



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0175763  
(43) 공개일자 2024년12월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C12Q 1/6883* (2018.01)

(52) CPC특허분류  
*C12Q 1/6883* (2022.01)  
*C12Q 2600/106* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0075669

(22) 출원일자 2023년06월13일

심사청구일자 2023년06월13일

(71) 출원인

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

곽혜선

서울특별시 영등포구 국제금융로7가길 21, 3동 203호 (여의도동, 화랑아파트)

김정선

서울특별시 송파구 가락로 192, 26동 201호 (송파동, 2차한양아파트)

이정

서울특별시 서대문구 이화여대길 50-12, 105동 903호 (대현동, 신촌럭키아파트)

(74) 대리인

리앤목특허법인

전체 청구항 수 : 총 13 항

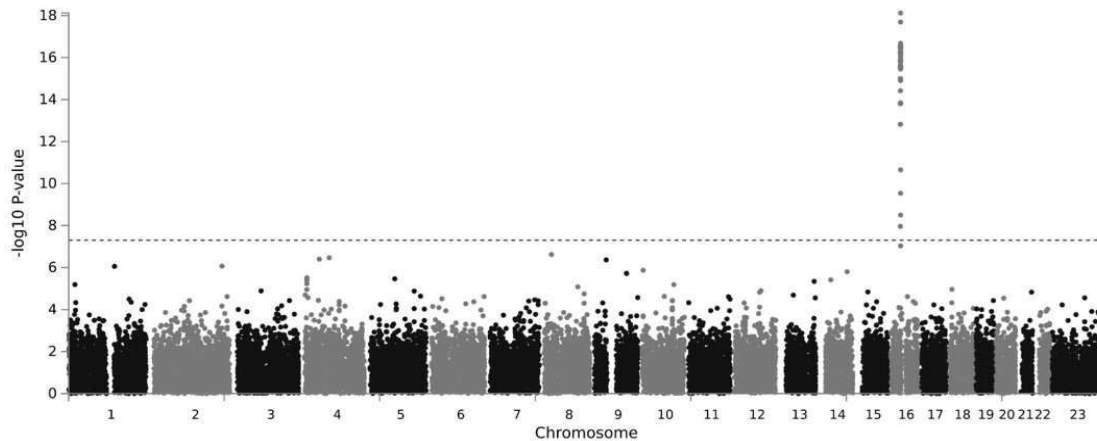
(54) 발명의 명칭 **와파린 유지 용량 예측용 FRAS1 단일염기다형성 마커 조성물 및 이의 용도**

### (57) 요약

본 발명은 FRAS1의 단일염기다형성 마커를 포함하는 와파린 유지 용량 예측용 마커 및 이의 용도에 관한 것이다.

본 발명의 와파린 유지 용량 예측용 마커 조성물 등에 따르면, FRAS1뿐만 아니라, FAM95C 또는 NKX2-6 유전자 상의 단일염기다형성과 와파린 유지 용량이 유의미한 연관성을 나타내고 있음을 확인하였는 바, 상기 마커를 이용하여 대상 개체의 와파린 유지 용량을 효과적으로 예측할 수 있다.

### 대표도 - 도1



(52) CPC특허분류  
C12Q 2600/156 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                            |
|-------------|----------------------------|
| 과제고유번호      | 1345313122                 |
| 과제번호        | 2017R1D1A1B03034033        |
| 부처명         | 교육부                        |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국연구재단                     |
| 연구사업명       | 개인기초연구(교육부)(R&D)           |
| 연구과제명       | VKORC1 전사인자로서의 c-Myc 역할 규명 |
| 기 여 율       | 1/1                        |
| 과제수행기관명     | 이화여자대학교                    |
| 연구기간        | 2017.06.01 ~ 2020.05.31    |

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

- 1) 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623);
- 2) 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109); 및
- 3) 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)

로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단일염기다형성(SNP) 마커를 포함하는, 와파린 유지 용량 예측용 마커 조성물.

#### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623)의 유전자형이 'A'인 경우, 'G'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것인, 조성물.

#### 청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109)의 유전자형이 'G'인 경우, 'A'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것인, 조성물.

#### 청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)의 유전자형이 'G'인 경우, 'A'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것인, 조성물.

#### 청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 와파린 유지 용량은 2.0 내지 3.0의 INR (international normalized ratio)을 유지하는데 필요한 용량인 것인, 조성물.

#### 청구항 6

- 1) 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623);
- 2) 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109); 및
- 3) 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)

로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단일염기다형성(SNP) 마커를 검출 또는 증폭할 수 있는 체제를 포함하는, 와파린 유지 용량 예측용 조성물.

#### 청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 조성물은

- 1) 서열번호 1의 염기서열에서 101번째 염기가 G 또는 A인 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오티드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오티드;
- 2) 서열번호 2의 염기서열에서 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오티드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오티드; 및
- 3) 서열번호 3의 염기서열에서 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오티드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오티드

에 결합할 수 있는 프로브 또는 특이적으로 증폭할 수 있는 프라이머를 포함하는, 조성물.

## 청구항 8

청구항 6의 조성물을 포함하는, 와파린 유지 용량 예측용 키트.

## 청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 키트는 RT-PCT 키트, DNA 칩 키트, SNP 칩 키트 또는 마이크로어레이 칩 키트 것인, 키트.

## 청구항 10

A) 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 와파린 유지 용량 예측용 마커의 다형성 부위를 증폭하거나 혼성화하는 단계; 및

B) 상기 증폭되거나 혼성화된 다형성 부위의 염기를 결정하는 단계

를 포함하는, 와파린 유지 용량을 예측하기 위한 정보제공방법으로서,

상기 마커는 1) 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623);

2) 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109); 및

3) 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)

로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단일염기다형성(SNP) 마커를 포함하는 것인, 방법.

## 청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 방법은 B) 단계에서 결정된 염기 중, 상기 서열번호 1의 101번째 염기의 유전자형이 'A'인 경우, 'G'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것을 포함하는 것인, 방법.

## 청구항 12

청구항 10에 있어서, 상기 방법은 B) 단계에서 결정된 염기 중, 상기 서열번호 2의 101번째 염기의 유전자형이 'G' 경우, 'A'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것을 포함하는 것인, 방법.

## 청구항 13

청구항 10에 있어서, 상기 방법은 B) 단계에서 결정된 염기 중, 상기 서열번호 3의 101번째 염기의 유전자형이 'G' 경우, 'A'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것을 포함하는 것인, 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 FRAS1 단일염기다형성 마커를 포함하는 와파린 유지 용량 예측용 마커 및 이의 용도에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 와파린은 혈전색전성 질환(thromboembolic disease)의 방지를 위해 심부 정맥 혈전증(deep vein thrombosis), 심방세동(atrial fibrillation), 또는 기계 심장판막(heart valve) 치환술을 받은환자에게 널리 처방되는 항응고제이다. 그러나, 와파린은 치료역이 매우 좁고, 용량-반응 면에서 인종간 뿐만 아니라 개체 간 차이가 큰 약물이므로, 와파린의 안전성을 모니터링하기 위해 많은 노력이 제공되어 왔다. 현재, 와파린 복용량은 표준화된 국제 정상화비(international normalized ratio, INR)를 이용하여 혈액 프로트롬빈 시간(prothrombin time)의 일련의 결정에 의해 면밀히 모니터링되고 있다.

[0003] 한편, 전장유전체 연관분석(Genome-wide association study; GWAS)은 질환 및 약물 반응성에 대한 유전적 요인을 총체적으로 탐색하는 연구 방법을 말하며, 일본 이화학연구소의 Ozaki(2002) 그룹에서 최초로 시도된 연구 방법이다. HapMap 프로젝트의 완성 및 마이크로어레이 기술의 급속한 발전으로, 유전자 다형성에 관한 전장유전체 스캔이 일상적인 작업이 되었고, 수백의 전장유전체 연관 분석 GWAS이 성공적으로 수행되어 심혈관 질환, 당뇨 등의 통상적인 질병과 관련된 다수의 공지되거나 신규한 유전자 변이체의 발견을 이끌고 있다. 또한, 이러한

기술은 다양한 질환의 진단 및 약물 반응성 예측 관련된 유전자 다형성 식별에 대한 강력한 수단을 제공하고 있다.

[0004] 이에, 본 발명자들은 개개인별 와파린 용량-반응 및 와파린 유지 용량 예측을 효율적이고 손쉽게 할 수 있는 방법을 개발하고자 노력한 결과, 특정 유전자 상의 SNP 대립형질로부터 와파린 유지 용량을 예측할 수 있는 진단용 조성물을 개발하여 본 발명을 완성하였다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0005] 일 양상은 1) 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623); 2) 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109); 및 3) 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단일염기다형성(SNP) 마커를 포함하는, 와파린 유지 용량 예측용 마커 조성물을 제공한다.

