133481521	1%	5%	25%	28%	54%	26%	49%	4.21	22.69	24.67	48.26	23.58	43.20
SC31	10	22624260	22624375	1%	2%	6%	21%	53%	13%	56%	1.91	5.10	18.41	47.17	11.24	50.06
SC32	20	61560462	61560535	2%	3%	9%	19%	72%	30%	26%	1.81	5.48	11.30	42.16	17.75	15.47
SC33	1	151811410	151811523	2%	8%	20%	39%	68%	16%	34%	4.65	12.47	24.13	42.10	9.64	20.83
SC34	5	1295444	1295496	2%	3%	16%	28%	76%	15%	58%	1.93	8.89	15.80	42.04	8.35	32.46
SC35	7	8482598	8482670	2%	4%	19%	34%	80%	14%	54%	2.23	9.82	17.57	41.49	7.09	27.92
SC36	9	96722680	96722762	2%	4%	13%	18%	81%	18%	54%	1.81	6.40	9.21	40.62	9.17	27.11
SC37	19	13617166	13617235	-	3%	16%	24%	79%	7%	42%	1.52	7.95	12.14	40.60	3.55	21.30
SC38	11	31825851	31825955	1%	5%	12%	28%	56%	18%	49%	3.29	8.47	20.02	40.60	12.92	35.78
SC39	1	47696594	47696674	1%	4%	13%	16%	46%	9%	51%	3.76	10.92	13.85	39.04	7.83	43.54
SC40	5	1295519	1295587	2%	4%	17%	28%	72%	11%	60%	2.15	9.27	15.05	38.74	6.15	32.15
SC41	19	16394457	16394575	1%	2%	18%	14%	52%	21%	23%	1.72	13.16	10.15	38.09	15.47	17.08
SC42	14	101033663	101033775	1%	2%	12%	8%	32%	4%	15%	1.82	13.80	9.61	37.74	5.12	17.01
SC43	2	71116047	71116131	2%	5%	20%	37%	73%	21%	66%	2.54	10.30	19.16	37.51	11.04	34.09
SC44	3	157821297	157821378	2%	5%	15%	35%	77%	33%	48%	2.18	7.42	16.95	37.26	15.88	23.32
SC45	20	39597822	39597893	1%	5%	8%	7%	50%	8%	38%	3.36	5.53	5.14	36.66	5.59	27.57
SC46	8	23564059	23564136	1%	2%	12%	23%	30%	12%	50%	2.76	14.60	27.91	36.65	14.91	61.08
SC47	20	25061836	25061911	1%	4%	19%	19%	54%	8%	55%	2.39	12.78	12.56	36.50	5.35	36.91
SC48	2	171678927	171678966	2%	5%	23%	43%	83%	36%	56%	2.35	10.01	18.83	36.28	15.71	24.53
SC49	1	165323561	165323624	2%	5%	18%	29%	62%	19%	60%	2.83	10.55	16.83	35.93	10.85	34.56
SC50	4	2765684	2765768	2%	5%	13%	20%	73%	13%	44%	2.44	6.44	9.67	35.86	6.17	21.87
SC51	14	38724873	38724946	2%	5%	26%	28%	54%	28%	39%	3.19	17.27	18.37	35.74	18.39	25.84

도면3ad

소재포 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 위치에서	Entrez ID	유전자 표현
SC30	12	MAX.chr12.133481464-133481521	-	-	0	-	0	-	-
SC31	10	MAX.chrl 0.22624260-22624375	-	-	0	-	1	-	-
SC32	20	DIDO1	NM_033081;NM_001193369;NM_022105;NM_080797;NM_001193370; NM_080796	-	0	8842;-2559;8842;8842;-2559;-2559	1	11083	사망 유전자-발달자 1
SC33	1	C2CD4D	NM_001136003	-	1	1623	1	100191040	C2 칼슘-의존성 도메인 내포 4D
SC34	5	TERT	NM_001193376;NM_198253	-	0	-282;-282	1	7015	텔로머라아제 역전사효소
SC35	7	NXP1	NM_152745	+	0	9014	1	30010	뉴렉스돌린 1
SC36	9	MAX.chr9.96722680-96722762	-	-	0	-	1	-	-
SC37	19	CACNA1A	NM_001127222;NM_023035;NM_001127221;NM_000068;NM_001174 080	-	1	108;108;108;108	1	773	칼슘 통로, 전압 의존성, P/Q 유형, 칼파 1A 아단위
SC38	11	PAX6	NM_000280;NM_001604;NM_001127612	-	0	7028;7028;13658	1	5080	페어드 박스 6
SC39	1	TAL1	NM_003189	-	0	-1151	1	6886	T-세포 급성 림프성 백혈병 1
SC40	5	TERT	NM_001193376;NM_198253	-	0	-357;-357	1	7015	텔로머라아제 역전사효소
SC41	19	MAX.chrl 9.16394457-16394575	-	-	0	-	1	-	-
SC42	14	BEGAIN	NM_001159531 ;NM_020836	-	0	744;2468	0	57596	뇌-농축된 구아닐레이트 키나아제 연관 동족체 (쥐)
SC43	2	MAX.chr2.71116047-71116131	-	-	0	-	1	-	-
SC44	3	SHOX2	NM_001163678;NM_006684;NM_003030	-	0	2655;2655;2655	1	6474	짧은 신장 호모오복스 2
SC45	20	MAX.chr20.39597822-39597893	-	-	0	-	0	-	-
SC46	8	NKX2-6	NM_001136271	-	0	-137	1	137814	NK2 전사 인자 관련, 좌위 6 (초파리(Drosophila))
SC47	20	VSX1	NM_014588;NM_199425	-	0	931;931	1	30813	시각적 호모오복스 1
SC48	2	GAD1	NM_00081 7;NM_013445	+	0	5728;5728	1	2571	글루타민산염 탈카복실화효소 1 (뇌, 67kDa)
SC49	1	LMX1A	NM_001174069;NM_177398	-	0	1917;2391	1	4009	LIM 호모오복스 전사 인자 1, 알파
SC50	4	MAX.Chr4.2765684-2765768	-	-	0	-	1	-	-
SC51	14	CLEC14A	NM_175060	-	1	701	1	161198	C-유형 렉틴 도메인 패밀리 14, 구성원 A

도면3ae

수색표본(사적)명 장소 번호	연령대	시작 위치	정지 위치	평균 BC성	평균 최장성, 성	평균 최장성 패성	평균 대항도 패성	평균 수색도 패성	평균 수색도 패성	평균 관공장패 패성	평균 가점되지 않은 합 점	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC52	14	57275051	57275128	2%	5%	23%	23%	69%	33%	62%	2.46	12.11	12.16	35.71	17.08	32.3	32.3
SC53	1	119527180	119527255	2%	5%	18%	33%	66%	26%	59%	2.62	9.32	17.22	34.40	13.57	30.76	30.76
SC54	17	37321375	37321560	1%	2%	14%	16%	46%	20%	28%	1.69	10.17	11.26	33.55	14.38	20.12	20.12
SC55	19	2282589	2282652	2%	4%	17%	18%	70%	8%	34%	1.95	8.09	8.43	33.32	3.73	16.12	16.12
SC56	14	57275166	57275267	2%	3%	17%	15%	58%	23%	58%	1.81	9.88	8.63	33.21	12.99	32.92	32.92
SC57	8	70947017	70947084	1%	2%	19%	31%	46%	19%	38%	1.50	13.80	21.67	32.73	13.18	26.96	26.96
SC58	17	37321636	37321779	2%	4%	25%	28%	56%	24%	35%	2.13	14.57	16.29	32.47	13.78	20.19	20.19
SC59	7	156796836	156796900	2%	6%	34%	35%	65%	13%	44%	3.16	16.78	17.33	32.09	6.32	22.05	22.05
SC60	13	112708072	112708131	2%	4%	16%	19%	60%	29%	52%	2.28	8.17	9.98	30.61	15.09	26.55	26.55
SC61	15	60287478	60287520	3%	3%	7%	24%	75%	11%	56%	1.34	2.93	9.22	29.60	4.15	21.93	21.93
SC62	2	176964778	176964812	3%	5%	29%	35%	80%	40%	78%	1.72	10.48	12.64	28.72	14.52	27.93	27.93
SC63	17	59529152	59529199	2%	4%	8%	27%	64%	27%	19%	1.93	3.71	12.10	28.70	11.98	8.64	8.64
SC64	16	79623678	79623752	2%	4%	14%	9%	60%	12%	31%	1.67	6.46	4.23	28.57	5.92	14.79	14.79
SC65	9	37002603	37002649	3%	4%	18%	31%	74%	17%	51%	1.40	6.83	11.99	28.51	6.44	19.72	19.72
SC66	17	35299945	35299975	3%	7%	34%	41%	70%	30%	67%	2.75	13.34	15.98	27.54	11.92	26.15	26.15
SC67	9	96714376	96714430	3%	5%	22%	26%	84%	23%	35%	1.73	7.31	8.50	27.40	7.43	11.57	11.57
SC68	8	23564008	23564050	1%	4%	16%	23%	33%	14%	48%	2.96	12.99	19.51	27.33	11.90	40.25	40.25
SC69	2	162280520	162280586	2%	5%	25%	32%	61%	22%	48%	2.23	11.24	14.21	27.13	9.78	21.69	21.69
SC70	17	35300794	35300829	2%	6%	17%	32%	62%	19%	36%	2.40	6.98	13.40	26.28	7.88	14.98	14.98
SC71	14	60952425	60952483	2%	4%	16%	17%	57%	16%	53%	1.86	7.61	7.86	26.23	7.50	24.42	24.42
SC72	7	156814766	156814822	2%	2%	10%	17%	47%	7%	25%	1.21	5.45	9.24	25.65	3.68	13.51	13.51
SC73	17	46711207	46711240	2%	7%	27%	33%	61%	22%	46%	2.92	11.03	13.61	24.97	8.80	18.91	18.91
SC74	11	467178467	467178613	2%	3%	4%	8%	50%	5%	10%	1.26	2.15	4.04	24.88	2.51	5.18	5.18
SC75	5	42993534	42993659	2%	5%	10%	21%	53%	18%	49%	2.27	4.60	9.88	24.87	8.31	22.95	22.95
SC76	5	72595672	72595716	3%	6%	21%	29%	73%	17%	66%	2.06	7.13	9.82	24.53	5.88	22.18	22.18
SC77	19	13617366	13617505	3%	4%	14%	12%	70%	6%	34%	1.32	4.91	4.33	24.48	2.22	11.85	11.85

도면3af

소재도 마커 영역 좌표번호	염색체	유전자	전사체	기타	역순서	Tss 거리	Cpg 상에서	Entrez ID	유전자 표제
SC52	14	OTX2	NM_172337;NM_021728		0	-2706;2133	1	5015	교정돌기 호메오복스 2
SC53	1	TBX15	NM_152380		0	4999	1	6913	T-박스 15
SC54	17	ARL5C	NM_001143968		1	1039	0	390790	ADP-리보실화 인자-유사 5C
SC55	19	C19orf35	NM_198532		0	-408	0	374872	염색체 19 개방 해독물 35
SC56	14	OTX2	NM_172337;NM_021728		0	-2821;2018	1	5015	교정돌기 호메오복스 2
SC57	8	MAX.chr8.70947017-70947084	-		0		1	-	-
SC58	17	ARL5C	NM_001143968		0	778	1	390790	ADP-리보실화 인자-유사 5C
SC59	7	MAX.chr7.156796836-156796900	-		0		1	-	-
SC60	13	MAX.Chr1 3.112708072-112708131	-		0		1	-	-
SC61	15	MAX.chr15.60287478-60287520	-		0		1	-	-
SC62	2	HOXD12	NM_021193	+	1	249	1	3238	호메오복스 D12
SC63	17	TBX4	NM_018488	+	0	-4654	1	9496	T-박스 4
SC64	16	MAX.chr16.79623678-79623752	-	-	0		1	-	-
SC65	9	PAX5	NM_016734	-	0	31873	1	5079	페어드 박스 5
SC66	17	LHX1	NM_005568	+	0	5174	1	3975	LIM 호메오복스 1
SC67	9	BARX1	NM_021570	-	1	3232	1	56033	BARX 호메오복스 1
SC68	8	NKX2-6	NM_001136271	-	0	-86	1	137814	NK2 전사 인자 관련, 좌위 6 (초파리(Drosophila))
SC69	2	TBR1	NM_006593	+	1	7901	1	10716	T-박스, 뇌, 1
SC70	17	LHX1	NM_005568	+	1	6023	1	3975	LIM 호메오복스 1
SC71	14	C14orf39	NM_174978	-	0	339	1	317761	염색체 14 개방 해독물 39
SC72	7	MAX.Chr7.156814766-156814822	-	-	0	-	0	-	-
SC73	17	MIR196A1	NR_029582	-	0	-1286	1	406972	마이크로 RNA 196a-1
SC74	11	KCNK3	NM_005472	-	1	133	1	10008	칼륨 전압-게이팅 통로, Isk-관련 패밀리, 구성원 3
SC75	5	MAX.Chr5.42993534-42993659	-	-	0	-	0	-	-
SC76	5	MAX.Chr5.72595672-72595716	-	-	0	-	1	-	-
SC77	19	CACNA1A	NM_001127222;NM_023035;NM_01127221 NM_000068;NM_001174 080		0	-92;-92;-92;-92	0	773	칼슘 통로, 전압 의존성, P/Q 유형, 알파 1A 아단위

도면3ag

소재도 마커 영역 좌표번호	염색체	시작 위치	종료 위치	평균 BC 점	평균 BC 점상, 원	평균 신임증 점	평균 대체도 점	평균 소재도 점	평균 편향성 점	평균 규정되지 않은 점	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC78	11	74178305	74178408	2%	2%	4%	9%	49%	5%	13%	1.05	2.00	4.30	23.91	2.45	6.46
SC79	1	50885167	50885250	3%	5%	19%	22%	79%	31%	60%	1.35	5.67	6.59	23.78	9.13	18.04
SC80	3	138659030	138659082	2%	8%	27%	27%	59%	25%	36%	3.18	10.80	10.88	23.77	10.05	14.63
SC81	6	45631289	45631363	3%	6%	14%	34%	59%	20%	74%	2.29	5.52	13.60	23.49	8.10	29.57
SC82	6	10421453	10421550	3%	6%	14%	28%	68%	23%	50%	2.12	4.84	9.60	23.21	7.79	17.17
SC83	11	20627327	20627367	3%	5%	15%	16%	74%	11%	43%	1.49	4.59	5.07	23.06	3.31	13.58
SC84	9	37030436	37030506	3%	4%	9%	11%	71%	7%	24%	1.33	2.87	3.44	22.93	2.40	7.84
SC85	3	138658429	138658507	2%	5%	15%	35%	43%	23%	52%	2.49	8.08	18.45	22.68	12.15	27.67
SC86	7	8482447	8482526	3%	6%	22%	35%	70%	17%	55%	1.84	7.01	11.06	22.36	5.51	17.36
SC87	7	157478020	157478086	4%	6%	19%	28%	80%	17%	63%	1.53	5.18	7.78	22.02	4.63	17.28
SC88	1	149672622	149672714	2%	4%	12%	20%	50%	19%	33%	1.78	5.42	8.91	21.77	8.39	14.44
SC89	9	96588741	96588774	4%	5%	23%	24%	76%	18%	60%	1.40	6.54	6.62	21.42	5.00	16.79
SC90	6	106429477	106429533	3%	6%	14%	25%	55%	17%	37%	2.21	5.42	9.91	21.29	6.62	14.36
SC91	9	96714225	96714363	3%	4%	14%	17%	58%	15%	20%	1.50	5.03	6.36	21.29	5.43	7.33
SC92	17	35300086	35300164	3%	6%	23%	44%	67%	23%	66%	1.90	7.45	13.87	21.26	7.40	20.98
SC93	15	89914568	89914681	3%	4%	9%	15%	70%	26%	25%	1.31	2.63	4.57	20.96	7.72	7.48
SC94	11	31827697	31827758	3%	4%	10%	39%	68%	21%	16%	1.29	2.95	11.78	20.63	6.35	4.88
SC95	2	239140132	239140170	3%	5%	19%	21%	57%	11%	26%	1.73	6.70	7.55	20.48	4.03	9.37
SC96	2	177001697	177001736	3%	5%	21%	34%	60%	29%	67%	1.62	6.93	11.53	20.37	9.82	22.55
SC97	2	175193478	175193572	3%	5%	7%	18%	59%	25%	32%	1.64	2.40	6.03	20.11	8.41	10.89
SC98	2	176931886	176931980	4%	6%	24%	32%	75%	36%	66%	1.63	6.52	8.48	20.07	9.48	17.58

도면3ah

소재로 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	전사체	기타	엑손에서	Tss 거리	CpG 성에서	Entrez ID	유전자 표제
SC78	11	KCNE3	NM_005472	-	0	295	1	10008	칼륨 전압-게이팅 통로, Isk-관련 패밀리, 구성원 3
SC79	1	DMRTA2	NM_032110	-	1	3974	1	63950	DMRT-유사 패밀리 A2
SC80	3	MAX.Chr3.138659030-138659082	-	-	0	-	1	-	-
SC81	6	MAX.chr6.45631289-45631363	-	-	0	-	1	-	-
SC82	6	TFAP2A	NM_001042425	-	0	-1656	1	7020	전사 인자 AP-2 알파 (활성화 인핸서 결합 단백질 2 알파)
SC83	11	SLC6A5	NM_004211	+	0	6382	0	9152	용질 운반체 패밀리 6 (신경전달물질 전달체, 글리신), 구성원 5
SC84	9	PAX5	NM_016734	-	0	4040	0	5079	페어드 박스 5
SC85	3	MAX.chr3.138658429-138658507	-	-	0	-	1	-	-
SC86	7	NXP1	NM_152745	+	0	8863	1	30010	뉴핵소필린 1
SC87	7	PTPRN2	NM_130842;NM_002847;NM_130843	-	0	902462;902462;902462	1	5799	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, N 폴리펩티드 2
SC88	1	MAX.chr1.149672622-149672714	-	-	0	-	1	-	-
SC89	9	MAX.chr9.96588741-96588774	-	-	0	-	1	-	-
SC90	6	MAX.Chr6.106429477-106429533	-	-	0	-	1	-	-
SC91	9	BARX1	NM_021570	-	1	3383	1	56033	BARX 호메오박스 1
SC92	17	LHX1	NM_005568	+	1	5315	1	3975	LIM 호메오박스 1
SC93	15	MAX.chr15.89914568-89914681	-	-	0	-	1	-	-
SC94	11	PAX6	NM_000280;NM_001604;NM_001127612	-	0	5182;5182;11812	1	5080	페어드 박스 6
SC95	2	LOC151174	NR_026926;NR_026925	-	1	186;186	1	151174	가설 LOC151174
SC96	2	MAX.Chr2.177001697-177001736	-	-	0	-	1	-	-
SC97	2	MAX.chr2.175193478-175193572	-	-	0	-	1	-	-
SC98	2	MAX.chr2.176931886-176931980	-	-	0	-	1	-	-

도면3ai

소재로 마커 영역 참조번호	염색체	시작 위치	종지 위치	평균 BC 성	평균 BC 성, 성	평균 신장중 배 성	평균 대체도 배 성	평균 대체도 배 성	평균 대체도 배 성	평균 신장중 배 성	평균 신장중 배 성	평균 신장중 배 성	평균 신장중 배 성	평균 신장중 배 성	평균 신장중 배 성	평균 신장중 배 성	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC99	14	60952634	60952756	3%	5%	14%	20%	57%	15%	59%	1.90	4.95	7.09	20.00	5.23	20.49						
SC100	11	14926627	14926716	1%	1%	5%	16%	62%	16%	11%	1.78	10.57	30.66	119.53	31.77	21.41						
SC101	2	66666637	66666685	1%	7%	32%	35%	66%	28%	67%	5.39	24.98	27.27	51.35	22.00	51.95						
SC102	1	6269157	6269209	1%	7%	26%	22%	61%	23%	61%	5.21	19.42	15.89	45.08	17.31	44.99						
SC103	17	72353079	72353146	2%	3%	20%	32%	84%	10%	74%	1.79	10.73	17.31	44.61	5.54	39.28						
SC104	1	39980533	39980614	2%	6%	18%	13%	68%	13%	77%	3.63	10.23	7.34	39.03	7.64	44.50						
SC105	10	8097914	8097973	1%	5%	19%	31%	54%	21%	52%	3.35	12.62	20.86	36.48	14.17	35.54						
SC106	17	27038627	27038718	1%	1%	6%	4%	23%	6%	12%	1.91	8.68	5.96	35.81	9.42	17.97						
SC107	9	972186	972250	3%	5%	10%	31%	63%	14%	39%	1.89	3.69	11.26	22.88	4.95	14.22						
SC108	8	76316557	76316616	2%	4%	16%	17%	42%	19%	48%	1.88	8.48	8.63	22.16	9.85	25.03						
SC109	4	155663905	155663938	2%	4%	21%	28%	32%	13%	31%	2.76	13.76	18.57	21.03	8.54	20.27						
SC110	17	27940477	27940568	0%	1%	5%	9%	59%	22%	25%	3.44	21.98	34.20	238.86	87.68	99.96						
SC111	1	2165761	2165877	1%	2%	14%	17%	58%	9%	21%	3.72	23.15	27.86	92.49	13.90	33.78						
SC112	10	94822422	94822464	1%	8%	11%	30%	63%	19%	54%	5.15	7.55	20.17	42.86	13.14	37.12						
SC113	19	31842678	31842822	1%	2%	10%	17%	27%	7%	9%	2.58	10.59	19.10	30.03	7.96	9.88						
SC114	12	54812201	54812346	1%	3%	14%	15%	28%	8%	13%	2.51	13.59	13.91	26.63	7.20	12.05						
SC115	1	110626702	110626798	0%	2%	12%	17%	59%	11%	48%	5.10	25.49	36.85	129.67	24.94	105.67						
SC116	14	65007294	65007341	0%	0%	0%	3%	31%	3%	45%	0.68	0.87	8.06	84.42	7.09	121.70						
SC117	12	104609954	104610035	1%	3%	2%	19%	68%	10%	23%	5.01	3.26	30.04	104.45	14.99	35.53						
SC118	2	97193509	97193639	1%	1%	14%	7%	16%	13%	16%	2.04	26.57	14.00	30.21	23.54	29.84						
SC119	22	19754481	19754550	0%	6%	18%	24%	48%	33%	46%	16.82	56.38	72.02	146.30	101.74	140.35						
SC120	7	121950506	121950608	1%	1%	8%	11%	44%	15%	35%	0.98	5.54	7.95	30.55	10.22	24.53						
SC121	19	17791129	17791220	0%	0%	2%	1%	53%	1%	15%	1.35	4.63	4.30	158.54	2.85	45.50						
SC122	22	28198280	28198349	0%	1%	4%	3%	22%	3%	16%	2.42	11.11	8.66	64.31	7.42	45.69						
SC123	2	97193166	97193253	0%	1%	13%	8%	18%	12%	21%	1.71	42.20	25.79	55.43	37.48	67.24						

도면3aj

스케도 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 영역에서	Entrez ID	유전자 표현
SC99	14	C14orf39	NM_174978	-	0	130	1	317761	염색체 14 개방 해독물 39
SC100	11	MAX chr11.14926627-14926716	-	-	0	-	1	-	-
SC101	2	MEIS1	NM_002398	+	0	4106	0	4211	Meis 호메오박스 1
SC102	1	RNF207	NM_207396	+	0	2969	1	388591	링 핑거 단백질 207
SC103	17	BTBD17	NM_001080466	-	1	4879	1	388419	BTB (POZ) 도메인 내포 17
SC104	1	BMP8A	NM_181809	+	0	23216	1	353500	백 합성 단백질 8a
SC105	10	FLJ45983	NR_024255;NR_024256	-	0	-2467;-2467	1	399717	가설 LOC399717
SC106	17	PROCA1	NM_152465	-	1	245	1	147011	사이클린과 상호작용하는 단백질 A1
SC107	9	DMRT3	NM_021240	+	0	-4777	1	58524	이종성별 및 mab-3 관련 전사 인자 3
SC108	8	MAX chr8.76316557-76316616	-	-	0	-	0	-	-
SC109	4	LRAT	NM_004744	+	0	-1257	1	9227	레시틴 레티놀 아실전달효소 (포스포티달콜린-레티놀 O-아실전달효소)
SC110	17	ANKRD138	NM_152345	+	1	19951	1	124930	안키린 반복 도메인 138
SC111	1	SKI	NM_003036	+	0	5628	0	6497	v-ski 육종 바이러스 종양유전자 동족체 (조류)
SC112	10	CYP26C1	NM_183374	+	0	1402	1	340665	시토크롬 P450, 펄라리 26, 서브패밀리 C, 폴리펩티드 1
SC113	19	TSHZ3	NM_020856	-	0	-2488	1	57616	티어츠 아연 핑거 호메오박스 3
SC114	12	ITGA5	NM_002205	-	0	849	1	3678	인테그린, 알파 5 (섬유 결합소 수용체, 알파 폴리펩티드)
SC115	1	MAX chr1.110626702-110626798	-	-	0	-	1	-	-
SC116	14	HSPA2	NM_021979	+	1	109	1	3306	열 충격 70kDa 단백질 2
SC117	12	TXNRD1	NM_001093771	+	0	396	1	7296	티오록신 환원효소 1
SC118	2	MAX Chr2.97193509-97193639	-	-	0	-	0	-	-
SC119	22	TBX1	NM_005992;NM_080647;NM_080646	+	1	10256;10256;10256	1	6899	T-박스 1
SC120	7	MAX chr7.121950506-121950608	-	-	0	-	1	-	-
SC121	19	UNC13A	NM_001080421	-	0	7879	1	23025	unc-13 동족체 A (예쁜꼬마선충(C. elegans))
SC122	22	MN1	NM_002430	-	0	-794	1	4330	수막종 (균형 전위자 불균형) 1
SC123	2	MAX Chr2.97193166-97193253	-	-	0	-	1	-	-

도면3ak

수출품 마커 명목 참조번호	연속체	시작 위치	종지 위치	평균 BC점	평균 백점상 점	평균 신장중백점	평균 대체포 백점	평균 신세포 백점	평균 몸상포 백점	평균 규정치치 영은 영 백점		장상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC124	6	1620240	1620379	1%	6%	4%	10%	45%	21%	12%	4.88	2.92	8.66	36.89	17.72	10.09	
SC125	6	27064644	27064775	1%	3%	11%	11%	38%	6%	23%	2.23	7.75	7.75	25.78	4.29	15.70	
SC126	8	145013661	145013775	0%	0%	26%	6%	32%	2%	10%	5.69	361.21	80.01	444.31	30.71	144.38	
SC127	14	101033514	101033620	0%	2%	18%	7%	40%	5%	14%	4.29	36.37	14.15	82.74	10.45	29.35	
SC128	1	32237893	32237998	1%	2%	19%	29%	52%	10%	27%	2.51	24.19	36.61	65.03	12.62	34.40	
SC129	17	58217191	58217358	1%	1%	6%	9%	30%	1%	20%	1.26	5.55	8.49	27.20	1.31	18.28	
SC130	17	72350351	72350446	2%	2%	10%	8%	54%	11%	21%	1.36	5.77	4.55	31.81	6.33	12.32	
SC131	19	46380017	46380063	1%	2%	7%	13%	43%	8%	20%	2.99	8.59	17.60	57.01	10.67	26.25	
SC132	2	118982155	118982248	2%	6%	24%	41%	60%	34%	51%	2.62	11.31	19.18	28.19	15.99	23.95	
SC133	2	85361426	85361486	2%	3%	6%	9%	42%	15%	22%	1.26	3.07	4.62	20.61	7.25	10.58	
SC134	9	131007357	131007440	1%	2%	7%	10%	20%	5%	11%	1.66	7.04	9.96	20.01	5.36	11.03	
SC135	9	35675856	35675991	1%	1%	9%	10%	23%	7%	23%	1.38	11.08	12.62	28.05	8.69	28.17	
SC136	8	124173236	124173386	0%	1%	11%	15%	49%	14%	29%	7.50	63.79	86.89	276.90	78.49	166.63	
SC137	8	108509567	108509637	1%	1%	14%	3%	62%	7%	58%	1.01	15.24	3.44	67.53	8.05	63.61	
SC138	8	72754380	72754425	1%	6%	31%	30%	74%	31%	62%	4.73	24.20	23.17	57.79	24.17	48.85	
SC139	9	123631470	123631561	0%	1%	0%	2%	37%	2%	6%	1.90	1.41	6.49	124.61	6.16	20.92	
SC140	12	57618791	57618831	2%	4%	21%	37%	76%	30%	61%	2.91	13.94	23.92	50.79	19.55	39.93	
SC141	19	17958807	17958893	0%	3%	10%	10%	22%	9%	14%	42.72	161.42	159.54	345.13	136.09	214.13	
SC142	2	43451713	43451822	0%	2%	4%	11%	61%	9%	14%	8.52	18.71	44.66	258.11	38.21	56.72	
SC143	12	1906517	1906559	0%	1%	0%	6%	27%	1%	7%	7.16	3.35	49.38	217.21	10.98	54.50	
SC144	9	21965528	21965573	1%	1%	2%	11%	75%	13%	27%	1.65	2.60	13.05	89.72	16.03	31.66	
SC145	10	94822844	94822576	1%	5%	8%	22%	58%	16%	31%	4.97	7.48	20.48	53.91	15.39	29.40	
SC146	19	39993535	39993600	1%	2%	8%	10%	76%	9%	43%	1.71	5.62	6.73	53.20	5.98	29.81	
SC147	6	163837552	163837584	1%	1%	1%	1%	37%	1%	2%	0.73	0.85	1.06	47.13	0.91	2.76	

도면 3a1

소재포 마커 명 항상번호	염색체	유전자	진사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 영역서	Entrez ID	유전자 표제
SC124	6	MAX.chr6.1620240-1620379	-	-	0	-	1	-	-
SC125	6	MAX.chr6.27064644-27064775	-	-	0	-	1	-	-
SC126	8	PLEC	NM_201381 NM_201383;NM_0004 45;NM_201378;NM_201380;NM_20 1384;NM_201382;NM_201379	-	1	5244;3031;37252;3403 6,11383;97;4449;14427	0	5339	콜렉틴
SC127	14	BEGAIN	NM_001159531 ;NM_020836	-	0	893;2617	0	57596	뇌-농축된 구아닐레이트 키나아제 연관 통독제 (위)
SC128	1	MAX.chr1.32237893-32237998	-	-	0	-	1	-	-
SC129	17	MAX.chr17.58217191-58217358	-	-	0	-	1	-	-
SC130	17	KIF19	NM_153209	+	1	28001	1	124602	키네신 패밀리 구성원 19
SC131	19	MAX.chr19.46380017-46380063	-	-	0	-	1	-	-
SC132	2	MAX.chr2.118982155-118982248	-	-	0	-	1	-	-
SC133	2	TCF7L1	NM_031283	+	0	844	1	83439	전사 인자 7-유사 1 (T-세포 특이적, HMG-박스)
SC134	9	DNM1	NM_001005336;NM_004408	+	0	41695;41695	0	1759	디나민 1
SC135	9	CA9	NM_001216	+	1	1942	1	768	탄산 탈수효소 IX
SC136	8	MAX.chr8.124173236-124173386	-	-	0	-	1	-	-
SC137	8	ANGPT1	NM_001146;NM_001199859	-	1	687;687	0	284	안지오텐노젠 1
SC138	8	LOC100132891	NR_033651 ;NR_033652	+	1	-1970;-977	1	100132891	가설 LOC100132891
SC139	9	PHF19	NM_015651	-	1	8136	1	26147	PHD 핑거 단백질 19
SC140	12	NXP4	NM_007224	+	1	8214	1	11247	뉴렉소필린 4
SC141	19	JAK3	NM_000215	-	1	34	1	3718	야누스 키나아제 3
SC142	2	LOC100129726	NR_027251	+	1	-2636	1	100129726	가설 LOC100129726
SC143	12	CACNA2D4	NM_172364	-	0	121353	1	93589	칼슘 통로, 전압 의존성, 알파 2/델타 아단위 4
SC144	9	C9orf53	NR_024274	+	0	-1609	1	51198	염색체 9 개방 해독물 53
SC145	10	CYP26C1	NM_183374	+	1	1464	1	340665	시토크롬 P450, 패밀리 26 서브패밀리 C, 콜리넵티드 1
SC146	19	DLL3	NM_016941 ;NM_203486	+	1	3979;3979	1	10683	델타-유사 3 (조파리(Drosophila))
SC147	6	LOC100526820	NR_037593	-	0	-2570	0	-	-

도면 3am

소재지 소재지명	연세월	시작 위치	종료 위치	평균 BC성	평균 배상성	평균 상환배상성	평균 대조배상성	평균 소세로배상성	평균 편향상환배상성	평균 규정되지 않은 연 배상성	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC148	6	108440646	108440760	1%	3%	23%	30%	56%	23%	29%	2.73	19.07	24.47	45.83	18.68	23.23
SC149	3	184099224	184099335	1%	4%	18%	10%	59%	26%	24%	2.97	13.39	7.63	43.10	19.14	17.55
SC150	14	92980747	92980787	2%	3%	3%	4%	50%	7%	17%	1.85	2.10	2.30	32.86	4.78	10.93
SC151	3	128201932	128202122	1%	7%	21%	18%	60%	22%	40%	4.99	15.77	13.22	44.94	16.26	29.75
SC152	11	518925	518978	0%	1%	1%	1%	28%	3%	7%	3.52	2.42	3.68	135.42	14.75	33.97
SC153	10	102497213	102497267	2%	4%	11%	23%	33%	19%	21%	2.47	6.79	14.51	20.88	12.23	13.18
SC154	20	61560692	61560749	0%	1%	6%	13%	62%	19%	28%	5.65	24.19	56.55	258.74	79.08	115.84
SC155	12	1906566	1906598	0%	2%	1%	7%	32%	1%	8%	8.47	4.68	33.66	163.92	7.51	38.65
SC156	19	15695457	15695579	1%	1%	3%	2%	41%	1%	40%	1.76	5.19	3.78	77.31	2.65	76.95
SC157	1	17215983	17216025	1%	2%	3%	13%	34%	11%	17%	1.88	3.55	15.12	38.96	12.50	19.16
SC158	5	10565409	10565490	1%	2%	24%	22%	50%	7%	31%	1.84	17.95	16.36	37.52	5.45	23.84
SC159	17	72353261	72353424	2%	4%	13%	24%	58%	9%	59%	2.30	7.21	13.50	32.83	5.34	33.27
SC160	5	72732853	72732891	0%	3%	7%	12%	43%	9%	44%	8.51	21.79	35.57	125.15	26.22	126.95
SC161	17	37856733	37856801	2%	1%	2%	1%	67%	2%	17%	0.76	1.07	0.73	41.58	0.98	10.58
SC162	2	26407721	26407876	0%	1%	2%	11%	47%	18%	16%	2.39	8.36	36.01	160.15	60.97	56.07
SC163	19	13950008	13950055	1%	0%	6%	4%	40%	7%	21%	0.28	8.91	6.93	63.59	10.57	33.61
SC164	1	203236695	203236828	0%	0%	1%	2%	11%	3%	2%	0.95	1.76	6.71	35.95	8.17	6.07
SC165	16	70771681	70771770	1%	3%	17%	18%	53%	17%	28%	4.46	24.22	25.13	76.49	23.80	39.51
SC166	12	58021623	58021670	1%	7%	16%	30%	68%	27%	26%	5.02	11.65	22.46	50.71	20.53	19.86
SC167	16	54971076	54971118	2%	5%	7%	19%	62%	27%	27%	2.10	2.81	7.63	25.26	10.87	11.48
SC168	14	38724686	38724772	2%	4%	22%	23%	44%	18%	28%	1.89	11.29	11.83	22.26	9.16	14.44
SC169	17	72462912	72462993	2%	8%	31%	36%	50%	18%	23%	3.54	12.93	15.09	20.99	7.48	9.74