[0006] 다른 양상은 1) 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623); 2) 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109); 및 3) 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단일염기다형성(SNP) 마커를 검출 또는 증폭할 수 있는 체제를 포함하는, 와파린 유지 용량 예측용 조성물을 제공한다.

[0007] 또 다른 양상은 상기 와파린 유지 용량 예측용 조성물을 포함하는, 와파린 유지 용량 예측용 키트를 제공한다.

[0008] 또 다른 양상은 A) 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 와파린 유지 용량 예측용 마커의 다형성 부위를 증폭하거나 혼성화하는 단계; 및 B) 상기 증폭되거나 혼성화된 다형성 부위의 염기를 결정하는 단계를 포함하는, 와파린 유지 용량을 예측하기 위한 정보제공방법으로서, 상기 마커는 1) 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623); 2) 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109); 및 3) 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단일염기다형성(SNP) 마커를 포함하는 것인, 방법을 제공한다.

### 과제의 해결 수단

[0009] 일 양상은 1) 서열번호 1의 101번째 염기(GenBank SNP 데이터베이스 rs4386623); 2) 서열번호 2의 101번째 염기(GenBank SNP 데이터베이스 rs1890109); 및 3) 서열번호 3의 101번째 염기(GenBank SNP 데이터베이스 rs310279)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단일염기다형성(SNP) 마커를 포함하는, 와파린 유지 용량 예측용 마커 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 명세서에서의 용어 "단일염기다형성 (single nucleotide polymorphism, SNP)"은 게놈에서 단일염기(A, T, C 또는 G)가 종의 멤버들 간 또는 한 개체(individual)의 쌍 염색체 간에 다른 경우에 발생하는 DNA 서열의 다양성을 의미한다. 한 집단(population)내에서, SNP는 소수 대립인자 빈도(minor allele frequency, MAF; 특정 집단에서 발견되는 유전자위치(locus)에서 가장 낮은 대립인자 빈도)로 할당될 수 있다. 단일염기는 폴리뉴클레오타이드 서열에 치환(대체), 제거(결실) 또는 첨가(삽입)될 수 있다. SNP는 번역 프레임의 변이를 유발할 수 있다. SNP는 인간 유전체 상에 가장 많이 존재하는 유전적 다형성으로, 유전학적으로 SNP 위치에 따라 각 개체에 큰 차이를 야기할 수 있다. 예를 들면, SNP가 단백질을 암호화하고 있는 위치에 존재할 경우, 단백질의 구조에 영향을 미쳐 단백질 기능이 달라질 수 있고, 질병을 유발할 수 있다. SNP가 단백질을 암호화하지 않는 비암호화 영역에 존재할 경우, 즉 프로모터 (promoter) 또는 인트론 (intron)에 존재할 경우, 각각에 대하여 단백질의 발현 수준에 차이를 가져와 그 단백질의 전체적인 활성이 증가 또는 감소할 수 있고, 선택적 이어맞추기 (alternative splicing)를 통하여 비정상적 단백질이 발현될 수도 있다.

[0011] 상기 단일염기다형성은 유전자 코딩 서열, 유전자의 비-코딩 부위 또는 유전자 사이의 내부 지역(intergenic regions)에 포함될 수 있다. 유전자 코딩 서열 내의 SNP는 유전암호의 중복성(degeneracy)으로 인해 반드시 타겟 단백질의 아미노산 서열의 변이를 수반하는 것은 아니다. 동일한 폴리펩타이드 서열을 형성하는 SNP는 동의적(synonymous)이라 하고, 다른 폴리펩타이드 서열을 형성하는 SNP는 비-동의적(non-synonymous)이라고 한다.

[0012] 상기 비-동의적 SNP는 미스센스 또는 넌센스일 수 있으며, 상기 미스센스 변이는 다른 아미노산을 발생시킬 수 있고 상기 넌센스 변이는 비성숙 종결코돈을 형성할 수 있다. 단백질-코딩 부위가 아닌 곳에 존재하는 SNP는 유전자 사일런싱, 전사인자 결합 또는 비-코딩 RNA 서열을 유발시킬 수 있다.

[0013] 본 명세서에서의 용어 "다형성(polymorphism)"은 군집 내에서 변하는 유전자의 서열에서의 배치를 지칭한다. 다형성은 상이한 "대립 유전자"로 구성된다. 이러한 다형성의 배치는 유전자에서의 그의 위치 및 그에서 발견되는

상이한 아미노산 또는 염기에 의해 확인될 수 있다. 이러한 아미노산 변이는 2개의 상이한 대립유전자인, 2개의 가능한 변이체 염기(예를 들어, C 및 T)의 결과이다. 유전자형은 2개의 다른 별개의 대립유전자로 구성되기 때문에, 여러 가능한 변이체 중 임의의 변이체가 어느 한 개체에서 관찰될 수 있다(예를 들어, CC, CT 또는 TT). 개개의 다형성은 또한 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들면, NCBI 웹사이트 상에서 이용가능한 뉴클레오티드 염기 변이의 단일 뉴클레오티드 다형성 데이터베이스(Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP) of Nucleotide Sequence Variation)에서 사용되는 것인, 지정된 독특한 식별자 ("기준 SNP", "refSNP" 또는 "rs#")이다. 또한 "유전자형(genotype)"이라는 용어는 세포 또는 조직 샘플에서 특정 유전자의 특이적 대립유전자 또는 대립형질을 지칭한다.

[0014] 본 명세서에서의 용어 "대립형질" 또는 "대립유전자"는 상동염색체의 동일한 유전자 좌위에 존재하는 한 유전자의 여러 유형을 의미한다. 대립유전자는 다형성을 나타내는데 사용되기도 하며, 예컨대, SNP는 두 종류 이상, 예를 들어 두 종류의 대립형질을 갖는다.

[0015] 본 명세서에서의 용어 "마커(marker)" 또는 "바이오마커(biomarker)"는 일반적으로 단백질, 핵산(DNA 및 mRNA 등), 대사물질(지질, 당지질, 당단백질 및 당 등) 등의 유기생체분자를 이용해 몸 안의 변화를 알아 낼 수 있는 지표를 의미하는 것으로서, 구체적으로 특정 질병에서 정상이나 병적인 상태를 구분할 수 있거나 치료 반응을 예측할 수 있고 객관적으로 측정할 수 있는 표지자를 의미한다. 바이오마커는 그 활용에 따라, 약물 타겟의 존재를 확인하는 타겟마커, 병의 유무를 진단하는 진단마커, 특정 약물에 대한 반응군과 비반응군을 구별할 수 있는 예상마커, 약물 치료효과를 모니터링할 수 있는 대리표지자마커, 질병의 예후를 알려주는 예후 바이오마커 등이 있다.

[0016] 본 명세서에서의 용어 "와파린 유지 용량(stable warfarin doses, mg/day)"은 대상의 와파린 복용량 범위를 의미하는 것으로서, 구체적으로 2.0~3.0의 INR(international normalized ratio)을 유지하는데 필요한 용량을 의미하며, 보다 구체적으로 최소 3회 연속 측정에서 2.0~3.0의 INR을 유지하는데 필요한 평균 용량을 의미한다.

[0017] 본 명세서에서의 용어 "INR(international normalized ratio)"은 혈액응고 시간(프로트롬빈 시간, Prothrombin Time)을 국제적으로 표준화한 단위를 의미한다. 즉, 일종의 혈액응고검사의 지표로서, 와파린의 치료가 적절한지 추정하는 데에 일차적인 목적이 있다. 일반적으로 와파린 복용 환자의 INR 수치가 2.0 내지 3.0 범위를 유지하도록 한다. INR 수치가 이보다 높으면 응고기능이 너무 많이 억제된 것을 의미하며 이럴 경우 출혈의 위험이 있으므로 와파린의 용량을 줄여야 한다. 반대로 이 수치보다 낮으면 응고억제 효과가 부족하므로 용량을 올려야 한다.

[0018] 상기 마커 조성물은 심장 판막 치환술을 받거나, 폐동맥색전증을 겪거나, 관상동맥폐쇄를 겪거나, 정맥 혈전색전증을 겪거나, 심장 협착증을 겪거나 및/또는 심방세동(부정맥)을 겪는 대상의 와파린 유지 용량을 예측하는 것일 수 있다. 또한, 상기 마커 조성물은 아시아인(Asian)의 와파린 유지 용량을 예측하는 것일 수 있으며, 구체적으로 한국인의 와파린 유지 용량을 예측하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0019] 본 명세서에서의 용어 "예측"은 의학적 귀추에 대하여 미리 헤아려 짐작하는 것을 의미하며, 본 발명의 목적상 와파린 유지 용량을 미리 짐작하는 것을 의미하는 것일 수 있다.

[0020] 상기 서열번호 1의 101번째 염기는 4번 염색체의 78991190째 염기로서, G 또는 A인 SNP인 rs4386623인 것일 수 있다.