도면 3an

식세포 마커 발현 염색체 번호	염색체	유전자	진사체	가닥	염색에서	Tss 거리	CpG 상에서	Entrez ID	유전자 표제
SC148	6	MAX.chr6.108440646-108440760	-	-	0	-	1	-	-
SC149	3	CHRD	NM_003741	+	0	1364	1	8646	조르딘
SC150	14	RIN3	NM_024832	+	0	623	1	79890	Ras 및 Rab 상호작용자 3
SC151	3	GATA2	NM_001145662;NM_032638;NM_01145661	-	0	4832;10098;5441	0	2624	GATA 결합 단백질 2
SC152	11	MAX.chr11.518925-518978	-	-	0	-	1	-	-
SC153	10	MAX.chr10.102497213-102497267	-	-	0	-	1	-	-
SC154	20	DIDO1	NM_033081 NM_001193369;NM_022105;NM_080797;NM_001193370; NM_080796	-	0	8612;-2789;8612;8612;2789;-2789	1	11083	사망 유도자-말살자 1
SC155	12	CACNA2D4	NM_172364	-	0	121304	1	93589	칼슘 통로, 전압 의존성, 알파 2/델타 아단위 4
SC156	19	MAX.chr19.15695457-15695579	-	-	0	-	1	-	-
SC157	1	MAX.chr1.17215983-17216025	-	-	0	-	1	-	-
SC158	5	ANKRD33B	NM_001164440	+	0	975	1	651746	안키린 반복 도메인 33B
SC159	17	8TBD17	NM_001080466	-	1	4697	1	388419	8TB (POZ) 도메인 내포 17
SC160	5	MAX.Chr5.72732853-72732891	-	-	0	-	1	-	-
SC161	17	ERBB2	NM_001005862;NM_004448	+	0	12341,480	1	2064	erb-b2 적혈모구 백혈병 바이러스 종양유전자 동족체 신장/교모세포종 유래된 종양유전자 동족체 (조류)
SC162	2	FAM59B	NM_001191033;NM_001168241	+	1	4137;11762	1	150946	서열 유사성을 갖는 패밀리 59 구성원 B
SC163	19	LOC284454	NR_036515	-	0	-2905	0	284454	가설 LOC284454
SC164	1	MAX.chr1.203236695-203236828	-	-	0	-	0	-	-
SC165	16	VAC 14	NM_018052	-	0	63380	0	55697	Vac14 동족체 (사카로미세스 세레비지애(S. cerevisiae))
SC166	12	B4GALNT1	NM_001478	-	1	5362	1	2583	베타-1,4-N-아세틸-갈락토사미달 전달효소 1
SC167	16	MAX.chr16.54971076-54971118	-	-	0	-	1	-	-
SC168	14	CLEC14A	NM_175060	-	1	888	1	161198	C-유형 렉틴 도메인 패밀리 14 구성원 A
SC169	17	CD300A	NM_007261	+	0	391	0	11314	CD300a 분자

도면3a0

수출포 마크 영역 참조번호	일련제	시작 위치	종지 위치	평균 BC.점	평균 백.점상, 점	평균 신암점 백.점	평균 대세 포 백.점	평균 소재포 백.점	평균 편암상, 포 백.점	평균 규정치 상은 암 백.점	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC170	6	137809402	137809447	3%	6%	15%	26%	52%	17%	30%	2.25	5.60	9.81	20.00	6.36	11.62
SC171	1	2165937	2166058	0%	0%	12%	17%	64%	6%	16%	1.37	45.20	63.35	232.04	20.22	59.05
SC172	5	1295194	1295314	0%	1%	8%	12%	26%	2%	14%	3.69	41.84	62.47	142.53	9.07	77.02
SC173	2	162275438	162275474	1%	3%	10%	14%	48%	9%	36%	5.70	18.84	25.90	90.26	17.46	68.42
SC174	10	101290842	101290919	1%	4%	15%	18%	36%	14%	23%	4.38	16.87	19.48	38.83	15.36	24.73
SC175	1	234812135	234812224	1%	2%	10%	6%	29%	5%	28%	1.88	11.68	7.82	35.70	5.65	34.50
SC176	11	19263923	19264036	3%	5%	7%	20%	60%	25%	17%	1.74	2.61	7.65	22.68	9.43	6.62
SC177	9	140172812	140172891	1%	3%	15%	19%	59%	14%	22%	3.41	18.18	22.23	69.29	17.02	25.45
SC178	5	10565521	10565594	2%	4%	19%	22%	58%	10%	25%	2.38	12.25	14.08	37.71	6.27	15.94
SC179	4	185089599	185089691	1%	1%	1%	3%	21%	2%	13%	0.84	1.68	4.37	28.95	2.54	18.51
SC180	16	54970281	54970313	2%	6%	8%	18%	62%	27%	23%	2.59	3.50	8.08	27.15	11.87	9.87
SC181	17	66596248	66596303	1%	3%	3%	5%	29%	4%	14%	2.13	2.04	4.21	22.21	3.41	11.14
SC182	16	66462102	66462185	1%	5%	18%	10%	43%	10%	9%	4.54	17.45	9.65	41.88	10.12	8.33
SC183	1	32237619	32237654	1%	5%	32%	35%	60%	14%	28%	7.65	53.16	57.57	100.17	23.82	46.87
SC184	8	38614991	38615104	2%	2%	3%	5%	49%	2%	40%	1.28	1.74	3.01	29.81	1.51	24.22
SC185	9	100610931	100611004	2%	4%	17%	22%	47%	23%	37%	2.05	8.53	10.73	22.99	11.47	18.03
SC186	15	63795434	63795521	0%	3%	2%	9%	61%	14%	12%	7.47	4.71	19.91	136.24	30.85	26.64
SC187	9	79627082	79627152	1%	4%	9%	18%	64%	23%	69%	5.03	10.01	21.19	74.36	26.24	80.47
SC188	17	75315486	75315625	1%	1%	3%	4%	61%	4%	12%	0.78	2.49	2.99	50.04	3.41	10.03
SC189	2	43452148	43452243	0%	6%	8%	16%	70%	12%	23%	25.05	34.78	66.17	297.87	50.55	97.10
SC190	12	4382022	4382106	0%	1%	6%	5%	11%	1%	9%	16.03	84.94	83.33	170.21	19.51	137.90
SC191	22	42353835	42353881	0%	4%	2%	12%	70%	13%	30%	9.74	4.94	29.71	168.53	31.52	71.80
SC192	19	39993602	39993646	1%	1%	7%	9%	74%	8%	41%	1.30	6.55	8.24	66.85	6.94	37.03

도면 3ap

숙세포 내의 발현 장소	염색체	유전자	진사체	가닥	염색에서	Tss 거리	CpG 영역서	Entrez ID	유전자 표제
SC170	6	MAX.chr6.137809402-137809447	-	-	0	-	1	-	-
SC171	1	SKI	NM_003036	+	0	5804	0	6497	v-ski 육종 바이러스 종양유전자 종속제 (조류)
SC172	5	TERT	NM_001193376;NM_198253	-	0	-32;-32	1	7015	텔로머라아제 역전사효소
SC173	2	TBR1	NM_006593	+	1	2820	1	10716	T-박스, 뇌, 1
SC174	10	NKX2-3	NM_145285	+	0	-1847	1	159296	NK2 전사 인자 관련, 좌위 3 (초파리(Drosophila))
SC175	1	MAX.chrl.234812135-234812224	-	-	0	-	0	-	-
SC176	11	E2F8	NM_024680	-	0	-1416	1	79733	E2F 전사 인자 8
SC177	9	C9orf167	NM_017723	+	0	533	1	54863	염색체 9 개방 해독물 167
SC178	5	ANKRD33B	NM_001164440	+	0	1087	1	651746	안키린 반복 도메인 33B
SC179	4	ENPP6	NM_153343	-	0	49515	0	133121	엑토뉴클레오티드 피로포스파타아제/포스토포에 테라아제 6
SC180	16	MAX.chr16.54970281-54970313	-	-	0	-	0	-	-
SC181	17	FAM20A	NM_017565	-	0	847	1	54757	서열 유사성을 갖는 패밀리 20 구성원 A
SC182	16	BEAN1	NM_001178020;NM_001197225; N_M_001136106;NM_001197224	+	0	1287;1287;1287;1287	1	146227	뇌 발현, NEDD4와 연관, 1
SC183	1	MAX.chrl.32237619-32237654	-	-	0	-	0	-	-
SC184	8	TACC1	NM_001146216	+	0	29288	1	6867	변환, 산성 이중 코일 내포 단백질 1
SC185	9	FOXO1	NM_004473	+	0	-4605	1	2304	포크헤드 박스 E1 (갑상선 전사 인자 2)
SC186	15	USP3	NM_006537	+	0	-1375	0	9960	유비퀴틴 특이적 펩티드분해효소 3
SC187	9	MAX.chr9.79627082-79627152	-	-	0	-	0	-	-
SC188	17	9-9 유전자 NM_006640;NM_001113492;NM_001113491	+	0	-110;31514;37995	0	10801	10801	선택 9
SC189	2	LOC100129726	NR_027251	+	1	-2201	1	100129726	가설 LOC100129726
SC190	12	CCND2	NM_001759	+	0	-879	1	894	사이클린 D2
SC191	22	LOC339674	NR_024355	+	1	5645	1	339674	가설 LOC339674
SC192	19	DLL3	NM_016941;NM_203486	+	1	4046;4046	1	10683	델타-유사 3 (초파리(Drosophila))

도면3aq

수색포 마크 영여 참조 번호	영역제	시작 위치	종지 위치	평균 BC.점	평균 배.점상. 점	평균 신임용 배.점	평균 대체포 배.점	평균 신세 포.배.점	평균 편향성/파 배.점	평균 규정되지 않은 영.배.점	정상/BC	Aid/BC	LC/BC	SC/BC	SO/BC	UND/BC
SC193	5	10333588	10333742	1%	1%	4%	6%	38%	5%	25%	1.25	5.09	8.20	51.82	6.55	34.37
SC194	14	24808727	24808770	1%	4%	3%	11%	32%	7%	8%	5.37	4.89	16.21	46.37	10.19	11.60
SC195	1	32237695	32237880	1%	3%	22%	25%	44%	10%	14%	2.78	22.43	25.97	45.37	10.13	14.59
SC196	14	95234712	95234849	2%	4%	8%	18%	43%	8%	27%	2.56	5.27	11.66	27.79	5.40	17.45
SC197	19	14667596	14667671	0%	1%	1%	1%	24%	5%	5%	1.51	2.28	3.41	60.37	13.55	13.44
SC198	15	28352738	28352817	1%	5%	12%	21%	58%	11%	21%	3.25	8.34	14.55	40.37	7.29	14.34
SC199	16	10480178	10480238	0%	1%	2%	4%	19%	3%	28%	6.60	11.96	26.48	116.02	15.18	166.59
SC200	22	19742789	19742857	2%	5%	10%	14%	47%	17%	13%	2.51	5.00	7.01	24.29	8.86	6.63
SC201	5	42995328	42995393	0%	4%	12%	28%	50%	30%	55%	24.55	77.50	185.42	325.38	198.95	362.13
SC202	5	42993267	42993312	0%	6%	15%	22%	45%	18%	55%	20.06	48.10	71.60	147.07	59.74	178.70
SC203	12	58021483	58021536	1%	8%	12%	26%	69%	17%	29%	11.91	18.78	39.87	106.60	27.11	44.27
SC204	12	25055873	25055997	0%	1%	10%	22%	29%	12%	40%	4.32	36.00	77.51	103.02	44.17	140.87
SC205	2	43451937	43452012	1%	4%	5%	8%	57%	9%	13%	5.93	7.65	11.58	84.17	13.31	19.60
SC206	6	16201222	1620172	1%	7%	6%	15%	72%	41%	31%	5.87	5.36	12.51	60.18	34.60	25.88
SC207	9	37037883	37037949	1%	6%	17%	14%	66%	5%	56%	3.77	11.52	9.77	44.81	3.27	38.35
SC208	5	10333749	10333885	1%	1%	2%	6%	43%	6%	23%	1.04	1.70	5.02	36.10	5.17	18.80
SC209	8	55367295	55367420	1%	3%	10%	21%	39%	10%	42%	3.21	9.56	19.77	35.89	9.58	38.62
SC210	2	100721771	100721847	1%	1%	4%	6%	26%	1%	5%	1.18	4.71	7.92	33.23	1.92	6.91
SC211	13	53313456	53313530	1%	5%	16%	24%	46%	9%	47%	3.27	10.97	16.69	31.99	6.61	32.97
SC212	2	95401460	95401490	2%	5%	25%	30%	53%	30%	59%	3.06	14.07	17.04	30.20	16.81	33.42
SC213	2	177017228	177017277	2%	5%	21%	16%	46%	26%	16%	3.06	12.85	10.12	28.49	16.05	9.69
SC214	5	10333423	10333478	2%	6%	11%	25%	48%	15%	30%	2.97	5.20	11.92	22.61	7.11	14.28
SC215	9	139024776	139024933	2%	4%	12%	15%	48%	5%	32%	1.71	5.77	6.96	22.15	2.28	14.73
SC216	15	68125482	68125550	1%	4%	15%	20%	52%	17%	26%	3.44	13.77	18.50	47.09	15.83	23.80
SC217	17	72352858	72352916	2%	4%	9%	14%	52%	7%	42%	1.79	4.18	6.40	23.41	3.14	18.99

도면3ar

스케도 마커 영역 좌표번호	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 영역서	Entrez ID	유전자 표제
SC193	5	MAX.chr5.10333588-10333742	-		0	-	1	-	-
SC194	14	ADCY4	NM_139247;NM_001198592;NM_001198568		1	-4450;-4450;-4450	1	196883	아데닐산 시클라아제 4
SC195	1	MAX.Chr1.32237695-32237880	-		0	-	0	-	-
SC196	14	GSC	NM_173849		1	1787	1	145258	구스코이드 호메오박스
SC197	19	TECR	NM_138501	+	0	27215	0	9524	트랜스-2,3-에노일-CoA 환원효소
SC198	15	MAX.chrf.5.28352738-28352817	-		0	-	1	-	-
SC199	16	MAX.chr16.10480178-10480238	-		0	-	1	-	-
SC200	22	TBX1	NM_005992;NM_080647;NM_080646	+	0	-1436;-1436;-1436	0	6899	T-박스 1
SC201	5	MAX.Chr5.42995328-42995393	-	-	0	-	1	-	-
SC202	5	MAX.chr5.42993267-42993312	-	-	0	-	0	-	-
SC203	12	B4GALNT1	NM_001478	-	1	5502	1	2583	베타-1,4-N-아세틸-갈락토사미닐 전달효소 1
SC204	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_001178094;NM_001178091;NM_001178093		0	46520;46520;-551;46520;136	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질
SC205	2	LOC100129726	NR_027251	+	1	-2412	1	100129726	가설 LOC100129726
SC206	6	MAX.Chr6.1620122-1620172	-	-	0	-	1	-	-
SC207	9	PAX5	NM_016734	-	0	-3407	1	5079	패어드 박스 5
SC208	5	MAX.chr5.10333749-10333885	-	-	0	-	1	-	-
SC209	8	SOX17	NM_022454	+	0	-3199	1	64321	SRY (성 결정 영역 Y)-박스 17
SC210	2	AFB3	NM_002285;NM_0010251_08	-	0	37266;274	0	3899	AF4/FMR2 패밀리, 구성원 3
SC211	13	LECT1	NM_007015;NM_001011705	-	0	491;491	1	11061	복합구 세포 유래된 케모카틴 1
SC212	2	MAX.Chr2.95401460-95401490	-	-	0	-	1	-	-
SC213	2	HOXD4	NM_014621	+	0	1116	0	3233	호메오박스 D4
SC214	5	MAX.chr5.10333423-10333478	-	-	0	-	1	-	-
SC215	9	MAX.chr9.1.39024776-139024933	-	-	0	-	1	-	-
SC216	15	SKOR1	NM_001031807	+	0	7542	0	390598	SKI 패밀리 전사 보조억제인자 1
SC217	17	BTBD17	NM_001080466	-	1	5100	1	388419	BTB (POZ) 도메인 내포 17

도면3as

스케도 마커 영역 좌표번호	염색체	시작 위치	종지 위치	평균 BC/성	평균 BC/성, 성	평균 신장/성	평균 대소변/성	평균 소변/성	평균 신장/성, 성	평균 신장/성, 성	평균 신장/성, 성	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC218	6	2903614	2903705	0%	1%	2%	13%	21%	2%	1%	1%	1.58	3.90	28.42	45.90	4.89	1.60
SC219	1	108506611	108506701	0%	1%	8%	10%	21%	4%	19%	6.54	35.25	44.05	91.51	18.41	82.35	
SC220	10	124910491	124910540	2%	4%	9%	32%	57%	15%	24%	2.62	5.68	19.94	35.80	9.12	15.29	
SC221	5	100240192	100240273	0%	5%	8%	11%	63%	13%	10%	41.36	62.03	86.85	479.51	95.95	77.29	
SC222	14	60976754	60976830	3%	6%	31%	26%	64%	28%	64%	2.07	10.76	9.12	22.28	9.82	22.57	
SC223	1	221052041	221052157	1%	5%	11%	27%	39%	5%	29%	7.04	15.55	37.83	54.48	7.03	40.64	
SC224	12	25055634	25055804	1%	3%	14%	27%	30%	17%	50%	5.65	23.18	44.87	51.11	28.60	83.14	
SC225	12	4140345	4140422	0%	1%	2%	3%	11%	1%	4%	2.43	6.24	9.50	39.21	4.13	15.23	
SC226	1	47698051	47698082	1%	4%	24%	18%	51%	16%	48%	4.25	22.37	17.39	47.95	15.43	45.65	
SC227	2	30453799	30453967	0%	2%	15%	17%	21%	7%	22%	7.67	47.98	55.02	69.82	24.31	72.43	
SC228	2	26408004	26408041	1%	2%	3%	9%	44%	15%	17%	3.91	5.50	18.17	87.75	29.51	34.54	
SC229	4	8859253	8859363	0%	1%	4%	14%	14%	7%	18%	3.88	9.54	36.29	35.88	18.16	46.41	
SC230	10	52177880	52177955	0%	0%	1%	1%	35%	7%	7%	0.41	1.18	2.25	71.20	13.46	14.52	
SC231	8	99960542	99960654	1%	3%	10%	20%	44%	29%	24%	2.42	9.58	18.79	40.90	26.85	22.50	
SC232	12	25056183	25056246	1%	5%	19%	37%	54%	29%	64%	4.03	13.60	27.03	39.72	21.36	47.09	
SC233	14	85996211	85996331	1%	2%	6%	5%	46%	6%	37%	1.50	4.65	3.78	34.78	4.76	28.13	
SC234	14	78108294	78108420	1%	3%	2%	13%	42%	6%	25%	1.94	1.38	8.93	29.33	4.53	17.37	
SC235	6	26273748	26273836	2%	3%	4%	28%	39%	9%	34%	1.84	2.40	17.99	25.11	5.70	22.17	
SC236	17	72209156	72209196	0%	1%	1%	3%	27%	1%	9%	2.15	1.82	7.56	73.90	3.66	25.72	
SC237	6	137809670	137809791	2%	4%	11%	18%	44%	10%	18%	1.83	5.96	9.48	22.78	5.22	9.41	
SC238	6	28175437	28175586	1%	2%	7%	16%	23%	6%	14%	3.23	9.57	21.74	31.93	8.81	19.25	

도면3at

수세표 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	진사제	기타	엑손에서	Tss 거리	CpG 상에서	Entrez ID	유전자 표현
SC218	6	SERPINB9	NM_004155	-	0	-69	1	5272	세르핀 캅티드분해효소 저해제, 분기군 B (난백알부민), 구성원 9
SC219	1	VAV3	NM_006113	-	0	934	0	10451	vav 3 구아닌 뉴클레오타이드 교환 인자
SC220	10	BUB3	NM_001007793;NM_004725	+	0	-3268;-3268	1	9184	벤즈이미다졸에 의해 제약을 받지 않는 발아 3 동족제 (호모)
SC221	5	ST8SIA4	NM_005668;NM_175052	-	0	-1205;-1222	0	7903	ST8 알파-N-아세틸-뉴라미나이드 알파-2,8-시알릴전달효소 4
SC222	14	SIX6	NM_007374	+	0	817	1	4990	SIX 호메오박스 6
SC223	1	HLX	NM_021958	+	0	-701	1	3142	H2O-유사 호메오박스
SC224	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_01178094;NM_001178091;NM_001178093	-	0	46759;46759;-312;46759;375	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질
SC225	12	M AX.chr12.4140345-4140422	-	-	0	-	0	-	-
SC226	1	TAL1	NM_003189	-	0	-2608	1	6886	T-세포 급성 림프성 백혈병 1
SC227	2	LBH	NM_030915	+	0	-597	1	81606	지아 및 심장 발달 동족제 (생쥐)
SC228	2	FAM59B	NM_001191033;NM_001168241	+	1	4420;12045	1	150946	서열 유사성을 갖는 패밀리 59, 구성원 B
SC229	4	MAX.chr4.8859253-8859363	-	-	0	-	1	-	-
SC230	10	SGMS1	NM_147156	-	0	205857	1	259230	스핑고미엘린 신타아제 1
SC231	8	OSR2	NM_001142462;NM_053001	+	0	3912;3912	1	116039	오드 스킵드 관련인 2 (조파리(Drosophila))
SC232	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_01178094;NM_001178091;NM_001178093	-	0	46210;46210;- 861;46210;-174	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질
SC233	14	FLRT2	NM_013231	+	0	-276	0	23768	섬유결합소 류신 풍부한 막경유 단백질 2
SC234	14	MAX.chr14.78108294-78108420	-	-	0	-	1	-	-
SC235	6	HIST1H3G	NM_003534	-	0	-2136	0	8355	히스톤 클러스터 1, H3g
SC236	17	MGC16275	NR_026914	-	1	304	0	85001	가설 단백질 MGC16275
SC237	6	MAX.chr6.137809670-137809791	-	-	0	-	1	-	-
SC238	6	MAX.chr6.28175437-28175586	-	-	0	-	1	-	-

도면3au

수세표 마커 영역 참조번호	염색체	시작 위치	종료 위치	평균 BC 점	평균 BC점상, 점	평균 신장중 점, 점	평균 대체로 점, 점	평균 수세표 점, 점	평균 관상피 점, 점	평균 구상피점 점, 점	점상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC239	4	175135937	175135997	2%	4%	5%	22%	35%	7%	37%	2.24	3.27	13.71	22.01	4.52	23.04
SC240	9	94444034	94444124	2%	7%	6%	17%	44%	14%	48%	3.20	2.74	8.49	21.68	6.85	23.33
SC241	11	19263815	19263912	2%	4%	5%	16%	54%	17%	13%	2.43	2.71	9.32	31.54	10.14	7.44
SC242	22	31481121	31481159	0%	1%	5%	9%	59%	6%	28%	2.63	15.70	26.55	170.11	15.93	81.64
SC243	6	27059752	27059869	0%	2%	4%	4%	38%	3%	40%	4.64	10.35	10.26	104.70	8.90	110.25
SC244	7	22539866	22539943	1%	1%	3%	3%	13%	5%	10%	1.05	4.46	5.80	20.78	8.83	16.46
SC245	11	518684	518729	0%	0%	0%	0%	24%	6%	3%	1.94	2.51	2.30	138.27	36.98	15.71
SC246	22	31481428	31481510	1%	2%	12%	10%	50%	6%	18%	1.46	8.29	6.87	34.17	4.41	12.41
SC247	17	48636503	48636608	1%	2%	3%	5%	21%	5%	6%	2.71	3.51	6.21	24.43	5.92	7.43
SC248	10	26727989	26728120	0%	2%	4%	6%	19%	2%	24%	11.37	28.27	43.79	139.11	15.00	180.22
SC249	7	2558594	2558664	1%	1%	6%	5%	47%	3%	16%	1.38	5.78	5.37	45.60	2.76	15.89
SC250	9	94444127	94444240	1%	3%	3%	14%	48%	12%	44%	2.41	2.74	12.60	43.62	10.94	39.33
SC251	17	37321144	37321212	0%	1%	2%	3%	16%	6%	4%	1.93	6.27	9.79	58.67	21.36	16.09
SC252	7	155302555	155302648	1%	2%	13%	16%	29%	11%	40%	2.09	12.76	16.09	29.56	10.56	39.78
SC253	1	156863477	156863554	1%	3%	24%	19%	32%	14%	13%	2.42	20.38	15.89	26.82	11.70	10.87
SC254	1	40236941	40237022	3%	5%	30%	35%	74%	22%	77%	1.58	9.71	11.35	24.36	7.07	25.14
SC255	2	200328930	200328964	2%	6%	13%	20%	42%	14%	45%	2.95	6.68	10.18	21.87	7.45	23.16
SC256	16	4422078	4422139	0%	0%	0%	0%	49%	1%	17%	2.62	1.65	2.25	369.94	8.01	131.13
SC257	19	13950379	13950468	1%	3%	9%	4%	37%	9%	16%	2.63	9.53	4.40	37.32	8.87	16.23
SC258	1	32410360	32410416	1%	0%	1%	2%	26%	8%	25%	0.49	2.33	3.19	48.05	14.55	45.91
SC259	17	58499109	58499183	0%	1%	1%	5%	35%	18%	8%	4.22	4.26	17.93	124.48	63.79	28.58

도면3av

소재포 마커 영역 참조 번호	염색체	유전자	진사채	가닥	엑손에서	Tss 거리	Cpg 영역서	Entrez ID	유전자 표현
SC239	4	MAX.chr4.175135937-175135997	-	-	0	-	0	-	-
SC240	9	MAX.chr9.94444034-94444124	-	-	0	-	0	-	-
SC241	11	E2F8	NM_024680	-	0	-1308	1	79733	E2F 전사 인자 8
SC242	22	SMTN	NM_134269;NM_006932;NM_134270	-	0	3817;3817;3817	1	6525	스무텔린
SC243	6	MAX.chr6.27059752-27059869	-	-	0	-	0	-	-
SC244	7	MGC87042	NM_207342;NM_001164460	-	1	35;35	1	256227	STEAP 패밀리 단백질 MGC87042
SC245	11	MAX.chrl.1518684-518729	-	-	0	-	1	-	-
SC246	22	SMTN	NM_134269;NM_006932;NM_134270	-	0	4124;4124;4124	0	6525	스무텔린
SC247	17	CACNA1G	NM_018896;NM_198376;NM_198387;NM_198388;NM_198378;NM_198389;NM_198385;NM_198397;NM_198386;NM_198383;NM_198377;NM_198379;NM_198396;NM_198382;NM_198384	-	0	-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;-1945;	1	8913	칼슘 통로, 결합 의존성, T 유형, 알파 1G 아단위
SC248	10	APB81P	NM_019043	-	0	724	1	54518	아미노이드 베타 (A4) 전구 단백질 결합, 패밀리 B, 구성원 1 상호작용 단백질
SC249	7	LFNG	NM_001040167;NM_001166355;NM_001040168;NM_002304	-	0	-884;6432;-884;1098	1	3955	LFNG O-푸코실레티드 3-베타-N-아세틸글루쿠오사민잔달호소
SC250	9	MAX.chr9.94444127-94444240	-	-	0	-	0	-	-
SC251	17	ARL5C	NM_001143968	-	0	1270	0	390790	ADP-리포살과 인자- 유사 5C
SC252	7	CNPY1	NM_001103176	-	0	23984	1	285888	카노피 1 동족제 (재브라피아)
SC253	1	PEAR1	NM_001080471	+/-	0	-45	1	375033	헬소산 내피 융접 수용체 1
SC254	1	BMP8B	NM_001720	-	1	17592	1	656	뼈 형성 단백질 8b
SC255	2	FLJ32063	NR_026830	+	0	-3890	1	150538	가설 LOC150538
SC256	16	CORO7	NM_024535	-	0	44561	1	79585	코로나인 7
SC257	19	LOC284454	NR_036515	-	0	-3276	0	284454	가설 LOC284454
SC258	1	MAX.chrl.32410360-32410416	-	-	0	-	1	-	-
SC259	17	C17orf64	NM_181707	-	0	-755	1	124773	염색체 17 개방 행동들 64

도면 3aW

수행부 소재지 소재지 소재지	영역별	시작 위치	종료 위치	평균 BC성	평균 BC성, 전	평균 BC성, 후	평균 BC성, 전	평균 BC성, 후	평균 BC성, 전	평균 BC성, 후	평균 BC성, 전	평균 BC성, 후	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC260	12	25102040	25102115	1%	1%	2%	7%	30%	6%	46%	0.98	1.54	6.05	24.87	5.12	37.73		
SC261	12	25101810	25101893	0%	0%	0%	6%	24%	4%	40%	1.38	1.62	25.21	97.73	16.47	163.70		
SC262	5	169064211	169064314	0%	1%	9%	15%	30%	2%	22%	3.71	29.12	46.14	93.41	5.35	71.09		
SC263	7	5635750	5635844	1%	4%	23%	13%	35%	5%	12%	3.30	18.65	10.10	28.57	3.82	9.54		
SC264	20	44746681	44746768	1%	2%	5%	6%	25%	3%	7%	1.71	5.43	6.36	26.47	3.23	6.91		
SC265	17	70216308	70216394	2%	4%	17%	25%	48%	16%	70%	1.74	8.10	12.23	23.33	7.58	34.05		
SC266	2	25439185	25439264	0%	1%	10%	11%	31%	3%	7%	2.31	25.89	26.41	77.49	6.89	18.37		
SC267	19	16022754	16022843	1%	3%	26%	23%	40%	19%	40%	2.77	20.59	18.27	32.36	15.43	32.48		
SC268	6	15755753	157557649	2%	3%	5%	25%	66%	16%	33%	1.63	2.76	12.83	34.25	8.20	17.06		
SC269	12	54812386	54812467	1%	2%	12%	16%	28%	9%	9%	1.67	11.36	14.63	26.03	8.59	8.08		
SC270	17	36204463	36204540	2%	4%	6%	12%	44%	9%	44%	2.57	3.62	7.26	25.84	5.35	26.21		
SC271	11	64108279	64108358	0%	4%	16%	16%	40%	9%	21%	13.17	51.71	50.68	128.96	27.78	69.11		
SC272	5	10563501	10563540	1%	4%	11%	20%	30%	3%	29%	4.01	11.13	19.49	30.32	2.98	28.82		
SC273	12	22486883	22487008	0%	1%	5%	11%	28%	12%	43%	5.71	19.90	40.52	108.42	47.79	164.13		
SC274	19	58238816	58238942	0%	1%	8%	15%	24%	17%	33%	8.09	94.63	175.66	277.57	203.93	390.90		
SC275	9	124132453	124132500	0%	0%	0%	0%	11%	0%	19%	0.40	1.95	2.34	49.53	1.58	87.46		
SC276	5	37834916	37835022	1%	5%	9%	28%	55%	37%	42%	4.35	7.78	25.11	49.26	33.19	37.95		
SC277	1	61519406	61519521	1%	3%	3%	9%	32%	10%	19%	4.49	4.18	12.66	46.99	13.78	28.13		
SC278	19	1467153	1467216	2%	4%	11%	25%	53%	15%	42%	2.08	5.76	12.88	26.95	7.57	21.46		
SC279	3	186648031	186648076	1%	1%	2%	4%	23%	6%	2%	1.18	2.18	3.54	22.27	5.47	1.72		

도면 3ax

식세포 마커 유전자 발현 점도 판독	염색체	유전자	전사체	기타	엑손에서	Tss 거리	CpG 성에서	Entrez ID	유전자 표제
SC260	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_01178091	-	1	353;353;353	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질
SC261	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_01178091	-	0	583;583;583	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질
SC262	5	DOCK2	NM_004946	+	0	-39	0	1794	세포질분열의 현신자 2
SC263	7	FSCN1	NM_003088	+	0	3297	0	6624	패신 동족체 1, 액틴-번들링 단백질 (보라성계(Strongylocentrotus purpuratus))
SC264	20	CD40	NM_001250;NM_152854	+	0	-224;-224	0	958	CD40 분자, TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 5
SC265	17	MAX.chrl 7.70216308-70216394	-	-	0	-	0	-	-
SC266	2	MAX.chr2.25439185-25439264	-	-	0	-	1	-	-
SC267	19	MAX.chrl 9.16022754-16022843	-	-	0	-	1	-	-
SC268	6	MAX.chr6.157557573-157557649	-	-	0	-	1	-	-
SC269	12	ITGA5	NM_002205	-	0	664	0	3678	인테그린, 알파 5 (섬유 결합소 수용체, 알파 폴립티드)
SC270	17	LOC284100	NR_024178		0	39900	0	284100	티로신 3-모노산소첨가효소/트립토판 5-모노산소첨가효소 활성화 단백질 열실론 폴립티드 위유전자
SC271	11	CCDC888	NM_032251	+	0	590	0	283234	이중 코일 도메인 내보 888
SC272	5	ANKRD33B	NM_001164440	+	0	-933	1	651746	안키린 반복 도메인 33B
SC273	12	ST8SIA1	NM_003034	-	0	765	1	6489	ST8 알파-N-아세틸-뉴라미노시드 알파-2,8-시알린 전달효소 1
SC274	19	ZNF671	NM_024833	-	1	179	1	79891	아연 핑거 단백질 671
SC275	9	STOM	NM_198194;NM_004099	-	1	92;92	1	2040	스트마린
SC276	5	GDNF	NM_001190469;NM_001190468;NM_000514;NM_199231	-	1	1013;1013;4866;677	1	2668	신경아교 세포 유래된 신경영양 인자
SC277	1	MAX.chrl 61519406-61519521	-	-	0	-	1	-	-
SC278	19	APC2	NM_005883	+	1	17006	1	10297	선종증 대장 폴립종 2
SC279	3	ST6GAL1	NM_173216;NM_173217	+	0	-283;-283	0	6480	ST6 베타-갈락토사미드 알파-2,6-시알린 트랜스퍼라제 1

도면3ay

	연령	성별	지역	직업	교육수준	소득수준	주택유형	자산유형	채무유형	보험유형	건강상태	가족구성	주요활동	주요관심사	주요문제	주요결과	주요비고	
SC280	8		65490049		65490112	2%	5%	6%	11%	49%	12%	38%	2.13	2.63	4.76	21.73	5.34	17.03
SC281	9		96713572		96713746	1%	2%	1%	6%	49%	9%	13%	1.43	1.30	5.34	45.71	8.18	12.40
SC282	1		110627121		110627221	1%	3%	7%	25%	39%	7%	33%	2.37	6.55	22.73	36.30	6.54	30.81
SC283	21		44494923		44494962	1%	4%	13%	10%	41%	12%	16%	3.28	10.92	8.29	34.30	9.61	13.41
SC284	17		47073394		47073480	1%	3%	12%	25%	31%	5%	30%	2.03	8.66	18.20	22.07	3.33	21.89
SC285	9		96715505		96715595	2%	5%	27%	26%	56%	22%	13%	2.12	12.92	12.09	26.40	10.29	6.21
SC286	1		61519679		61519759	0%	1%	2%	8%	31%	8%	13%	5.20	10.06	37.79	143.41	37.27	60.12
SC287	6		157557374		157557528	1%	1%	1%	11%	36%	9%	15%	2.32	2.11	18.24	61.73	15.37	26.63
SC288	1		214158912		214158969	1%	4%	20%	33%	50%	18%	46%	3.39	17.99	19.64	45.85	16.83	41.51
SC289	6		1624797		1624838	1%	5%	13%	9%	39%	13%	24%	4.95	13.39	9.22	38.66	12.89	24.01
SC290	6		99295996		99296069	2%	5%	12%	20%	54%	22%	18%	2.17	4.91	8.25	22.18	8.83	7.46
SC291	6		6004298		6004338	1%	5%	21%	40%	58%	34%	61%	7.31	33.74	64.23	93.83	54.50	99.42
SC292	2		73147720		73147790	1%	3%	24%	36%	50%	28%	59%	3.25	26.10	38.89	54.76	30.96	64.51
SC293	1		248020671		248020722	1%	4%	31%	40%	63%	33%	63%	3.31	23.46	30.04	47.26	24.66	47.74
SC294	17		43339354		43339495	1%	1%	5%	15%	39%	17%	18%	0.97	6.27	17.23	44.90	19.79	20.18
SC295	13		53421299		53421350	2%	6%	30%	32%	64%	24%	65%	3.20	16.30	17.38	34.40	12.80	34.96
SC296	2		73147853		73147982	1%	5%	23%	30%	41%	25%	57%	3.39	16.03	20.50	28.49	17.46	39.34
SC297	6		137244467		137244587	3%	6%	16%	23%	55%	22%	55%	2.34	6.29	9.20	21.68	8.65	21.76
SC298	1		208132590		208132681	1%	7%	11%	33%	58%	30%	46%	6.30	9.55	28.98	51.43	26.34	41.25
SC299	5		37834716		37834762	2%	4%	16%	25%	51%	36%	36%	2.51	9.42	14.77	30.36	21.39	21.50
SC300	19		10406234		10406282	1%	4%	6%	17%	42%	16%	44%	6.91	11.83	31.08	76.40	29.79	80.36
SC301	9		96715384		96715473	1%	3%	19%	19%	53%	19%	8%	2.78	16.47	17.08	47.26	17.24	6.84
SC302	20		21493456		21493605	1%	3%	13%	19%	48%	6%	16%	2.82	10.65	15.29	39.13	4.59	13.02
SC303	1		61519535		61519667	0%	1%	2%	9%	35%	8%	17%	2.03	3.47	17.98	71.29	15.47	34.29
SC304	19		48983840		48983937	1%	4%	16%	18%	58%	15%	31%	2.99	12.22	13.83	44.21	11.76	23.49

도면 3az

식세포 마커 발현 참조 세포	염색체	유전자	전사체	기탁	액도에서	Tss 거리	Cpg 상에서	Entrez ID	유전자 표현
SC280	8	BHLHE22	NM_152414	+	0	-2764	0	27319	기본 나선-루프-나선 패밀리, 구성원 e22
SC281	9	MAX.chr9.96713572-96713746	-	-	0	-	1	-	-
SC282	1	MAX.Chrl.110627121-110627221	-	-	0	-	1	-	-
SC283	21	CBS	NM_001178008;NM_001178009;N M 000071	-	0	1549;1549;1117	1	875	시스타티오닌-베타-신타아제
SC284	17	IGF2BP1	NM_006546;NM_001160423	+	0	-1379;-1379	1	10642	인슐린-유사 성장 인자 2 mRNA 결합 단백질 1
SC285	9	BARX1	NM_021570	-	0	2103	1	56033	BARX 호메오복스 1
SC286	1	MAX.Chrl.61519679-61519759	-	-	0	-	1	-	-
SC287	6	MAX.Chr6.157557374-157557528	-	-	0	-	1	-	-
SC288	1	PROX1	NM_002763	+	0	-2947	1	5629	프로스페로 호메오복스 1
SC289	6	GMD5	NM_001500	-	0	621049	1	2762	GDP-만노오스 4,6-탈수효소
SC290	6	MAX.chr6.99295996-99296069	-	-	0	-	1	-	-
SC291	6	NRN1	NM_016588	-	0	3335	1	51299	뉴린 1
SC292	2	EMX1	NM_004097	+	0	3117	1	2016	빈 기준 호메오복스 1
SC293	1	TRIM58	NM_015431	+	1	171	1	25893	삼부 오리프 내포 58
SC294	17	C17orf46	NM_152343	-	0	125	1	124783	염색체 17 개방 해독물 46
SC295	13	PCDH8	NM_002590;NM_032949	-	1	1475;1475	1	5100	프로토카드헤린 8
SC296	2	EMX1	NM_004097	+	0	3250	1	2016	빈 기준 호메오복스 1
SC297	6	SLC35D3	NM_001008783	+	0	1066	1	340146	용출 운반체 패밀리 35, 구성원 D3
SC298	1	MAX.Chrl.208132590-208132681	-	-	0	-	1	-	-
SC299	5	GDNF	NM_001190469;NM_001190468;N M 000514;NM 199231	-	0	1213;1213;5066;877	1	2668	신경아교 세포 유래된 신경영양 인자
SC300	19	ICAM5	NM_003259	+	1	5580	1	7087	세포간 부착 분자 5, 델텐세린
SC301	9	BARX1	NM_021570	-	1	2224	1	56033	BARX 호메오복스 1
SC302	20	NKX2-2	NM_002509	-	0	1208	1	4821	NK2 호메오복스 2
SC303	1	MAX.Chrl.61519535-61519667	-	-	0	-	1	-	-
SC304	19	CYTH2	NM_004428;NM_017457	+	1	11376;11376	1	9266	시트헤신 2

도면 3ba

수세포 마커 명 및 순번	영역	시각 위치	정지 위치	평균 BC 점	평균 패 저장 점	평균 신임률 패 점	평균 대체도 패 점	평균 수세포 패 점	평균 평균상과 패 점	평균 수세도지점 상 패 점	정상/BC	AD/BC	LC/BC	SC/BC	SO/BC	UND/BC
SC305	6	108490524	108490584	1%	2%	11%	18%	30%	18%	3%	1.88	9.31	15.77	25.30	15.66	2.40
SC306	5	149792249	149792285	0%	3%	1%	5%	29%	13%	17%	17.71	6.75	24.08	147.62	64.65	85.42
SC307	6	44119711	44119872	0%	1%	1%	7%	14%	5%	10%	2.29	1.94	17.47	34.31	13.65	24.44
SC308	19	38182957	38183121	1%	2%	18%	13%	26%	17%	28%	1.78	16.97	11.59	24.34	15.34	25.69
SC309	22	46263416	46263515	2%	4%	4%	9%	47%	24%	19%	1.60	1.87	4.14	21.04	10.94	8.60
SC310	1	248020410	248020517	2%	4%	20%	28%	42%	15%	46%	2.26	11.28	15.61	22.96	8.22	25.33
SC311	17	43339264	43339345	1%	1%	4%	11%	41%	12%	11%	1.45	8.50	22.19	82.48	23.48	21.17
SC312	5	134879362	134879483	0%	1%	5%	13%	35%	2%	17%	3.15	10.56	29.38	80.54	10.94	39.68
SC313	10	101300100	101300155	1%	3%	10%	16%	24%	5%	7%	3.69	13.71	22.13	33.20	6.17	9.10
SC314	5	37834845	37834910	2%	5%	13%	29%	50%	39%	33%	3.22	8.38	18.64	32.37	25.14	21.61
SC315	20	36013131	36013210	0%	2%	4%	4%	20%	7%	11%	9.17	23.33	24.65	124.06	40.85	68.15
SC316	3	16554363	16554496	0%	0%	0%	3%	11%	4%	2%	3.51	1.43	26.47	107.49	36.66	15.44
SC317	12	25056015	25056162	0%	1%	10%	18%	25%	10%	35%	1.51	27.62	50.51	68.55	27.10	95.52
SC318	6	157556780	157556850	1%	3%	3%	17%	49%	11%	11%	2.07	1.73	11.91	33.83	7.40	7.57
SC319	12	122231765	122231829	1%	1%	1%	7%	18%	2%	1%	1.59	2.48	12.95	35.04	3.13	2.54
SC320	3	182897149	182897232	1%	1%	3%	4%	24%	1%	10%	0.83	4.11	5.33	32.87	1.36	13.04
SC321	18	5891056	5891125	2%	4%	12%	29%	49%	9%	36%	2.12	6.28	14.73	24.80	4.33	18.25
SC322	11	76750814	76750881	1%	8%	30%	27%	52%	16%	64%	10.48	41.11	36.46	70.66	22.09	86.31
SC323	19	2251365	2251400	2%	4%	15%	18%	65%	10%	22%	2.23	8.49	10.23	37.40	5.66	12.69
SC324	5	154026853	154026896	1%	5%	5%	12%	38%	14%	7%	7.87	7.72	17.90	58.03	21.03	10.87

도면3bb

소재도메인, 영역, 정조번호	염색체	유전자	전사체	가닥	역센서	Tss 거리	CpG 정보	Entrez ID	유전자 표현
SC305	6	NR2E1	NM_003269	+	0	3310	1	7101	핵 수용체 서브패밀리 2, 그룹 E, 구성원 1
SC306	5	CD74	NM_001025158;NM_004355;NM_01025159	-	1	83,74;74	0	972	CD74 분자, 주요 조직적합성 복합체, 클래스 II 분변 사슬
SC307	6	TMEM63B	NM_018426	+	1	24336	1	55362	막경유 단백질 63B
SC308	19	ZNF781	NM_152605	-	0	259	1	163115	아연 핑거 단백질 781
SC309	22	M AX chr22.46263416~4626351 5	-	-	0	-	1	-	-
SC310	1	TRIM58	NM_015431	+	0	-90	1	25893	삼부 모티프 내포 58
SC311	17	C17orf46	NM_152343	-	0	215	1	124783	염색체 17 개방 해독물 46
SC312	5	MAX.Chr5.134879362~134879483	-	-	0	-	0	-	-
SC313	10	MAX.chr10.101300100~101300155	-	-	0	-	1	-	-
SC314	5	GDNF	NM_001190469;NM_001190468;N M_000514;NM 199231	-	1	1084;1084;4937;748	1	2668	신경아교 세포 유래된 신경영양 인자
SC315	20	SRC	NM_005417;NM_198291	+	0	40044;38575	1	6714	v-src 육종 (Schmidt-Ruppin A-2) 바이러스 종양유전자 동족체 (조류)
SC316	3	RFTN1	NM_015150	-	0	859	1	23180	렉트린, 지질 몇몇 링커 1
SC317	12	BCAT1	NM_001178092;NM_005504;NM_011178094;NM_001178091;NM_001 178093	-	0	46378;46378;-693;46378;-6	1	586	분지쇄 아미노산 아미노전달효소 1, 세포질
SC318	6	MAX.chr6.157556780~157556850	-	-	0	-	0	-	-
SC319	12	RHOF	NM_019034	-	0	-171	1	54509	ras 동족체 유전자 패밀리, 구성원 F (사상위축에서)
SC320	3	MCF2L2	NM_015078	-	1	248706	1	23101	MCF2 세포주 유래된 변형 서열 유산 2
SC321	18	TMEM200C	NM_001080209	-	1	1047	1	645369	막경유 단백질 200C
SC322	11	B3GNT6	NM_138706	+	1	5380	1	192134	UDP-GlcNAc:betaGal 베타-1,3-N- 아세틸글루코사민전달효소 6 (코어 3 신타아제)
SC323	19	AMH	NM_000479	+	1	2253	1	268	항-윌러 호르몬
SC324	5	MAX.chr5.154026853~154026896	-	-	0	-	1	-	-

도면 3bc

수세포 마커 영하 점도(°C)	영색체	시차 위치	장차 위치	평균 BC 점	평균 배점상 점	평균 신암종 배점	평균 대세포 배점	평균 수세포 배점	평균 환광상피 배점	평균 규정되지 않은 암 배점	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC325	1	167599734	167599813	0%	1%	5%	11%	13%	3%	16%	7.00	23.21	52.79	62.19	15.82	79.50
SC326	18	44526868	44526957	1%	1%	6%	5%	22%	18%	7%	1.31	10.36	9.07	36.70	29.96	12.10
SC327	19	48983735	48983826	2%	5%	20%	17%	47%	10%	25%	1.94	8.78	7.43	20.22	4.38	10.74
SC328	9	139159296	139159348	0%	1%	1%	1%	19%	2%	26%	5.60	6.92	3.81	135.14	13.04	185.99
SC329	5	132083179	132083223	1%	1%	2%	6%	30%	2%	5%	1.53	1.67	6.35	32.19	2.49	5.46
SC330	21	26934474	269344630	0%	1%	9%	10%	22%	4%	20%	5.32	55.57	61.25	138.59	27.77	121.89
SC331	6	106960830	106960925	0%	2%	2%	7%	50%	4%	23%	3.36	4.28	15.50	108.22	9.22	49.69
SC332	7	156701663	156701795	1%	1%	1%	6%	17%	5%	6%	1.70	1.22	7.49	21.77	6.28	8.20
SC333	1	47697788	47697839	1%	4%	15%	16%	35%	12%	52%	4.93	18.42	17.47	42.61	14.00	63.25
SC334	5	77140806	77140873	2%	5%	19%	19%	55%	15%	49%	2.10	8.33	8.10	23.90	6.32	21.13
SC335	15	28352323	28352494	1%	1%	4%	8%	15%	2%	20%	1.47	6.11	12.78	24.57	2.78	31.63
SC336	6	29521540	29521681	1%	5%	5%	22%	41%	17%	23%	3.41	3.62	14.78	27.38	11.77	15.51
SC337	14	92980637	92980695	0%	0%	1%	0%	22%	1%	9%	0.63	3.61	1.60	91.32	3.10	36.73
SC338	9	19127781	19127835	0%	0%	1%	1%	20%	1%	3%	1.93	4.37	3.15	118.01	4.59	17.38
SC339	1	6663497	6663545	0%	1%	1%	1%	15%	4%	8%	2.59	3.84	3.13	64.79	19.15	35.96
SC340	1	2136959	2137098	0%	0%	1%	1%	12%	2%	2%	1.41	2.04	4.52	37.03	6.29	7.19
SC341	21	36042030	36042110	1%	2%	4%	22%	41%	13%	55%	1.88	3.80	23.37	43.13	13.73	57.60
SC342	3	17013737	170137439	2%	5%	15%	34%	49%	33%	62%	2.78	9.08	20.26	29.02	19.46	36.27
SC343	6	158243942	158243981	1%	1%	1%	2%	33%	2%	13%	1.38	1.60	2.72	36.48	1.68	14.51
SC344	12	125534296	125534343	0%	1%	1%	10%	29%	5%	0%	3.25	1.46	24.52	68.16	12.02	0.91
SC345	12	1906061	1906126	0%	0%	0%	8%	23%	0%	4%	0.76	0.41	20.08	57.07	0.76	9.54
SC346	10	119312919	119312997	1%	3%	15%	26%	28%	5%	11%	2.57	12.66	22.08	23.61	4.33	9.25
SC347	13	25321012	25321114	1%	2%	2%	6%	26%	16%	26%	2.12	2.30	7.65	31.63	19.72	31.63
SC348	9	94183673	94183710	1%	1%	9%	10%	24%	6%	20%	1.61	10.63	12.61	29.26	7.25	24.73
SC349	4	6660582	6660692	1%	2%	13%	21%	28%	11%	23%	2.18	11.76	18.47	24.32	9.50	20.20

도면3bd

영양 성분 식품 첨가제 식품 첨가제 식품 첨가제	영양제	유전자	전사체	기타	연에서	Tss 거리	CpG 영역서	Entrez ID	유전자 표제
SC325	1	RCSD1	NM_052862	+	0	261	1	92241	RCSD 도메인 내포 1
SC326	18	KATNAL2	NM_031303	+	1	82	1	83473	카타닌 p60 아단위 A-유사 2
SC327	19	CYTH2	NM_004228;NM_017457	+	1	11271;11271	1	9266	시토크신 2
SC328	9	MAX.chr9.139159296-139159348	-	-	0	-	1	-	-
SC329	5	CCNI2	NM_001039780	+	1	43	1	645121	사이클린 1 패밀리, 구성원 2
SC330	21	MIR155HG	NR_001458	+	1	18	1	114614	MIR155 호스트 유전자 (비단백질 코딩)
SC331	6	AIM1	NM_001624	+	1	1101	1	202	흑색종에서 부재 1
SC332	7	MAX.chr7.156701663-156701795	-	-	0	-	0	-	-
SC333	1	TAL1	NM_003189	-	0	-2345	1	6886	T-세포 급성 림프성 백혈병 1
SC334	5	MAX.chr5.77140806-77140873	-	-	0	-	1	-	-
SC335	15	MAX.chr 15.28352323-28352494	-	-	0	-	1	-	-
SC336	6	M AX.chr6.29521540-29521681	-	-	0	-	1	-	-
SC337	14	RIN3	NM_024832	+	0	513	1	79890	Ras 및 Rab 상호작용자 3
SC338	9	PLIN2	NM_001122	-	0	-208	1	123	페리리핀 2
SC339	1	KLHL21	NM_014851	-	0	-568	1	9903	켈지-유사 21 (조파리(Drosophila))
SC340	1	C1 orf86	NM_001146310	-	0	2213	1	199990	염색체 1 개방 해독물 86
SC341	21	CLIC6	NM_053277	+	1	343	1	54102	염화물 세포내 통로 6
SC342	3	CLDN11	NM_001185056;NM_005602	+	0	-1656;719	1	5010	클라udin 11
SC343	6	SNX9	NM_016224	+	0	-351	1	51429	슬핀 넥신 9
SC344	12	MAX.chr12.125534296-125534343	-	-	0	-	1	-	-
SC345	12	CACNA2D4	NM_172364	-	0	121809	1	93589	칼슘 통로, 전압 의존성, 알파 2/델타 아단위 4
SC346	10	MAX.chr10.119312919-119312997	-	-	0	-	1	-	-
SC347	13	MAX.chr13.25321012-25321114	-	-	0	-	1	-	-
SC348	9	NFIL3	NM_005384	-	0	2471	1	4783	핵인자, 인터루킨 3 조절됨
SC349	4	MAX.chr4.6660582-6660692	-	-	0	-	1	-	-

도면 3be

소재도 마커 명 명칭	영역 명칭	시차 위치	정지 위치	평균 BC성	평균 BC성상	평균 선형속도성	평균 대속도성	평균 수속도성	평균 BC성상	평균 수속도성상	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SO/BC	UND/BC
SC350	5	77140667	77140774	2%	2%	10%	15%	35%	9%	24%	1.33	5.81	8.99	20.78	5.24	14.3
SC351	5	42952165	42952265	1%	4%	12%	17%	28%	18%	30%	5.58	19.39	27.28	43.92	28.58	47.3
SC352	3	194118747	194118919	0%	2%	13%	26%	43%	19%	41%	6.97	38.31	74.49	125.02	55.43	117.2
SC353	1	2989976	2990065	1%	3%	4%	18%	32%	8%	9%	3.14	3.74	16.20	29.59	7.08	8.4
SC354	17	41363552	41363612	0%	0%	0%	2%	21%	6%	15%	0.76	0.60	4.16	55.55	15.12	39.7
SC355	10	77168201	77168360	1%	2%	3%	7%	29%	5%	9%	1.99	2.99	7.70	29.70	5.27	8.7
SC356	11	129243348	129243401	2%	5%	17%	29%	49%	41%	66%	2.48	8.04	13.91	22.93	19.19	31.0
SC357	10	119296757	119296802	1%	1%	1%	9%	28%	3%	6%	1.03	1.36	10.19	32.99	3.39	6.4
SC358	18	21199523	21199632	0%	1%	10%	8%	17%	5%	6%	4.06	33.90	26.89	56.35	15.34	21.7
SC359	1	82777482	82777571	1%	2%	10%	22%	48%	31%	59%	1.59	9.26	20.67	45.68	29.57	56.3
SC360	1	2990151	2990207	1%	3%	5%	18%	32%	10%	16%	3.23	4.95	19.48	34.02	10.98	17.0
SC361	1	44031599	44031658	0%	2%	24%	18%	21%	18%	18%	4.80	75.23	56.94	66.66	64.67	56.3
SC362	7	27232734	27232792	2%	5%	12%	21%	46%	20%	34%	2.43	6.01	10.74	23.94	10.31	18.0
SC363	14	77591546	77591607	0%	1%	1%	2%	17%	10%	2%	3.66	4.59	6.87	64.89	37.49	7.5
SC364	5	42952414	42952472	2%	5%	20%	25%	43%	35%	57%	2.78	10.31	13.24	22.51	17.99	29.6
SC365	15	41787637	41787674	0%	4%	14%	13%	43%	18%	3%	12.04	39.44	36.80	121.85	50.77	9.6
SC366	13	33924448	33924560	1%	2%	4%	12%	37%	5%	11%	1.75	2.62	8.62	26.18	3.24	7.6
SC367	1	203598589	203598624	1%	1%	2%	2%	13%	2%	2%	1.20	3.53	3.87	24.55	3.76	3.7
SC368	19	50393424	50393465	1%	3%	11%	4%	25%	6%	40%	4.96	18.14	6.73	42.96	10.89	68.9
SC369	12	125534190	125534241	0%	1%	1%	8%	24%	5%	0%	4.31	5.32	46.29	134.03	25.97	0.0
SC370	15	41787438	41787549	1%	4%	19%	11%	45%	16%	2%	3.98	19.46	11.22	47.23	16.68	1.8
SC371	15	41787592	41787634	1%	6%	15%	13%	46%	18%	3%	5.95	15.44	13.55	46.26	18.60	3.5
SC372	8	38323572	38323653	0%	1%	4%	1%	10%	6%	6%	2.27	17.67	2.23	46.12	26.23	27.4

도면3bf

스케도 마커 영역 참조번호	염색체	유전자	전사체	가닥	역센서서	Tss 거리	CpG 센서서	Entrez ID	유전자 표현
SC350	5	MAX.chr5.77140667-77140774	-	-	0	-	1	-	-
SC351	5	MAX.chr5.42952165-42952265	-	-	0	-	1	-	-
SC352	3	GP5	NM_004488	-	1	1248	1	2814	당단백질 V (헬소판)
SC353	1	PRDM16	NM_199454;NM_022114	+	0	4235;4235	0	63976	PR 도메인 내포 16
SC354	17	NBR1	NM_031858;NM_031862;NM_005899	+	1	41042;41055;40307	0	4077	BRCA1 유전자의 이웃 1
SC355	10	NCRNA00245	NR_024421 ;NR_024422	+	1	6916;4688	1	100131213	비단백질 코딩 RNA 245
SC356	11	BARX2	NM_003658	+	0	-2532	1	8538	BARX 호모로복스 2
SC357	10	EMX2OS	NR_002791	-	0	7822	1	196047	EMX2 반대 가닥 (비단백질 코딩)
SC358	18	ANKRD29	NM_173505	-	1	43326	1	147463	안키린 반복 도메인 29
SC359	1	MAX.chrl.8277482-8277571	-	-	0	-	1	-	-
SC360	1	PRDM16	NM_199454;NM_022114	+	0	4410;4410	1	63976	PR 도메인 내포 16
SC361	1	PTPRF	NM_002840;NM_130440	+	0	35053;35053	1	5792	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, F
SC362	7	MAX.chr7.27232734-27232792	-	-	0	-	1	-	-
SC363	14	MAX.chrl.477591546-77591607	-	-	0	-	1	-	-
SC364	5	MAX.Chr5.42952414-42952472	-	-	0	-	0	-	-
SC365	15	ITPKA	NM_002220	+	0	1516	1	3706	이노시톨 1,4,5-트리스포스페이트 3-키나아제 A
SC366	13	MAX.chrl.333924448-33924560	-	-	0	-	1	-	-
SC367	1	ATP2B4	NM_001001396;NM_001684	+	0	2662;2662	1	493	ATP 아제, Ca++ 수송, 원형질막 4
SC368	19	IL411	NM_152899;NM_172374	-	1	6723;39338	1	259307	인터류킨 4 유도 1
SC369	12	MAX.chrl.2125534190-125534241	-	-	0	-	1	-	-
SC370	15	ITPKA	NM_002220	+	0	1317	1	3706	이노시톨 1,4,5-트리스포스페이트 3-키나아제 A
SC371	15	ITPKA	NM_002220	+	0	1471	1	3706	이노시톨 1,4,5-트리스포스페이트 3-키나아제 A
SC372	8	FGFR1	NM_001174064;NM_023105;NM_001174067;NM_015850;NM_001174063;NM_023110;NM_001174065;NM_001174066;NM_023106	-	0	2780;2780:1791;2780;2780:1791;1791;2780	0	2260	섬유모세포 성장 인자 수용체 1

도면3bg

스케도 마커 영역 참조번호	염색체	시작 위치	종지 위치	평균 BC. 점	평균 BC.점상, 점	평균 신장율 점상, 점	평균 대체도 점상, 점	평균 소세포 점상, 점	평균 편향성도 점상, 점	평균 규정되지 않은 점상, 점	정상/BC	Aa/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SC373	22	42470432	42470495	0%	1%	2%	1%	11%	6%	1%	1.87	4.62	2.75	31.95	19.18	2.56
SC374	2	74782096	74782223	0%	1%	1%	10%	15%	22%	12%	2.00	2.91	35.72	55.09	79.79	42.48
SC375	1	203598746	203598782	0%	0%	2%	3%	17%	2%	3%	1.78	8.34	14.03	90.60	9.86	16.53
SC376	3	4910281	4910325	0%	0%	2%	3%	18%	1%	14%	0.71	7.43	11.02	62.84	2.23	50.53
SC377	14	24780133	24780195	1%	2%	12%	9%	29%	11%	2%	1.26	8.92	6.65	21.77	8.09	1.18
SC378	7	27196035	27196154	1%	3%	21%	31%	37%	18%	56%	3.72	24.32	35.89	42.10	20.22	64.49
SC379	1	6480815	6480859	1%	3%	11%	8%	40%	5%	11%	4.03	17.19	12.38	61.31	7.48	17.22
SC380	7	27195748	27195829	1%	5%	25%	36%	38%	24%	69%	3.68	17.21	25.20	26.39	16.93	48.45
SC381	5	178957576	178957695	1%	2%	15%	18%	41%	17%	24%	3.97	29.20	34.94	78.81	31.81	45.24
SC382	22	28198164	28198199	0%	2%	6%	7%	17%	2%	18%	3.07	11.31	13.16	33.78	4.83	36.56
SC383	5	77268624	77268718	1%	2%	12%	22%	34%	7%	21%	3.72	21.82	40.13	61.10	12.77	38.23
SC384	1	29586455	29586550	0%	5%	30%	21%	39%	7%	32%	14.94	93.26	66.91	121.84	22.87	101.64
SC385	4	13524253	13524378	1%	2%	7%	21%	28%	11%	23%	3.50	10.37	32.37	43.87	17.49	36.14
SC386	20	3052753	3052851	1%	3%	17%	19%	35%	11%	15%	5.20	29.24	32.93	60.92	19.81	26.66
SC387	1	78511734	78511827	1%	2%	15%	32%	24%	15%	51%	2.91	18.47	39.63	29.28	18.15	62.64
SC388	14	62217806	62217860	0%	1%	1%	15%	25%	2%	2%	4.07	2.61	62.74	103.40	7.25	7.45
SC389	1	232941214	232941254	0%	0%	2%	11%	10%	1%	1%	1.43	5.41	34.37	33.30	4.75	4.09
SC390	13	21649754	21649843	1%	2%	3%	10%	21%	5%	9%	2.62	3.88	12.11	24.61	5.85	10.94
SC391	18	5890808	5890841	1%	2%	1%	9%	35%	4%	16%	1.59	0.97	8.79	34.81	3.53	15.72
SC392	4	11611145	11611177	0%	1%	3%	1%	13%	7%	2%	4.72	13.21	6.11	53.63	28.35	7.75
SC393	5	134879621	134879709	1%	2%	5%	21%	40%	6%	35%	3.43	8.06	33.63	65.55	9.28	56.82
SC394	1	221052431	221052479	1%	2%	10%	17%	20%	2%	40%	3.56	15.30	26.04	30.31	2.76	60.01
SC395	2	232527285	232527325	1%	3%	4%	5%	32%	9%	17%	3.87	5.99	6.44	43.13	11.79	23.75

도면3bh

소재도 마커 영역 경도 번호	영역제	유전자	전사체	기타	연속에서	Tss 거리	Gg 성에서	Entrez ID	유전자 표제
SC373	22	FAM109B	NM_001002034	+	0	178	1	150368	서열 유사성을 갖는 패밀리 109, 구성원 B
SC374	2	DOK1	NM_001197260;NM_001381	+	0	5950;585	1	1796	도킹 단백질 1,62kDa (티로신 키나아제의 하류 1)
SC375	1	ATP2B4	NM_001001396;NM_001684	+	0	2819;2819	1	493	ATP 아제, Ca++ 수송, 원형질막
SC376	3	MAX.chr3.4910281-4910325	-	-	0	-	1	-	-
SC377	14	CIDEB	NM_014430	-	1	443	1	27141	세포 사멸-유도 DFFA-유사 각동제 b
SC378	7	HOXA7	NM_006896	-	1	261	1	3204	호메오복스 A7
SC379	1	ESPN	NM_031475	+	0	-4032	1	83715	에스핀
SC380	7	HOXA7	NM_006896	-	0	548	1	3204	호메오복스 A7
SC381	5	MAX.chr5.178957576-178957695	-	-	0	-	1	-	-
SC382	22	MIN1	NM_002430	-	0	-678	1	4330	수막종 (균형 전위가 붕괴됨) 1
SC383	5	MAX.chr5.77268624-77268718	-	-	0	-	1	-	-
SC384	1	PTPRU	NM_133178;NM_133177;NM_0011 95001 ;NM 005704	+	1	23428;23428;23428;2 3 428	1	10076	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, U
SC385	4	MAX.chr4.13524253-13524378	-	-	0	-	1	-	-
SC386	20	OXT	NM_000915	+	1	488	1	5020	옥시토신, 프리프로펩티드
SC387	1	GIPC2	NM_017655	+	1	146	1	54810	GIPC PDZ 도메인 내포 패밀리, 구성원 2
SC388	14	MAX.chr14.62217806-62217860	-	-	0	-	1	-	-
SC389	1	KIAA1383	NM_019090	+	1	577	1	54627	KIAA1383
SC390	13	MAX.chr13.21649754-21649843	-	-	0	-	0	-	-
SC391	18	TMEM200C	NM_001080209	-	1	1295	1	645369	막결유 단백질 200C
SC392	4	SPON2	NM_012445;NM_001199021 ;NM_0 01128325	-	1	5512;41605;5854	1	10417	스폰딘 2, 세포외 기질 단백질
SC393	5	MAX.chr5.134879621-134879709	-	-	0	-	1	-	-
SC394	1	HLX	NM_021958	+	0	-311	1	3142	H2O-유사 호메오복스
SC395	2	MAX.chr2.232527285-232527325	-	-	0	-	1	-	-

도면4a

평균상과 평균 마커 영역 경도 번호	영역제	시작 위치	종지 위치	평균 BC 점	평균 배, 정상, 점	평균 신임종 배 점	평균 대체포 배 점	평균 소세포 배 점	평균 평상상 배 점	평균 규정되지 않은 영 배 점	정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SQ1	17	38347792	38347942	0%	0%	0%	6%	16%	14%	1%	1.33	0.67	29.58	87.04	72.74	6.9
SQ2	19	58951416	58951527	1%	1%	11%	14%	16%	17%	16%	0.66	13.68	16.97	19.94	21.00	20.2
SQ3	11	14926627	14926716	1%	1%	5%	16%	62%	16%	11%	1.78	10.57	30.66	119.53	31.77	21.4
SQ4	18	44526868	44526957	1%	1%	6%	5%	22%	18%	7%	1.31	10.36	9.07	36.70	29.96	12.1
SQ5	22	50987219	50987295	1%	3%	32%	35%	62%	36%	28%	2.08	21.52	23.39	41.49	23.87	18.7
SQ6	3	124860573	12486066	0%	1%	12%	34%	12%	37%	39%	1.55	29.73	84.15	28.68	91.45	97.0
SQ7	17	42287927	42287988	0%	0%	11%	15%	26%	18%	32%	1.27	71.79	95.09	167.27	117.62	206.9
SQ8	3	124860704	12486079	0%	1%	10%	21%	9%	35%	22%	1.98	23.37	51.32	20.78	84.00	51.8
SQ9	8	145106353	14510643	0%	2%	24%	29%	9%	25%	26%	4.89	59.66	71.50	22.47	62.77	65.1
SQ10	2	97193509	97193639	1%	1%	14%	7%	16%	13%	16%	2.04	26.57	14.00	30.21	23.54	29.8
SQ11	8	99960542	99960654	1%	3%	10%	20%	44%	29%	24%	2.42	9.58	18.79	40.90	26.85	22.5
SQ12	5	42995477	42995528	0%	5%	20%	35%	60%	39%	62%	18.40	82.13	141.62	245.53	158.96	254.6
SQ13	1	44031599	44031658	0%	2%	24%	18%	21%	21%	18%	4.80	75.23	56.94	66.66	64.67	56.5
SQ14	11	14926795	14926853	0%	2%	9%	26%	78%	27%	10%	6.70	27.57	84.20	249.90	86.19	33.1
SQ15	1	8277482	8277571	1%	2%	10%	22%	48%	31%	59%	1.59	9.26	20.67	45.68	29.57	56.5
SQ16	5	37834845	37834910	2%	5%	13%	29%	50%	39%	33%	3.22	8.38	18.64	32.37	25.14	21.6
SQ17	2	73147720	73147790	1%	3%	24%	36%	50%	28%	59%	3.25	26.10	38.89	54.76	30.96	64.5
SQ18	5	42995328	42995393	0%	4%	12%	28%	50%	30%	55%	24.55	77.50	185.42	325.38	198.95	362.1
SQ19	8	124173236	12417338	0%	1%	11%	15%	49%	14%	29%	7.50	63.79	86.89	276.90	78.49	166.6
SQ20	11	14926886	14926955	0%	3%	6%	29%	78%	21%	20%	8.70	18.97	99.05	266.28	70.91	68.9
SQ21	2	26407567	26407639	1%	1%	5%	12%	62%	27%	16%	1.73	9.78	21.33	112.60	49.01	28.6
SQ22	5	42995102	42995171	0%	4%	8%	21%	43%	32%	59%	37.37	88.00	220.17	459.69	335.17	627.3
SQ23	6	28303447	28303515	0%	0%	12%	1%	9%	18%	14%	5.88	197.58	14.33	149.96	301.34	228.6

도면4b

관공상피 세포에서 영역 참조 번호	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 영역에서	Ensembl ID	유전자 표현
SQ1	17	RAPGEFL1	NM_016339	+	0	13551	0	51195	Rap 구아닌 뉴클레오타이드 교환 인자 (GEF)-유사 1
SQ2	19	ZNF132	NM_003433	-	1	173	1	7691	아연 핑거 단백질 132
SQ3	11	MAX.Chr11.14926627-14926716	-	-	0	-	1	-	-
SQ4	18	KATNAL2	NM_031303	+	1	82	1	83473	카타닌 p60 아단위 A-유사 2
SQ5	22	KLHDC7B	NM_138433	+	1	758	1	113730	콜치 도메인 내포 7B
SQ6	3	SLC12A8	NM_001195483;NM_024628	-	0	69670;71036	1	84561	용질 운반체 패밀리 12 (칼륨/염화물 전달체), 구성원 8
SQ7	17	UBTF	NM_001076684;NM_001076683;NM_014233	-	0	8997;10323;7737	1	7343	상류 결합 전사 인자, RNA 중합효소
SQ8	3	SLC12A8	NM_001195483;NM_024628	-	0	69539;70905	1	84561	용질 운반체 패밀리 12 (칼륨/염화물 전달체), 구성원 8
SQ9	8	OPLAH	NM_017570	-	1	9231	1	26873	5-옥스포블리나아제 (ATP-가수분해)
SQ10	2	MAX.Chr2.97193509-97193639	-	-	0	-	0	-	-
SQ11	8	OSR2	NM_001142462;NM_053001	+	0	3912;3912	1	116039	오드 스킵드 관련인 2 (조파리(Drosophila))
SQ12	5	MAX.Chr5.42995477-42995528	-	-	0	-	0	-	-
SQ13	1	PTPRF	NM_002840;NM_130440	+	0	35053;35053	1	5792	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, F
SQ14	11	MAX.Chr11.14926795-14926853	-	-	0	-	1	-	-
SQ15	1	MAX.Chr1.8277482-8277571	-	-	0	-	1	-	-
SQ16	5	GDNF	NM_001190469;NM_001190468;NM_000514;NM_199231	-	1	1084;1084;4937;748	1	2668	신경아교 세포 유래된 신경영양 인자
SQ17	2	EMX1	NM_004097	+	0	3117	1	2016	빈 기온 호메오박스 1
SQ18	5	MAX.Chr5.42995328-42995393	-	-	0	-	1	-	-
SQ19	8	MAX.Chr8.124173236-124173386	-	-	0	-	1	-	-
SQ20	11	MAX.Chr11.14926886-14926955	-	-	0	-	1	-	-
SQ21	2	FAM59B	NM_001191033;NM_001168241	+	1	3983;11608	1	150946	서열 유사성을 갖는 패밀리 59, 구성원 B
SQ22	5	MAX.Chr5.42995102-42995171	-	-	0	-	0	-	-
SQ23	6	ZNF323	NM_145909;NR_024164;NM_001135216;NM_030899;NM_001135215;NR_024165	-	0	18525;464;464;705;20601;705	0	64288	아연 핑거 단백질 323

도면4c

관공정관리 세부 마스터 명칭 (중점번호)	영역별	시각 위치	정지 위치	평균 BC점	평균 배정상·점	평균 산정률 점	평균 대점교점 점	평균 수점교점 점	평균 관용상하 배정	평균 규정타지 없음상 배정		정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SQ24	19	37095829	37095999	1%	1%	23%	23%	19%	19%	41%	1.82	28.94	28.12	23.98	23.78	50.92	
SQ25	8	145106742	145106827	0%	2%	26%	34%	10%	21%	14%	5.40	81.76	108.02	31.02	68.54	45.26	
SQ26	5	37834716	37834762	2%	4%	16%	25%	51%	36%	36%	2.51	9.42	14.77	30.36	21.39	21.50	
SQ27	2	99439270	99439356	1%	3%	24%	31%	81%	32%	56%	2.54	19.21	25.16	66.32	26.30	45.23	
SQ28	1	248020671	248020722	1%	4%	31%	40%	63%	33%	63%	3.31	23.46	30.04	47.26	24.66	47.74	
SQ29	17	38348024	38348072	0%	0%	1%	7%	7%	15%	0%	0.84	2.22	14.28	13.90	29.67	0.00	
SQ30	20	61560692	61560749	0%	1%	6%	13%	62%	19%	28%	5.65	24.19	56.55	258.74	79.08	115.84	
SQ31	3	122296709	122296828	0%	3%	17%	23%	65%	25%	61%	5.87	39.97	54.78	151.39	57.49	143.28	
SQ32	2	26407721	26407876	0%	1%	2%	11%	47%	18%	16%	2.39	8.36	36.01	160.15	60.97	56.07	
SQ33	10	22541891	22541996	0%	2%	13%	22%	49%	18%	24%	5.71	36.56	63.36	141.74	52.16	69.90	
SQ34	8	145105570	145105675	1%	3%	30%	26%	9%	29%	23%	3.15	29.77	25.41	9.23	28.54	22.59	
SQ35	15	65116396	65116440	0%	1%	11%	21%	5%	25%	2%	5.61	51.82	98.18	22.13	114.94	10.41	
SQ36	2	74782325	74782452	0%	2%	1%	10%	12%	21%	12%	20.45	11.21	82.60	106.15	183.80	103.64	
SQ37	5	37834916	37835022	1%	5%	9%	28%	55%	37%	42%	4.35	7.78	25.11	49.26	33.19	37.95	
SQ38	2	74782096	74782223	0%	1%	1%	10%	15%	22%	12%	2.00	2.91	35.72	55.09	79.79	42.48	
SQ39	17	75370492	75370581	0%	1%	2%	8%	2%	10%	12%	1.80	4.40	17.44	3.81	22.86	26.56	
SQ40	17	27940477	27940568	0%	1%	5%	9%	59%	22%	25%	3.44	21.98	34.20	238.86	87.69	99.96	
SQ41	6	6004298	6004338	1%	5%	21%	40%	58%	34%	61%	7.31	33.74	64.23	93.83	54.50	99.42	
SQ42	17	8054698	8054698	0%	1%	12%	5%	7%	12%	11%	16.75	186.95	78.17	101.84	186.95	166.28	
SQ43	17	73073700	73073810	0%	0%	0%	15%	8%	17%	0%	1.26	1.07	39.05	21.72	46.29	0.42	
SQ44	5	125930731	125930884	1%	1%	2%	2%	4%	16%	1%	1.35	2.90	2.71	5.70	25.34	2.38	