[0021] 상기 서열번호 2의 101번째 염기는 9번 염색체의 38643996번째 염기로서, A 또는 G인 SNP인 rs1890109인 것일 수 있다.

[0022] 상기 서열번호 3의 101번째 염기는 8번 염색체의 23618463번째 염기로서, A 또는 G인 SNP인 rs310279인 것일 수 있다.

[0023] 상기 조성물은 서열번호 4의 101번째 염기(rs9934438)의 단일염기다형성 마커를 추가로 포함하는 것일 수 있다.

[0024] 상기 조성물은 서열번호 5의 101번째 염기(rs117496075)의 단일염기다형성 마커를 포함하지 않는 것일 수 있다.

[0025] 상기 서열번호 1 내지 5 및 이에 포함된 SNP 정보는 하기 표에 기재하였다.

## 표 1

[0026]

| 유전자    | rs_id       | 염기서열<br>(5'→3')                                                                                                                                                                                                        | 서열<br>번호 | 대립<br>유전자<br>(101번째 염<br>기) |
|--------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------|
| FRAS1  | rs4386623   | CTCACACCAAGTCAGTCCACTTGTGTCTCTGAACACAAGTACTTACAC<br>CACCTTCGGTCCCATATGCCACCCCTCCCTGCCGCAACTGCCATGCAGTTGT<br>CTCTGCCAGTCTCTGTCCCTGACCTCCTGCTAAAGCCAGCTGTCCCTGGCTAAC<br>CCCTCCCATTTAACTGAGGCTGTCCTGCACTGGCGTGC           | 1        | G 또는 A                      |
| FAM95C | rs1890109   | AATGGTTCGTGGGATAAACAGCTGGCACTTGTATCTAAAA<br>CCTAGATTGGTTGCATAAACACCATGGCATTCTGAAGTTT<br>TGGTTTTGATTGACATTGGCAAGATTACTGTGTGTTAATTTCTTAAAGCTGA<br>GCACTGTGGTGATGGGTTTGTAAATTCAGCATAATCTTACTGATAAGAAAAAT<br>AGACCTGAATGTT | 2        | A 또는 G                      |
| NKX2-6 | rs310279    | TTGTGAGGCCTCCCGACCATGTGGAATTGTGAGTCCAT<br>TAAACCTCTTTCCTTTATAAATTAGCCAGTCTCAGGTGTG<br>TCTTTATTAGCGTGAGAACAATAATACAGAGTTCATTGCTATGGTGGAGGGA<br>AAGTTTGGGGGACCCTGGCAAAGAGAGAGCTGGGGCTGTGTTTTGCTTGGCAG<br>AGGGGGCATGCTC   | 3        | A 또는 G                      |
| VKORC1 | rs9934438   | GGACTGTCAACCCAGTGCCTTGGACCCTGCCCGAGAAAGGTGATTCCAAGAAG<br>CCACCTGGGTATCTCTGTTCCTCCGACCTCCCATCCTAGTCCAAGGTCGATG<br>ATCTCCTGGCACCAGGACCTTTGGCCACGTCAGGATTCATGTCACTGACCCT<br>ATCCTCCCTCTCCCGAGCAGGCCCGACGTGGCTAC           | 4        | G 또는 A                      |
| GABRB1 | rs117496075 | TGCCACTGACAGAGTCTCTTTCAGCTAGAGGTAATAATCTTAAAGTGTTA<br>AAACATTAGAGAGTTAACACGTTGGTGTGAATAAGTTTGTCAAAAGTGAAAGT<br>GAAAGCATTAGACTAGTTGCAGTTTCAATGGTAGATGAAATTCAAAGGTCAAAG<br>TACCTAAAAATTGAGAGGAAATGCAGCTGTGTGGGAAAC       | 5        | G 또는 A                      |

[0028]

본 명세서에서의 용어, "rs\_id"란 1998년부터 SNP 정보를 축적하기 시작한 NCBI가 초기에 등록되는 모든 SNP에 대하여 부여한 독립된 표지자인 rs-ID를 의미한다. 본 발명에서는 rs4386623, rs1890109 또는 rs310279와 같은 형태로 기재하였다. 이와 같은 표에 기재된 rs\_id는 본 발명의 다형성 마커인 SNP 마커를 의미한다. 당업자라면 상기 rs\_id를 이용하여 SNP의 위치 및 서열을 용이하게 확인할 수 있을 것이다. NCBI의 dbSNP(The Single Nucleotide Polymorphism Database) 번호인 rs\_id에 해당하는 구체적인 서열은 시간이 지남에 따라 약간 변경될 수 있다. 본 발명의 범위가 상기 변경된 서열에도 미치는 것은 당업자에게 자명할 것이다.

[0029]

상기 마커 조성물은 rs4386623, rs1890109 및 rs310279로 구성된 군에서 선택된 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다. 상기 rs4386623는 FRAS1 유전자 내 SNP이고, 상기 rs1890109는 FAM95C 유전자 내 SNP이고, 상기 rs310279는 NKX2-6 유전자 내 SNP인 것일 수 있다.

[0030]

일 구현예에 있어서, 상기 마커 조성물은 1) 서열번호 1의 염기서열에서 101번째 염기가 G 또는 A인 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오티드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오티드; 2) 서열번호 2의 염기서열에서 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오티드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오티드; 및 3) 서열번호 3의 염기서열에서 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오티드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오티드로 구성된 군에서 선택된 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.

[0031]

상기 마커 조성물에서, 상기 서열번호 1의 101번째 염기가 G 또는 A인 단일염기다형성(rs4386623)은 와파린 유지 용량과 높은 상관관계가 있는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623)의 유전자형이 'A'인 경우, 'G'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것일 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 단일염기다형성 부위가 A인 경우(대립 유전자에서 GA 또는 AA인 경우), G인 경우(대립 유전자에서 GG인 경우)에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측할 수 있다.

[0032]

상기 마커 조성물에서, 상기 서열번호 2의 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성(rs1890109)은 와파린 유지 용량과 높은 상관관계가 있는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109)의 유전자형이 'G'인 경우, 'A'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것일 수 있다. 보다 구체적

으로, 상기 단일염기다형성 부위가 G인 경우(대립 유전자에서 AG 또는 GG인 경우), A인 경우(대립 유전자에서 AA인 경우)에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측할 수 있다.

[0033] 상기 마커 조성물에서, 상기 서열번호 3의 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성(rs310279)은 와파린 유지 용량과 높은 상관관계가 있는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)의 유전자 형이 'G'인 경우, 'A'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것일 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 단일염기다형성 부위가 G인 경우(대립 유전자에서 AG 또는 GG인 경우), A인 경우(대립 유전자에서 AA인 경우)에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측할 수 있다.

[0034] 일 구현예에 있어서, 상기 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623)가 A인 경우 (대립 유전자에서 GA 또는 AA인 경우), 상기 예측 대상의 와파린 유지 용량은 7.5 내지 12.5 mg/day일 수 있으며, 구체적으로 7.5 내지 12.5 mg/day, 7.5 내지 12.0 mg/day, 7.5 내지 11.5 mg/day, 7.5 내지 11.0 mg/day, 7.5 내지 10.5 mg/day, 7.5 내지 10.0 mg/day, 7.5 내지 9.7 mg/day, 8.0 내지 12.5 mg/day, 8.0 내지 12.0 mg/day, 8.0 내지 11.5 mg/day, 8.0 내지 11.0 mg/day, 8.0 내지 10.5 mg/day, 8.0 내지 10.0 mg/day, 8.0 내지 9.7 mg/day, 8.5 내지 12.5 mg/day, 8.5 내지 12.0 mg/day, 8.5 내지 11.5 mg/day, 8.5 내지 11.0 mg/day, 8.5 내지 10.5 mg/day, 8.5 내지 10.0 mg/day, 8.5 내지 9.7 mg/day, 9.0 내지 12.5 mg/day, 9.0 내지 12.0 mg/day, 9.0 내지 11.5 mg/day, 9.0 내지 11.0 mg/day, 9.0 내지 10.5 mg/day, 9.0 내지 10.0 mg/day, 9.0 내지 9.7 mg/day, 9.5 내지 12.5 mg/day, 9.5 내지 12.0 mg/day, 9.5 내지 11.5 mg/day, 9.5 내지 11.0 mg/day, 9.5 내지 10.5 mg/day, 9.5 내지 10.0 mg/day, 9.5 내지 9.7 mg/day, 9.7 내지 12.5 mg/day, 9.7 내지 12.0 mg/day, 9.7 내지 11.5 mg/day, 9.7 내지 11.0 mg/day, 9.7 내지 10.5 mg/day 또는 9.7 내지 10.0 mg/day 일 수 있다.