도면4d

발명상의 세포 마커 영역 좌표번호	염색체	유전자	전사체	가닥	엑손에서	Tss 거리	CpG 영역에서	Entrez ID	유전자 표제
SQ24	19	ZNF382	NM_032825	+	0	-391	1	84911	아연 핑거 단백질 382
SQ25	8	OPLAH	NM_017570	-	0	8842	1	26873	5-옥소프롤리나아제 (ATP-가수분해)
SQ26	5	GDNF	NM_001190469;NM_001190468;NM_000514;NM_199231	-	0	1213;1213;5066;877	1	2668	신경아교 세포 유래된 신경영양 인자
SQ27	2	C2orf55	NM_207362	-	1	113414	1	343990	염색체 2 개방 해독물 55
SQ28	1	TRIM58	NM_015431	+	1	171	1	25893	삼부 모티프 내포 58
SQ29	17	RAPGEFL1	NM_016339	+	0	13783	0	51195	Rap 구아닌 뉴클레오타이드 교환 인자 (GEF)-유사 1
SQ30	20	DIDO1	NM_033081 NM_001193369;NM_022105;NM_080797;NM_001193370;NM_080796		0	8612;-2789;8612;8612;-2789;-2789	1	11083	사망 유도자-탈살자 1
SQ31	3	PARP15	NM_001113523	+	0	261	1	165631	폴리 (ADP-리보오스) 중합효소 패밀리, 구성원 15
SQ32	2	FAM59B	NM_001191033;NM_001168241	+	1	4137;11762	1	150946	서열 유사성을 갖는 패밀리 59, 구성원 B
SQ33	10	MAX.Chrl 0.22541891 -22541996	-	-	0	-	1	-	-
SQ34	8	MAX.chr8.145105570-145105675	-	-	0	-	1	-	-
SQ35	15	PIF1	NM_025049	-	1	1442	1	80119	PIF1 5'-내지-3' DNA 헬리카아제 동족체 (사카로미세스 세레비자이에(S. cerevisiae))
SQ36	2	DOK1	NM_001197260;NM_001381	+	1	6179;814	1	1796	도킹 단백질 1,62kDa (티로신 키나아제의 하류 1)
SQ37	5	GDNF	NM_001190469;NM_001190468;NM_000514;NM_199231	-	1	1013;1013;4866;677	1	2668	신경아교 세포 유래된 신경영양 인자
SQ38	2	DOK1	NM_001197260;NM_001381	+	0	5950;585	1	1796	도킹 단백질 1,62kDa (티로신 키나아제의 하류 1)
SQ39	17	SEPT9	NM_006640;NM_001113494;NM_001113492;NM_001113493;NM_001113491	+	0	54896;-1672;86520;1221;93001	1	10801	세틴 9
SQ40	17	ANKRD13B	NM_152345	+	1	19951	1	124930	안키린 반복 도메인 13B
SQ41	6	NRN1	NM_016588	-	0	3335	1	51299	뉴린 1
SQ42	17	PER1	NM_002616	-	0	1125	1	5187	파리어드 동족체 1 (조파리(Drosophila))
SQ43	17	MAX.Chrl 7.73073700-73073810	-	-	0	-	1	-	-
SQ44	5	ALDH7A1	NM_001182	-	1	351	1	501	알데히드 탈수소효소 7 패밀리, 구성원 A1

도면4e

발명상의 세포 마커 영역 좌표번호	염색체	시작 위치	종지 위치	평균 BC 점	평균 BC 정상 점	평균 신염종 배 점	평균 비세포 배 점	평균 신세포 배 점	평균 신염종 배 점	평균 규정되지 않은 염 배 점		정상/BC	Ad/BC	LC/BC	SC/BC	SQ/BC	UND/BC
SQ45	15	65116474	65116558	1%	1%	9%	15%	9%	18%	1%	1.58	12.74	21.62	13.62	26.30	1.26	
SQ46	17	58499109	58499183	0%	1%	1%	5%	35%	18%	8%	4.22	4.26	17.93	124.48	63.79	28.58	
SQ47	2	97193166	97193253	0%	1%	13%	8%	18%	12%	21%	1.71	42.20	25.79	55.43	37.48	67.24	
SQ48	2	118981859	118981945	1%	3%	14%	33%	42%	28%	29%	4.14	18.40	42.45	53.71	35.86	36.89	
SQ49	7	44349487	44349591	1%	2%	5%	12%	28%	22%	8%	2.50	6.77	18.13	42.68	32.86	12.23	
SQ50	17	17627469	17627534	1%	1%	17%	7%	0%	19%	11%	0.77	21.31	8.72	0.57	23.63	14.12	
SQ51	3	194208259	194208403	0%	1%	2%	5%	17%	19%	0%	13.82	28.44	67.56	241.94	276.52	0.90	
SQ52	1	223936868	223936997	0%	1%	7%	18%	45%	16%	28%	2.13	26.29	63.20	158.81	57.13	99.50	
SQ53	19	58238816	58238942	0%	1%	8%	15%	24%	17%	33%	8.09	94.63	175.66	277.57	203.93	390.90	
SQ54	12	25055873	25055997	0%	1%	10%	22%	29%	12%	40%	4.32	36.00	77.51	103.02	44.17	140.87	
SQ55	11	68622903	68622965	0%	1%	2%	9%	3%	18%	9%	3.04	8.34	32.82	11.85	69.07	34.24	
SQ56	5	32710286	32710370	0%	1%	2%	7%	3%	12%	8%	1.27	5.55	15.98	7.31	29.70	18.40	
SQ57	1	46632701	46632852	1%	1%	5%	11%	11%	13%	1%	2.20	7.44	18.33	18.34	20.29	1.03	
SQ58	3	32443052	32443156	0%	0%	1%	8%	2%	10%	1%	1.22	1.50	20.54	5.05	26.69	2.69	
SQ59	15	90319850	90319883	0%	0%	0%	4%	0%	13%	0%	0.84	0.00	10.45	0.72	34.01	0.00	
SQ60	17	43339264	43339345	1%	1%	4%	11%	41%	12%	11%	1.45	8.50	22.19	82.48	23.48	21.17	
SQ61	19	37288426	37288510	0%	1%	15%	22%	30%	19%	27%	1.79	39.22	55.94	78.85	49.81	69.01	
SQ62	8	145104291	145104342	0%	1%	6%	13%	3%	12%	10%	3.80	26.23	54.77	13.90	49.84	41.94	
SQ63	8	145104247	145104276	0%	1%	5%	13%	3%	11%	7%	9.51	48.36	126.04	32.55	112.97	73.75	
SQ64	3	128212061	128212125	0%	2%	10%	16%	4%	20%	25%	7.50	33.85	56.41	12.62	68.60	85.89	

도면5a

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 1	AGRN 표적 DNA	GTTCCCGGAACGGCTCTTGGGGGCGTTCCAGCCCCACGGACCCGACGGAGTCCCCGCCGCAATTTGCATGGGGC TCATTTGCATGACCCCGCCCGCGCGGGAGTCGGGGGCGC
서열 번호: 2	AGRN 전환된 DNA	GTTTTCGGAACGGI TTTTTGGGGGCGGTTTTAGTTTACGGATTCTGAGGGAGTTTTCTGCTAATTTGATGGGGTTT ATTTGTATGATTTCTGTTTCGCGCGGGAGTCGGGGGCGT
서열 번호: 3	AGRN 정방향 프라이머	GGCGTTTGTAGTTTACGGATTCTG
서열 번호: 4	AGRN 역방향 프라이머	ACAAATAAACCCCATACAAATTACGAC
서열 번호: 5	AGRN 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGAAACCTCCT/3C6/
서열 번호: 6	ANGPT1 표적 DNA	CGGATTCACATGGGCAATGTGCCTACACTTTCATTCTCCAGAACACGATGGCAACTGTCGTGAGAGTACGACAGA CCAGTACAACACAAACGCTCTGCAGAGAGATGCTCCACACGTGGAACCG
서열 번호: 7	ANGPT1 전환된 DNA	CGGATTTAATATGGGTAATGTG TTTAT ATTTTATTTTTAGAAATACGATGGTAATTGTCGTGAGAGTACGATAGAT TAGTATAATATAAACGTTTTGTAGAGAGATGTTTTATACGTGGAATCG
서열 번호: 8	ANGPT1 정방향 프라이머	TTTGAATACGATGTAATTGCTGT
서열 번호: 9	ANGPT1 역방향 프라이머	ACATCTCTCTACAAAACGTTTATATTACTAATC
서열 번호: 10	ANGPT1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCTATCGTACTCT/3C6/
서열 번호: 11	ANKRD138 표적 DNA	GGAGCTACGACGACGAGCTGCGGCTGGCGATGGAACGTGCGCGCAGGAGCAGGAGGAGGGCGGCGCGCGC GCGCCAGGAGGAGGAGGAGCTGGAGCGCATCCTGAG
서열 번호: 12	ANKRD138 전환된 DNA	GGAGTTACGACGAGTAGTTGCGGTTGGCGATGGAATTGTCGCGCTAGGAGTAGGAGGAGGCGGCGCGCGCGC CGTTAGGAGGAGGAGGAGTTGGAGCGTATTTTGAG
서열 번호: 13	ANKRD138 정방향 프라이머	AGTTACGACGAGTAGTTGCG
서열 번호: 14	ANKRD138 역방향 프라이머	TCCTCCTACTCCTACG CC
서열 번호: 15	ANKRD138 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGACAATCCAT/3C6/
서열 번호: 16	ARHGEF4 표적 DNA	GGTGGCAACGCTGAGTGCCGTGCGCCGCGCACTCACCCGCGCGCGCGCCTGCGCGGCGCTCAGCGGAAG GCCAGCAGGAAGATCAGTACGACGTTGATGAGAACCAGGAGCGCCAGCAGCGGAGACCACACGCG
서열 번호: 17	ARHGEF4 전환된 DNA	GGTGGTAACGTTGGAGTGTCTGCTGCGCTTATTTATTTGCGCGCGCGCTTTTGCCTGCTGTTAGCGGAAGG TTAGTAGGAAGATTAGTACGACGTTGATGAGAATTAGGAGCGTTAGTACGGCGGAGATTATTACGCG
서열 번호: 18	ARHGEF4 정방향 프라이머	CGTTCGCGTTATTTATTTTCGCG
서열 번호: 19	ARHGEF4 역방향 프라이머	GCTCCTAATTCTCATCAACGTCGT
서열 번호: 20	ARHGEF4 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGCGCTTTTGC/3C6/
서열 번호: 21	BARX1 표적 DNA	GGCCCGGGGCGCGCTGGGCGCTAGGGGCTGGACGTCAACCTGTTAGATAGAGGCGTGGGACCCCCGACGGCG GCTGCTCGGACGACGCATCCGGAG
서열 번호: 22	BARX1 전환된 DNA	GGTTCGGGTCGTTTGGGTTTTAGGGGTTGGAGCTTAATTTGTTAGATAGAGGCGTGGGATTTTCGTAGGCGG TTGTTGCGGACGATCTATTCGGAG
서열 번호: 23	BARX1 정방향 프라이머	CGTTA ATTTGTTAG ATAG AG G GCG
서열 번호: 24	BARX1 역방향 프라이머	ACGATCGTCCGAACAACC
서열 번호: 25	BARX1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGCTACGAAAA/3C6/
서열 번호: 26	BARX1 역방향 프라이머 유니버설	TCCGAACAACCGCTAC
서열 번호: 27	BARX1 플랩 올리고뉴클레오타이드 유니버설	CCACGGACGCGAAAAATCCCA/3C6/
서열 번호: 405	BARX1 플랩 올리고뉴클레오타이드 v6	AGGCCACGGACGCGAAAAATCCACGC/3C6/
서열 번호: 28	BCAT1 표적 DNA	GCTTCCAGCCGCGCTCCGTGCCACTGCCGCTCTCTGACGCCGCGTCCCGCAGCCTCCCATGGCCAGCCGCTTCGCTCCG CTGCGGCCCTTGCCCGCCAGGTACCTCGAACCC

도면5b

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 29	BCAT1 전환된 DNA	GTTTTAGTCGCGGTTTCGTGTTATTGTCGTTTT GTAGTTTCGCGTTTTCGTAGTTTTTATGGTTAGTTCGTTTC GTTTCGTTGCGGTTTTTGTCTGTTAGGTATTTCGAATTT
서열 번호: 30	BCAT1 정방향 프라이머	GTGTTATTGTCG TTTTGTAGTTTCG
서열 번호: 31	BCAT1 역방향 프라이머	CG CAACGAAACGAAACGA
서열 번호: 32	BCAT1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGGCGTTTTCGTAG/3C6/
서열 번호: 33	BCL2L11 표적 DNA	GCCCGCCGACGCGCAATGCTCCGCGCTCCCGGGGTCGGGCGACTCAGACAGGGACCGGAAAGAACACG CAGAAGAAAGCCCTATTCTGTCTGTTCTCTGTGAGCCTTGACGCTCGCCGCCCGCGCT
서열 번호: 34	BCL2L11 전환된 DNA	GTTGCTGTACGTCTGAATGTTTCGCGTTTTTCGCGGGTCGGGCGATTAGATAGGATCGGAAAGAAATTACGT AGAAAGAAAGTTTTATTTTTTGTCTGTTTGTGTTGTAGTTTTGTAGTTTCGCTGTTTTTCGCGT
서열 번호: 35	BCL2L11 정방향 프라이머	CGTAATGTTTCGCGTTTTTCG
서열 번호: 36	BCL2L11 역방향 프라이머	ACTTTCITCTACGTAATTCTTTCGGA
서열 번호: 37	BCL2L11 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGGCGGGTCGGG/3C6/
서열 번호: 38	BHLHE23 표적 DNA	GCCGGGAGTCGAGAAGCAAGTACTAGCGCTCCAGGACCGCGCGCCGCCCGCGCCCGCCCGCCCTC GGTCAGAGC
서열 번호: 39	BHLHE23 전환된 DNA	GTCGGGAGTCGAGAAGTAAGTATTAGCG TTTTAGGATCGCGCGCTTCGCGTTCGTTTCGCGTCG 1 1 1 CGG TTAGAGT
서열 번호: 40	BHLHE23 정방향 프라이머	AGTATTAGCGTTTAGGATCGCG
서열 번호: 41	BHLHE23 역방향 프라이머	ACTCTAAACGAAACGACG
서열 번호: 42	BHLHE23 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGGAAACGACGC/3C6/
서열 번호: 43	BIN2 표적 DNA	GCCGGGAGCCCGCACTCTCTCTCGGGGGCTCAGAAAACACAGGGCGCGGGGCCAGGGCGCGGCCCGCC CAGG
서열 번호: 44	BIN2 전환된 DNA	GTCGGGAGTTCGTATTTTTTTTTCGGGGTTTTAGAAAATTATAGGGCGCGGGGTTAGGGCGCGGTTTTT TAGG
서열 번호: 45	BIN2 정방향 프라이머	TCGGGAGTTCGTATTTTTTCGG
서열 번호: 46	BIN2 역방향 프라이머	AAAACCGCCGCTAAC
서열 번호: 47	BIN2 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCCCGCGCCTA/3C6/
서열 번호: 48	BIN2 표적 DNA	CGGGGCTACCTCAGGACGCGCTCGCTCAGGCCAGCTTCGAGCTCCAACCCCTGCCGAAACCTCGGCCTCACT G
서열 번호: 49	BIN2_Z 전환된 DNA	CGGGGTTATTTTAGGTAGCGTTCGAGGTTAGTTTCGAGTTTTAATTTTTGTCGAAATTCGGTTTTATTG
서열 번호: 50	BIN2_Z 정방향 프라이머	GGGTTT ATTTTTAGGTAGCGTTCG
서열 번호: 51	BIN2_Z 역방향 프라이머	CGAAATTCGAACAAAAATTAACCTCGA
서열 번호: 52	BIN2_Z 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGTTTCGAGGTTAG/3C6/
서열 번호: 53	CAPN2 표적 DNA	TGTCCTGACACGATGGCCACAGGCACAGTTTGTGGTGATGCCAGGGGCCGCGCGGCCACGGTGTGTCAGTTT ACACTCGGGCCCGCACTCTGAAGTCCGCGCGGGAGGAGAGGGCGTCCCTTCGACGCTCGG
서열 번호: 54	CAPN2 전환된 DNA	TGTTTTGATACGATGGTTATAGGTATAGTTTGTGGTGATGTTTAGGGGTTTCGCGCGGTTTTACGGTGGTTTAGTTTA TATTCGGGTTTCGTATTTTGAAGTTTCGCGCGGGAGGAGAGGGCGTTTTTTTCGTAGTTTCGG
서열 번호: 55	CAPN2 정방향 프라이머	TGATGTTTAGGGGTTTCGCG
서열 번호: 56	CAPN2 역방향 프라이머	CGAAACTTCAAAAATACGAAACCGGA
서열 번호: 57	CAPN2 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGG GCGGTTTTACGG/3C6/

도면5c

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 58	chr5_132 표적 DNA	CCGGAGCACTCGCCGCTGCGCGCCCTGAAGCCGTGCGGTAGCGGCCCTCGAGCGCGCGGGCTGGCGGCTC GGCAGCCTGCGCGCGCGCTCGCCTCGGCGCGCAGC
서열 번호: 59	chr5 132 전환된 DNA	TCGGAGTATTCGTGTTGCGGTTTGAAGTCGTTGGCGGTAGCGGTTTTCGAGGTGCGCGGTTGGCGGTTTCG GTAGTTTGCCTGCGGTTTCTGTTTCGCTGTTAGT
서열 번호: 60	chr5 132 정방향 프라이머	GTATTCGTCGTTGCGCG
서열 번호: 61	chr5 132 역방향 프라이머	CCTCGAAAACGCTACC
서열 번호: 62	chr5 132 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGCCAACTGCT/3C6/
서열 번호: 63	chr7_636 표적 DNA	CGCCGTGAGTGTTATGATTTCTAAAGCGCGCGTGTCCGGAGTTTCTCTCTCTGTGGGGTTCGTGTCGCGCGC TCAGGAGTGAAGCTGCAGATCTTCGCGGTAGTGTTACAGCTCCTAAAGCGCGCAT
서열 번호: 64	chr7_636 전환된 DNA	CGTCGTGAGTGTTATGATTTTTAAAGCGCGCGTGTTCGAGTTTTTTTTTGTGGGGTTCGTGTTTCGTGCGTT TAGGAGTGAAGTTGTAGATTTTCGCGGTGAGTGTTATAGTTTTTAAAGCGCGTAT
서열 번호: 65	chr7 636 정방향 프라이머	TAAAGCGCGCGTGTTCG
서열 번호: 66	chr7 636 역방향 프라이머	CAACTTCACTCTAAACCG AC
서열 번호: 67	chr7 636 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGAAACACGAA/3C6/
서열 번호: 68	CYP26C1 표적 DNA	AACCTGGCTTCTGGCTACTCGGAATCGCCAGACAGATGAGGCGACAGCGCCGACGCGTGATCACGCGCGCTCC CACAGGCTCTGGCGCGCGTGTTGACGCGCGC
서열 번호: 69	CYP26C1 전환된 DNA	AATTGGTTTTTGGTTATTTGGAATCGTTAAGTAGATGAGGTAGATCGTCTGTTAGCTGATTACGCGCG TTTTA TAGGTTTTTGGCGCGCGTGTTAGTCGCGT
서열 번호: 70	CYP26C1 정방향 프라이머	TGGTTTTTGGTTATTTGGAATCGT
서열 번호: 71	CYP26C1 역방향 프라이머	G CGCGTAATCA ACG CTAAC
서열 번호: 72	CYP26C1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGACGATCAAC/3C6/
서열 번호: 73	DIDO1 표적 DNA	GGAGCGGGCAGAGGAGGAGGCCAGCGCCGAGGCCAGGCGCGCCCGCCCTCGCCCTCCCCCTCCCC GCTGCTCCCC
서열 번호: 74	DIDO1 전환된 DNA	GGAGCGGGTAGAGGAGGAGTTAGCGTCGAGG TTAGGCGCGTTTCGTTTCTGTTTTTTCGTGTTTTTTCGTT GTTTTTT
서열 번호: 75	DIDO1 정방향 프라이머	GAGGAGGAGTTTAGCGTCG
서열 번호: 76	DIDO1 역방향 프라이머	CACGAAAAAAACGAAACGAAAC
서열 번호: 77	DIDO1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGCGCTCAAACT/3C6/
서열 번호: 78	DLX4 표적 DNA	GCGGTCTATCAGCGGCACCCCTAACACTTGGTGGATGCGCAGTGCTCTCGGAGTCTCTGGGCTCCATACGATGCTCT ACCGCACGCCCTAGCAGAGGAGGTCTCTGT
서열 번호: 79	DLX4 전환된 DNA	GCGGTTTATTACGGGTATTTTAAATATTGGTGAGTGCGTAGTGTTCGGTAGTTTTGGGTTTTATACGATGTTTA TCGTACGTTTTTAGTAGAGGAGGTTTTTGT
서열 번호: 80	DLX4 정방향 프라이머	TGAGTGCCTAGTGTTTTTCGG
서열 번호: 81	DLX4 역방향 프라이머	CTCCTCTACTAAAACTGACGATAAACA
서열 번호: 82	DLX4 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGATCGGTATAAAAC/3C6/
서열 번호: 83	DLX4 정방향 프라이머 유니버설	ATATTGGTGAGTGCGTAGTG
서열 번호: 84	DLX4 역방향 프라이머 유니버설	ACGTACGATAAACATCGTATAAAACC
서열 번호: 85	DLX4 플랩 올리고뉴클레오타이드 유니버설	CGCCGAGGTTTTTCGTAGT/3C6/
서열 번호: 86	DMRTA2 표적 DNA	TACTCCACTGCGGGCTGGTGCCCACTCGGCTTCGCCCACTGACTACGCTTTTAGCGATCTCATGCGTGAC CGCTCGGCCCGCTGCTGCGCGGTGCACAAAGAGCGGACT
서열 번호: 87	DMRTA2 전환된 DNA	TATTTATTGTGCGTTTGGTG TTIACGTTGCGTTTCG TTTATTAT GGATTACGTTTTTAGCGATTATGCGTGATC GTTGCGTGTGCTGTTGTCGCGCGGTGATAAGGAGTCGATT

도면5d

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 88	DMRTA2 정방향 프라이머	TGGTGTTTACGTTTCGGTTTCGT
서열 번호: 89	DMRTA2 역방향 프라이머	CGCAACAACGACGACC
서열 번호: 90	DMRTA2 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGAACGATCACG/3C6/
서열 번호: 91	DNMT3A 표적 DNA	AGGCCGGTCACGAACAAAGCGCTGGCGAGTGCAGCGCCGCCACGCGCACAGGTGCCGCGACAAGACGCCCGCT CCCCGCCACGCGGCCCGCGGGGTGAGCC
서열 번호: 92	DNMT3A 전환된 DNA	AGGTCGGTTACGAATAAAGCGTTGGCGAGTGCAGCGTTCGTTTACGCGTATAGTGTTTCGCGATAAGACGTTTCGTT TTCGTTTACGCGGTTTTCGCGGGTTGAGTT
서열 번호: 93	DNMT3A 정방향 프라이머	GTTACGAATAAAGCGTTGGCG
서열 번호: 94	DNMT3A 역방향 프라이머	AACG AACGCTCTTATCG CG A
서열 번호: 95	DNMT3A 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGAGTGCAGTTC/3C6/
서열 번호: 96	DOCK2 표적 DNA	GCCGCGCCGCGACGATCCTCTGCTGCGGGCTCTCCGCCACCTGTCCTGCTCCGCGCCCTGGGGCCGACCTACCC AC
서열 번호: 97	DOCK2 전환된 DNA	GTGCGTTTTCGTAGTATTTTTTTTGTTCGCGGTTTTCGTTATTTGTTTCGTTTTT G TCGCGTTTTGGGGTTCGTATTA TTTAT
서열 번호: 98	DOCK2 정방향 프라이머	CGGTTTCGTAGTATTTTTTTTGTTCG
서열 번호: 99	DOCK2 역방향 프라이머	GAACCCCAAAACGCGAC
서열 번호: 100	DOCK2 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGGTTTTTTTCG/3C6/
서열 번호: 101	DTX1 표적 DNA	CGCTCTTGGGCTCCCGCGAGTGGAGGGAGCGCGGTCCCGCTCCGCGCCGTTCCCTCCACGCCCTCG CCGCCGCGCGAGCTTTCCGCGGTGGACAGACTGCCGCGCGACGACGGACGACGAGG
서열 번호: 102	DTX1 전환된 DNA	CGTTTTT GGGTTTTTTTCGAGATGGGAGGAGTGCAGGTTTTTCGTTTTTCGCGTTCTGTTTTTTAGG TTTTTTCGGTCG TCGCGTCGAGTTTTTCGCGGTGGATAGATTGTTTCGTCGACGGACGAGGTAGG
서열 번호: 103	DTX1 정방향 프라이머	GAGTCGCGGTTTCGTTTTTC
서열 번호: 104	DTX1 역방향 프라이머	GACGCGACGACCGAAAAAC
서열 번호: 105	DTX1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGGTTTCGTTTT/3C6/
서열 번호: 106	EMX1 표적 DNA	TCCGGCGCGCGTTTTCTAGAGAACCAGGCTCTCAGCGATGCTCATTTACGCCCCGCTTAATGCAACAAACGAAACC CCACACG AACG AAAAGGAACATGTCTG CGCT
서열 번호: 107	EMX1 전환된 DNA	TCGGCGTCGCGTTTTTAGAGAATCGGGTTTTAGCGATGTTTTTTTAGTTTCGTTAATGTAATAAACGAAATTT ATACGAACGAAAGGAATATGTTTCGTT
서열 번호: 108	EMX1 정방향 프라이머	GGCGTCGCGTTTTTAGAGAA
서열 번호: 109	EMX1 역방향 프라이머	TTCTTTTCGTCTGATATAAAATTCGTT
서열 번호: 110	EMX1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGATCGGTTTTAG/3C6/
서열 번호: 111	FAM59B 표적 DNA	GGGCTGCTGGCCGGGACCCGCGCTCGAGCGCTGGTGCGCGACAGCGCTCTACTGCGCGAGCGCTCGA CCCCGACGAGTACTCCACGGCCGTGCGGAGCGCCAGCGGAGCTCGCCGAAG
서열 번호: 112	FAM59B 전환된 DNA	GGGTTTGTGGTCGGGGATTGCGCGTCGAGCGTTTGGTTGCGCGATAGCGTTTTTTTATTGTCGCGAGCGTTTCGATT TCGACGAGTATTTACGGTCGTCGCGAGGCGTTAGCGGAGTTCGTCGAAAG
서열 번호: 113	FAM59B 정방향 프라이머	CGATAGCGTTTTTATTGTCGCG
서열 번호: 114	FAM59B 역방향 프라이머	GCACGACCGTAAATCTCGTC
서열 번호: 115	FAM59B 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGAAATCGAAAC/3C6/
서열 번호: 406	FAM59B 정방향 프라이머 v3	GTCGAGCGTTTGTGTCG
서열 번호: 407	FAM59B 역방향 프라이머 v3	CTCGTCGAAATCGAAACGC
서열 번호: 408	FAM59B 플랩 올리고뉴클레오타이드 v3	CGCGCCGAGGGCGATAGCG TTTTTATTGTCG/3C6/

도면5e

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 116	FERMT3 표적 DNA	TAGCAGCAGCCGACCCATGGCGGGGATGAAGACAGCCTCCGGGGACTACATCGACTCGTCATGGGAGCTGCGGC TGTTTGTGGGAGAGGAGGACCCAGAGGCCGAGTCGGTCACCCCTGCGGGTCACTGGGGAGTCGCAC
서열 번호: 117	FERMT3 전환된 DNA	TAGTAGTAGTCGTAGTTATGGCGGGGATGAAGATAGTTTTCGGGGATTATATCGATTCTGTTATGGGAGTTGCGGGT GTTTGTGGGAGAGGAGGATTAGAGGTGAGTCGGTTATTTTTCGGGGTATTGGGGAGTCGTAT
서열 번호: 118	FERMT3 정방향 프라이머	GTTTTCGG GGATTATATCGATTCTG
서열 번호: 119	FERMT3 역방향 프라이머	CCCAATAACCCGCAAAATAACC
서열 번호: 120	FERMT3 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGACTCGACCTC/3C6/
서열 번호: 121	FGF14 표적 DNA	GTCCAGAGAGCCCTAGGGTCAGAGGTATCTCCGTGGCAACGGAACTTCCCGCTACGGCGGCTCAACGGC CCGCTTCCGCCGATTGCGTAGCGAAGC
서열 번호: 122	FGF14 전환된 DNA	GTTTTAGAGACGTTTTAGGGTTAGAGGTTATTTTCGTGGTAACGAAATTTTTCGCTTACGGCGG TTTTAAACGGGT CGTTTTCTGCTATTGCGTAGCGAAGT
서열 번호: 123	FGF14 정방향 프라이머	TTTCGTGGTAACGAAATTTT CG
서열 번호: 124	FGF14 역방향 프라이머	CGACGAAACGACCCGT
서열 번호: 125	FGF14 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGCTTACGGCGG/3C6/
서열 번호: 126	FLJ34208 표적 DNA	GCGCCCGCGCCGAGGACAGGAGGAGCGACACAGAGAAAGCTCCACGCGCCCGCCTCGCCTCCG ACGGGAAGGCGCTCTTCCGACCGCTCTGGATG
서열 번호: 127	FLJ34208 전환된 DNA	GC GTTTCGGTCGTAGGCGGAGGATAGGAGGAGCGTATACGAGAAAGTTTTACGCGTTCGCGTTTCGTTTCGAC GGGAAGGCGTTTTTTCGATCGTTTGGATG
서열 번호: 128	FLJ34208 정방향 프라이머	GAGCGTATACGAGAAAG TTTTACG
서열 번호: 129	FLJ34208 역방향 프라이머	AACGCTTCCCGTCGAA
서열 번호: 130	FLJ34208 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACG GCGTTCGCGTTT/3C6/
서열 번호: 131	FLJ45983 표적 DNA	CGAGAGGGCGCGAGCACAGCCGAGGCCATGGAGGTGACGGCGGACCGCGCTGGGTGAGCCACCACACCC CGCCGTGCTCAACGGGCGAGCCCGGACACGCAC
서열 번호: 132	FLJ45983 전환된 DNA	CGAGAGGGCGCGAGTATAGTCGAGGTTATGGAGGTGACGGCGGATTAGTCGCGTTGGGTGAGTTATTATTTC GTCGTGTTAACGGGTAGTATTTCGATACGTAT
서열 번호: 133	FLJ45983 정방향 프라이머	GGCGCGAGTATAGTCG
서열 번호: 134	FLJ45983 역방향 프라이머	CAACGCGACTAATCCGC
서열 번호: 135	FLJ45983 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGCTCACCTCCA/3C6/
서열 번호: 409	FLJ45983 정방향 프라이머 v4	CG AG GTTATGG AG GTG ACG
서열 번호: 410	FLJ45983 역방향 프라이머 v4	CGAATACTACCCTTAACACG
서열 번호: 411	FLJ45983 플랩 올리고뉴클레오타이드 v4	AGGCCACGGACGGGCGGATTAGTCGCG/3C6/
서열 번호: 136	GRIN2D 표적 DNA	CGCCCCCTCACCTCCCGATCATGCCGTTCCAGACGCCATCGATCTTCTTCGCTTGCCATTGGTGACGAGTAG AGGTCGTAGCTGAAGCCGATGGTATGCGCCAGCCGCTTCAGAATGTCGATGCAGAAACCTTG
서열 번호: 137	GRIN2D 전환된 DNA	CGTTTTTTTATTTTTCGATTATGTCG TTTTAGACGTTATCGATTTTTTTT CGTGTGTTTATTGTTGATTAGGTAGAG GTCGTAGTTGAAGTCGATGGTATGCGTTAGTCGTTTTAGAATGTCGATGTAGAAATTTTTG
서열 번호: 138	GRIN2D 정방향 프라이머	TCGATTATGCTGTTTAGACGTTATCG
서열 번호: 139	GRIN2D 역방향 프라이머	TCTACATCGACATTCTAAACGACTAAC
서열 번호: 140	GRIN2D 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGCATACCATCG/3C6/
서열 번호: 141	HIST1H2BE 표적 DNA	CGGCGAGGCTTCCCGCTGGCGATTACAACAAGCGCTCGACCATCACCTCCAGGGAGATCCAGACGGCGCTGCGC CTGCTGCTTCCCGGGA

도면5f

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 142	HIST1H2BE 전환된 DNA	CGGCGAGGTTTTTCGTTTGCGCGATTATAATAAGCGTTCGATTATTTTTAGGGAGATTTAGACGGTCGTGCGTTTGTGTTTTTCGGGGA
서열 번호: 143	HIST1H2BE 정방향 프라이머	TGGCGTATTATAATAAGCGTTTCG
서열 번호: 144	HIST1H2BE 역방향 프라이머	AACAACAAACGCACGACC
서열 번호: 145	HIST1H2BE 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGCTCTAAATCTC/3C6/
서열 번호: 412	HOPX 표적 DNA	GGCGGCGCGCGACCGCCTTCTTCGTCGCTCCGCGCGCTCCACGCTCGCTACCGCGCGCGCTTCTCCCTGCCCGCAGCGCGCAGGGACCATGTCGCGGAGACGCGAGCGGCGCCACAGAGGACCAAGTGGAATCTTGAGGTACAACTTCAACAAGGTGACAAGCACCCGGATTCCACACGCTGTGCTCATCGCGCGCGAGGCAAGCCTTTCGAGGAGGAGACCAAGGTGCGTCCCCACACGCGCGCCAGCGCGCGCGACCCCTGCTGGGCTGAGCCTTCTCGCGGCTGGGCGGTCTGTCTGCCGCGCTCCCGC
서열 번호: 413	HOPX 전환된 DNA	GGCGGCGTCGCGATCGTTTTTTTTCTGTCGCTTTCGTCG TTTTACGI TTTGTTTACGTCGCTGTTTTT GTTTCGTAGCGCGTAGGGATTATGTCGCGGAGATCGCGAGCGTTTTATAGAGGATTAGGTGGAAATTTTGGAGTATAATTATAAAGTGCATAGTATTCGGATTTTATTACGTTGTGTTTTATCGCGGTCGAGGTAGTTTTTTCGAGGAGGAGATTTAGGTGCGTTTTATACGCGTTTAGCGCGTTTCGATTTTGTGGGTGAGTTTTTTCGCGGTTGGGCGGTTTTGTTCGTTGCGTTTTT CGT
서열 번호: 414	HOPX 2236 정방향 프라이머	GCGTCGCGATCGTTTTTTTTTCG
서열 번호: 415	HOPX 2236 역방향 프라이머	AACGACGACGATAAACGAAACGTA
서열 번호: 416	HOPX 2236 플랩 올리고뉴클레오타이드	AGGCCACGGACGGTTGCGTTTCGTTTCGTT/3C6/
서열 번호: 417	HOPX 2149 정방향 프라이머	GTAGCGCGTAGGGATTATGTCG
서열 번호: 418	HOPX 2149 역방향 프라이머	TTTCCACCTAATCCTCTATAAAACCG C
서열 번호: 419	HOPX 2149 플랩 올리고뉴클레오타이드	AGGCCACGGACG CTCGCGATCTCCGC/3C6/
서열 번호: 420	HOPX 정방향 프라이머	ACGTTGTGTTTTATCGCGG
서열 번호: 421	HOPX 역방향 프라이머	CTAAACGCGTATAAAACGCAC
서열 번호: 422	HOPX 플랩 올리고뉴클레오타이드	AGGCCACGGACGGTCGAGGTAGTTTTTTCGA
서열 번호: 146	HOXA9 표적 DNA	GGGCGGGCCAGGCGCTGGGCACGGTGATGCCACCACTGGGGCCCTGGGCACTACTACGTGGACTGTTCTGCTGTGGCGCGCGCCGCGGATGAGCTG
서열 번호: 147	HOXA9 전환된 DNA	GGGCGGGTTAGGCGTTGGGTACGGTGATGTTATTATTGGGGTTTTGGGTAATTATTACGTGGATCGTTTTTGTGGCGTCGACGTCGCGGATGAGTTG
서열 번호: 148	HOXA9 정방향 프라이머	TTG GGTAAATTATTACGTG G ATTCG
서열 번호: 149	HOXA9 역방향 프라이머	ACTCATCCGCGACGTC
서열 번호: 150	HOXA9 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGACGCCAACA/3C6/
서열 번호: 423	HOXA9 역방향 프라이머 v2	CAACTCATCCGCGACG
서열 번호: 424	HOXA9 플랩 올리고뉴클레오타이드 v2	AGGCCACGGACGGTCGACGCCAACA/3C6/
서열 번호: 151	HOXB2 표적 DNA	GGGCCATTGCCAGAAGACGTTCTCTCGGGCGCCAGGATTCACCTTCTCCCGACCTCAACTTCTTCGCGGCCGACTCCTGTCTCCAGCTATC
서열 번호: 152	HOXB2 전환된 DNA	GGGTATTGTAGAAAGCGTTTTTTCGGGCGTTAGGATTTATTTTTTTTCGATTTAATTTTTTTCGCGGTCGATT TTTGTTTTAGTTAT
서열 번호: 153	HOXB2 정방향 프라이머	GTAGAAAGACGTTTTTTCGGGG
서열 번호: 154	HOXB2 역방향 프라이머	AAAACAAAATCGACCGCA
서열 번호: 155	HOXB2 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGGCGTTAGGATT/3C6/
서열 번호: 425	HOXB2 플랩 올리고뉴클레오타이드 2	CGCGCGAGGGCGTTAGGATTTT ATTTTTTTTTTCGA/3C6/

도면5g

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시한다)
서열 번호: 426	IFFO1 표적 DNA	CGGGACAGAGCCGACCAATCAGCGGCTCGGCAGCGGGGACAGAGTCAGGGGGCGGGCCGAGGGGAAGCCAA
서열 번호: 427	IFFO1 전환된 DNA	CGGGATAGAGTCGATTAAATTAGCGGTTTGGTAGCGGGGTAGAGGTTAGGGGGCGGGTCAGGGGGAAGTTAA
서열 번호: 428	IFFO1 정방향 프라이머	CGGGATAGAGTCGATTAAATTAGGC
서열 번호: 429	IFFO1 역방향 프라이머	TAACTTCCCCCTGACC CG
서열 번호: 430	IFFO1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCGGCCAGGCGGTTTCGGTAGCGG/3C6/
서열 번호: 156	KLHDC78 표적 DNA	GGCCCGGGAAGCCAGCTCCCGGGCCCTGGAGCCGCCACGCGGCAGCCCTGCGGCGCGGCTGGACCTGGCCA GTTGCCTGGACGTGCTGGCCTTTGCCACGA
서열 번호: 157	KLHDC78 전환된 DNA	GGTTTTCSAAGTTATGTTTTCGGGTTTGAGGATTCGTTACGGCGGTAGTTTTGCGCGGCGGTTGGATTGGGTAGT TGTITGGACGTGTTGGTTTTTTTGTAGTA
서열 번호: 158	KLHDC78 정방향 프라이머	AGTTTTCGGGTTTTGGAGTTCGTTA
서열 번호: 159	KLHDC78 역방향 프라이머	CCAAATCCAACGCCGC
서열 번호: 160	KLHDC78 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGACGGCGTAGTT/3C6/
서열 번호: 161	LOC100129726 표적 DNA	GCGCGCGCGGCGGCTGCGCGGGGGGCGCCAGGCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGACTGCGGTAGTAGCGCGC GCGCG CCACGGCGGCAAGTTGTG GGTCTGGA
서열 번호: 162	LOC100129726 전환된 DNA	GCGGCGCTGCGGCGTTGCGCGGGGGCGCTAGGTTTGTGTTGTTGTTGTTGATTGCGGTAGTAGCGCGCG GCGGTTACGGCGGTAAAGTTGGGGTTTGGGA
서열 번호: 163	LOC100129726 정방향 프라이머	TTGATTGCGGTAGTAGGCG
서열 번호: 164	LOC100129726 역방향 프라이머	AACCCACAACCTTACGCC
서열 번호: 165	LOC100129726 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGTAACCGCGC/3C6/
서열 번호: 166	MATK 표적 DNA	GGTTTTCCCCCACCCC GGCTCGGGGCTCTCACGTCTCCCCGCCGACGTGCTCACTGCTCAGGGGGCGCCCCG AGCCGCGCCCCGCGCCGCCGCCAGGAGGGCCTCCGCGAGCGGGCTGCACACCCGAGGCGGTCGCGCTCACA AC
서열 번호: 167	MATK 전환된 DNA	GGTTTTTTTTTATTCGGTTTCGGGGTTTTTACGTTTTTCGTGACGTGTTATTTGTGTAAGGGGGCGTTTTCGAGT CGC GTTTCGCGTGT TTTTAGGAGGTTTTCGCGATTCGTTGATATTCGAGGCGGTTTCGTTGTATAAT
서열 번호: 168	MATK 정방향 프라이머	GTTTTCGGGGTTTTTTTACGTTTTTTTCG
서열 번호: 169	MATK 역방향 프라이머	AAACGCGACTCGAAAACGC
서열 번호: 170	MATK 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGTCGACGTGTTT/3C6/
서열 번호: 171	MAX_ChrlO.225 표적 DNA	CTCCGGTTTTTCGCGGTTCTCAGCATATTAGCGCGCGCCAGTGCTCGAAAGCTCTCGGGGTTACGCTCTGGGGCG ACTGGAGGCGGCTCACGAC
서열 번호: 172	MAX_ChrlO.225 전환된 DNA	TTTCGGTTTTTCGGGTTTTTACGCATATTAGCGCGGTTAGTTGTTTTGAAAGTTTTTCGGGTTACGTTTTGGGGCGAT TGGAGGCGGTTTACGAT
서열 번호: 173	MAX_ChrlO.225 정방향 프라이머	CGGTTTTTACGCATATTAGGCG
서열 번호: 174	MAX_ChrlO.225 역방향 프라이머	CCCAAACGTAACCCCGA
서열 번호: 175	MAX_ChrlO.225 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGGTTAGTGT/3C6/
서열 번호: 176	MAX_ChrlO.226 표적 DNA	CGACGGCGCGGAGGAGGAAGGCCAGGGGAAATTTGCATTTCTGTAACACCGCGGTTAAGAAATGACGATGCCA CGTAGACAAGCCAGTTGTGACGTTTCA GCACAACTGTGCTACTGAACTACCGAGATCCGCCACCAATAGGC
서열 번호: 177	MAX_ChrlO.226 전환된 DNA	CGACGGTCGCGGAGGAGGAAGTTAGGGGAAATTTGATTTCTGAAATTCGCGGTTAAGAAATGACGATGTTAC GTAGATAGTTAGTTGTGACGTTTATGATAACGTGATTCGAGTTGAATTCGAGATTCGTTAATAGTGT

도면5h

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 178	MAX Chr10.226 정방향 프라이머	GGGAAATTTGATTTCGTAAATCG
서열 번호: 179	MAX Chr10.226 역방향 프라이머	ACAACCTAATCTATCTACGTAACATCGT
서열 번호: 180	MAX Chr10.226 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGCGGTTAAGAAA/3C6/
서열 번호: 181	MAX.chr12.52 표적 DNA	GGCTTGGGGTCCAGCCGCCGCCCTGCGGCCACCGACCATGTCTGCCTCTACTCCCGCTCAGCGCCCCCTGCG GGGTCCGCGCCTTCAGCTGCATCTCGGCTGCGGGCCCC
서열 번호: 182	MAX.chr12.52 전환된 DNA	GGTTTGGGG TTAGTCGTTCTGTTTTTGTCTGTTATCGATTATGTTTTGTTTTATTTTT CGTTTTAGCGTTTTGCGGGG TTCGCGTTTTAGTTGATTTCGTTTTGCGGGTTTT
서열 번호: 183	MAX.chr12.52 정방향 프라이머	TCGTTCTGTTTTTGTCTGTTATCG
서열 번호: 184	MAX.chr12.52 역방향 프라이머	AACCGAAATACAACATAAAACGC
서열 번호: 185	MAX.chr12.52 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGCAACCCCGCAA/3C6/
서열 번호: 186	MAX.chr16.50 표적 DNA	GGAAGGCTGCAGCGAGAGATTACATATTTCAGCTTAAGGAAGCGCGATAATGCAGGTACAGCCCCGAAAC CCACGCCCCAGACCTTATCTGCGCGCCCCGCC
서열 번호: 187	MAX.chr16.50 전환된 DNA	GGAAGGTTGTAGCGAGAGATTATATATTTCAGTTTAAAGGAAGTCGCGATAATGTAGGTATAGTTCGAAATT TACGTTTTTAGATTTATTTTTCGCGGTTTCGTT
서열 번호: 188	MAX.chr16.50 정방향 프라이머	TTGAGTTTAAAGGAAGTCG
서열 번호: 189	MAX.chr16.50 역방향 프라이머	TCTAAAAACGTAAATTCGAACT
서열 번호: 190	MAX.chr16.50 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGCGATAATGTAG/3C6/
서열 번호: 191	MAX.chr19.16 표적 DNA	GGAGTTATTTTAAACCATCGCTCCAGAACATTACGGAGCTTCTCTCTCCAACACGAGGAAACCTACTTGGCTG TGCTTCTGCTAACACGAGGCCCTGCGATTGCTGAGAACACAGCCCCGAGACTGCGCG
서열 번호: 192	MAX.chr19.16 전환된 DNA	GGAGTTATTTTAAATATCGTTTTTGTAGAAATACGGAG TTTTTTTTAAIACGTAGGAAATTTTATTTT GGTGT GTTTTTTTGAATACGAGGTTTTTGGGATTGTTGAGAATAATAGTTTCGAGATTGCGCG
서열 번호: 193	MAX.chr19.16 정방향 프라이머	TTTAATTATCGI TTTTGAATATTACGGA
서열 번호: 194	MAX.chr19.16 역방향 프라이머	ACTATTATTCTCAACAATCG CAAAC
서열 번호: 195	MAX.chr19.16 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACG G ACGCCTCGTATTAAC/3 C6/
서열 번호: 196	MAX.chr19.37 표적 DNA	GGCGGGCGCTTGGCCAAACAGCCCAAGACTGCGGAATCACACTCGCCACTGTGTACCTGGACGCCATGCGAGACC CAGCGCCTGCGGGGATTCCGGAACGGGAGAGCGGGCTTCC
서열 번호: 197	MAX.chr19.37 전환된 DNA	GGCGGGCGTTTGGTAAATAGTTTAAAGATTGCGGAATTATATTCGTTATTGTGTATTTGGACGTATTTGTAGATTTA GCGTTTGGGGGATTTCGGAACGGGAGAGCGGGTTTTT
서열 번호: 198	MAX.chr19.37 정방향 프라이머	AGTTTAAGATTGCGGAATTATATTCGT
서열 번호: 199	MAX.chr19.37 역방향 프라이머	TTCCGAAATCCCGCAA
서열 번호: 200	MAX.chr19.37 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGAACGCTAAATCT/3C6/
서열 번호: 201	MAX_Chr8.124 표적 DNA	CGCAGGCTGAGGCCCTCGGGTCCCCAGCGGGTCTCGCATCAGTCACTCTACGGGCCAGGCTGGGGGTACAG GCCTGCAGGAGCCTCCCTGCGCGGCCCACTCCCTCATCTGCACCCCGTGGGAGGCGACCCCTGACCACTCGTT CCG
서열 번호: 202	MAX_Chr8.124 전환된 DNA	CGTAGGTTGAGGTTTTTCGGGTTTTAGCGGGTTTTGTTATTAGTTATTTTTACGGGTTAGGTTGGGGTTACGGT TTGTAGGAGTTTTTTCGCGGTTTTATTTTTTATTTGCGATTCTGGGGAGGCGATTITGATTATTTTCGTTTCG
서열 번호: 203	MAX Chr8.124 정방향 프라이머	GGTTGAGG TTTTCGGGTTTTAG
서열 번호: 204	MAX Chr8.124 역방향 프라이머	CCTCCCCAGAAATCGC
서열 번호: 205	MAX Chr8.124 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGGCGGGTTTTTCGT/3C6/
서열 번호: 206	MAX Chr8.124 정방향 프라이머 v2	AGGAGTTTTTTTTCGCGCG
서열 번호: 207	MAX_Chr8.124 역방향 프라이머 v2	ACGAAATAATCAAAATCGCCTCC

도면5i

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 208	MAX Chr8.124 플랩 올리고뉴클레오타이드 v2	CGCCGAGGCCACGAAATCG/3C6/
서열 번호: 209	MAX Chr8.145 표적 DNA	CGGGGAGGGCGGCATCAGCCAGAGCCTCAGCCGACGGCGCTCCCAAGTCCACTCCCGCTCCGATACCTCCTCC
서열 번호: 210	MAX Chr8.145 전환된 DNA	CTAAGCACGATACCCAGGGCCAGGGCTGCTCTTGGCG CGGGGAGGGCGGTATTAGTTAGAGTTTATGTCGACGGCGTTTTTAGGTTT ATTTTCGTTTCGATATTTTTTTT AAGTACGATATTAGGGTTAGGGTTGTTTTGGCG
서열 번호: 211	MAX Chr8.145 정방향 프라이머	GC GTATTAGTTAGAGTTTATGTCG
서열 번호: 212	MAX Chr8.145 역방향 프라이머	ACAACCCCTAAACCTAAATATCGT
서열 번호: 213	MAX Chr8.145 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGACGGCGIII I/3C6/
서열 번호: 214	MAX Chr1.IIO 표적 DNA	CTCCGCTCCCCGACGGCTGGCCGCGACGGGACCCAGCGGGTTGTTATCAATTATTCAGGCCCCAAGTTCACGC GCACTGCATCCATTCCCTCGCTGCGCCC
서열 번호: 215	MAX Chr1.IIO 전환된 DNA	TTTCGTTTTTCGTAGGTTTGGTCGCGACGGGTATTTAGCGGGTTGTTATTAATTATTAGGTTTTAAGTTTACGGG TATTGTATTATTATTTTTTCG CGTG CGTT
서열 번호: 216	MAX Chr1.IIO 정방향 프라이머	TTTCGTAGGTTTGGTCGCG
서열 번호: 217	MAX Chr1.IIO 역방향 프라이머	AACCTAAATAATTAACAACCCGC
서열 번호: 218	MAX Chr1.IIO 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGCGACGGGTATT/3C6/
서열 번호: 219	NFIX 표적 DNA	GTGGCCCGGGCTGACGCGCGGTCAAAGTGAATTTTTAGTTCGGTTGGCTAAACAGGGTCAGAGCTGAGA GCGAAGCAGAAAG
서열 번호: 220	NFIX 전환된 DNA	GTGGCTCGGGCTGACGCGCGGTAAAGTGAATTTTTAGTTCGGTTGGTAAATAGGGTTAGAGTTGAGAC CGAAGTAGAAAG
서열 번호: 221	NFIX 정방향 프라이머	TGGTTCGGCGGTGACGCG
서열 번호: 222	NFIX 역방향 프라이머	TCTAACCTATTTAACCACCCGA
서열 번호: 223	NFIX 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGGCGGTAAAGTG/3C6/
서열 번호: 224	NKX2-6 표적 DNA	GGACCTCTCGGCCCGCCCATCCGCTTCGGGATGCTGCTGAGCCCGTCACCTCCACCCCTTCTCGGTCAAGG CATCTGCGACTGGAG
서열 번호: 225	NKX2-6 전환된 DNA	GGATTTTTTCGTTTCGTTTATTCGTTTCGGGATGTTGTTGAGTTTCGTTATTTTTATTTTTTCGGTTAAGGATA TTTTGCGATTGGAG
서열 번호: 226	NKX2-6 정방향 프라이머	GATTTTTTCGTTTCGTTTATTCG
서열 번호: 227	NKX2-6 역방향 프라이머	CAATCGCAAAATACCTTAACCGA
서열 번호: 228	NKX2-6 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGTTTTCGGGATG/3C6/
서열 번호: 229	OPLAH 표적 DNA	CTGTCACTGCTGACCGAGCGCGCCTTCGGCCATACGGGTCCACGGTGC GCGGTTCCCAAGCCCTCGCGGCC TCCCCGCCCCCG
서열 번호: 230	OPLAH 전환된 DNA	TTGTTAGTGTGATCGAGCGTCGCGTTTTTCGGTTATACGGG TTTTACGGTGC GCGGTTTTTAGTTTTTCGCGG TTTT TTCTTTTTCG
서열 번호: 231	OPLAH 정방향 프라이머	CGTCGCGTTTTTCGGTTATACG
서열 번호: 232	OPLAH 역방향 프라이머	CGCGAAACTAAAAAACCGCG
서열 번호: 233	OPLAH 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGCACCGTAAAC/3C6/
서열 번호: 234	PARP15 표적 DNA	CGGAGTATGGTGAGGAGCGCGGGGACGGGTGCGGGAAGGGGACAGCAGGGCTGAGCCTGGGGCCCGCAAGAC CCAGCAGCCCCGAGCGGGCGCAGAGACCCACGCCACGCACA
서열 번호: 235	PARP15 전환된 DNA	CGGAGTATGGTGAGGAGCGCGGGGACGGGTGCGGGAAGGGGATAGTAGGGTTGAGTTTGGGGTTCGTAAGAT TTAGTAGTTTCGAGCGGGCTAGAGATTTTACGTTACGTATA
서열 번호: 236	PARP15 정방향 프라이머	G GTTG AGTTTG GG GTTCG
서열 번호: 237	PARP15 역방향 프라이머	CGTAACGTAAATCTCTACGCC

도면5j

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 238	PARP15 풀랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGCTCGAACTAC/3C6/
서열 번호: 239	PRDM14 표적 DNA	GGAGAGCAGCCCGCAGAACCTGGCCGCGTACTACACGCTTTCCCGTCTATGGACACTACAGAAACAGCCTGGCC ACCGTGGAGGAAGACTTCC
서열 번호: 240	PRDM14 전환된 DNA	GGAGAGTAGTTCGTAGAATTTGGTCGCTATTATACGTTTTTTTCG TTTTATG G ATATTATAG AAATAGTTGGTTAT CGTGGAGGAAGATTTT
서열 번호: 241	PRDM14 정방향 프라이머	GAGTAGTTCGTAGAATTGGTCG
서열 번호: 242	PRDM14 역방향 프라이머	CCACGATAACCAACTATTTCTATAATATCC
서열 번호: 243	PRDM14 풀랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGCTATTATACG/3C6/
서열 번호: 244	PRDM14 정방향 프라이머 v3	GGAGAGTAGTTCGTAGAATTTGG
서열 번호: 245	PRDM14 역방향 프라이머 v3	CTATTTCTATAATCCATAAAACGAAAAAACGT
서열 번호: 246	PRDM14 풀랩 올리고뉴클레오타이드 v3	CCACGGACGCTCGCTATTAT/3C6/
서열 번호: 247	PRKCB_28 표적 DNA	GGGAAGGTGCTTGGCGCGCGCTCACCAGATGAAGTCGGTGCAGTGGTGCAGAAGGTGGGCTGCTTGAAG AAGCGGCGGTGAATTTG
서열 번호: 248	PRKCB_28 전환된 DNA	GGGAAGGTGTTTTGGCGCGCGCTTTATTAGATGAAGTCGGTGTAGTGGTTGTAGAAGGTGGTTGTTTGAAGA AGCGGCGGTGAATTTG
서열 번호: 249	PRKCB 28 정방향 프라이머	G G AAG GTGTTTTGCG CG
서열 번호: 250	PRKCB 28 역방향 프라이머	CTTCTACAACCACTACACCGA
서열 번호: 251	PRKCB 28 풀랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGCGCTTTAT/3C6/
서열 번호: 252	PTGDR 표적 DNA	GCCTCGGGGCCGGGACTCACAAATTACGGGAGAGAACATAGTGAAGACACGGTCATCAGCGCCAGCAGCA GGAGGTATCCAGCTCCTCCAGGGCTGAGGG
서열 번호: 253	PTGDR 전환된 DNA	GTTTCGGGTTTCGGGGATTATAATTACGGGTAGAGAATATAGTGAAGAGTACGGTTATTAGCGTTAGTAGTAG GAGGTGATTTAGTTTTTTAGGGTTGAGGG
서열 번호: 254	PTGDR 정방향 프라이머	GGGTTTCGGGATTATAATTACGG
서열 번호: 255	PTGDR 역방향 프라이머	CCTCTACTACTAACGCTAATAACC
서열 번호: 256	PTGDR 풀랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGTACTCTTAC/3C6/
서열 번호: 257	PTGDR_9 표적 DNA	GGCGGCTGCAGCGCACCCGCGCTCTGCAACGAGGACTGTCCGAGCCGCGCGGACGGGAGGGAAGCGTCCCCTCAG
서열 번호: 258	PTGDR_9 전환된 DNA	GGCGTTGTAGCGGTATTCGCG TTTTTG 1AITAGGGATTGTGCGAGTCGCGCGGACGGGAGGGAAGCGTTTTT TTAG
서열 번호: 259	PTGDR 9 정방향 프라이머	GTTGTAG CGGTATTCC CG
서열 번호: 260	PTGDR 9 역방향 프라이머	CTTCTCTCCGTCGCGC
서열 번호: 261	PTGDR 9 풀랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGCGCGACTCGACA/3C6/
서열 번호: 262	RASSF1 (인간) 표적 DNA	TCCAGAAACACGGGTATCTCCGCTGGTGCTTTGCGGTCGCCGCTGTTGTGGCCGTCGGGGTGGGGTGTGAGGA GGGGACGAAGGAGGGAAGGAAGGCAAGGCGGGGGGGGCTCTGCGAGAGCGCGCCAGCCCCGCCTTC
서열 번호: 263	RASSF1 (인간) 전환된 DNA	TTTAGAAATACGGGTATTTTCGCGTGGTGTGTTTTCGGTCTGCTGCTGTTGTGGTCTGTTGGGGTGGGGTGTGAGGAG GGGACGAAGGAGGGAAGGAAGGTAAGCGGGGGGGTTTTGCGAGAGCGCGTTTATTGTTCTGTTTTT
서열 번호: 264	RASSF1 (인간) 정방향 프라이머	AGAAATACGGGTATTTTCGCG
서열 번호: 265	RASSF1 (인간) 역방향 프라이머	CCACAACGACGACGACC
서열 번호: 266	RASSF1 (인간) 풀랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGCAAAACACCA/3C6/

도면5k

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 267	SHOX2 표적 DNA	CGGTCGGGACGGCGGACGGAGATTACCTGGCTGCCAGGGACCTTATGCAGGGTTTGGCCGAGCCAGGGGC AGCGAGGGGCGTCTCGGGATGCGGCTCCCTGTGCGGCACAAACACC
서열 번호: 268	SHOX2 전환된 DNA	CGGTCGGGTAGGCGGGACGGAGATTATTTGTTGTTTAGGGGATTTATGTAGGGTTTGGTTCGAGTTTAGGGGTA GCGAGGGGCGTTTTCGGATGCGGTTTTTTGTGCGGTATAATATT
서열 번호: 269	SHOX2 정방향 프라이머	GTTTCGAGTTTAGGGGTAGCG
서열 번호: 270	SHOX2 역방향 프라이머	CCG CACAAAAAACCG CA
서열 번호: 271	SHOX2 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGATCCGCAACGC/3C6/
서열 번호: 272	SHROOM1 표적 DNA	CCGGAGCACTCGCGCTGCGCGCCCTGAAGCCGCTGGCGGTAGGCGGCCCTCGAG
서열 번호: 273	SHROOM1 전환된 DNA	TCG G AGTATTCGCTGTTGCG CGTTTTG AAGTCGTTG GCG GTAG GCG GTTTTCG AG
서열 번호: 274	SHROOM1 정방향 프라이머	G GAGTATTCGCTGTTG CG
서열 번호: 275	SHROOM1 역방향 프라이머	CGAAAAACCGCTACCGC
서열 번호: 276	SHROOM1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGGCGTTTTGAAGT/3C6/
서열 번호: 277	SKI 표적 DNA	CCCGGGCTACGGTCTCCCGCACCTCCACGGGGCGGCTGTTGGGGCCCCACAGGCAGAGCCGTGTTCTCAGGC GTTGGCTCTCATGGAGGTGG
서열 번호: 278	SKI 전환된 DNA	TTCCGGTTTACGTTTTTTT CGTATTTTTACGGGGCGGTTGTTGGGGTTTTATTAGTAGAGTCGTGTTTTTAGCGT TGGTTTTTATGGAGGTGG
서열 번호: 279	SKI 정방향 프라이머	ACGG TTTTTCTGTTATTTTTACGGG
서열 번호: 280	SKI 역방향 프라이머	CAACGCTAAAAACGACTC
서열 번호: 281	SKI 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGGGCGTTGTTGG/3C6/
서열 번호: 282	S1PR4 표적 DNA	GGGCTGTCCGTTCCCTGCTCCCATACAGGCGAGGCTGCTGCACACAGCTTCCTGTACCCAGGAGGGCCTGCC TGGCACGCACCCGCTGGCTGCACCATCCACACGCAAGACTGCAACTTCAGATGCTCCGCACGCTGGAGATG
서열 번호: 283	S1PR4 전환된 DNA	GGGTTTGTTCG TTTTTTGTTTTTATAGGCGAGGTGCGGTATATAGTTTTTTGATTTTAGGAGGTTTG TTG GTACGTATTCGGTGGTGTATTTATACGTAAGATTGTAATTTTAGATGTTTCGTACGTTGGAGATG
서열 번호: 284	S1PR4 정방향 프라이머	TTATATAG GCGAGGTTGCGT
서열 번호: 285	S1PR4 역방향 프라이머	CTTACGTATAAATAATAACAACACCCGAATA
서열 번호: 286	S1PR4 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGACGTACCAACA/3C6/
서열 번호: 287	SLC12A8 표적 DNA	CGGAGCTAGGAGGTGGGGCTCGGAGGGCGCAGGAAGAGCGGCTCTGCGAGGAAAGGAAAGGAGAGGCCGC TTCTGGGAAGGGACCC
서열 번호: 288	SLC12A8 전환된 DNA	CGGAGTTAGGAGGTGGGGTTCGGAGGGCGTAGGAAGAGCGGTTTTGCGAGGAAAGGAAAGGAGAGTCTGT TTTGGGAAGGGATTT
서열 번호: 289	SLC12A8 정방향 프라이머	TTAGGAGGTGGGGTTCG
서열 번호: 290	SLC12A8 역방향 프라이머	CTTTCCTCGAAAACCGC
서열 번호: 291	SLC12A8 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGGAGGGCGTAGG/3C6/
서열 번호: 292	SOBP 표적 DNA	GCCCCGGCGGGCCCCGAGGCGGCCGCGGCTGCAACGTCATCGTGAAACGGCACGCGCGG
서열 번호: 293	SOBP 전환된 DNA	GTTTCGCGGGTTTCGAGGCGTTCGCGGTTTGTAACTTATCGTGAACGGTACGCGCGG
서열 번호: 294	SOBP 정방향 프라이머	TTTCGGCGGGTTTCGAG
서열 번호: 295	SOBP 역방향 프라이머	CGTACCGTTCACGATAACGT
서열 번호: 296	SOBP 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGGCGGTCGCGGT/3C6/
서열 번호: 297	SOBP 플랩 올리고뉴클레오타이드 v2	CGCCGAGGTTACAAACCGCG/3C6/
서열 번호: 431	SOBP 플랩 올리고뉴클레오타이드 v3	CGCGCCGAGGTTACAAACCGCACCG/3C6/

도면51

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 298	SPOCK2 표적 DNA	CTAGGCGAGATGGTGGGAAGCGGTGCTCCGTACGGGGTGGGCTGGGGTCCCGTGCAGAAGGGCGCGCAGGACC CAGGCTGGTTTTCCC
서열 번호: 299	SPOCK2 전환된 DNA	TTAGGCGAGATGGTGGGAAGCGGTGCTCGTACGGGGTGGGTTGGGTTTTCTGTGAGAAGGGCGCGCAGGATTT AG GTTG GTTTTTTT
서열 번호: 300	SPOCK2 정방향 프라이머	CGAGATGGTGGAAAGCGC
서열 번호: 301	SPOCK2 역방향 프라이머	GCCTCTTCTACACGAA
서열 번호: 302	SPOCK2 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGTGTCTGACGG/3C6/
서열 번호: 303	ST8SIA1 표적 DNA	GCGTCTGCTGCGCCGCCAGGCAAGCGAGGGTCCGGGAGAAGGCTCGGCTCCCTCTAAACATGTGGCCCGTGGCG TCCCCTTGTCCCTCCGAGCGATGCTCTGCGCCCTTCCGCGCTCCCGCGCTGCTGCGCCCGCAGGCAA
서열 번호: 304	ST8SIA1 전환된 DNA	GGCGAGGTTCCGGGAGAAGGTCGGTTTTTTTTAAATATGTGGTTCGTGGCGTTTTTGTTTTTTTCGAGCGATGT TTTTGCGTTTTTTCGTGTTTTTTCGCGTTGTTGCGTCTAGGTAA
서열 번호: 305	ST8SIA1 정방향 프라이머	AAATATGTGGTTCGTGGCGTT
서열 번호: 306	ST8SIA1 역방향 프라이머	ACGCAACAACGCGAAAAAC
서열 번호: 307	ST8SIA1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGCGACGAAAAACG/3C6/
서열 번호: 308	ST8SIA1_22 표적 DNA	ACGAGAAAGAGATCGTGCAGGGGGTGTCAACAGGGCACGGCTGGAGGAGAACAGACCGCGCCAGAGC GTTCAAGTACTCTGCCCCCGCGGCTCTCCCTCTAGCGTCTTTCTCCCCGAGTGCAGAGC
서열 번호: 309	ST8SIA1_22 전환된 DNA	ACGAGAAAGAGATCGTGCAGGGGGTGTCAATAGGGTACGGCTGGAGGAGGAATTAGATCGCGTTAGAGCG TTTAGGTATTTTTGTTTTCG CG G TTTTTTTTTTTAG CG TTTTTTTTTTTCGAGGTAGAGG
서열 번호: 310	ST8SIA1 22 정방향 프라이머	GGGGTGTGTAATAGGGTACG
서열 번호: 311	ST8SIA1 22 역방향 프라이머	CTAAACGCTCTAACGCGA
서열 번호: 312	ST8SIA1 22 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGCGTGGAGGAG/3C6/
서열 번호: 313	SP9 표적 DNA	CGCGCGTTGGTCACTCGCCGCCCGCAGCGTCAATGGAAGCCGACTTGACACGAGCTGTACGGGTGCGCC ATGCCACGCGGGGTACAGCCGCTCGGCTGCCGTCGTGTG
서열 번호: 314	SP9 전환된 DNA	CGCGTCTGTTGGTATTTCTGCGGTCTAGGCGTCAATGGAAGTTCGATTGTATTAGGATTCTACGGGTGCGTTA TGTTTACGCGCGGTATAGTTCGCGTTGTCGTCGTGTG
서열 번호: 315	SP9 정방향 프라이머	TAGCGTCGAATGGAAGTTTCA
서열 번호: 316	SP9 정방향 프라이머 유니버설	GGTCGTTAGCGTCGAATG
서열 번호: 317	SP9 역방향 프라이머	GCGCGTAAACATAACGCACC
서열 번호: 318	SP9 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCCGTACGAATCC/3C6/
서열 번호: 319	SUCLG2 표적 DNA	GGTTCCTTCCCGTGGGTCTTAATCGTCTCGTACTCCAGAATGAACTGCAGACCTCGCGTAAAGATGGCGT GACCAAGAA
서열 번호: 320	SUCLG2 전환된 DNA	GGTTTTTTCTGTTGGTTTTTAATCGTTTCGTTGATTTTGAAGTAAATTGTAGATTTTCGCGGTAAAGATGGCGTG ATTAGAA
서열 번호: 321	SUCLG2 정방향 프라이머	TCGTGGGTTTTTAATCGTTTCG
서열 번호: 322	SUCLG2 역방향 프라이머	TCACGCCATCTTACCGC
서열 번호: 323	SUCLG2 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGAAATCTACA/3C6/
서열 번호: 324	SUCLG2 정방향 프라이머 유니버설	GGTTTTTTCTGTTGGTTTTTAATCG
서열 번호: 325	SUCLG2 역방향 프라이머 유니버설	CTAATCACGCCATCTTACCG
서열 번호: 326	SUCLG2 플랩 올리고뉴클레오타이드 유니버설	CCACGGACGGTTCGTTGATT/3C6/
서열 번호: 327	TBX15 표적 DNA	GGAGTGAGTGCTCAACACGCGCAGGCCGACTGATCCCCGTTGCTGCAGGTTGGTCCCCAAGCTGCGGGTGCTC GGGCGCAACTAAAGCCAGCTCTGCCAGACGCGGAAAG

도면5m

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 328	TBX15 전환된 DNA	GGAGTGAAGTGTTTTFAACGCGTAGGTCGGATTGATTTTCGTTGTTAGGTTGGTGTTTTAAGTTGCGGGTGTTCG GGCGTTAATTAAAGTTAGTTTTTTAGACGCGGAAAG
서열 번호: 329	TBX15 Reg. 1 정방향 프라이머	CGTAGGTCGGATTGATTTTCG
서열 번호: 330	TBX15 Reg. 1 역방향 프라이머	TCTAAACAAAACTAACTTTAATTAACGCC
서열 번호: 331	TBX15 Reg. 1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGAACCCCGCA/3C6/
서열 번호: 403	TBX15 Reg. 2 표적 DNA	GGAAGGAAATTGCGGGTTCCTCCGTCTGCTCCAGCTTCTGCTGAAGCCCGTAGCAGTGAATGCGCGCTG ACTTTCAGCGACGACTCCTGGAAGCAACGCCA
서열 번호: 404	TBX15 Reg. 2 전환된 DNA	GGAAGGAAATTGCGGGTTCG TTT GTTTG TTTTTAG TTTTGTGAAGTTCGGTAGTAGTGAATGCGCGTTGAT TTTTAGCGACGATTTTTTGAAGTAACGTTA
서열 번호: 332	TBX15 Reg. 2 정방향 프라이머	AGGAAATTGCGGGTTCG
서열 번호: 333	TBX15 Reg. 2 정방향 프라이머 Univ.	GGAAGGAAATTGCGGGTTC
서열 번호: 334	TBX15 Reg. 2 역방향 프라이머	CCAAAAATCGTCGCTAAAAATCAAC
서열 번호: 335	TBX15 Reg. 2 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGCGCGATTCACT/3C6/
서열 번호: 336	TRH 표적 DNA	GGCGGCGCGACCCCTCCCGTCACTCACTGAGCCGCCGCTGGCGAGATATAAGCGCGGCCATCTGAAG AGGGCTCGGACGCGCCGGGCTC
서열 번호: 337	TRH 전환된 DNA	GGCGTCCGCGATTTTTTTCGTTGATTTATTCGAGTGTCTG TTTGGCGTAGATATAAGCGCGGTTTATTGAAGA GGGTTCTGAGGCGTTCGGGGT
서열 번호: 338	TRH 정방향 프라이머	TTTCGTTGATTTTATTCGAGTCTG
서열 번호: 339	TRH 역방향 프라이머	TCTCAAATAAACCGCCG
서열 번호: 340	TRH 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGTCGTTTGGCGT/3C6/
서열 번호: 432	TRH 정방향 프라이머 v2	TTTTCGTTGATTTTATTCGAGTGTCTG
서열 번호: 433	TRH 역방향 프라이머 v2	GAACCTCTTCAAATAAACCGC
서열 번호: 434	TRH 플랩 올리고뉴클레오타이드 v2	CGCGCCGAGGCGTTTGGCGTAGATATAAGC/3C6/
서열 번호: 341	TSC22D4 표적 DNA	CGGGTGGTGAAGCTGCCCGACGCGCTGGGAGAGCCTATCGCCGCGTCTGGACGTGTGGATGTTTATGAG CGAGACCTGGAGCCCAACAGCTTCGGCGGACTCCTGGAGGGAA
서열 번호: 342	TSC22D4 전환된 DNA	CGGGTGGTGAAGTGTTTTACGTTTGGGAGAGTTTATCTGCGCGGTGTTGGACGTGTGGATGTTTATGAGC GAGATTTGGAGTTTATAGTTTCGGCGGATTTTGGAGGGAA
서열 번호: 343	TSC22D4 정방향 프라이머	GTTTGGGAGAGTTTATCTGTCG
서열 번호: 344	TSC22D4 역방향 프라이머	CCTCCAAAAATCCGCCGA
서열 번호: 345	TSC22D4 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGCGGTCTGTGA/3C6/
서열 번호: 346	ZDHHC1 표적 DNA	GGGGCGGGGGCCGACAGCCACGCTGGCGCGGACGCGCTGCGCCCGCGTTTTCGTGAGCCCGAGCAC
서열 번호: 347	ZDHHC1 전환된 DNA	GGGGTGGGGTCTGATAGTTTACGTTGGCGGCGTAGGCGCGTGTCTGCTGTTTTCGTGAGTTCGAGTAG
서열 번호: 348	ZDHHC1 정방향 프라이머	GTCGGG GTCGATAGTTTACG
서열 번호: 349	ZDHHC1 역방향 프라이머	ACTCGAACTCACGAAACG
서열 번호: 350	ZDHHC1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGACGAAACGACG/3C6/
서열 번호: 351	ZMIZ1 표적 DNA	GGAGCCCCAGCCCCACGCGGGCACACGAGGGTGGGTGTCACGCCGAGGGTCCGCGAGCGCGCGCAGAG CGCGGGCCGTGGGAAGTTCTC
서열 번호: 352	ZMIZ1 전환된 DNA	GGAGTTTTAGTTTTACGCGGGTATACGTAGGGTGGGTGTTACGTTCTGAGGGTTCGCGAGCGCGCGTAGAGC GCGGGTCTGGGAAGTTTTT
서열 번호: 353	ZMIZ1 정방향 프라이머	GTAGGGTGGGTGTTACG
서열 번호: 354	ZMIZ1 역방향 프라이머	AACTTCCCACGACCCG
서열 번호: 355	ZMIZ1 플랩 올리고뉴클레오타이드	CGCCGAGGTTCTGAGGGTT/3C6/