[0035] 일 구현예에 있어서, 상기 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623)가 G인 경우 (대립 유전자에서 GG인 경우), 상기 예측 대상의 와파린 유지 용량은 4.0 내지 7.0 mg/day일 수 있으며, 구체적으로 4.0 내지 7.0 mg/day, 4.0 내지 6.5 mg/day, 4.0 내지 6.0 mg/day, 4.0 내지 5.5 mg/day, 4.0 내지 5.39 mg/day, 4.5 내지 7.0 mg/day, 4.5 내지 6.5 mg/day, 4.5 내지 6.0 mg/day, 4.5 내지 5.5 mg/day, 4.5 내지 5.39 mg/day, 5.0 내지 7.0 mg/day, 5.0 내지 6.5 mg/day, 5.0 내지 6.0 mg/day, 5.0 내지 5.5 mg/day, 5.0 내지 5.39 mg/day, 5.39 내지 7.0 mg/day, 5.39 내지 6.5 mg/day, 5.39 내지 6.0 mg/day 또는 5.39 내지 5.5 mg/day일 수 있다.

[0036] 일 구현예에 있어서, 상기 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109)가 G인 경우 (대립 유전자에서 AG 또는 GG인 경우), 상기 예측 대상의 와파린 유지 용량은 7.0 내지 12.5 mg/day일 수 있으며, 구체적으로 7.0 내지 12.5 mg/day, 7.0 내지 12.0 mg/day, 7.0 내지 11.5 mg/day, 7.0 내지 11.0 mg/day, 7.0 내지 10.5 mg/day, 7.0 내지 10.0 mg/day, 7.0 내지 9.5 mg/day, 7.0 내지 9.04 mg/day, 7.5 내지 12.5 mg/day, 7.5 내지 12.0 mg/day, 7.5 내지 11.5 mg/day, 7.5 내지 11.0 mg/day, 7.5 내지 10.5 mg/day, 7.5 내지 10.0 mg/day, 7.5 내지 9.5 mg/day, 7.5 내지 9.04 mg/day, 8.0 내지 12.5 mg/day, 8.0 내지 12.0 mg/day, 8.0 내지 11.5 mg/day, 8.0 내지 11.0 mg/day, 8.0 내지 10.5 mg/day, 8.0 내지 10.0 mg/day, 8.0 내지 9.5 mg/day, 8.0 내지 9.04 mg/day, 8.5 내지 12.5 mg/day, 8.5 내지 12.0 mg/day, 8.5 내지 11.5 mg/day, 8.5 내지 11.0 mg/day, 8.5 내지 10.5 mg/day, 8.5 내지 10.0 mg/day, 8.5 내지 9.5 mg/day, 8.5 내지 9.04 mg/day, 9.0 내지 12.5 mg/day, 9.0 내지 12.0 mg/day, 9.0 내지 11.5 mg/day, 9.0 내지 11.0 mg/day, 9.0 내지 10.5 mg/day, 9.0 내지 10.0 mg/day, 9.0 내지 9.5 mg/day, 9.0 내지 9.04 mg/day, 9.04 내지 12.5 mg/day, 9.04 내지 12.0 mg/day, 9.04 내지 11.5 mg/day, 9.04 내지 11.0 mg/day, 9.04 내지 10.5 mg/day, 9.04 내지 10.0 mg/day 또는 9.04 내지 9.5 mg/day일 수 있다.

[0037] 일 구현예에 있어서, 상기 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109)가 A인 경우 (대립 유전자에서 AA인 경우), 상기 예측 대상의 와파린 유지 용량은 4.0 내지 7.0 mg/day일 수 있으며, 구체적으로 4.0 내지 7.0 mg/day, 4.0 내지 6.5 mg/day, 4.0 내지 6.0 mg/day, 4.0 내지 5.5 mg/day, 4.0 내지 5.39 mg/day, 4.5 내지 7.0 mg/day, 4.5 내지 6.5 mg/day, 4.5 내지 6.0 mg/day, 4.5 내지 5.5 mg/day, 4.5 내지 5.39 mg/day, 5.0 내지 7.0 mg/day, 5.0 내지 6.5 mg/day, 5.0 내지 6.0 mg/day, 5.0 내지 5.5 mg/day, 5.0 내지 5.39 mg/day, 5.39 내지 7.0 mg/day, 5.39 내지 6.5 mg/day, 5.39 내지 6.0 mg/day 또는 5.39 내지 5.5 mg/day일 수 있다.

[0038] 일 구현예에 있어서, 상기 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)가 G인 경우 (대립 유전자에서 AG 또는 GG인 경우), 상기 예측 대상의 와파린 유지 용량은 7.0 내지 12.5 mg/day일 수 있으며, 구체적으로 7.0 내지 12.5 mg/day, 7.0 내지 12.0 mg/day, 7.0 내지 11.5 mg/day, 7.0 내지 11.0 mg/day, 7.0 내지 10.5 mg/day, 7.0 내지 10.0 mg/day, 7.0 내지 9.5 mg/day, 7.0 내지 9.0 mg/day, 7.0 내지 8.84 mg/day, 7.5 내지 12.5 mg/day, 7.5 내지 12.0 mg/day, 7.5 내지 11.5 mg/day, 7.5 내지 11.0 mg/day, 7.5 내지 10.5 mg/day, 7.5 내지 10.0

mg/day, 7.5 내지 9.5 mg/day, 7.5 내지 9.0 mg/day, 7.5 내지 8.84 mg/day, 8.0 내지 12.5 mg/day, 8.0 내지 12.0 mg/day, 8.0 내지 11.5 mg/day, 8.0 내지 11.0 mg/day, 8.0 내지 10.5 mg/day, 8.0 내지 10.0 mg/day, 8.0 내지 9.5 mg/day, 8.0 내지 9.0 mg/day, 8.0 내지 8.84 mg/day, 8.5 내지 12.5 mg/day, 8.5 내지 12.0 mg/day, 8.5 내지 11.5 mg/day, 8.5 내지 11.0 mg/day, 8.5 내지 10.5 mg/day, 8.5 내지 10.0 mg/day, 8.5 내지 9.5 mg/day, 8.5 내지 9.0 mg/day, 8.5 내지 8.84 mg/day, 8.84 내지 12.5 mg/day, 8.84 내지 12.0 mg/day, 8.84 내지 11.5 mg/day, 8.84 내지 11.0 mg/day, 8.84 내지 10.5 mg/day, 8.84 내지 10.0 mg/day, 8.84 내지 9.5 mg/day 또는 8.84 내지 9.0 mg/day 일 수 있다.

[0039] 일 구현예에 있어서, 상기 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)가 A인 경우 (대립 유전자에서 AA인 경우), 상기 예측 대상의 와파린 유지 용량은 4.0 내지 7.0 mg/day일 수 있으며, 구체적으로 4.0 내지 7.0 mg/day, 4.0 내지 6.5 mg/day, 4.0 내지 6.0 mg/day, 4.0 내지 5.5 mg/day, 4.0 내지 5.36 mg/day, 4.5 내지 7.0 mg/day, 4.5 내지 6.5 mg/day, 4.5 내지 6.0 mg/day, 4.5 내지 5.5 mg/day, 4.5 내지 5.36 mg/day, 5.0 내지 7.0 mg/day, 5.0 내지 6.5 mg/day, 5.0 내지 6.0 mg/day, 5.0 내지 5.5 mg/day, 5.0 내지 5.36 mg/day, 5.36 내지 7.0 mg/day, 5.36 내지 6.5 mg/day, 5.36 내지 6.0 mg/day 또는 5.36 내지 5.5 mg/day일 수 있다.

[0040] 상기 마커 조성물은 rs9934438를 추가로 포함하는 것일 수 있다. 상기 rs9934438는 VKORC1S1 유전자 내 SNP 인 것일 수 있다.

[0041] 일 구현예에 있어서, 상기 마커 조성물은 서열번호 4의 염기서열에서 101번째 염기가 G 또는 A인 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오티드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오티드를 추가로 포함하는 것일 수 있다.

[0042] 상기 마커 조성물에서, 상기 서열번호 4의 101번째 염기가 G 또는 A인 단일염기다형성(rs9934438)은 와파린 유지 용량과 높은 상관관계가 있는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 서열번호 4의 101번째 염기(rs9934438)의 유전자형이 'A'인 경우, 'G'인 경우에 비해 와파린 유지 용량이 낮을 것으로 예측하는 것일 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 단일염기다형성 부위가 A인 경우(대립 유전자에서 GA 또는 AA인 경우), G인 경우(대립 유전자에서 GG인 경우)에 비해 와파린 유지 용량이 낮을 것으로 예측할 수 있다.