도면5n

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 356	ZNF132 표적 DNA	GGCGCCGCCATTGCGGTCTCATTTTGTCTGGTGGGTGGGTACAGCAGCCCTGAGCCACACAGGGCAC GGGAGTGGGTGCAGGGACCGTACCCGCGCTTACACGCACCATAGTCCCC
서열 번호: 357	ZNF132 전환된 DNA	GGCGTGTATTATTCGCG TTTTATTTTGTGTGGTGGGTGGGTATAGTAGGTTTT GGAGTTATATTAGGTACG GGAGTGGGTGATAGGATCGTTATCGCGTTTTTATACGTATTATAGTGT
서열 번호: 358	ZNF132 정방향 프라이머	TGGAGTTATATTAGGGTACGGGA
서열 번호: 359	ZNF132 역방향 프라이머	ACACTATAATACGTATAAAAACGCGATA
서열 번호: 360	ZNF132 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGAACGATCCCTAC/3C6/
서열 번호: 361	ZNF329 표적 DNA	GGCGGCGAGGGGCGCGTCCGCGGGTGGGTTCACCTGGGTGGTGGCATGTCGGGCCGCTAGGGCGAGGGTCT GGCCAGGGCGTAGTTCTCTCGTGGTGGTGGGACGCTCCGTGGCGATTGGGGTCACTCCTCTGAGG
서열 번호: 362	ZNF329 전환된 DNA	GGCGGCGAGGGGCGCGTTCGCGGGTGGGTTCATTTGGTGGTGGGTATGTCGGGTCTGTTAGGGCGAGGGTTTTG GTTAGGGGCGTAGTTTTTTTGGTGGTGGGACGTTTCGTGGCGATTGGGGTATTTTTTGAGG
서열 번호: 363	ZNF329 정방향 프라이머	GGTGGTGGGTATGTCGG
서열 번호: 364	ZNF329 역방향 프라이머	CCAATCGCCACGAAACG
서열 번호: 365	ZNF329 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGGTTCGTTAGGG/3C6/
서열 번호: 366	ZNF671 표적 DNA	CCGTGGGCGCGACAGCTGCCGGAGCGGACGGCTCTCCTGATCGGGGACGAGGCACTCCGTCCTGCAGAGCA TCAGACGCGTCTCGGACACTGGGGACAACATCTCTCCGCG
서열 번호: 367	ZNF671 전환된 DNA	TCTGTGGCGCGATAGTTGTCGGAGCGGTAGCGTTTCGATCGGGGACGTAGTATTTCTGTTTTGTAGAGTAT TAGACGCGTTTCGGGATATTGGGATAATATTTTTTCGCG
서열 번호: 368	ZNF671 정방향 프라이머	GTTGTCGGGACGGTAGG
서열 번호: 369	ZNF671 역방향 프라이머	CCAATATCCGAAACGCGTCT
서열 번호: 370	ZNF671 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGCGTTTCGATCG/3C6/
서열 번호: 371	ZNF781 표적 DNA	AAGCTGCGCCCGAGACGCTGGGAGCGTCTCTGTTTCCGAGTGCAGGACTCATCGGGTACAGTTTATGCTTTT ATGACGCGGTGAGTCCAGCCACTGATTCCTAACGGTTAGAGT
서열 번호: 372	ZNF781 전환된 DNA	AAGTTGCGTTTCGAGACGCTGGGAGCGTTTTTTGTTTTTCGAGTGCAGGATTATCGGGTATAGTTA/GI TTTTA TGACGCGGTGAGTTTATGTTTATGATTATTAACGGTTAGAGT
서열 번호: 373	ZNF781 정방향 프라이머	CGTTTTTTTTTTTCGAGTGGC
서열 번호: 374	ZNF781 역방향 프라이머	TCAATACTAACTCACCAGTCT
서열 번호: 375	ZNF781 플랩 올리고뉴클레오타이드	CCACGGACGGCGATTATCG/3C6/
서열 번호: 435	ZNF781 플랩 올리고뉴클레오타이드 v2	AGGCCACGACGCGGATTATCGGGTATAGT/3C6/
서열 번호: 376	β-액틴 표적 DNA (ACTB)	CTCTGACCTGAGTCTCTTTGGAAGTCTGCAAGTCTATTGCTTTTCCAGATGAGCTCTTTTCTGGTG TTTGCTC TCTGACTAGGTGTCTAAGACAGTGTGTGGGTGAGGTACTAAGTCTGCTGTGTGACAAAGGCATGAGGCTGGT GTAAAGCGGCTTGAGGTGTGATTAAAGTGGTGCACAGTAGGTCTGAACAGACTCCCATCCCAAGA
서열 번호: 377	β-액틴 전환된 (8TACT)	TTTTGATTGAGTTTTTTTGAAGTTTTGTAGGTTTTATTTGTTTTTTAGATGAG TTTTTTGGTGTGTTTTT TGATTAGGTGTTAAGATAGTGTGTGGGTGAGGTATTAATATTGTTTGTGTGATAAGGTTATGAGGTTGGTGT AAAGTGGTTTTGAGGTGTGATTAAAGTAGGTGATAGTAGTGTGAATAGATTTTTTATTTAAGA
서열 번호: 378	β-액틴 UT 정방향 프라이머	CCATGAG GCTG GTGTAAAG
서열 번호: 379	β-액틴 UT 역방향 프라이머	CTACTGTGCACCTACTTAATACAC
서열 번호: 380	β-액틴 UT 프로브 (부분 1)	CGCCGAGGGCGGCTTGAG/3C6/
서열 번호: 381	β-액틴 BT 정방향 프라이머 65	GTG TTTGTTTTTTGATTAGGTGTTAAGA
서열 번호: 382	β-액틴 BT 역방향 프라이머 65	CTTTACACCAACCTCATAACCTTATC

도면5o

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 383	β-액틴 BT 프로브 (부분 3)	G ACG CG GAGATAGTTGTGG/3 C6/
서열 번호: 384	B3GALT6 표적 DNA	GGCCACACAGGCCACTCTGGCCCTCTGAGCCCCGGCGGACCCAGGGCATTCAAGGAGCGGCTCTGGGTGCCAG CGCAGGCTCCGCGCAACACAGCAGCTGGAAGTGGCGCTCATCACCAGCAGTCTCCAG
서열 번호: 385	B3GALT6 전환된 DNA	GGTTATATAGGTTATTTTGGTTTTTGAAGTTTCGCGGAGTTAGGTTATTAAGGAGCGG TTTGGTTGTAGCG TAGGTTTTCGCGTAAATATAGTAGGTTGGAAGTGGCGTTTATTATCGGTACGTTTTTTAG
서열 번호: 386	B3GALT6 정방향 프라이머	GGTTTATTTGGTTTTTGGTTTTTCGG
서열 번호: 387	B3GALT6 역방향 프라이머	TCCAACCTACTATATTTACGCGAA
서열 번호: 388	B3GALT6 플랩 올리고뉴클레오타이드 (부분 5)	CCACGGACGGCGGATTAGGG/3C6/
서열 번호: 436	B3GALT6 플랩 올리고뉴클레오타이드 v2 (부분 5)	ACGGACGCGGAGCGGATTAGGTTATTAAGGAG/3C6/
서열 번호: 389	제브라피시 (ZF) 합성 표적 DNA (RASSF1)	TCCAC/Ime-dC/GTGGTGCCCACTCTGGACAGGTGGAGCAGAGGGAAGGTGGT/Ime-dC/GCATGGTGGG/Ime- dC/GAG/Ime-dC/G/Ime-dC/GTGG/Ime-dC/GCCTGGAGGACCC/Ime-dC/GATTGGCTGA/Ime- dC/GTGTAAACAGGA/Ime- dC/GAGGACATGACTTTACGCCCTGCAGCCAGACAGCTGAGCTGGTGTGACCTGTGTGGAGAGTTCACTCTGG
서열 번호: 390	제브라피시 (ZF) 전환: 합성 표적 DNA	TTTATCTGGTGTGTTATTTTGGATAGGTGGAGTAGAGGGAAGGTGGTGGTATGTTGGGCGAGCGCGTGGTTTTG GAGGATTTGATTGGTTGACGTGTAATTAGGACGAGGATGATTTTTAGTTTTGTAGTTAGATATAGTTAGTTG GTGTGATTGTGTGGAGAGTTATTTG
서열 번호: 391	ZF RASSF1 UT 정방향 프라이머	CGCATGGTGGGCGAG
서열 번호: 392	ZF RASSF1 UT 역방향 프라이머	ACACGTCAGCCAATCGGG
서열 번호: 393	ZF RASSF1 UT 프로브 (부분 3)	GACGCGGAGGCGCGTGGCC/3C6/
서열 번호: 394	ZF RASSF1 BT 정방향 프라이머	TGCGTATGGTGGGCGAG
서열 번호: 395	ZF RASSF1 BT 역방향 프라이머	CCTAATTACAGTCAACCAATCGAA
서열 번호: 396	ZF RASSF1 BT 프로브 (부분 3)	GACGCGGAGGCGCGTGGTT/3C6/
서열 번호: 397	ZF RASSF1 BT 프로브 (부분 5)	CCACGGACGGCGCGTGGTT/3C6/
서열 번호: 398	부분 1 QUASAR-670 FRET 카세트	Q670-TCT-BHQ-2-AGCCGGTTTTCCGGCTGAGACCTCGGCG/3C6/
서열 번호: 399	부분 1 HEX FRET 카세트	/HEX/ TCT/BHQ-1/AGCCGGTTTTCCGGCTGAGACCTCGGCG/3C6/
서열 번호: 400	부분 3 QUASAR-670 FRET 카세트	Q670-TCT-BHQ-2/AGCCGGTTTTCCGGCTGAGACTCCGCGTC/3C6
서열 번호: 401	부분 5 FAM FRET 카세트	d-FAM-TCT-BHQ-1-AGCCGGTTTTCCGGCTGAGACGTCCTGG/3C6/
서열 번호: 402	부분 7 FAM FRET 카세트	d-FAM-TCT-BHQ-1-AGCCGGTTTTCCGGCTGAGACGTCCTGG/3C6/

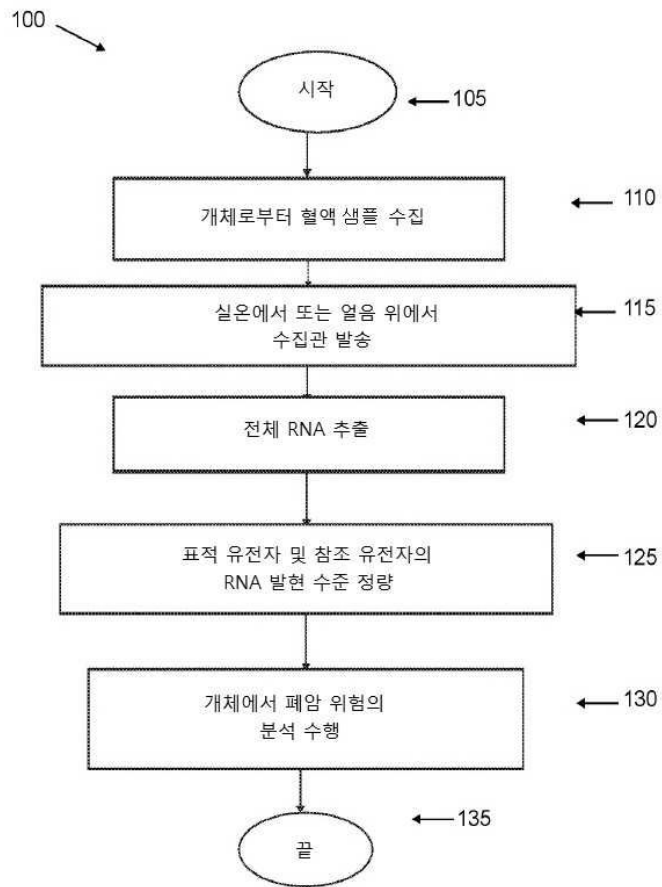
도면5p

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 437	FPR1 mRNA 전사제 변이제 1	AAUCAUUAAGAGCCUGAGUCACUCUCCCCAGGAGACCCAGACCUAGAACUACCCAGAGCAAGACCACAGCUGGU GAACAGUCCAGCCUGUCUCCAGUUGGACUAGGCCACAAUUAAGUGCUUUGAAAACCAUUGGGAGCAGACAA SAUGGAGACAAAUCCUUCUCCCCACGAACUUCUGGAGGACACUUGCUUAUUCUGGCUUACUUCUU CCUGGAUAUCAUCACUUAUCUGGUUUUUGAGIICACCUUIIGUCCUGGGGUCCUGGGCAACGGGCUUGUGA UCUGGGGGGUGGAUCCGGAUGACACACAGUCAACCAUAGUUACCUAGAACUUGGCGUGGCUAGACU UCUGUUUACCUCCAUUUGCCAUUUCUUGGUCAGGAAGGCCAUUGGGAGACAUUGGCUUUCUGGCUUGG UUCCUGUGCAAAUUCGUUUUACCAUAGUGGACAUCAACUUGUUGGAGUGUCUCCUGAUCGCCUCCAU UGCUCUGGACCGUGUUGUUGGCUCCUGCAUCCAGUCUGGACCCAGAACCCGACCCGAGCCUUGGCGCAAG AAGGUGAUCAUUGGGCCUUGGUGAUGGCUUGCUCACATTUCCAGUUUAUUAUUCUGUGACUACAGI ACCUUGUAAAACGGGGACAGUAGCCUGACUUAUUAACUUAUUGCCUUGGACCAACGCCUAAAAGAGAGGAU AAAUUGGGCCUUGCCAUGUUUGACGGUGAGAGGCAUCCCGUUAUCAUUGGCUUACGCGCACCCAUUG CCAUGUUGCUGUACAUUUGGGCUUAUUGCCACCAAGAUCCAAAGCAAGGCUUGAUUAGIICAGUCGUC CCLUACGGGUCCUCCUUGUUGCGAGCAGCCUUAUUAUUCUGUGUCCCAUUAUACAGGUGGUGGCCUUA UAGCCACAGUCAGAAUCCGUGAGUUAUUGCAAGGCAUGUACAAGAAUUGGAUUGCAGUGGAUUGGACA AGUGCCUUGGCCUUCUUAACAGCUGCCUACCCCAUGUCUUAUGUCUUAUGGGCCAGGACUUCGGGAG AGGCUUAUCCACGCCUUCGCCGACUCUGGAGAGGGCCUUGACCGAGGACUACACCAACAGUGACACAG CUACCAUUCUUAUUAUCCUUGCAGAGGUGGAGUUAACAGGCAAGUGAGGAGGAGCUGGGGACACU UCGAGCUCCAGCUCAGCUUUCUCUACCUUAGGUGUAGGCCAGGCAUUAUUCGUUAUUAUUGG AUUAACCAUCUACUAGAAAGAAAAAAGCCUUGUGUCCUUGAUUUGGGGAGAAUAAACAGAUUAG UUUUAUA
서열 번호: 438	FPR1 합성 표준 RNA	GUUGCCAUGUUGACGGUGAGAGGCAUCCCGUUAUCAUUGGCUUACAGCGACCCCAUGUCCAUUGC UGUCAGUUAUUGGGCUUAUUGCCACCAAGAUCCACA
서열 번호: 439	FPR1 정방향 프라이머	TGACGGTGAGAGGCATCA
서열 번호: 440	FPR1 역방향 프라이머	GGTGGCAATAAGCCATACTG
서열 번호: 441	FPR1 가수분해 프로브	CG GTTCATCATG G CTTCAGCG C
서열 번호: 443	FPR1 정방향 프라이머 V3	CCAGTTGGATAGCCACAATTCAAG
서열 번호: 444	FPR1 역방향 프라이머 V3	AG G AATTTGTCTCATCTTGCTG C
서열 번호: 445	FPR1 플렉스 올리고뉴클레오타이드 V3 (부분 1)	CGCGCCGAGG CTCCACATGTGTTTTCAAG/3C6/
서열 번호: 446	FPR1 플렉스 올리고뉴클레오타이드 V3 (부분 5)	AGGCCACGGACGCTCCACATGTGTTTTCAAG/3C6/
서열 번호: 442	NY-ESO-1 항원 단백질	MQAEGRTGGTGDADGPGGPGIPDGPNGNAGGPGGAGATGGRGPRGAGAAASGPGGAPRGPHGGAAGLNG CCRCGARGPESRLLEFYLAMFPATPMEALARRSLAQDAPLPVPGVLKEFTVSGNLTIRLTAADHRQLQLSISISCLQL SLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR
서열 번호: 447	APOBEC3A 정방향 프라이머 VI	G CCCAAGTCTCCATCATG AC
서열 번호: 448	APOBEC3A 역방향 프라이머 VI	G GTGGTCCACAAAG GTGTC
서열 번호: 449	APOBEC3A 플렉스 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 1)	CG CGCC AG GCCTACG ATG AATTAAAG CACTG/3 C6/
서열 번호: 450	APOBEC3A 플렉스 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 3)	ACGGACGCGGAG CCTACGATGAATTAAGCACTG/3C6/
서열 번호: 451	APOBEC3A 플렉스 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 5)	AGGCCACGGACG CCTACGATGAATTAAGCACTG/3C6/
서열 번호: 452	MMP9 정방향 프라이머 VI	ACGACCGGTTTGCTTCT
서열 번호: 453	MMP9 역방향 프라이머 VI	CCATCAGCATTGCCGTC
서열 번호: 454	MMP9 플렉스 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 1)	CGCGCCGAGGCTGGGTGTAGAGTCTCTC/3C6/
서열 번호: 455	MMP9 플렉스 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 3)	ACGGACGCGGAGCTGGGTGTAGAGTCTCTC/3C6/

도면5q

	설명	서열 (모두 5'에서 3'로 도시된다)
서열 번호: 456	MMP9 플랩 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 5)	AGGCCACGGACGCCTGGGTGTAGAGTCTCTC/3C6/
서열 번호: 457	SELL 정방향 프라이머 V3	TATCATTTGGCTGGCAAGGAG
서열 번호: 458	SELL 역방향 프라이머 V3	TCACCAAGGGCGATTAAATATGG
서열 번호: 459	SELL 플랩 올리고뉴클레오타이드 V3 (부분 1)	CGCGCCGAGGGGTCACTCATCTCTCTGG AT/3C6/
서열 번호: 460	SELL 플랩 올리고뉴클레오타이드 V3 (부분 3)	ACGGACGCGGAGGGTCACTCATCTCTCTGGAT/3C6/
서열 번호: 461	PADI4 정방향 프라이머 VI	AGAACATGGATGACCACTGGAT
서열 번호: 462	PADI4 역방향 프라이머 VI	GGCAGCGTTTTGTGGGG
서열 번호: 463	PADI4 플랩 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 1)	CGCGCCGAGGTGCAGGATGAAATGGAGATC/3C6/
서열 번호: 464	PADI4 플랩 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 3)	ACGGACGCGGAGTGCAGGATGAAATGGAGATC/3C6/
서열 번호: 465	S100A9 정방향 프라이머 V2	TGCGAAAAGATCTGCAAAATTTTCTC
서열 번호: 466	S100A9 역방향 프라이머 V2	AGGTCTTCCATGATGTGTTCTATG
서열 번호: 467	S100A9 플랩 올리고뉴클레오타이드 V2 (부분 1)	CGCGCCGAGGCAAGAAGGAGAATAAGAATGAAAAGG/3C6/
서열 번호: 468	S100A9 플랩 올리고뉴클레오타이드 V2 (부분 3)	ACGG ACG CG G AG CAAG AAG G AG AATAAG AATG AAAAG G/3C6/
서열 번호: 469	S100A9 플랩 올리고뉴클레오타이드 V2 (부분 5)	AGGCCACGGACGCAAGAAGGAGAATAAGAATGAAAAGG/3C6/
서열 번호: 470	S100A12 정방향 프라이머 V5	CTG CTTACAAAG GAG CTTGCA
서열 번호: 471	S100A12 역방향 프라이머 V5	GCCTTGGAAATATTTCAATGACAG
서열 번호: 472	S100A12 플랩 올리고뉴클레오타이드 V5 (부분 1)	CGCGCCGAGGGCTTTATCTTTGATATTCTTGATGGT/3C6/
서열 번호: 473	S100A12 플랩 올리고뉴클레오타이드 V5 (부분 5)	AGGCCACGGACGGCTTTATCTTTGATATTCTTGATGGT/3C6/
서열 번호: 474	TYMP 정방향 프라이머 VI	G G ATTCA ATGTC ATCCAG AG CC
서열 번호: 475	TYMP 역방향 프라이머 VI	TCTGACCCACGATACAGAG
서열 번호: 476	TYMP 플랩 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 1)	CGCGCCGAGGCCAGAGCAGATGCAAGT/3C6/
서열 번호: 477	TYMP 플랩 올리고뉴클레오타이드 VI (부분 5)	AGGCCACGGACGCCAGAGCAGATGCAAGT/3C6/
서열 번호: 478	STK4 정방향 프라이머 V5	ACATGCAAACTTGCAATTTTGG
서열 번호: 479	STK4 역방향 프라이머 V5	TGTTCTATCACTGTATTCG CT
서열 번호: 480	STK4 플랩 올리고뉴클레오타이드 V5 (부분 3)	ACGGACGCGGAGTTGGCCATGGTATCTGTAAG/3C6/
서열 번호: 481	STK4 플랩 올리고뉴클레오타이드 V5 (부분 5)	AGGCCACGGACGTTGGCCATGGTATCTGTAAG/3C6/
서열 번호: 482	SKP1 2 정방향 프라이머	GCCGGCGTCTCCTTAAC
서열 번호: 483	SKP1 2 역방향 프라이머	TCTCCATCAGAACTCTGCAAC
서열 번호: 484	SKP1 2 플랩 올리고뉴클레오타이드, (부분 3)	ACGGACGCGGAGCACCGAACACCATGCC/3C6/
서열 번호: 485	CASC3a 정방향 프라이머	GTGCTGAGGAGTCGGAGTG
서열 번호: 486	CASC3a 역방향 프라이머	TCCGAGAGAACAGCATCACC
서열 번호: 487	CASC3a 플랩 올리고뉴클레오타이드, (부분 1)	CGCGCCGAGGGTGAGAGTGAAGATGGCATT/3C6/
서열 번호: 488	CASC3a 플랩 올리고뉴클레오타이드, (부분 5)	AGGCCACGGACGGTGAGAGTGAAGATGGCATT/3C6/
서열 번호: 489	HNRNPA1 정방향 프라이머 V4	TTTGTAACCTTTGACGACCATGAC
서열 번호: 490	HNRNPA1 역방향 프라이머 V4	G GCCATTACAGTATG GTATTTCT
서열 번호: 491	HNRNPA1 플랩 올리고뉴클레오타이드 V4 (부분 5)	AGGCCACGGACGTGAATGACAATCTTATCCACGG/3C6/

도면6

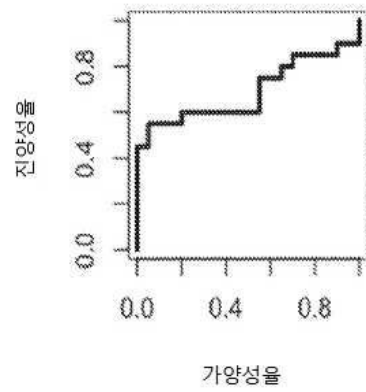


도면7a

FPR1 mRNA

A.

훈련 세트

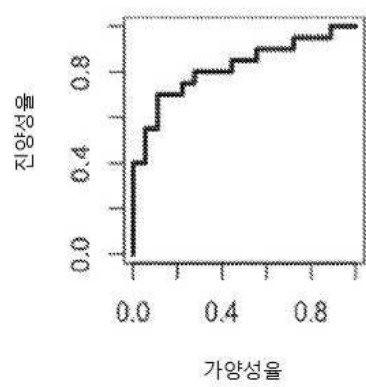


도면7b

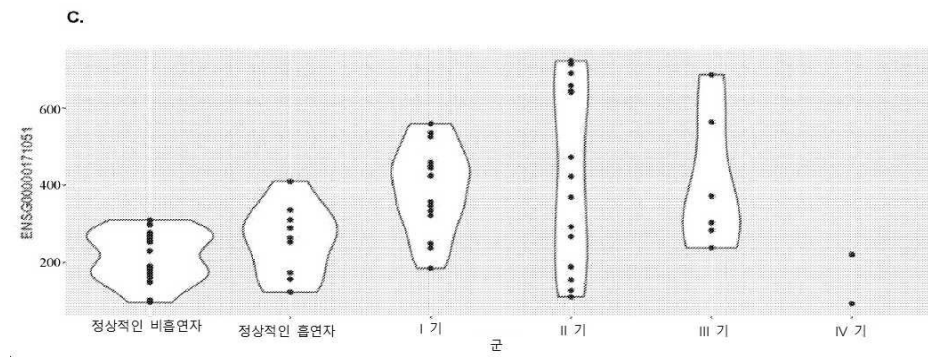
B.

검증 AUC 0.82 (0.68-0.96)

검증 세트



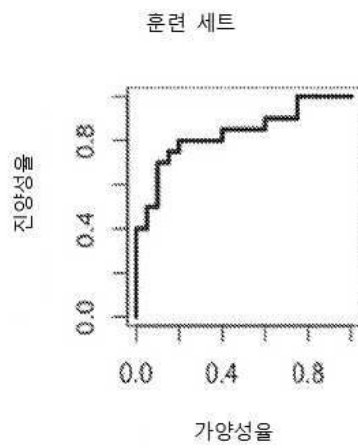
도면7c



도면8a

S100A12 mRNA

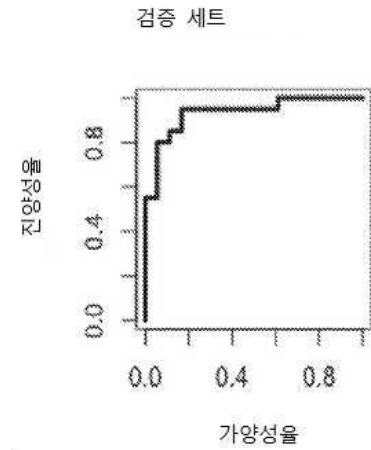
A.



도면8b

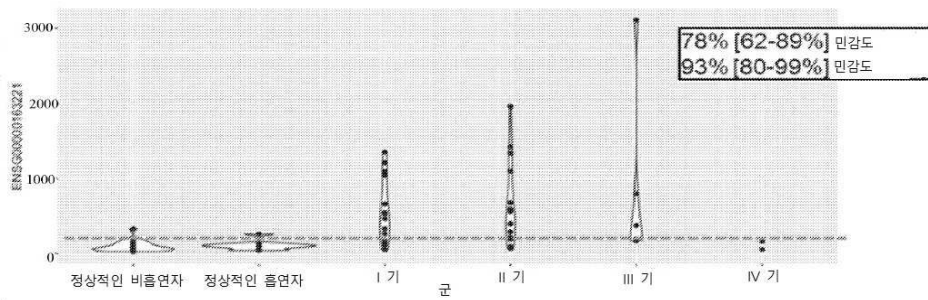
B.

검증 AUC 0.93 (0.85-1.00)



도면8c

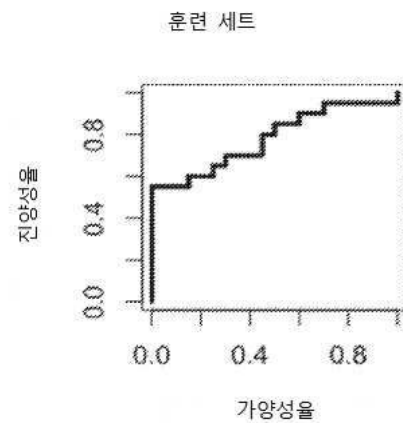
C.



도면9a

MMP9 mRNA

A.

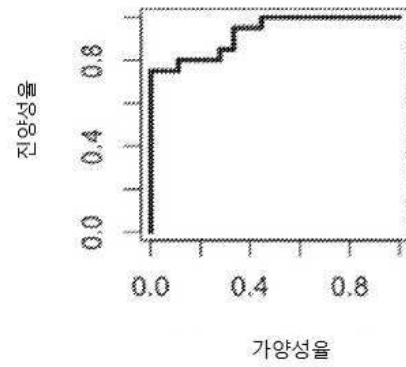


도면9b

B.

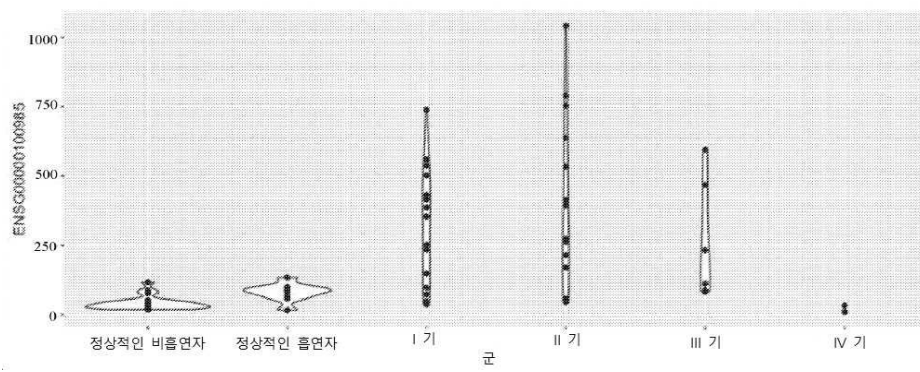
검증 AUC 0.93 (0.85-1.00)

검증 세트



도면9c

C.

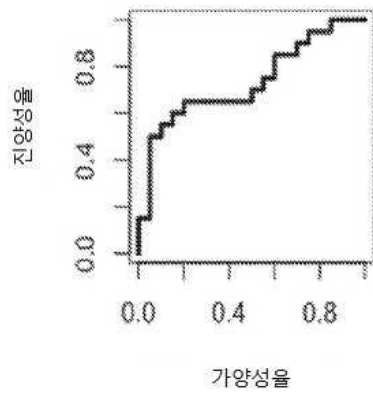


도면10a

SAT1 mRNA

A.

훈련 세트

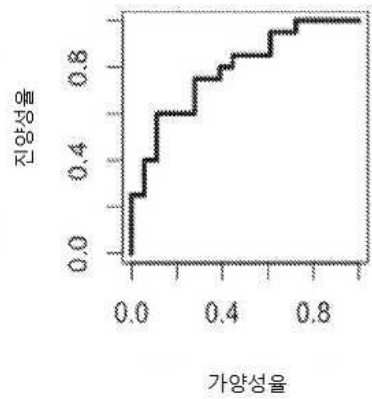


도면10b

B.

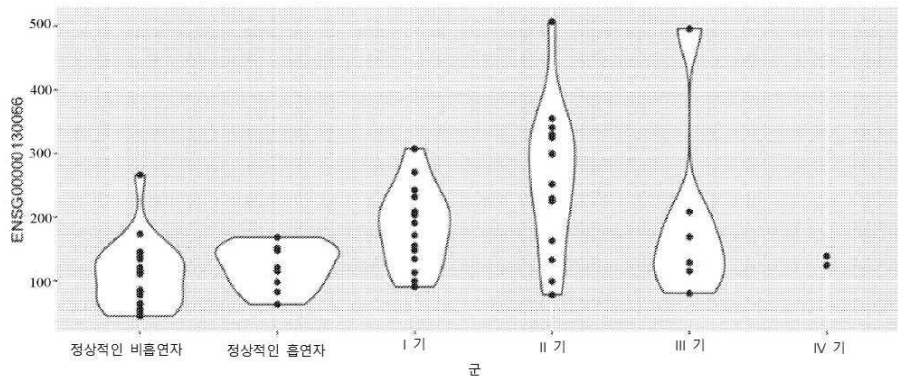
검증 AUC 0.79 (0.64-0.93)

검증 세트



도면10c

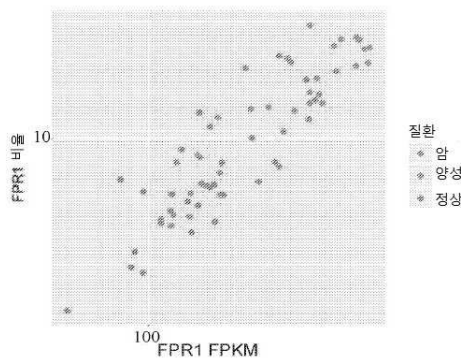
C.



도면11

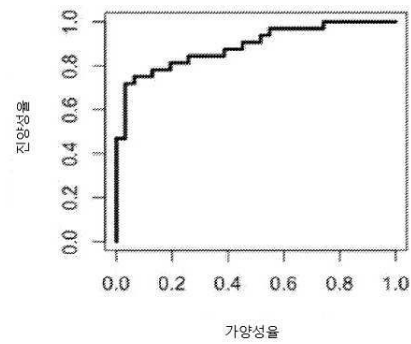
FRP1 mRNA

A.



B.

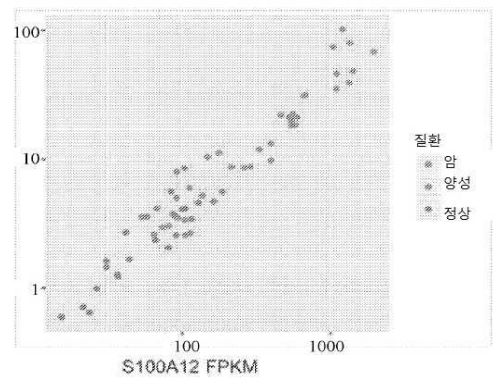
STK4에 대한 비율
AUC 0.89 (0.81-0.97)



도면12

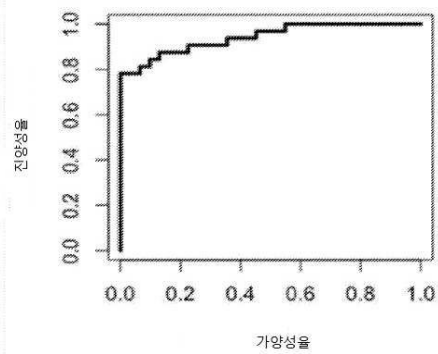
S100A12 mRNA

A.



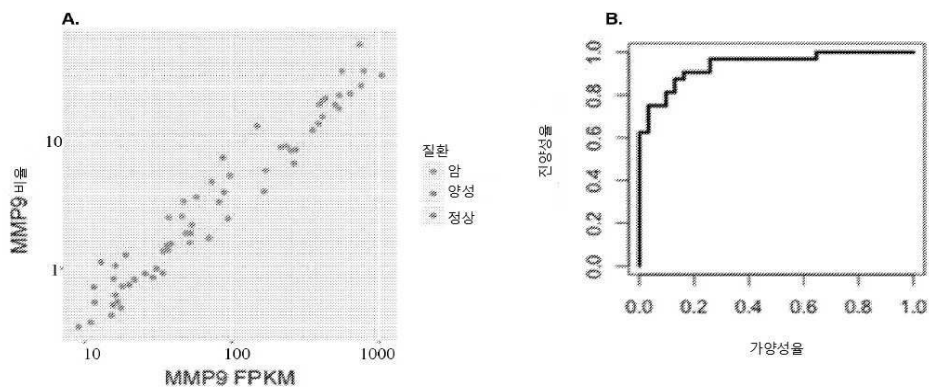
B.