[0043] 일 구현예에 있어서, 상기 서열번호 4의 101번째 염기(rs9934438)가 A인 경우 (대립 유전자에서 GA 또는 AA인 경우), 상기 예측 대상의 와파린 유지 용량은 4.0 내지 7.0 mg/day일 수 있으며, 구체적으로 4.0 내지 7.0 mg/day, 4.0 내지 6.5 mg/day, 4.0 내지 6.0 mg/day, 4.0 내지 5.5 mg/day, 4.0 내지 5.05 mg/day, 4.5 내지 7.0 mg/day, 4.5 내지 6.5 mg/day, 4.5 내지 6.0 mg/day, 4.5 내지 5.5 mg/day, 4.5 내지 5.05 mg/day, 5.0 내지 7.0 mg/day, 5.0 내지 6.5 mg/day, 5.0 내지 6.0 mg/day, 5.0 내지 5.5 mg/day, 5.0 내지 5.05 mg/day, 5.05 내지 7.0 mg/day, 5.05 내지 6.5 mg/day, 5.05 내지 6.0 mg/day 또는 5.05 내지 5.5 mg/day일 수 있다.

[0044] 일 구현예에 있어서, 상기 서열번호 4의 101번째 염기(rs9934438)가 G인 경우 (대립 유전자에서 GG인 경우), 상기 예측 대상의 와파린 유지 용량은 7.5 내지 12.5 mg/day일 수 있으며, 구체적으로 7.5 내지 12.5 mg/day, 7.5 내지 12.0 mg/day, 7.5 내지 11.5 mg/day, 7.5 내지 11.0 mg/day, 7.5 내지 10.5 mg/day, 7.5 내지 10.0 mg/day, 7.5 내지 9.5 mg/day, 7.5 내지 9.0 mg/day, 7.5 내지 8.79 mg/day, 8.0 내지 12.5 mg/day, 8.0 내지 12.0 mg/day, 8.0 내지 11.5 mg/day, 8.0 내지 11.0 mg/day, 8.0 내지 10.5 mg/day, 8.0 내지 10.0 mg/day, 8.0 내지 9.5 mg/day, 8.0 내지 9.0 mg/day, 8.0 내지 8.79 mg/day, 8.5 내지 12.5 mg/day, 8.5 내지 12.0 mg/day, 8.5 내지 11.5 mg/day, 8.5 내지 11.0 mg/day, 8.5 내지 10.5 mg/day, 8.5 내지 10.0 mg/day, 8.5 내지 9.5 mg/day, 8.5 내지 9.0 mg/day, 8.5 내지 8.79 mg/day, 8.79 내지 12.5 mg/day, 8.79 내지 12.0 mg/day, 8.79 내지 11.5 mg/day, 8.79 내지 11.0 mg/day, 8.79 내지 10.5 mg/day, 8.79 내지 10.0 mg/day, 8.79 내지 9.5 mg/day, 또는 8.79 내지 9.0 mg/day일 수 있다. 본 명세서에서의 용어, "폴리뉴클레오티드"는 뉴클레오티드 단위체(monomer)가 공유결합에 의해 길게 사슬모양으로 이어진 뉴클레오티드의 중합체(polymer)로 일정한 길이 이상의 DNA 또는 RNA 가닥을 의미한다.

[0045] 상기 폴리뉴클레오티드는 공지의 데이터 베이스인 NCBI의 GenBank 등 다양한 데이터 베이스에서 그 서열을 얻을 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 일 예로, 인간 유래일 수 있고, 상기 폴리뉴클레오티드와 동일한 활성을 갖는 서열은 제한 없이 포함될 수 있다. 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호 1 내지 서열번호 3의 염기서열 중 하나 이상을 포함할 수 있고, 구체적으로 서열번호 1의 염기서열은 rs4386623, 서열번호 2의 염기서열은 rs1890109, 서열번호 3의 염기서열은 rs310279를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 이와 상동성 또는 동일성이 80%, 구체적으로 90% 이상, 보다 구체적으로 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 더욱 구체적으로 99% 이상인 염기서열로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [0046] 또한, 상기 폴리뉴클레오타이드는 공지의 유전자 서열로부터 제조될 수 있는 프로브, 예를 들면, 상기 염기서열의 전체 또는 일부에 대한 상보 서열과 엄격한 조건 하에 하이브리드화하는 서열이라면 제한없이 포함될 수 있다. 상기 "엄격한 조건(stringent condition)"이란 폴리뉴클레오타이드 간의 특이적 혼성화를 가능하게 하는 조건을 의미한다. 이러한 조건은 문헌(Sambrook et al., supra, 9.50-9.51, 11.7-11.8 참조)에 구체적으로 기재되어 있다. 예를 들어, 상동성 또는 동일성이 높은 폴리뉴클레오타이드끼리, 40% 이상, 구체적으로 90% 이상, 보다 구체적으로 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 더욱 구체적으로 99% 이상의 상동성 또는 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드끼리 하이브리드화하고, 그보다 상동성 또는 동일성이 낮은 폴리뉴클레오타이드끼리 하이브리드화하지 않는 조건, 또는 통상의 써던 하이브리드화(southern hybridization)의 세척 조건인 60 °C, 1XSSC, 0.1% SDS, 구체적으로 60 °C, 0.1XSSC, 0.1% SDS, 보다 구체적으로 68 °C, 0.1XSSC, 0.1% SDS에 상당하는 염농도 및 온도에서, 1회, 구체적으로 2회 내지 3회 세정하는 조건을 열거할 수 있다.
- [0047] 혼성화는 비록 혼성화의 엄격도에 따라 염기 간의 미스매치(mismatch)가 가능할지라도, 두 개의 핵산이 상보적 서열을 가질 것을 요구한다. 용어, "상보적"은 서로 혼성화가 가능한 뉴클레오타이드 염기 간의 관계를 기술하는데 사용된다. 예를 들면, DNA에 관하여, 아데노신은 티민에 상보적이며 시토신은 구아닌에 상보적이다. 따라서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 또한 실질적으로 유사한 핵산 서열뿐만 아니라 전체 서열에 상보적인 단리된 핵산 단편을 포함할 수 있다.
- [0048] 구체적으로, 상동성 또는 동일성을 가지는 폴리뉴클레오타이드는 55 °C의 T<sub>m</sub> 값에서 혼성화 단계를 포함하는 혼성화 조건을 사용하고 상술한 조건을 사용하여 탐지할 수 있다. 또한, 상기 T<sub>m</sub> 값은 60 °C, 63 °C 또는 65 °C일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니고 그 목적에 따라 당업자에 의해 적절히 조절될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드를 혼성화하는 적절한 엄격도는 폴리뉴클레오타이드의 길이 및 상보성 정도에 의존하고 변수는 해당기술분야에 잘 알려져 있다(예컨대, J. Sambrook et al., 상동).
- [0050] 다른 양상은 1) 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623); 2) 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109); 및 3) 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단일염기다형성(SNP) 마커를 검출 또는 증폭할 수 있는 제제를 포함하는, 와파린 유지 용량 예측용 조성물을 제공하는 것이다. 상기에서 설명한 내용과 동일한 부분은 상기 조성물에도 공히 적용된다.
- [0051] 본 명세서에서의 용어 "검출할 수 있는 제제"는 상기 특정 유전자 또는 마커에 특이적으로 결합하여 인식할 수 있도록 하거나, 검출하여 증폭시킬 수 있는 제제를 의미하고, "증폭할 수 있는 제제"는 상기 특정 유전자 또는 마커의 복제를 반복하여 그 수를 증가시킬 수 있는 제제를 의미한다. 예를 들어, 상기 유전자 또는 마커를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 특이적으로 증폭할 수 있는 프라이머 또는 특이적으로 결합할 수 있는 프로브를 의미하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0052] 상기 조성물은 1) 서열번호 1의 염기서열에서 101번째 염기가 G 또는 A인 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오타이드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오타이드; 2) 서열번호 2의 염기서열에서 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오타이드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오타이드; 및 3) 서열번호 3의 염기서열에서 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성을 포함하는, 5 내지 300개의 연속적인 염기로 구성되는 폴리뉴클레오타이드 또는 이에 상보적인 폴리뉴클레오타이드에 결합할 수 있는 프로브 또는 특이적으로 증폭할 수 있는 프라이머를 포함하는 것일 수 있다.
- [0053] 본 명세서에서의 용어 "프라이머(primer)"는 자유 3'-말단 수산화기 (free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 특정 염기 서열에 대해 상보적인 주형 (template)과 염기쌍을 형성할 수 있고 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로서 작용하는 핵산 서열을 말한다. 프라이머는 적절한 완충용액 및 온도에서 중합반응을 위한 시약(즉, DNA 폴리머라제 또는 역전사효소) 및 상이한 4가지의 뉴클레오타이드 트리포스페이트의 존재하에서 DNA 합성을 개시할 수 있다. 예를 들어, PCR 증폭을 실시하여 원하는 생성물의 생성 여부를 통해 와파린 유지 용량을 예측할 수 있다. PCR 조건, 센스 및 안티센스 프라이머의 길이는 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다. 상기 프라이머는 10 내지 100, 15 내지 100, 10 내지 80, 10 내지 50, 10 내지 30, 10 내지 20, 15 내지 80, 15 내지 50, 15 내지 30, 15 내지 20, 20 내지 100, 20 내지 80, 20 내지 50, 또는 20 내지 30 nt를 갖는 것일 수 있다.
- [0054] 본 명세서에서의 용어 "프로브(probe)"는 표적 핵산과 특이적으로 결합을 이룰 수 있는 RNA 또는 DNA 등의 핵산