STK4에 대한 비율
AUC 0.94 (0.89-1.00)



도면13

MMP9 mRNA



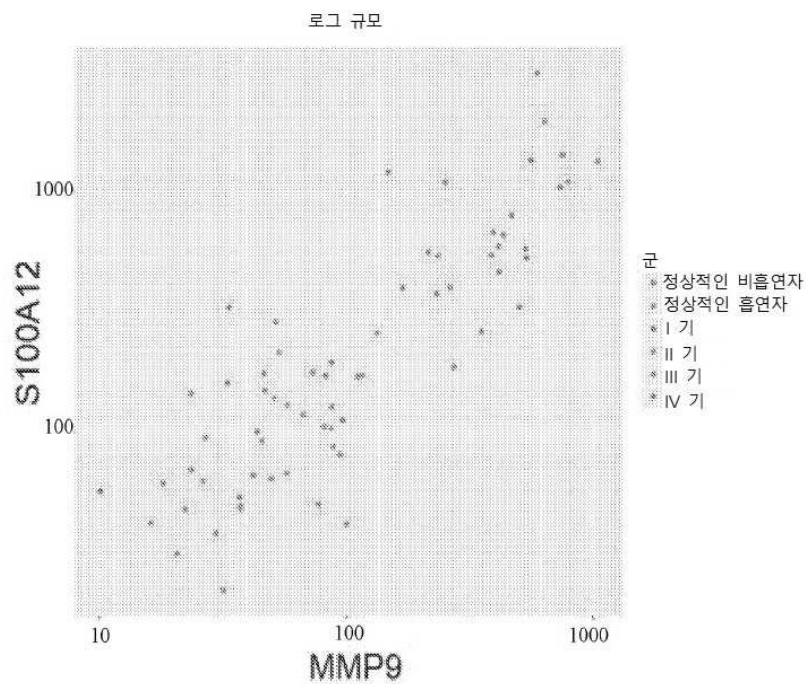
도면14

S100A12 + MMP9 mRNA

민감도 (I 기): **87%** (64-97%)

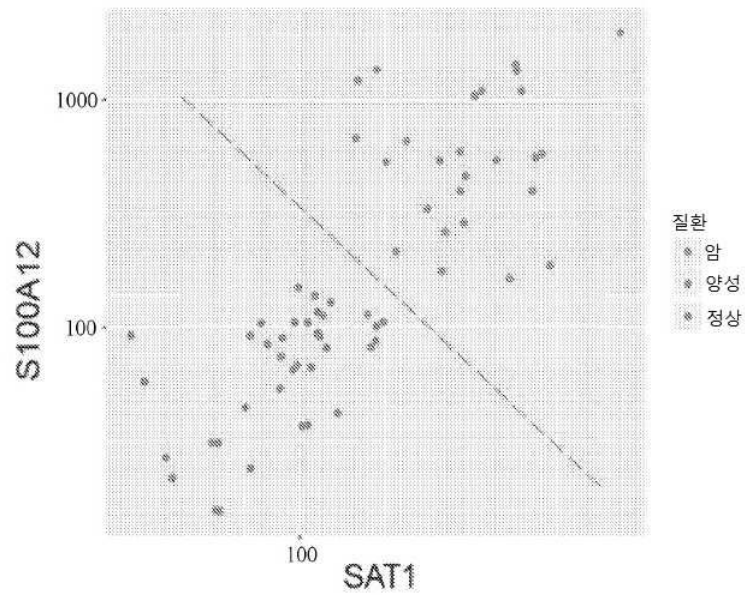
민감도 (I 기 - III 기): **88%** (74-96%)

특이성: **90%** (75-97%)



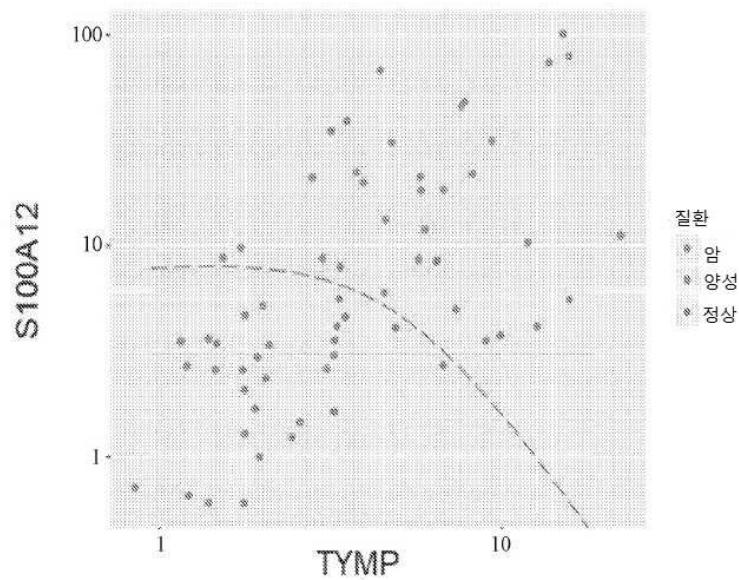
도면15

S100A12 + SAT1 mRNA: 잡음 감소



도면16

S100A12 + TYMP mRNA: 직교



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> EXACT SCIENCES DEVELOPMENT COMPANY, LLC

MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH

<120> CHARACTERIZING METHYLATED DNA, RNA, AND PROTEINS IN SUBJECTS
SUSPECTED OF HAVING LUNG NEOPLASIA

<130> EXCTD-38699.601

<150> US 62/892,426

<151> 2019-08-27

<160> 491

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 116

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

gttcccggaa cggcctcttg ggggcgttcc agcccccacgg acccgcaggg agtccccgcc 60

gcaatttgca tggggctcat ttgcatgacc ccgccccgcg cgggagtcgg gggcgc 116

<210> 2

<211> 116

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 2

gttttcggaa cggttttttg ggggcgtttt agttttacgg attcgtaggg agttttcgtc 60

gtaatttgta tggggtttat ttgtatgatt tcgttttcgcg cgggagtcgg gggcgt 116

<210> 3

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 3

ggcgttttag ttttacggat tcg 23

<210> 4

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 4

acaaataaac cccatacaaa ttacgac 27

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 5

cgccgaggcg aaaactccct 20

<210> 6

<211> 126

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

cggattcaac atgggcaatg tgcctacact ttcattcttc cagaacacga tggcaactgt 60

cgtgagagta cgacagacca gtacaacaca aacgctctgc agagagatgc tccacacgtg 120

gaaccg 126

<210> 7

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 7

cggatttaat atgggtaatg tggttatatt ttatttttt tagaatacga tggtaattgt 60

cgtgagagta cgatagatta gtataatata aacgttttgt agagagatgt ttatatacgtg 120

gaatcg 126

<210> 8

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 8

ttttagaata cgatggtaat tgtcgt 26

<210

> 9

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 9

acatctctct acaaaacgtt tatattatac taatc 35

<210> 10

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 10

cgccgaggct atcgtactct 20

<210> 11

<211> 109

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

ggagctacga cgagcagctg cggctggcga tggaactgtc ggcgaggag caggaggaga 60

ggcggcggcg cgcgccag gaggaggagg agctggagcg catcctgag 109

<210> 12

<211> 109

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 12

ggagttacga cgagtagttg cggttggcga tggaattgtc ggctaggag taggaggaga 60

ggcggcggcg cgcgcttag gaggaggagg agtggagcg tatcttgag 109

<210> 13

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 13	
agttacgacg agtagttgcg	20
<210> 14	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 14	
tcctcctact cctacgcc	18
<210> 15	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 15	
ccacggacgc gacaattcca t	21
<210> 16	
<211> 143	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 16	
ggtggcaacg gctggagtgc cgtcgcccgcc gccactcacc ccggcgcggc gccctgcgcg	60
gccgctcagc ggaaggccag caggaagatc agtacgacgt tgatgagaac caggagcgcc	120
agcacggcgg agaccaccac gcg	143
<210> 17	
<211> 143	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 17	
ggtggtaacg gttggagtgt cgtcggttcgc gttatttatt tcggcgcggc gttttgcgcg	60

gtcgttttagc ggaaggtag taggaagatt agtacgacgt tgatgagaat taggagcgtt 120

agtacggcgg agattattac gcg 143

<210> 18

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 18

cgttcgcgtt atttatttcg gcg 23

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 19

gctcctaatt ctcacaaacg tcgt 24

<210> 20

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 20

cgccgagggc ggcgttttgc 20

<210> 21

<211> 100

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 21

ggccccgggc cgctgggccc cctaggggct ggacgtcaac ctgtagata gagggcgtgg 60

gacccccgc aggcggctgc tcggacgacc gcatccggag 100

<210> 22

<211> 100

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 22

ggttcggggt cgtttgggtt tttaggggtt ggacgttaat ttgttagata gagggcgtgg 60

gatttttcgt aggcggttgt tcggacgatc gtattcggag 100

<210> 23

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

cgттаatttg ttagatagag ggcg 24

<210> 24

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

acgatcgtcc gaacaacc 18

<210> 25

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 25

ccacggacgc gcctacgaaa a 21

<210> 26

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 26

tccgaacaac cgcctac 17

<210> 27

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 27

ccacggacgc gaaaaatccc a 21

<210> 28

<211> 119

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 28

gcttccagcc gcgcgctccg tgccactgcc gctctctgca gcccgcgctc cccgcagcct 60

ccccatggcc agcccgttc gctccgtgc ggcccttgcc cgccaggtag ctcgaaccc 119

<210> 29

<211> 119

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 29

gttttttagtc gcgcgtttcg tgttattgtc gttttttgta gtttcgcgtt ttcgtagttt 60

ttttatgggt agttcgtttc gtttcgttgc gggttttggt cgtaggtat ttcgaattt 119

<210> 30

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 30

gtgttattgt cgttttttgt agtttcg 27

<210> 31

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 31	
cgcaacgaaa cgaaacga	18
<210> 32	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 32	
cgccgagggc gttttcgtag	20
<210> 33	
<211> 140	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 33	
gcccccgca cgccgcaatg ctccgcgtc cccgcggggt cgggcgactc agacaggac	60
cggaaaagaa ccacgcagaa gaaagcccta tttcttgctg tctgttcctg tgcagccttg	120
cagcctcgcc gccccgcgt	140
<210> 34	
<211> 140	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 34	
gttcgtcgta cgtcgtaatg tttcgcttt ttcgcggggt cgggcgattt agataggat	60
cggaaaagaa ttacgtagaa gaaagtttta ttttttgctg tttgttttg ttagttttg	120
tagtttcgtc gttttcgct	140
<210> 35	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 35	
cgtaatgttt cgcgtttttc g	21

<210> 36
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 36
 actttcttct acgtaattct ttccga 27
 <
 210> 37
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 37
 cgccgagggc ggggtcgggc 20
 <210> 38
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 38
 gccggggagt cgagaagcaa gtactagcgc tccaggaccg cgcgcgccgc cccgcgccgc 60
 cccgcgccgc ccctcggtcc agagc 85
 <210> 39
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 39
 gtcggggagt cgagaagtaa gtattagcgt tttaggatcg cgcgcgctgt ttcgcgtcgt 60
 ttcgcgtcgt ttttcggttt agagt 85
 <210> 40
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 40

agtattagcg ttttaggatc gcg 23

<210> 41

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 41

actctaaacc gaaaaacgac g 21

<210> 42

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 42

ccacggacgg cgaaacgacg c 21

<210> 43

<211> 74

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 43

gccgggagcc cgcacttcct ctcgggggc ctcagaaaac cacagggcgc ggggccaggg 60

cggcggcccc cagg 74

<210> 44

<211> 74

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 44

gtcgggagtt cgtatTTTTT tttcgggggt tttagaaaat tatagggcgc ggggttaggg 60

cggcggTTTT tagg 74

<210> 45

<211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 45
 tcgggagttc gtatTTTTTT ttcgg 25
 <210> 46
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 46
 aaaaccgccg ccctaac 17
 <210> 47
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 47
 cgccgaggcc ccgcgccta 20
 <210> 48
 <211> 78
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 48
 cggggcctac cctcaggcag cgctcgctcg aggccagctt ccgagctcca acccctgccc 60
 gaaacctcgg cctcactg 78
 <210> 49
 <211> 78
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 49
 cggggtttat ttttaggtag cgttcgttcg aggttagttt tcgagtttta atttttgttc 60

gaaatttcgg ttttattg	78
<210> 50	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 50	
gggtttattt ttaggtagcg ttcg	24
<210> 51	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 51	
cgaaatttcg aacaaaaatt aaaactcga	29
<210> 52	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 52	
ccacggacgg ttcgaggtta g	21
<210> 53	
<	
211> 141	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 53	
tgtcctgaca cgatggccac aggcacagtt tgtggtgatg cccaggggcc cgcgcggccc	60
cacggtggtc cagtttacac tcgggccccg cactcctgaa gttccgcgcg ggaggagaag	120
ggcgtccctt tcgcagctcg g	141
<210> 54	
<211> 141	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

tgttttgata cgatggttat aggtatagtt tgtggtgatg tttaggggtt cgcgcggttt 60

tacggtgggt tagtttatat tcgggtttcg tatttttgaa gtttcgcgcg ggaggagaag 120

ggcgtttttt tcgtagttcg g 141

<210> 55

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 55

tgatgttttag gggttcgcg 19

<210> 56

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 56

cgaaacttca aaaatacgaa acccga 26

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 57

cgccgagggc ggttttacgg 20

<210> 58

<211> 112

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 58

ccggagcact cgccgctgcg cgccctgaag ccgctggcgg taggcggccc tcgaggccgg 60

cgggctgggc ggctcggcag cctgcgccgc ggcctccgcc tcggccgcca gc 112

<210> 59

<211> 112

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 59

tcggagtatt cgtcgttgcg cgttttgaag tcgttgccgg taggcggttt tcgaggtcgg 60

cgggttgggc ggttcggtag ttgctcgc ggttttcgtt tcggtcgtta gt 112

<210> 60

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 60

gtattcgtcg ttgcgcg 17

<210> 61

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 61

cctcgaaaac cgcctacc 18

<210> 62

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 62

ccacggacgc gccaacgact t 21

<210> 63

<211> 134

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 63

cgccgtgagt gttatagttc ttaaaggcgg cgtgtccgga gtttcttcct tctggtgggg 60

ttcgtggtct cgccggctca ggagtgaagc tgcagatctt cgcggtgagt gttacagctc 120

ctaaggcggc gcat 134

<210> 64

<211> 134

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 64

cgtcgtgagt gttatagttt ttaaaggcgg cgtgttcgga gttttttttt tttggtgggg 60

ttcgtggttt cgtcggttta ggagtgaagt ttagatctt cgcggtgagt gttatagttt 120

ttaaggcggc gtat 134

<210> 65

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 65

ttaaaggcggc gtgttcg 17

<210> 66

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 66

caacttcact cctaaaccga c 21

<210> 67

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 67
ccacggacgc gaaaccacga a 21

<210> 68
<211> 107
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 68
aactggcctt ctggctactc cggaatcgcc aagcagatga ggccagaccg ccgccagcgc 60
tgatcacgcg cgtcccaca ggctctggcg cgcgtgttca gccgcgc 107

<210> 69
<211> 107
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 69
aattggtttt ttggttatct cggaatcgtt aagtagatga ggtagatcg tcgttagcgt 60
tgattacgcg cgtttttata ggttttggcg cgcgtgttta gtcgcgt 107

<210> 70
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 70
tggttttttg gttatttcgg aatcgt 26

<210> 71
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 71
gcgcgtaatc aacgctaac 19

<210> 72
<211> 20
<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 72
 cgccgaggcg acgatctaac 20

<210> 73
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 73
 ggagcgggca gaggaggagc ccagcgccga ggcccaggcg cgccccgccc tcgcccctcc 60
 ccgtgcccct cccccgtgc tcccc 85

<210> 74
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 74
 ggagcgggta gaggaggagt ttagcgtcga ggtttaggcg cgtttcgttt tcgttttttt 60
 tcgtgttttt ttttcgttgt ttttt 85

<210> 75
 <211> 19
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 75
 gaggaggagt ttagcgtcg 19

<210> 76
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 76
 cacgaaaaaa aacgaaaacg aaac 24

<210> 77
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 77
 cgccgaggcg cgcctaaacc 20
 <210> 78
 <
 211> 107
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 78
 gcggtctatc acgggcaccc ctaacacttg gtgagtgcgc agtgctctcg gcagtctctg 60
 ggctccatac gatgcctacc gcacgcccta gcagaggagg tctctgt 107
 <210> 79
 <211> 107
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 79
 gcggtttatt acgggtatatt ttaatatattg gtgagtgcgt agtgttttcg gtagtttttg 60
 ggttttatac gatgtttatc gtacgtttta gtagaggagg tttttgt 107
 <210> 80
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 80
 tgagtgcgta gtgttttcgg 20
 <210> 81
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 81

ctcctctact aaaacgtacg ataaaca 27

<210> 82

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 82

cgccgaggat cgtataaac 20

<210> 83

<211> 21

<212> DNA

<213>

Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 83

atatttggtg agtgcgtagt g 21

<210> 84

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 84

acgtacgata aacatcgtat aaaacc 26

<210> 85

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 85

cgccgagggt tttaggtagt 20

<210> 86

<211> 121

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 86

tactccactg ccggcttggg gccacgctc ggtttccgcc caccatgga ctacgccttt 60

agcgatctca tgcgtgaccg ctcgccgcc gctgctgcgg cggcgacaa ggagccgacc 120

t 121

<210> 87

<211> 121

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 87

tattttattg tcggtttggg gtttacgttc ggttttcggt tatttatgga ttacgttttt 60

agcgatttta tgcgtgatcg ttcggtcgtc gttgttgcgg cgggtataa ggagtcgatt 120

t 121

<210> 88

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 88

tggtgtttac gttcgtttt cgt 23

<210> 89

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 89

ccgcaacaac gacgacc 17

<210> 90

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 90

cgccgaggcg aacgatcacg 20

<210> 91

<211> 106

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 91

aggccgggtca cgaacaaagc gctggcgagt gcgcgcccgc ccacgcgcac aggtgcccgc 60

gacaagacgc cccgtccccg cccacgcggc ccccgcgggc tgagcc 106

<210> 92

<211> 106

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 92

aggtcgggtta cgaataaagc gttggcgagt gcgcgttcgt ttacgcgtat aggtgttcgc 60

gataagacgt ttcgttttcg tttacgcggt tttcgcgggc tgagtt 106

<210> 93

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 93

gttacgaata aagcgttggc g 21

<210> 94

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 94

aacgaaacgt cttatcgca 20

<210> 95

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 95

ccacggacgg agtgcgcgtt c 21

<210> 96

<211> 85

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 96

gccggccccc cagcatctc ctgctcgagg ctctccgcc acctgtccg ctccctgccg 60

cgccctgggg ccgcaccta cccac 85

<210> 97

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 97

gtcggtttcg tagtattttt ttgttcgagg ttttttcgtt atttgttcg tttttgtcg 60

cgttttgggg ttcgtattta tttat 85

<210> 98

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 98

cggtttcgta gtattttttt gttcg 25

<210> 99

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 99	
gaaccccaaa acgcgac	17
<210> 100	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 100	
cgccgagggc ggttttttcg	20
<210> 101	
<211> 134	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 101	
cgcttcctgg gctcccccg gagtgggagg gagccgcggt cccgcctccg cgcccgttcc	60
ctcccaggcc cctcggccgc cgcgccgagc ttccgcgcg tggacagact gcccggccga	120
cggacggacg cagg	134
<210> 102	
<211> 134	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 102	
cgttttttgg gtttttttcg gagtgggagg gattcgcggt ttctttttcg cgttcgtttt	60
tttttaggtt ttctggtcgt cgcgtcgagt ttctcgcgcg tggatagatt gttcggtcga	120
cggacggacg tagg	134
<210> 103	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 103	
gattcgcggt ttctttttc	19

<210> 104
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 104
 gacgcgacga ccgaaaaac 19
 <210> 105
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223>
 > Synthetic
 <400> 105
 cgccgaggcg cgttcgtttt 20
 <210> 106
 <211> 108
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 106
 tccggcgccg cgttttctag agaaccgggt ctcagcgatg ctcatttcag ccccgcttta 60
 atgcaacaaa cgaaacccca cacgaacgaa aaggaacatg tctgcgct 108
 <210> 107
 <211> 107
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 107
 tcggcgctgc gttttttaga gaatcgggtt ttagcgatgt ttattttagt ttcgttttaa 60
 tgtaataaac gaaattttat acgaacgaaa aggaatatgt ttgcgtt 107
 <210> 108
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 108

ggcgtcgcgt ttttagaga a 21

<210> 109

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 109

ttccttttcg ttcgtataaa atttcggt 28

<210> 110

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> Synthetic

<400> 110

ccacggacga tcgggtttta g 21

<210> 111

<211> 128

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 111

gggcctgctg gccggggacc cgcgcgtcga ggcctggtg cgcgacagcg ctcctactg 60

ccgcgagcgc ttcgaccccg acgagtactc cacggccgtg cgcgaggcgc cagcggagct 120

cgccgaag 128

<210> 112

<211> 128

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 112

gggtttgttg gtcggggatt cgcgcgtcga gcttttgggtg cgcgatagcg ttttttattg 60

tcgcgagcgt ttcgatttcg acgagtattt tacggtcgtg cgcgaggcgt tagcggagtt 120

cgtcgaag	128
<210> 113	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 113	
cgatagcgtt ttttattgtc gcg	23
<210> 114	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 114	
gcacgaccgt aaaatactcg tc	22
<210> 115	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 115	
ccacggacgc gaaatcgaaa c	21
<210> 116	
<211> 140	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 116	
tagcagcagc cgcagccatg gcggggatga agacagcctc cggggactac atcgactcgt	60
catgggagct gcgggtgttt gtgggagagg aggaccaga ggccgagtcg gtcaccctgc	120
gggtcactgg ggagtcgcac	140
<210> 117	
<211> 140	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 117
 tagtagtagt cgtagttatg gcggggatga agatagtttt cggggattat atcgattcgt 60
 tatgggagtt gcgggtgttt gtgggagagg aggatttaga ggtcgagtcg gttattttgc 120
 gggttattgg ggagtcgtat 140
 <210> 118
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 118
 gttttcgggg attatatcga ttcg 24
 <210> 119
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 119
 cccaataacc cgcaaaataa cc 22
 <210> 120
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 120
 cgccgaggcg actcgacctc 20
 <210> 121
 <211> 104
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 121
 gtcccagaga cgcctaggg tcagaggtca tctccgtggc aacggaaact tcccgcgcta 60

cgggcggtcc aacgggccgc ttccgccga ttgcgtagcg aagc 104

<210> 122

<211> 104

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 122

gttttagaga cgtttaggg ttagaggta tttcgtggt aacggaaatt ttcgcgta 60

cggcggtttt aacgggtcgt tttcgtcgta ttgcgtagcg aagt 104

<210> 123

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 123

tttcgtgta acggaaattt ttcg 24

<210> 124

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 124

cgacgaaaac gacccgt 17

<210> 125

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 125

cgccgagggc gttacggcgg 20

<210> 126

<211> 107

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 126
gcgccccggc cgcaggcgga ggacagggag gagcgcacac gagaaagctc ccacgcgcc 60

gcgcctcgcc tccgacggga aggcgcctct tccgaccgtc ctggatg 107

<210> 127
<211> 107
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 127
gcgtttcggc cgtaggcgga ggatagggag gagcgtatac gagaaagttt ttacgcgttc 60
gcgtttcgtt ttcgacggga aggcgttttt ttcgacgtt ttggatg 107

<210> 128
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 128
gagcgtatac gagaaagttt ttacg 25

<210> 129
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 129
aacgccttcc cgtcgaa 17

<210> 130
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 130
ccacggacgg cgttcgcgtt t 21

<210> 131

<211> 108
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 131
 cgagagggcg cgagcacagc cgaggccatg gaggtgacgg cggaccagcc gcgctgggtg 60

 agccaccacc accccgccgt gctcaacggg cagcacccgg acacgcac 108
 <210> 132
 <211> 108
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 132
 cgagagggcg cgagtatagt cgaggttatg gaggtgacgg cggattagtc gcgttgggtg 60
 agttattatt atttcgtcgt gtttaacggg tagtattcgg atacgtat 108
 <210> 133
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 133
 gggcgcgagt atagtcg 17

 <210> 134
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 134
 caacgcgact aatccgc 17
 <210> 135
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 135
cgccgaggcc gtcacctcca 20

<210> 136
<211> 141
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 136
cgccccctca cctccccgat catgccgttc cagacgccat cgatcttctt tccgtgcttg 60

ccattgggtga ccaggtagag gtcgtagctg aagccgatgg tatgcgccag ccgcttcaga 120
atgtcgatgc agaaaccctt g 141

<210> 137
<211> 141
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 137
cgttttttta ttttttcgat tatgtcgttt tagacgttat cgattttttt ttcgtgtttg 60
ttattgggtga ttaggtagag gtcgtagttg aagtcgatgg tatgcgttag tcgttttaga 120
atgtcgatgt agaaattttt g 141

<210> 138
<211> 27

<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 138
tcgattatgt cgtttttagac gttatcg 27

<210> 139
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic

<400> 139
tctacatcga cattctaaaa cgactaac 28

<210> 140
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 140
 ccacggacgc gcataaccatc g 21

 <210> 141
 <211> 93
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 141
 cggcgaggct tccgcctgg cgcattacaa caagcgtcg accatcacct ccaggagat 60
 ccagacggcc gtgcgcctgc tgcttcccg gga 93

 <210> 142
 <211> 93
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 142
 cggcgagggt tttcgtttgg cgtattataa taagcgttcg attattattt ttagggagat 60
 ttagacggtc gtgcgtttgt tgtttttcgg gga 93

 <210> 143
 <211> 23
 <212>
 > DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 143
 tggcgtatta taataagcgt tcg 23

 <210> 144
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 144

aacaacaaac gcacgacc 18

<210> 145

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 145

ccacggacgc gtctaaatct c 21

<210> 146

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 146

gggcgggccca ggcgctgggc acggtgatgg ccaccactgg ggccctgggc aactactacg 60

tggactcggtt cctgctgggc gccgacgccg cggatgagct g 101

<210> 147

<211> 101

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 147

gggcgggtta ggcgttgggt acggtgatgg ttattattgg ggttttgggt aattattacg 60

tggattcggtt tttgttgggc gtcgacgtcg cggatgagtt g 101

<210> 148

<211> 24

<

212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 148

ttgggtaatt attacgtgga ttcg 24

<210> 149

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 149
 actcatccgc gacgtc 16
 <210> 150
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 150
 ccacggacgc gacgccaac a 21
 <210> 151
 <211> 95
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 151
 gggccattgc cagaagacgt cttctcgggg cgccaggatt cacctttcct tcccgacctc 60
 aactttctcg cggccgactc ctgtctccag ctatc 95
 <210> 152
 <211> 95
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 152
 gggttattgt tagaagacgt ttttcgggg cgtaggatt tatTTTTTTT ttctgatttt 60
 aattttttcg cggtcgattt ttgttttttag ttatt 95
 <210> 153
 <211> 22
 <212>
 > DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 153	
gttagaagac gttttttcgg gg	22
<210> 154	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 154	
aaaacaaaaa tcgaccgcga	20
<210> 155	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 155	
cgccgagggc gttaggattt	20
<210> 156	
<211> 106	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 156	
ggccccggaa gccagctcc cgggccctgg agccccccac ggcggcagcc ctgcggcggc	60
ggctggacct gggcagttgc ctggacgtgc tggcctttgc ccagca	106
<210> 157	
<211> 106	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 157	
ggtttcggaa gtttagtttt cgggttttgg agttcgttac ggcggtagtt ttgcggcggc	60
ggttggattt gggtagttgt ttggacgtgt tggtttttgt ttagta	106
<210> 158	
<211> 25	
<	

212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 158

agttttcggg ttttgagtt cgtta 25

<210> 159

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 159

ccaaatccaa ccgccgc 17

<210> 160

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 160

cgccgaggac ggcggtagtt 20

<210> 161

<211> 106

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 161

ggcggcgccg gcggtgcgc ggggggcgcc aggccctgct gctgctgctg ctgctgactg 60

cggtagtagg cggcggcggc cacggcgga aagttgtggg tctgga 106

<210> 162

<211> 106

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 162

ggcggcgctgc gcggtgcgc ggggggcggt aggttttggt gttgtgttg ttgttgattg 60

cggtagtagg cggcggcggt tacggcgga aagttgtggg tttgga 106

<210> 163
 <211> 19
 <
 212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 163
 ttgattgcgg tagtaggcg 19
 <210> 164
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 164
 aaccacaaac ttaccgcc 19
 <210> 165
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 165
 cgccgaggcg taaccgccg 20
 <210> 166
 <211> 154
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 166
 ggtttcccc caccceggcc tcggggtctc tccacgtctc cccgccgacg tgctcacctg 60
 ctcagggggc gccccgagc cgcgccccgc gcccgcccc aggagggcct ccgcgagccg 120
 gctgcacacc ccgaggcggc cccggctgca caac 154
 <210> 167
 <211> 154
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 167

ggtttttttt tatttcggtt tcggggtttt ttacgtttt ttcgtcgacg tgtttttttg 60

tttagggggc gttttcgagt cgcgtttcgc gttcgttttt aggagggttt tcgcgagtcg 120

gttgatatatt tcgaggcggg ttcggttgta taat 154

<210> 168

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 168

gtttcggggg ttttttacgt tttttcg 27

<210> 169

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 169

aaacgcgact cgaaaacgc 19

<210> 170

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> Synthetic

<400> 170

cgccgagggt cgacgtgttt 20

<210> 171

<211> 95

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 171

ctccggtttt cgcggttctc agcgatatta ggcgcgcca gtgtctgaaa gtcctcggg 60

gttacgtcct ggggcgactg gaggcggctc acgac 95

<210> 172
 <211> 95
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 172
 tttcggtttt cgcggttttt agcgatatta ggcgcggtta gtgtttgaaa gtttttcggg 60

 gttacgtttt ggggcgattg gaggcggttt acgat 95
 <210> 173
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 173
 cggtttttag cgatattagg cg 22
 <210> 174
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 174
 cccaaaacgt aaccccga 18
 <210> 175
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223>
 > Synthetic
 <400> 175
 cgccgagggc ggtagtggtt 20
 <210> 176
 <211> 143
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 176

cgacggccgc ggaggaggaa ggccaggggg aaatttgcat ttcgtaaaac cgcggttaag 60

aaatgacgat gccacgtaga caagccagtt gtgacgttca gcacaacgtg ctactgaact 120

accgagatcc gccaccaaat ggc 143

<210> 177

<211> 143

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 177

cgacggtcgc ggaggaggaa ggtaggggg aaatttgat ttcgtaaaat cgcggttaag 60

aaatgacgat gttacgtaga taagttagtt gtgacgttta gtataacgtg ttattgaatt 120

atcgagattc gttattaaat ggt 143

<210> 178

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 178

gggaaatttg tatttcgtaa aatcg 25

<210> 179

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 179

acaactaact tatctacgta acatcgt 27

<210> 180

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 180

ccacggacgg cggttaagaa a 21

<210> 181

<211> 116

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 181

ggcttggggg ccagccgcc gccctgccg ccaccgacc atgtcctgcc tctactccg 60

cctcagcgcc cctgcgggg tccgcgcctt cagctgcac tcggcctgcg ggcccc 116

<210> 182

<211> 116

<

212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 182

ggtttggggg ttagtcgttc gttttgtcg ttatcgtatt atgttttgtt tttatttgcg 60

ttttagcggt ttttgcgggg ttgcggttt tagttgtatt tcggtttgcg ggtttt 116

<210> 183

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 183

tcgttcgttt ttgtcgttat cg 22

<210> 184

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 184

aaccgaaata caactaaaaa cgc 23

<210> 185

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 185

ccacggacgc gaaccccgca a 21

<210> 186

<211> 108

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 186

ggaaggctgc agcgagagat ttacatattc atccgagctt aaggaagccg cgataatgca 60

ggtacagccc gaaacccacg cccccagacc ttatctgcgc gccccgcc 108

<210> 187

<211> 108

<

212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 187

ggaaggttgt agcgagagat ttatatattt atccgagttt aaggaagtcg cgataatgta 60

ggtatagtgc gaaatttacg tttttagatt ttatttgcgc gtttcggt 108

<210> 188

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 188

ttcaggttta aggaagtcg 19

<210> 189

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 189

tctaaaaacg taaatttcga act 23

<210> 190
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 190
 ccacggacgg cgataatgta g 21
 <210> 191
 <211> 137
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 191
 ggagttatatt ttaaccatcg cctcccagaa cattacggag cttcctctct ccaacacgca 60
 ggaaacccta cttggctgtg cttcctgcta acacgaggcc ctgcgattgc tgagaacaac 120
 agccccgaga ctgcgcg 137
 <210> 192
 <211> 137
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 192
 ggagttatatt ttaattatcg ttttttagaa tattacggag tttttttttt ttaatacgtat 60
 ggaaatttta tttggttggtg ttttttgtaa atacgagggtt ttgcgattgt tgagaataat 120
 agtttcgaga ttgcgcg 137
 <210> 193
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 193
 tttaattatc gttttttaga atattacgga 30
 <210> 194
 <211> 26

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 194

actattatttc tcaacaatcg caaaac 26

<210> 195

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 195

ccacggacgc ctcgatttaa c 21

<210> 196

<211> 117

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 196

ggcgggcgct tggccaaaca gcccaagact gcggaatcac actcgccact gtgtacctgg 60

acgccatctg cagaccacgc gcctgcgggg attccggaaa cgggagagcg ggcttcc 117

<210> 197

<211> 117

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 197

ggcgggcggtt tggttaaata gtttaagatt gcggaattat attcgttatt gtgtatttgg 60

acgttatttg tagatttagc gtttgcgggg atttcggaaa cgggagagcg ggttttt 117

<210> 198

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 198

agtttaagat tgcggaatta tattcgt	27
<210> 199	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 199	
ttccgaaatc cccgcaa	17
<210> 200	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 200	
cgccgaggaa cgctaaatct	20
<210> 201	
<211> 156	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 201	
cgcaggctga ggccctcggg tccccagcgg gtccctgccca tcagtcactc tctacgggcc	60
aggcctgggg gtcacggcct gcaggagcct ccctgcgcgg ccccaactccc tcattctgca	120
ccccgtgggg aggcgaccct gaccaccctc gttccg	156
<210> 202	
<211> 156	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 202	
cgtaggttga ggttttcggg tttttagcgg gttttcgtta ttagttatit tttacgggtt	60
aggtttgggg gttacggttt gtaggagttt ttttgccggg ttttatitit ttatttgcga	120
tttcgtgggg aggcgatttt gattattttc gtttcg	156
<210> 203	

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 203

ggttgagggtt ttcgggtttt tag 23

<210> 204

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 204

cctccccacg aaatcgc 17

<210> 205

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 205

cgccgagggc gggttttcgt 20

<210> 206

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 206

aggagttttt ttgcgcgg 18

<210> 207

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 207

acgaaaataa tcaaaatcgc ctcc 24

<210> 208

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 208

cgccgaggcc cacgaaatcg 20

<210> 209

<211> 114

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 209

cgggggaggg cgcatcagc cagagcctca gccgacggcg ctccccaggt ccatttcccg 60

ctccgatacc ctccccctaa gcacgatacc caggggcccag ggctgctctt ggcg 114

<210> 210

<211> 114

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 210

cgggggaggg cggtattagt tagagtttta gtcgacggcg ttttttaggt ttatttttcg 60

tttcgatatt ttttttttaa gtacgatatt tagggtttag gggtgttttt ggcg 114

<210> 211

<211> 25

<

212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 211

gcggtattag ttagagtttt agtcg 25

<210> 212

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 212
 acaaccctaa accctaaata tcgt 24
 <210> 213
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 213
 ccacggacgg acggcgtttt t 21

 <210> 214
 <211> 107
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 214
 ctccgctccc cgcaggcctg gccgcgcgac gggcacccag cgggttgta tcaattattc 60
 aggccccaag ttcacgggca ctgcatccat ttcctcgcg tgcgccc 107
 <210> 215
 <211> 107
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 215
 ttctgttttt cgtaggtttg gtcgcgcgac gggatattag cgggttgta ttaattattt 60
 aggttttaag tttacgggta ttgtatttat tttttcgcg tgcgttt 107
 <210> 216
 <211> 19
 <
 212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 216
 ttctgtaggt ttggtcgcg 19

<210> 217
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 217
 aacctaata attaataaca acccgc 26
 <210> 218
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 218
 ccacggacgg cgacgggtat t 21

 <210> 219
 <211> 88
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 219
 gtgggccggg cgtgacgcgc ggtcaaagtg caatgat ttt ttagttcggg ttggctaaaca 60
 gggtcagagc tgagagcgaa gcagaagg 88
 <210> 220
 <211> 88
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 220
 gtgggtcggg cgtgacgcgc ggttaaagtg taatgat ttt ttagttcggg ttggttaaata 60
 gggtttagagt tgagagcgaa gtagaagg 88
 <210> 221
 <211> 18
 <212>
 > DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 221

tggttcgggc gtgacgcg 18

<210> 222

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 222

tctaacccta tttaaccaac cga 23

<210> 223

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 223

cgccgagggc ggttaaagtg 20

<210> 224

<211> 94

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 224

ggacctctc ggccccgcc catecgctt cgggatgtg ctgagcccg tcacctccac 60

ccccctctcg gtcaaggaca tcctgcgact ggag 94

<210> 225

<211> 94

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 225

ggattttttc ggtttcgttt tattcgttt cgggatgtg ttgagtttcg ttatttttat 60

ttttttttcg gttaaggata ttttgcgatt ggag 94

<210> 226

<211> 25

<212
> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic
<400> 226
gatttttttcg gtttcgtttt attcg 25
<210> 227
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic
<400> 227
caatcgcaaa atatccttaa ccga 24
<210> 228
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic
<400> 228
ccacggacgg ttttcgggat g 21

<210> 229
<211> 89
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 229
ctgtcagtgc tgaccgagcg ccgcgccttc cggccatacg ggctccacgg tgcgcggttc 60
cccagccctc gcggccctcc ccgcccccg 89
<210> 230
<211> 89
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic
<400> 230
ttgttagtgt tgatcgagcg tcgcgttttt cggttatacg ggttttacgg tgcgcggttt 60

tttagttttc gcggtttttt tcgttttcg 89

<210> 231

<211> 22

<212

> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 231

cgtcgcgttt ttcggttata cg 22

<210> 232

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 232

cgcgaaaact aaaaaaccgc g 21

<210> 233

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 233

ccacggacgg caccgtaaaa c 21

<210> 234

<211> 114

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 234

cggagtatgg tgaggagcgc gggggacggg tgcgggaagg ggacagcagg gctgagcctg 60

gggcccgcaa gaccagcag cccgagcggg cgcagagacc ccacgccacg caca 114

<210> 235

<211> 114

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 235

cggagtatgg tgaggagcgc gggggacggg tgcgggaagg ggatagtagg gttgagtttg 60

gggttcgtaa gatttagtag ttcgagcggg cgtagagatt ttacgttacg tata 114

<210> 236

<211> 18

<

212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 236

ggttgagttt ggggttcg 18

<210> 237

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 237

cgtaacgtaa aatctctacg ccc 23

<210> 238

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 238

ccacggacgc gctcgaacta c 21

<210> 239

<211> 95

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 239

ggagagcagc ccgcagaacc tggccgcgta ctacacgcct tteccgtcct atggacacta 60

cagaaacagc ctggccaccg tggaggaaga ctcc 95

<210> 240

<211> 95
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 240
 ggagagtagt tcgtagaatt tggtcgcgta ttatacgttt ttttcgtttt atggatatta 60
 tagaaatagt ttggttatcg tggaggaaga ttttt 95
 <210> 241
 <211> 23
 <212>
 > DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 241
 gagtagttcg tagaatttgg tcg 23
 <210> 242
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 242
 ccacgataac caaactatTT ctataatATc c 31
 <210> 243
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 243
 ccacggacgg cgtattatac g 21
 <210> 244
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 244	
ggagagtagt tcgtagaatt tgg	23
<210> 245	
<211> 35	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 245	
ctattttctat aatatccata aaacgaaaaa aacgt	35
<210> 246	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 246	
ccacggacgg tcgcgtatta t	21
<210> 247	
<211> 92	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 247	
gggaagggtgc cctgcgcgcg cgcgctcacc agatgaagtc ggtgcagtgg ctgcagaagg	60
tgggctgctt gaagaagcgg gcggtgaatt tg	92
<210> 248	
<211> 92	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 248	
gggaagggtgt ttgcgcgcg cgcgtttatt agatgaagtc ggtgtagtgg ttgtagaagg	60
tgggttgttt gaagaagcgg gcggtgaatt tg	92
<210> 249	
<211> 17	
<212>	

> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 249

ggaaggtgtt ttgcgcg 17

<210> 250

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 250

cttctacaac cactacaccg a 21

<210> 251

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 251

ccacggacgg cgcgcttta t 21

<210> 252

<211> 107

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 252

gcctcggggc ccggggactc acaattacgg gcagagaaca catagtgaag agcacggtea 60

tcagcgccag cagcaggagg tgatccagct cctccagggg ctgaggg 107

<210> 253

<211> 107

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 253

gtttcggggt tcggggattt ataattacgg gtagagaata tatagtgaag agtacggtta 60

ttagcgtag tagtaggagg tgatttagtt ttttagggg ttgaggg 107

<210> 254
 <211> 24
 <
 212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 254
 gggttcgggg atttataatt acgg 24
 <210> 255
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 255
 cctcctacta ctaacgctaa taacc 25
 <210> 256
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 256
 ccacggacgc gtactcttca c 21
 <210> 257
 <211> 80
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 257
 ggcggctgca gcggcaccgc cgctcctgca ccagggactg tgccgagccg cgcgcggacg 60
 ggaggggaagc gtcccctcag 80
 <210> 258
 <211> 80
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 258
 ggcggttgta gcggtattcg cgtttttgta ttagggattg tgtcgagtcg cgcgcggacg 60
 ggaggggaagc gtttttttag 80

<210> 259
 <211> 18
 <212>
 > DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 259
 gttgtagcgg tattcgcg 18
 <210> 260
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 260
 cttctctccc gtccgcgc 18
 <210> 261
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 261
 cgccgaggcg cgactcgaca 20

<210> 262
 <211> 143
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 262
 tccagaaca cgggtatctc cgcgtggtgc ttgcggtcg ccgtcgttgt ggccgtccgg 60
 ggtggggtgt gaggagggga cgaaggaggg aaggaagggc aaggcggggg gggctctgcg 120
 agagcgcgcc cagccccgcc ttc 143
 <210> 263

<211> 143

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 263

tttagaaata cgggtatttt cgcgtggtgt ttgcggtcg tcgtcgttgt ggtcgttcgg 60

ggtggggtgt gaggaggga cgaaggagg aaggaagggt aaggcggggg gggttttgcg 120

agagcgcgtt tagtttcgtt ttt 143

<210> 264

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 264

agaaatacgg gtattttcgc g 21

<210> 265

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 265

ccacaacgac gacgacc 17

<210> 266

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> Synthetic

<400> 266

ccacggacgc gcaaacacc a 21

<210> 267

<211> 120

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 267
 cggtcgggca ggcgggacgg agattacctg gctgtccagg ggaccttatg cagggtttgg 60
 cccgagccca ggggcagcga ggggcgtctg cggatgcggc tccctgtgcg gcacaacacc 120
 <210> 268
 <211> 120
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 268
 cggtcgggta ggcgggacgg agattatttg gttgtttagg ggattttatg tagggtttgg 60
 ttcgagttta ggggtagcga ggggcgtttg cggatgcggc tttttgtgcg gtataatatt 120
 <210> 269
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 269
 gttcagtttt aggggtagcg 20
 <210> 270
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 270
 ccgcacaaaa aaccgca 17
 <210> 271
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223>
 > Synthetic
 <400> 271
 ccacggacga tccgcaaacg c 21
 <210> 272

<211> 55
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 272
 ccggagcact cgccgctgcg cgccctgaag ccgctggcgg taggcggccc tcgag 55
 <210> 273
 <211> 55
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 273
 tcggagtatt cgtcgttgcg cgttttgaag tcgttggcgg taggcggttt tcgag 55
 <210> 274
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223>
 Synthetic
 <400> 274
 ggagtattcg tcgttgcg 18
 <210> 275
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 275
 cgaaaaccgc ctaccgc 17
 <210> 276
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 276
 cgccgagggc gttttgaagt 20
 <210> 277

<211> 96
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 277
 cccgggccta cggctctccc gccacctcca cggggcggct gttggggccc caccaggcag 60
 agccgtgttc tcaggcgttg gctctcatgg aggtgg 96

<210> 278
 <211> 96
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 278
 ttcgggttta cggttttttc gttattttta cggggcggtt gttggggttt tattaggtag 60
 agtcgtgttt ttaggcgttg gtttttatgg aggtgg 96

<210> 279
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 279
 acggtttttt cgttattttt acggg 25

<210> 280
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 280
 caacgcctaa aaacacgact c 21

<210> 281
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 281	
cgccgagggg cggttggttg	20
<210> 282	
<211> 148	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 282	
gggcctgtcc cgttccctgc tccccataca ggcgaggtg cgtgcacaca gcttctgtga	60
ccccaggagg gcctgcctgg cacgcacccg gtggctgcac catccacacg caagactgca	120
acttcagatg ctccgcacgc tggagatg	148
<210> 283	
<211> 148	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 283	
gggtttgttt cgttttttgt tttttatata ggcgaggttg cgtgtatata gttttttgta	60
ttttaggagg gtttggttgg tacgtattcg gtggttgtat tatttatacg taagattgta	120
attttagatg tttcgtacgt tggagatg	148
<210> 284	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 284	
ttatataggc gaggttgcgt	20
<210> 285	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 285	
cttacgtata aataatacaa ccaccgaata	30

<210> 286
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 286
 ccacggacga cgtaccaaac a 21

 <210> 287
 <211> 88
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 287
 cggagctagg aggggtggggc tcggagggcg caggaagagc ggctctgcga ggaaagggaa 60
 aggagaggcc gcttctggga agggaccc 88

 <210> 288
 <211> 88
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 288
 cggagttagg aggggtggggt tcggagggcg taggaagagc ggttttgcga ggaaagggaa 60
 aggagaggtc gtttttggga agggattt 88

 <210> 289
 <211> 18
 <212>
 > DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 289
 ttaggagggt ggggttcg 18

 <210> 290
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 290

ctttcctcgc aaaaccgc 18

<210> 291

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 291

ccacggacgg gagggcgtag g 21

<210> 292

<211> 59

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 292

gccccggcgg gccccgaggc ggccgcggcc tgcaacgtca tcgtgaacgg cacgcgcgg 59

<210> 293

<211> 59

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 293

gtttcggcgg gtttcgaggc ggtcgcggtt tgtaacgtta tcgtgaacgg tacgcgcgg 59

<210> 294

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 294

tttcggcggg tttcgag 17

<

<210> 295

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 295
 cgtaccgttc acgataacgt 20
 <210> 296
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 296
 cgccgagggg cggtcgcggt 20
 <210> 297
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 297
 cgccgagggtt acaaaccgcg 20
 <210> 298
 <211> 89
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 298
 ctaggcgaga tgggtggaagg cgtgtccgta cgggggtggg ctgggggtccc cgtgcagaag 60
 ggcgcgcgag gacccaggtt ggttttccc 89
 <210> 299
 <211> 89
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 299
 ttaggcgaga tgggtggaagg cgtgttcgta cgggggtggg ttgggggtttt cgtgtagaag 60
 ggcgcgcgag gatttaggtt ggttttttt 89
 <210> 300

<211> 17

<212

> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 300

cgagatggtg gaaggcg 17

<210> 301

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 301

gcgcccttct acacgaa 17

<210> 302

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 302

ccacggacgg tgttcgtacg g 21

<210> 303

<211> 145

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 303

gcgctgctgc gccgccaggc aaggcgaggg tccgggagaa ggctcggctc ctcctaaac 60

atgtggcccc tggcgctccc ttgtccctc cgagcgatgc tctgcgccc ttgcgcgct 120

cccgcgctgc tgcgcgcgca ggcaa 145

<210> 304

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 304
ggcgcagggtt cgggagaagg ttcggttttt ttttaaatat gtggttcgtg gcgttttttt 60
gtttttttcg agcgatgttt ttgcgttttt cgtcgttttt cgcgttggtg cgtcgttagg 120

taa 123
<210> 305
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic
<400> 305
aaatatgtgg ttcgtggcgt t 21
<210> 306
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic
<400> 306
acgcaacaac gcgaaaaac 19
<210> 307
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223>
> Synthetic
<400> 307
cgccgaggcg acgaaaaacg 20
<210> 308
<211> 137
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 308
acgagaaaga gatcgtgcag ggggtgctgc aacagggcac ggctggagg aggaaccaga 60
ccgcggccag agcgttcagg tactcctgcc ctgcggctc ctccctcta gcgtccttc 120
ctccccgagt gcagagg 137

<210> 309

<211> 137

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 309

acgagaaaga gatcgtgtag ggggtgttgt aatagggtac ggcgtggagg aggaattaga 60

tcgcggttag agcgtttagg tatTTTTgtt ttcgcggttt ttttttttta gcgttttttt 120

tttttcgagt gtagagg 137

<210> 310

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 310

ggggtgttgt aatagggtac g 21

<210> 311

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 311

ctaaacgctc taaccgca 19

<210> 312

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 312

ccacggacgg gcgtggagga g 21

<210> 313

<211> 117

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 313

cgcgccgttg gtcacctgc cggccgccag cgtcgaatgg aagcccgact tgtaccagga 60

ctcgtacggg tgcgccatgc ccacgcgcgg gtacagcccg tcggtgccg tcgtgtg 117

<210> 314

<211> 117

<

212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 314

cgcgtcgttg gttatttcgt cggtcgtag cgtcgaatgg aagttcgatt tgtattagga 60

ttcgtacggg tgcgttatgt ttacgcgcgg gtatagttcg tcggtgtcg tcgtgtg 117

<210> 315

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 315

tagcgtcgaa tggaagttcg a 21

<210> 316

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 316

ggtcgttagc gtcgaatg 18

<210> 317

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 317

gcgcgtaaac ataacgacc 20

<210> 318
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 318
 ccacggacgc cgtacgaatc c 21
 <210> 319
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 319
 ggttccttcc cgtgggttct taatcgtctc gctgacttcc agaatgaaac tgcagaccct 60
 cgcggttaaag atggcgtgac cagaa 85
 <210> 320
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 320
 ggtttttttt cgtgggtttt taatcgtttc gttgattttt agaatgaaat tgtagatttt 60
 cgcggttaaag atggcgtgat tagaa 85
 <210> 321
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 321
 tcgtgggttt ttaatcgttt cg 22
 <210> 322
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 322

tcacgccatc tttaccgc 18

<210> 323

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 323

ccacggacgc gaaaatctac a 21

<210> 324

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 324

ggtttttttt cgtgggtttt taatcg 26

<210> 325

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 325

ctaatacacgc catctttacc g 21

<210> 326

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 326

ccacggacgg tttcgttgat t 21

<210> 327

<211> 115

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 327

ggagtgagtg cctacaacgc gcaggccgga ctgatccccc gttgctgcag gttggtgccc 60

caagctgcgg gtgctcgggc gccaaactaaa gccagctctg tccagacgcg gaaag 115

<210> 328

<211> 115

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 328

ggagtgagtg ttataacgc gtaggtcgga ttgatttttc gttgtttag gttggtgttt 60

taagttgcgg gtgtcgggc gttaattaaa gttagttttg tttagacgcg gaaag 115

<210> 329

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 329

cgtaggtcgg attgattttt cgt 23

<210> 330

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 330

tctaaacaaa actaacttta attaacgccc 30

<210> 331

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 331

ccacggacgc gaacaccgc a 21

<210> 332
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 332
 aggaaattgc gggttttcg 19

<210> 333
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 333
 ggaaggaaat tgcgggtttt c 21

<210> 334
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 334
 ccaaaaatcg tcgctaaaaa tcaac 25

<210> 335
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 335
 ccacggacgc gcgcattcac t 21

<210> 336
 <211> 100
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 336

ggcggccgcg acccctcccc gctgacctca ctcgagccgc cgcctggcgc agatataagc 60

ggcggcccat ctgaagaggg ctcggcaggc gcccggggtc 100

<210> 337

<211> 100

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 337

ggcggtcgcg attttttttc gttgatttta ttcgagtcgt cgtttggcgt agatataagc 60

ggcggtttat ttgaagaggg ttcggtaggc gttcgggggt 100

<210> 338

<211> 23

<

212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 338

tttcgttgat tttattcgag tcg 23

<210> 339

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 339

tcttcaaata aaccgccgc 19

<210> 340

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 340

cgccgagggt cgtttggcgt 20

<210> 341

<211> 118

<212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 341
 cgggtggtga agctgcccc cggcctggga gacccctatc gccgcggtcg ctggacgtgt 60
 gtggatgttt atgagcgaga cctggagccc cacagcttcg gcggactcct ggagggaa 118
 <210> 342
 <211> 118
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 342
 cgggtggtga agttgtttta cggtttggga gattttatc gtcgcggtcg ttggacgtgt 60
 gtggatgttt atgagcgaga tttggagttt tatagtttcg gcggattttt ggagggaa 118
 <210> 343
 <211> 22
 <
 212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 343
 gtttgggaga gttttatcgt cg 22
 <210> 344
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 344
 cctccaaaaa tccgccga 18
 <210> 345
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 345

cgccgagggc ggtcgttgga 20

<210> 346

<211> 70

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 346

ggggcggggg ccgacagccc acgctggcgc ggcaggcgcg tgcgcccgcc gttttcgtga 60

gcccgagcag 70

<210> 347

<211> 70

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 347

ggggtcgggg tcgatatgtt acgttggcgc ggtaggcgcg tgcgttcgtc gttttcgtga 60

gttcgagtag 70

<210> 348

<211> 20

<212>

> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 348

gtcggggtcg atagtttacg 20

<210> 349

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 349

actcgaactc acgaaaacg 19

<210> 350

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 350
 cgccgaggga cgaacgcacg 20

<210> 351
 <211> 96
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 351
 ggagcccca gcccacgcg ggcacacgca gggtaggtgg tcaccccgcc agggccgcg 60
 agcgcggcgc agagcgcggg ccgtgggaag tttctc 96

<210> 352
 <211> 96
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 352
 ggagttttta gttttacgcg ggtatagta gggtaggtgg ttacgttcgt agggccgcg 60
 agcgcggcgt agagcgcggg tcgtgggaag tttttt 96

<210> 353
 <211> 18
 <212>
 > DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 353
 gtaggtggg tggttacg 18

<210> 354
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 354
 aacttccac gaccgcg 17

<210> 355
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 355
 cgccgagggt tcgtagggtt 20

<210> 356
 <211> 127
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 356
 ggccgcgccca ttgcggtcct ctttttctg ctggtgggtt gggctacagc aggcctctgg 60
 agccacacca gggcacggga gtgggtgcag ggaccgtcac cgcgccttca cagcaccat 120
 agtgccc 127

<210> 357
 <211> 127
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 357
 ggcgtcgta ttgcggtttt tttttgttg ttggtgggtt gggttatagt aggtttttgg 60
 agttatatta gggtagcgga gtgggtgtag ggatcggtat cgcgttttta tacgtattat 120
 agtgttt 127

<210> 358
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 358
 tggagttata ttaggtacg gga 23
 <210> 359
 <211> 28

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 359

acactataat acgtataaaa acgcgata 28

<210> 360

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> Synthetic

<400> 360

ccacggacga acgatcccta c 21

<210> 361

<211> 140

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 361

ggcggcgagg ggcgcgtccg cgggtgggtt tcacctgggt ggtgggcatg tcgggcccgc 60

tagggcgagg gtctggccag gggcgtagtt ctcttggtgg gtggggacgc tccgtggcga 120

ttgggggtcac tcctctgagg 140

<210> 362

<211> 140

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 362

ggcggcgagg ggcgcgttcg cgggtgggtt ttatttgggt ggtgggtatg tcgggttcgt 60

tagggcgagg gtttggttag gggcgtagtt tttttggtgg gtggggacgt ttcgtggcga 120

ttgggggttat ttttttgagg 140

<210> 363

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 363

ggtggtgggt atgtcgg 17

<210> 364

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 364

ccaatcgcca cgaaacg 17

<210> 365

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 365

ccacggacgg gttcgttagg g 21

<210> 366

<211> 117

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 366

ccgtgggcgc ggacagctgc cgggagcggc aggcgtctcg atcggggacg caggcacttc 60

cgtccctgca gagcatcaga cgcgtctcgg gacactgggg acaacatctc ctccgcg 117

<210> 367

<211> 117

<

212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 367

tcgtgggcgc ggatagttgt cgggagcggc aggcgtttcg atcggggacg taggtatatt 60

cgtttttgta gattattaga cgcgtttcgg gatattgggg ataatatatt tttcgcg 117

<210> 368

<211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 368
 gttgtcggga gcggtagg 18
 <210> 369
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 369

 ccaatatccc gaaacgcgtc t 21
 <210> 370
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 370
 ccacggacgg cgtttcgac g 21
 <210> 371
 <211> 120
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 371
 aagctgcgcc cggagacgtg ggagcgttct cttgttttcc gattgcgcgg actcatcggg 60
 tcacagttaa tgcttttatg acgcggtgag tccagccact gattcctaac ggtttagagt 120
 <210> 372
 <211> 120
 <
 212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 372

aagttgcgtt cggagacgtg ggagcgtttt ttgtttttc ggtgcgcgg atttatcggg 60
 ttatagttta tgtttttatg acgcggtgag tttagttatt gatitttaac ggttttagagt 120
 <210> 373
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 373
 cgtttttttg tttttcgagt gcg 23
 <210> 374
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 374

 tcaataacta aactcaccgc gtc 23
 <210> 375
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 375
 ccacggacgg cggatttatc g 21
 <210> 376
 <211> 224
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 376
 ctctgacctg agtctccttt ggaactctgc aggttctatt tgcittttcc cagatgagct 60
 ctttttctgg tgtttgtctc tctgactagg tgtctaagac agtgttgtgg gtgtaggtac 120
 taacactggc tcgtgtgaca aggccatgag gctggtgtaa agcggccttg gagtgtgtat 180

 taagtaggtg cacagtaggt ctgaacagac tccccatccc aaga 224
 <210> 377

<211> 224

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 377

ttttgatttg agtttttttt ggaattttgt aggttttatt tgtttttttt tagatgagtt	60
tttttttttg tgtttgtttt tttagattagg tgtttaagat agtgttggtg gtgtaggtat	120
taatatgggt ttgtgtgata aggttatgag gttgggtgtaa agtggttttg gagtgtgtat	180
taagtaggtg tatagtaggt ttgaatagat tttttatttt aaga	224

<210> 378

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 378

ccatgaggct ggtgtaaag	19
----------------------	----

<210> 379

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 379

ctactgtgca cctacttaat acac	24
----------------------------	----

<210> 380

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 380

cgccgagggc ggccttggag	20
-----------------------	----

<210> 381

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 381	
gtgtttgttt ttttgattag gtgtttaaga	30
<210> 382	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 382	
ctttacacca acctcataac cttatc	26
<210> 383	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 383	
gacgcggaga tagtgttg g	21
<210> 384	
<211> 139	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 384	
ggccacacag gccactctg gccctctgag cccccggcgg acccagggca ttcaaggagc	60
ggctctgggc tgccagcgca ggctccgcg caaacacagc aggcctggaag tggcgctcat	120
caccggcacg tcttcccag	139
<210> 385	
<211> 139	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 385	
ggttatatag gttatatttg gttttttgag ttttcggcgg atttaggta ttaaggagc	60

ggtttttgggt tgtagcgta ggtttttcgcg taaatatagt aggttggaag tggcgtttat 120

tatcggtacg ttttttag 139

<210> 386

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 386

ggttttat tttt ggtttttga gttttcgg 28

<210> 387

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 387

tccaacctac tatatttacg cgaa 24

<210> 388

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> Synthetic

<400> 388

ccacggacgg cggatttagg g 21

<210> 389

<211> 171

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 389

tccacgtggt gccactctg gacaggtgga gcagaggga ggtggtggca tggtagggag 60

ggtggcctgg aggaccgat tggctgagtg taaaccagga gaggacatga ctttcagccc 120

tgcagccaga cacagctgag ctggtgtgac ctgtgtggag agttcatctg g 171

<210> 390

<211> 180

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220

><223> Synthetic

<400> 390

tttatcgtgg tgtttatttt ggataggtgg agtagaggga aggtggtgcg tatggtgggc 60

gagcgcgtgc gtttggagga tttcgattgg ttgacgtgta aattaggacg aggatatgat 120

ttttagtttt gtagttagat atagttgagt tgggtgtgatt tgtgtggaga gtttatttgg 180

<210> 391

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 391

cgcattggtgg gcgag 15

<210> 392

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<

220><223> Synthetic

<400> 392

acacgtcagc caatcggg 18

<210> 393

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 393

gacgcggagg cgctgcgcc 20

<210> 394

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic	
<400> 394	
tgcgtatggt gggcgag	17
<210> 395	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 395	
cctaatttac acgtcaacca atcgaa	26
<210> 396	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 396	
gacgcggagg cgctgcgtt t	21
<210> 397	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 397	
ccacggacgg cgctgcgtt t	21
<210> 398	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 398	
agccggtttt ccggctgaga cctcggcg	28
<210> 399	
<211> 28	

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 399
 agcccggtttt ccggctgaga cctcggcg 28
 <210> 400
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 400
 agcccggtttt ccggctgaga ctccgcgc 29
 <210> 401
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 401
 agcccggtttt ccggctgaga cgtccgtgg 29
 <210> 402
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 402
 agcccggtttt ccggctgaga ggacgcgc 28
 <210> 403
 <211> 108
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 403
 ggaaggaaat tgcgggttcc cgtctgcctt gtctccagct tctctgctga agcccggtag 60
 cagtgaatgc gcgctgactt tcagcgacga ctctggaag caacgcca 108

<210> 404
 <211> 108
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 404
 ggaaggaaat tgcgggtttt cgtttgttt gtttttagtt tttttgtga agttcggtag 60
 tagtgaatgc gcgttgattt ttagcgacga tttttggaag taacgtta 108
 <210> 405
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 405
 aggccacgga cgcgaaaaat cccacgc 27
 <210> 406
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 406
 gtcgagcgtt tggtagcg 17
 <210> 407
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 407
 ctcgtcgaaa tcgaaacgc 19
 <210> 408
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 408	
cgcgccgagg gcgatagcgt tttttattgt cg	32
<210> 409	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 409	
cgaggttatg gaggtgacg	19
<210> 410	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 410	
cgaatactac ccgttaaaca cg	22
<210> 411	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 411	
aggccacgga cggcgcgatt agtcgcg	27
<210> 412	
<211> 330	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 412	
ggcggcgccg cgaccgcctt ccttcgctgc gtcccgcccg ctccacgcct cgctcaccgc	60
cgccgcttct ccctgccccg cagcgcgcag ggaccatgtc ggcgagacc gcgagcggcc	120
ccacagagga ccaggtggaa atcctggagt acaacttcaa caaggtcgac aagcacccgg	180
attccaccac gctgtgcctc atcgcgcccg aggcaggcct ttccgaggag gagaccagg	240
tgcgtcccca cagcgcccca gcgcgccccg acccctgcct gggctgagcc ttctcgcggc	300

tgggcggtcc tgttcgccg cgcctcccgc 330

<210> 413

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 413

ggcggcgtcg cgatcgtttt ttttcgttgc gtttcgttcg ttttacgttt cgtttatcgt 60
cgtcgttttt ttttgtttcg tagcgcgtag ggattatgtc ggcgagatc gcgagcggtt 120
ttatagagga ttaggtggaa attttggagt ataattttaa taaggtcgat aagtattcgg 180
attttattac gttgtgtttt atcgcggtcg aggtaggttt tttcgaggag gagatttagg 240
tgcgttttta tacgcgttta gcgcgtttcg atttttgttt gggttgagtt ttttcgcggt 300
tgggcggttt tgttcgttcg cgtttttcgt 330

<210> 414

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 414

gcgtcgcgat cgtttttttt cg 22

<210> 415

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 415

aacgacgacg ataaacgaaa cgta 24

<210> 416

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 416

aggccacgga cggttgcgtt tcgttcgttt	30
<210> 417	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 417	
gtagcgcgta gggattatgt cg	22
<210> 418	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 418	
tttccaccta atcctctata aaaccgc	27
<210> 419	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 419	
aggccacgga cgctcgcgat ctccgc	26
<210> 420	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 420	
acgttgtgtt ttatcgcg	19
<210> 421	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic

<400> 421

ctaaacgcgt ataaaaacgc ac 22

<210> 422

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 422

aggccacgga cggtcgaggt aggttttttc ga 32

<210> 423

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 423

caactcatcc gcgacg 16

<210> 424

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 424

aggccacgga cggtcgacgc ccaacaa 27

<210> 425

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 425

cgcgccgagg gcgttaggat ttatTTTTTT ttttcga 37

<210> 426

<211> 72

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 426

cgggacagag ccgaccaatc aggcggctcg gcagcggggc agaggtcagg ggcggggccg 60

aggggaagcc aa 72

<210> 427

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 427

cgggatagag tcgattaatt aggcggttcg gtagcggggt agaggttagg ggcggggtcg 60

aggggaagtt aa 72

<210> 428

<211> 24

<212>

> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 428

cgggatagag tcgattaatt aggc 24

<210> 429

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 429

taacttcccc tcgacccg 18

<210> 430

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 430

cgcgccgagg cggttcggta gcgg	24
<210> 431	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 431	
cgcgccgagg ttacaaaccg cgaccg	26
<210> 432	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 432	
ttttcgttga ttttattcga gtcgtc	26
<210> 433	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 433	
gaaccctctt caaataaacc gc	22
<210> 434	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 434	
cgcgccgagg cgtttggcgt agatataagc	30
<210> 435	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223>	Synthetic	
<400>	435	
aggccacgga	cggcggattt atcgggttat agt	33
<210>	436	
<211>	35	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220><223>	Synthetic	
<400>	436	
acggacgcgg	aggcggattt aggggtattta aggag	35
<210>	437	
<211>	1371	
<212>	RNA	
<213>	Homo sapiens	
<400>	437	
aaucuuuaga	gccugaguca cucucuccag gagaccaga ccuagaacua cccagagcaa	60
gaccacagcu	ggugaacagu ccagccuguc uccaguugga cuagccacaa uucaagugcu	120
ugaaaaccac	auguggagca gacaagaugg agacaaaauuc cucucucucc acgaacaucu	180
cuggagggac	accugcugua ucugcuggcu aucucuuccu ggauaucauc acuuauucgg	240
uauuugcagu	caccuuuguc cucggggucc ugggcaacgg gcuugugauc uggguggcug	300
gauuccggau	gacacacaca gucaccacca ucaguuaccu gaaccuggcc guggcugacu	360
ucuguuucac	cuccacuuug ccuuuuuca uggucaggaa ggccauggga ggacauuggc	420
cuuucggcug	guuccugucg aauuucgucu uuaccuagu ggacaucaac uguuucggaa	480
gugucuuccu	gaucgcccuc auugcucugg accgcugugu uugcguccug cauccagucu	540
ggaccagaa	ccaccgcacc gugagccugg ccaagaaggu gaucauuggg ccuggguga	600
uggcucugcu	ccucacauug ccaguuauca uucgugugac uacaguaccu gguaaaacgg	660
ggacaguagc	cugcacuuuu aacuuuucgc ccuggaccaa cgaccuuaa gagaggauaa	720
auguggccgu	ugccauguug acggugagag gcaucauccg guucaucauu ggcuucagcg	780
caccauguc	caucguugcu gucaguuaug ggcuuuuugc caccaagauc cacaagcaag	840
gcuugauuaa	guccagucgu ccuuuacggg uccucuccuu ugucgcagca gccuuuuuuc	900
ucugcugguc	cccuaucag gugguggccc uuauagccac agucagaau cugaguuau	960
ugcaaggcau	guacaaagaa auugguauug caguggaugu gacaagugcc cuggccuucu	1020

ucaacagcug ccuacacccc augcucuaug ucuucauggg ccaggacuuc cgggagaggg 1080

ugauccacgc ccuucccgcc agucuggaga gggcccugac cgaggacuca acccaaacca 1140

gugacacagc uaccaauucu acuuuaccuu cugcagaggu ggaguuacag gcaaagugag 1200

gagggagcug ggggacacuu ucgagcuccc agcuccagcu ucgucucacc uugaguuagg 1260

cugagccaca ggcauuuccu gcuuauuuua ggauuaccca cucaucagaa aaaaaaaaaa 1320

aagccuuugu guccccugau uuggggagaa uaaacagaua ugaguuuuu a 1371

<210> 438

<211> 106

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 438

guugccaugu ugacggugag aggcauauu cggaucauca uuggcuucag cgcaccaug 60

uccaucguug cugucaguua ugggcuuuuu gccaccaaga uccaca 106

<210> 439

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 439

tgacggtgag aggcataca 18

<210> 440

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 440

ggtggcaata agcccataac tg 22

<210> 441

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 441

cggttcatca ttggcttcag cgc

23

<210> 442

<211> 180

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 442

Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala Asp

1 5 10 15

Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala Gly

20 25 30

Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly Ala

35 40 45

Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly Pro

50 55 60

His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly Ala

65 70 75 80

Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe

85 90 95

Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln Asp

100 105 110

Ala Pro Pro Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val

115 120 125

Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg Gln

130 135 140

Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met

145 150 155 160

Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser

165 170 175

Gly Gln Arg Arg

180

<210> 443

<211> 25

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 443
 ccagttggac tagccacaat tcaag 25
 <210> 444
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 444
 aggaatttgt ctccatcttg tctgc 25
 <210> 445
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 445
 cgcgccgagg ctccacatgt ggttttcaag 30
 <210> 446
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 446
 aggccacgga cgctccacat gtggttttca ag 32
 <210> 447
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic

<400> 447
 gcccaagtct ccatcatgac 20

<210> 448

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 448

ggtggtccac aaaggtgtc

19

<210> 449

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 449

cgcgccgagg cctacgatga atttaagcac tg

32

<210> 450

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 450

acggacgcgg agcctacgat gaatttaagc actg

34

<210> 451

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 451

aggccacgga cgcctacgat gaatttaagc actg

34

<210> 452

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 452	
acgaccggtt tggcttct	18
<210> 453	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 453	
ccatcagcat tgccgtc	17
<210> 454	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 454	
cgcgccgagg cctgggtgta gagtctctc	29
<210> 455	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 455	
acggacgcgg agcctgggtg tagagtctct c	31
<210> 456	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 456	
aggccacgga cgctgggtg tagagtctct c	31
<210> 457	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic
 <400> 457
 tatcatttgg ctggcaagga g 21

<210> 458
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 458
 tcaccaaggg cgatttaata tgg 23

<210> 459
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 459
 cgcgcgagg ggtcattcat acttctcttg gat 33

<210> 460
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 460
 acggacgcgg aggtcattc atacttctct tggat 35

<210> 461
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 461
 agaacatgga tgaccagtgg at 22

<210> 462
 <211> 18

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 462
 ggcagcgttt tgtgtggg 18
 <210> 463
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 463
 cgcgccgagg tgcaggatga aatggagatc 30

 <210> 464
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 464
 acggacgcgg agtgcaggat gaaatggaga tc 32
 <210> 465
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 465
 tgcgaaaaga tctgcaaaat tttctc 26
 <210> 466
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 466
 aggtcctcca tgatgtgttc tatg 24

<210> 467
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 467
 cgcgccgagg caagaaggag aataagaatg aaaagg 36
 <210> 468
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 468
 acggacgcgg agcaagaagg agaataagaa tgaaaagg 38
 <210> 469
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 469
 aggccacgga cgcaagaagg agaataagaa tgaaaagg 38

 <210> 470
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 470
 ctgcttacaaggagcttgc a 21
 <210> 471
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 471

gccttggaat atttcatcaa tgacag	26
<210> 472	
<211> 36	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 472	
cgcgccgagg gctttatctt tgatattctt gatggt	36
<210> 473	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 473	
aggccacgga cggtttatc tttgatattc ttgatggt	38
<210> 474	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 474	
ggattcaatg tcattccagag cc	22
<210> 475	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 475	
tctgaccac gatacagcag	20
<210> 476	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic

<400> 476

cgcgccgagg ccagagcaga tgcaagtg 28

<210> 477

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 477

aggccacgga cgccagagca gatgcaagtg 30

<210> 478

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 478

acatgcaaaa cttgcagatt ttgg 24

<210> 479

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 479

tggtcctatc actgtattcc gct 23

<210> 480

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 480

acggacgcgg agttggccat ggtatctgta ag 32

<210> 481

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 481

aggccacgga cgttggccat ggtatctgta ag

32

<210> 482

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 482

gccggccgtc tccttaac

18

<210> 483

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 483

tctccatcag aactctgcaa c

21

<210> 484

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 484

acggacgcgg agcaccgaac accatgcc

28

<210> 485

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 485

gtgctgagga gtcggagtg

19

<210> 486

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 486
 tccgagagaa cagcatcacc 20
 <210> 487
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 487
 cgcgccgagg gtgagagtga agatggcatt 30

 <210> 488
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 488
 aggccacgga cggtagagagt gaagatggca tt 32
 <210> 489
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 489
 tttgtaacct ttgacgacca tgac 24
 <210> 490
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 490

ggccattcac agtatgggat ttct

24

<210> 491

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 491

aggccacgga cgtgaatgac aatcttatcc acgg

34