단편을 의미하며 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide) 프로브, 단일가닥 DNA (single strand DNA) 프로브, 이중가닥 DNA(double strand DNA) 프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있다. 상기 프로브는 대립 유전자 특이적 프로브로서, 같은 종의 두 구성원으로부터 유래한 핵산 단편 중에 다형성 부위가 존재하여, 한 구성원으로부터 유래한 DNA 단편에는 혼성화하나, 다른 구성원으로부터 유래한 단편에는 혼성화하지 않는다. 이 경우 혼성화 조건은 대립 유전자간의 혼성화 강도에 있어서 유의한 차이를 보여, 대립 유전자 중 하나에만 혼성화 하도록 충분히 엄격해야 한다. 이렇게 함으로써 다른 대립 유전자 형태 간에 좋은 혼성화 차이를 유발할 수 있다.

[0055] 상기 프라이머 또는 프로브는 포스포아미다이트 (phosphoramidite) 고체 지지체 합성법이나 기타 널리 공지된 방법을 이용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 또한 이러한 핵산 서열은 당해 기술분야에 공지된 다양한 방법을 통해 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 예는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오타이드 하나 이상의 동족체로의 치환, 또는 뉴클레오타이드 간의 변형, 예를 들면 하전되지 않은 연결체(예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체 (예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등) 로의 변형을 포함할 수 있다. 또한 프라이머 또는 프로브는 검출 가능한 신호를 직접적으로 또는 간접적으로 제공할 수 있는 표지를 이용하여 변형될 수 있다. 상기 표지의 예는 방사성 동위원소, 형광성 분자, 화학발광물질 (chemiluminescent) 또는 바이오틴을 포함할 수 있다.

[0057] 또 다른 양상은 상기 와파린 유지 용량 예측용 조성물을 포함하는, 와파린 유지 용량 예측용 키트를 제공하는 것이다. 상기에서 설명한 내용과 동일한 부분은 상기 키트에도 공히 적용된다.

[0058] 상기 키트는 RT-PCR 키트, DNA 칩 키트, SNP 칩 키트 또는 마이크로어레이 칩 키트일 수 있다.

[0059] 상기 키트는 와파린 유지 용량 예측용 마커인 단일염기다형성 마커를 증폭을 통해 확인하거나, 단일염기다형성 마커의 발현 수준을 mRNA의 발현 수준을 통해 확인함으로써 개체의 와파린 유지 용량을 예측할 수 있다.

[0060] 구체적으로, 상기 와파린 유지 용량 예측용 마커의 mRNA 발현 수준을 측정하기 위한 키트는 RT-PCR을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있다. 상기 RT-PCR 키트는, 와파린 유지 용량 예측용 마커의 유전자에 대한 특이적인 각각의 프라이머 쌍 외에도 RT-PCR 키트는 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액 (pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오타이드(dNTPs), Taq-폴리머라아제 및 역전사효소와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-수(DEPC-water), 멸균수 등을 포함할 수 있다. 또한 정량 대조군으로 사용되는 유전자에 특이적인 프라이머 쌍을 포함할 수 있다.

[0061] 상기 키트는 DNA 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 와파린 유지 용량 예측용 키트일 수 있다. DNA 칩 키트는, 일반적으로 편평한 고체 지지판, 전형적으로는 현미경용 슬라이드보다 크기 작은 유리 표면에 핵산 종을 격자형 배열(grided array)로 부착한 것으로, 칩 표면에 핵산이 일정하게 배열되어, DNA 칩 상의 핵산과 칩 표면에 처리된 용액 내에 포함된 상보적인 핵산 간에 다중 혼성화(hybridization) 반응이 일어나 대량 병렬 분석이 가능하도록 하는 도구이다.

[0062] 상기 키트는 마이크로어레이 칩을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 와파린 유지 용량 예측용 키트일 수 있다. 상기 마이크로어레이는 DNA 또는 RNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 것일 수 있다. 상기 마이크로 어레이는 본 발명의 마커를 검출할 수 있는 프로브 또는 증폭할 수 있는 체제를 포함하는 것을 제외하고는 통상적인 마이크로 어레이로 이루어진다. 프로브를 기관상에 고정화하여 마이크로 어레이를 제조하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며, 본 발명의 와파린 투여 용량 예측과 연관된 프로브를 기관상에 고정화하는 과정 또한 이러한 종래 기술을 사용하여 용이하게 제조할 수 있다. 또한, 마이크로 어레이 상에서의 핵산의 혼성화 및 혼성화 결과의 검출은 당업계에 잘 알려져 있다. 상기 검출은 예를 들면, 핵산 시료를 형광 물질, 예를 들면, Cy3 및 Cy5와 같은 물질을 포함하는 검출가능한 신호를 발생시킬 수 있는 표지 물질로 표지한 다음, 마이크로 어레이 상에 혼성화하고 상기 표지 물질로부터 발생하는 신호를 검출함으로써 혼성화 결과를 검출할 수 있다.

[0064] 또 다른 양상은 A) 개체로부터 분리된 생물학적 시료로부터 와파린 유지 용량 예측용 마커의 다형성 부위를 증폭하거나 혼성화하는 단계; 및 B) 상기 증폭되거나 혼성화된 다형성 부위의 염기를 결정하는 단계를 포함하는, 와파린 유지 용량을 예측하기 위한 정보제공방법으로서, 상기 마커는 1) 서열번호 1의 101번째 염기(rs4386623); 2) 서열번호 2의 101번째 염기(rs1890109); 및 3) 서열번호 3의 101번째 염기(rs310279)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 단일염기다형성(SNP) 마커를 포함하는 것인 방법을 제공하는 것이다. 상기에서

설명한 내용과 동일한 부분은 상기 방법에도 공히 적용된다.

- [0065] 본 명세서에서 용어, "개체"는 와파린 투여에 따른 유지 용량을 예측하기 위한 모든 생물체를 의미하며, 구체적인 예로, 포유동물, 예를 들면, 인간, 소, 말, 돼지, 개, 양, 염소, 또는 고양이일 수 있다.
- [0066] 상기 개체는 심장 판막 치환술을 받거나, 폐동맥색전증을 겪거나, 관상동맥폐쇄를 겪거나, 정맥 혈전색전증을 겪거나, 심장 협착증을 겪거나 및/또는 심방세동(부정맥)을 겪는 환자일 수 있다. 또한, 상기 개체는 인간으로서 아시아인일 수 있으며, 구체적으로 한국인일 수 있다.
- [0067] 본 명세서에서의 용어 "생물학적 시료"는 상기 개체로부터 유래한 물질을 의미하며, 구체적으로 조직, 세포, 전혈, 혈청, 혈장, 타액, 객담, 뇌척수액, 소변 등을 포함할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 이들 시료로부터 유전자 및/또는 단백질 시료를 얻을 수 있으며, 유전자 시료는 핵산, 예를 들어, DNA, mRNA, 또는 mRNA로부터 합성되는 cDNA 등을 포함할 수 있으며, 이로부터 특정 유전자/단백질의 발현 수준을 확인할 수 있는 한, 그 종류는 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 생물학적 시료는 시료로부터 수득된 단백질 시료 또는 핵산(유전자) 시료를 포함한다.
- [0068] 상기 A) 단계의 상기 마커의 다형성 부위를 증폭하거나 프로브와 혼성화하는 단계는 당업자에게 알려진 어떠한 방법이든 사용 가능하다. 예를 들면, 표적 핵산을 PCR을 통하여 증폭하고 이를 정제하여 얻을 수 있으며, 그 외 리가제 연쇄 반응(LCR)(Wu 및 Wallace, Genomics 4, 560(1989), Landegren 등, Science 241, 1077(1988)), 전사증폭(transcription amplification)(Kwoh 등, Proc. Natl.Acad. Sci. USA 86, 1173(1989)), 자가유지 서열 복제(Guatelli 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 1874(1990)) 및 핵산에 근거한 서열 증폭(NASBA) 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0069] 상기 B) 단계의 다형성 부위의 염기를 결정하는 단계는 당업자에게 알려진 어떠한 방법이든 사용 가능하다. 예를 들면, 서열 분석, 마이크로 어레이(microarray)에 의한 혼성화, 대립 유전자 특이적인 PCR(allele specific PCR), 다이내믹 대립 유전자 혼성화 기법(dynamic allele-specific hybridization, DASH), PCR 연장 분석, PCR-SSCP(PCR-single strand conformation polymorphism), PCR-RFLP(PCR-restriction fragment length polymorphism) 분석 또는 TaqMan 기법, SNPlex 플랫폼(Applied Biosystems), 질량 분석법(예를 들면, Sequenom의 MassARRAY 시스템), 미니-시퀀싱(mini-sequencing)방법, Bio-Plex 시스템(BioRad), CEQ and SNPstream 시스템(Beckman), Molecular Inversion Probe 어레이 기술(예를 들면, Affymetrix GeneChip) 및 BeadArray Technologies(예를 들면, Illumina GoldenGate 및 Infinium 분석법) 등이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 방법들 또는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자가 이용 가능한 다른 방법에 의해, 마이크로새틀라이트, SNP 또는 다른 종류의 다형성 마커를 포함한, 다형성 마커에서의 하나 이상의 대립 유전자가 확인될 수 있다. 이와 같은 다형성 부위의 염기를 결정하는 것은, 구체적으로 수십만 개의 SNP의 각 염기를 한번에 확인할 수 있는 DNA 마이크로 어레이 중 하나인 SNP 칩을 통해 수행할 수 있다.
- [0070] 구체적으로, 상기 서열 분석은 염기서열 결정을 위한 통상적인 방법을 사용할 수 있으며, 자동화된 유전자분석기를 이용하여 수행될 수 있다. 또한, 대립 유전자 특이적 PCR은 SNP가 위치하는 염기를 3' 말단으로 하여 고안한 프라이머를 포함한 프라이머 세트로 상기 SNP가 위치하는 DNA 단편을 증폭하는 PCR 방법을 의미한다. 상기 방법의 원리는, 예를 들어, 특정 염기가 A에서 G로 치환된 경우, 상기 A를 3' 말단염기로 포함하는 프라이머 및 적당한 크기의 DNA 단편을 증폭할 수 있는 반대 방향 프라이머를 고안하여 PCR 반응을 수행할 경우, 상기 SNP 위치의 염기가 A인 경우에는 증폭반응이 정상적으로 수행되어 원하는 위치의 밴드가 관찰되고, 상기 염기가 G로 치환된 경우에는 프라이머는 주형 DNA에 상보결합할 수 있으나, 3' 말단 쪽이 상보결합을 하지 못함으로써 증폭반응이 제대로 수행되지 않는 점을 이용한 것이다. DASH는 통상적인 방법으로 수행될 수 있고, 구체적으로는 프린스 등 에 의한 방법에 의하여 수행될 수 있다.
- [0071] 한편, PCR 연장 분석은 먼저 단일 염기 다형성이 위치하는 염기를 포함하는 DNA 단편을 프라이머 쌍으로 증폭한 다음, 반응에 첨가된 모든 뉴클레오티드를 탈인산화시킴으로써 불활성화시키고, 여기에 SNP 특이적 연장 프라이머, dNTP 혼합물, 디디옥시뉴클레오티드, 반응 완충액 및 DNA 중합효소를 첨가하여 프라이머 연장반응을 수행함으로써 이루어진다. 이때, 연장 프라이머는 SNP가 위치하는 염기의 5' 방향의 바로 인접한 염기를 3' 말단으로 삼으며, dNTP 혼합물에는 디디옥시뉴클레오티드와 동일한 염기를 갖는 핵산이 제외되고, 상기 디디옥시뉴클레오티드는 SNP를 나타내는 염기 종류 중 하나에서 선택된다. 예를 들어, A에서 G로의 치환이 있는 경우, dGTP, dCTP 및 TTP 혼합물과 ddATP를 반응에 첨가할 경우, 상기 치환이 일어난 염기에서 프라이머는 DNA 중합효소에 의하여 연장되고, 몇 염기가 지난 후 A 염기가 최초로 나타나는 위치에서 ddATP에 의하여 프라이머 연장반응이 종결된다. 만일 상기 치환이 일어나지 않았다면, 그 위치에서 연장반응이 종결되므로, 상기 연장된 프라이

머의 길이를 비교함으로써 SNP를 나타내는 염기 종류를 판별할 수 있게 된다.

[0072] 상기 TaqMan 방법은 (1) 원하는 DNA 단편을 증폭할 수 있도록 프라이머 및 TaqMan 탐침을 설계 및 제작하는 단계; (2) 서로 다른 대립 유전자의 탐침을 FAM 염료 및 VIC 염료로 표지(Applied Biosystems)하는 단계; (3) 상기 DNA를 주형으로 하고, 상기의 프라이머 및 탐침을 이용하여 PCR을 수행하는 단계; (4) 상기의 PCR 반응이 완성된 후, TaqMan 분석 플레이트를 핵산 분석기로 분석 및 확인하는 단계; 및 (5) 상기 분석결과로부터 단계 (1)의 폴리뉴클레오티드의 유전자형을 결정하는 단계를 포함한다.

[0073] 이때, 검출방법으로는 연장 프라이머 또는 디디옥시뉴클레오티드를 형광 표지한 경우에는 일반적인 염기서열 결정에 사용되는 유전자 분석기(예를 들어, ABI사의 Model 3700 등)를 사용하여 형광을 검출함으로써 상기 SNP를 검출할 수 있으며, 무-표지된 연장 프라이머 및 디디옥시뉴클레오티드를 사용할 경우에는 MALDI-TOF(matrix assisted laser desorption ionization-time of flight) 기법을 이용하여 분자량을 측정함으로써 상기 SNP를 검출할 수 있다.

[0074] 상기 방법은, B) 단계에서 결정된 염기서열 중, 상기 서열번호 1의 101번째 염기가 G 또는 A인 단일염기다형성(rs4386623) 부위가 A인 경우(대립 유전자에서 GA 또는 AA인 경우), G인 경우(대립 유전자에서 GG인 경우)에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것을 포함하는 것일 수 있다.

[0075] 상기 방법은, B) 단계에서 결정된 염기서열 중, 상기 서열번호 2의 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성(rs1890109) 부위가 G인 경우(대립 유전자에서 AG 또는 GG인 경우), A인 경우(대립 유전자에서 AA인 경우)에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것을 포함하는 것일 수 있다.

[0076] 상기 방법은, B) 단계에서 결정된 염기서열 중, 상기 서열번호 3의 101번째 염기가 A 또는 G인 단일염기다형성(rs310279) 부위가 G인 경우(대립 유전자에서 AG 또는 GG인 경우), A인 경우(대립 유전자에서 AA인 경우)에 비해 와파린 유지 용량이 높을 것으로 예측하는 것을 포함하는 것일 수 있다.

### 발명의 효과

[0077] 본 발명의 와파린 유지 용량 예측용 마커 조성물 등에 따르면, FRAS1뿐만 아니라, FAM95C 또는 NKX2-6 유전자 상의 단일염기다형성과 와파린 유지 용량이 유의미한 연관성을 나타내고 있음을 확인하였는 바, 상기 마커를 이용하여 대상 개체의 와파린 유지 용량을 효과적으로 예측할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0078] 도 1은 와파린 유지 용량과 SNP의 연관성에 대한 전장유전체연관분석 결과를 맨하탄 플랏(Manhattan plot)으로 나타낸 도면이다. 가로축은 SNP 위치를 나타내고, 세로축은 단변량 회귀 분석으로 분석된 각 SNP에 대한  $-\log_{10}(P\text{-값})$ 을 나타낸다. 유의미한 수준은  $p = 5 \times 10^{-7}$ 로 설정되었다.

도 2는 와파린 유지 용량과 SNP의 연관성에 대한 전장유전체연관분석 결과를 분위수-분위수 플랏 (Quantile-quantile plot, Q-Q)으로 나타낸 도면이다.

도 3은 VKORC1 rs9934438에 대한 위치 특이적 플랏(Locus-specific plots) 결과를 나타낸 도면이다.

도 4는 NKX2-6 rs310279에 대한 위치 특이적 플랏(Locus-specific plots) 결과를 나타낸 도면이다.

도 5는 FRAS1 rs4386623에 대한 위치 특이적 플랏(Locus-specific plots) 결과를 나타낸 도면이다.

도 6은 GABRB1 rs117496075에 대한 위치 특이적 플랏(Locus-specific plots) 결과를 나타낸 도면이다.

도 7은 FAM95C rs1890109에 대한 위치 특이적 플랏(Locus-specific plots) 결과를 나타낸 도면이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0079] 이하 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

#### [0081] 실시예 1: 연구 대상 및 자료 수집

[0082] 1982년 1월부터 2020년 12월까지 세브란스병원에서 전향적으로 모은 환자 샘플에 대해 후향적인 연구를 진행하

였다. 연구 대상자는 만 18세 이상으로 심장 판막 치환술을 받은 후 와파린을 복용한 환자들로 하였으며, 그 중 와파린 유지 용량에 도달하지 못한 사람은 제외하였다. 와파린 유지 용량(mg/day)은 최소 3회 연속 측정에서 2.0~3.0의 INR (international normalized ratio)을 유지하는데 필요한 평균 용량으로 정의하였다.

[0083] 본 연구는 전자의무기록을 바탕으로 환자에 대한 자료를 수집하였으며, 수집한 정보는 성별, 현재 나이, 수술 당시 나이, 체중, 키, 체질량지수, 판막 위치, 공존 질환, 병용 약물, 와파린 투여 용량 및 INR 측정값을 포함하였다. 본 연구는 헬싱키 선언에 따라 각 기관의 생명윤리심의위원회의 승인을 받은 후 진행되었으며, 연구 참여 전 모든 연구 대상자에게 본 연구에 대해 설명하고 서면 동의를 받아 진행되었다. 연구 프로토콜은 연세대학교 의료원의 IRB(Institutional Review Board)에서 검토 및 승인되었다(IRB 번호: 4-2009-0283 및 4-2020-0855).

## [0085] 실시예 2: 유전형 분석 및 품질 평가

[0086] 환자의 DNA는, 혈액을 EDTA 처리 후 QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)를 이용하여 추출하였다. 추출된 200 ng의 DNA는 Axiom™ Asia Precision Medicine Research Array (APMRA) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)를 사용하여 전장유전체에 대한 유전형 분석을 수행하였다. 원시 데이터 생성은 Affymetrix GeneChip Command Console에 의해 촉진되었으며, genotype calling은 Affymetrix Power Tools 소프트웨어를 통해 AxiomGT1/BRLMM-P 알고리즘을 사용하여 수행되었다.

[0087] Sample-level의 품질 평가를 위하여 dish quality control (DQC) 값이 0.82 미만이거나 call rate (CR) 값이 95% 미만인 경우 제외되었다. 또한, 의무기록 상의 성별과 유전정보가 일치하지 않거나 다른 환자와 높은 친인척 관계를 보이는 경우 (estimated identical by descent [IBD] > 0.125) 제외하였다. Single nucleotide polymorphism (SNP)-level의 품질 평가를 위하여, CR 값이 95% 이상이고, minor allele frequency (MAF)가 1% 이상이며, Hardy-Weinberg equilibrium 검증을 통과하는( $p \geq 1 \times 10^{-4}$ ) SNP만을 포함하였다. 본 연구에서는 품질 평가 기준을 통과한 525,953개의 SNP이 전장유전체연관분석에 포함되었다.

## [0089] 실시예 3: 전장유전체연관분석

[0090] 와파린 유지 용량에 대한 전장유전체연관분석(Genome Wide Association Study, GWAS)은 PLINK v1.07을 사용하여 분석하였으며, allelic association model을 기반으로 하였다. 전장유전체연관분석의 결과는 Manhattan plot과 quantile-quantile (Q-Q) plot을 사용하여 도식화하였다. Genome-wide significance threshold는  $p \text{ value} < 5 \times 10^{-7}$ 으로 설정하여 분석하였으며 위의 조건을 만족하는 SNP 중 연관성이 높은 SNP을 발굴하기 위하여 FUMA의 SNP2GENE을 이용하여 fine-mapping analysis를 수행하였다. pairwise SNP가  $R^2$ 가 0.1 미만인 경우 Lead SNP로 선택되었다. LD (Linkage disequilibrium) 블록은 그들 사이의 최대 거리가 250kb인 경우 게놈 유전자좌(genomic locus)로 병합되었다. LD 분석을 위한 참조 데이터는 1000G phase 3에서 동아시아 인구의 유전 데이터로 구성되었다.

## [0092] 실시예 4: 통계적 분석

[0093] 수집된 자료는 SPSS statistics version 20.0을 사용하여 분석하였으며 통계분석을 위해 연속형 변수는 unpaired t-test, 범주형 변수는 chi-squared test를 이용하였다. 연관성 분석은 stepwise selection model을 사용하여 다중선택회귀분석으로 실시하였다. 다변량 선택회귀분석의 경우 수술 연령, 성별 외에 단변량 분석에서 p값이 0.05 미만인 변수를 포함하였다. 최상의 모델을 선택하기 위해  $p < 0.05$ 로 변수를 입력하고  $p > 0.10$ 이면 제거하는 단계적 선택을 사용했다. 본 연구의 분석은 유의 확률이 0.05 미만일 때 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

## [0095] 실시예 5: 연구 대상의 임상 정보 분석

[0096] 심장판막 치환술을 받은 환자 229명 중 와파린 유지 용량에 도달한 214명을 분석 대상에 포함시켰으며 연구 대상자의 임상 정보는 하기 표에 기재하였다.

표 2

[0097]

| 특성                         |                        | Number (%)<br>(n=214)    | Stable dose (mg/day)<br>(mean ± SD) | P value |
|----------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------------------|---------|
| 나이 (세)                     |                        | 58.3 ± 10.1 <sup>g</sup> |                                     |         |
| 수술 당시 나이 (세)               |                        | 43.6 ± 11.1 <sup>g</sup> |                                     |         |
| 성별                         | 남성                     | 71 (33.2)                | 5.72 ± 1.95                         | 0.217   |
|                            | 여성                     | 143 (66.8)               | 5.38 ± 1.92                         |         |
| 체질량지수 (kg/m <sup>2</sup> ) | < 25                   | 160 (74.8)               | 5.44 ± 1.83                         | 0.480   |
|                            | ≥ 25                   | 54 (25.2)                | 5.65 ± 2.23                         |         |
| 판막 위치                      | Aortic                 | 47 (22.0)                | 5.68 ± 1.60                         | 0.876   |
|                            | Mitral                 | 106 (49.5)               | 5.46 ± 2.03                         |         |
|                            | Double <sup>a</sup>    | 41 (19.2)                | 5.38 ± 2.17                         |         |
|                            | Tricuspid <sup>b</sup> | 16 (7.5)                 | 5.34 ± 1.77                         |         |
| 공존질환                       |                        |                          |                                     |         |
| 고혈압                        | Yes                    | 54 (25.2)                | 5.18 ± 1.70                         | 0.174   |
|                            | No                     | 160 (74.8)               | 5.59 ± 2.00                         |         |
| 당뇨                         | Yes                    | 18 (8.4)                 | 5.49 ± 1.94                         | 0.940   |
|                            | No                     | 196 (91.6)               | 5.49 ± 1.94                         |         |
| 심부전                        | Yes                    | 47 (22.0)                | 5.40 ± 2.16                         | 0.717   |
|                            | No                     | 167 (78.0)               | 5.52 ± 1.87                         |         |
| 심방세동                       | Yes                    | 124 (57.9)               | 5.30 ± 1.84                         | 0.095   |
|                            | No                     | 90 (42.1)                | 5.75 ± 2.03                         |         |
| 류마티스질환                     | Yes                    | 122 (57.0)               | 5.44 ± 1.90                         | 0.650   |
|                            | No                     | 92 (43.0)                | 5.56 ± 1.99                         |         |
| 심근경색                       | Yes                    | 4 (1.90)                 | 5.70 ± 2.01                         | 0.825   |
|                            | No                     | 210 (98.1)               | 5.49 ± 1.94                         |         |
| 병용약물                       |                        |                          |                                     |         |
| 항혈소판제 <sup>c</sup>         | Yes                    | 8 (4.1)                  | 5.15 ± 1.10                         | 0.582   |
|                            | No                     | 188 (95.9)               | 5.53 ± 1.95                         |         |
| INR-상승 약물 <sup>d</sup>     | Yes                    | 1 (0.5)                  | 3.75                                | 0.359   |
|                            | No                     | 198 (99.5)               | 5.52 ± 1.92                         |         |
| INR-감소 약물 <sup>e</sup>     | Yes                    | 2 (1.0)                  | 6.77 ± 2.5                          | 0.353   |
|                            | No                     | 197 (99.0)               | 5.50 ± 1.91                         |         |
| 안지오텐신 수용체 차단제 (ARB)        | Yes                    | 46 (21.9)                | 4.81 ± 1.51                         | 0.009   |
|                            | No                     | 164 (78.1)               | 5.66 ± 2.00                         |         |
| 안지오텐신 전환효소억제제 (ACEI)       | Yes                    | 32 (15.2)                | 5.21 ± 1.88                         | 0.405   |
|                            | No                     | 178 (84.8)               | 5.52 ± 1.94                         |         |
| 이뇨제 <sup>f</sup>           | Yes                    | 90 (42.9)                | 4.98 ± 1.89                         | 0.001   |
|                            | No                     | 120 (57.1)               | 5.84 ± 1.89                         |         |
| 칼슘채널 차단제                   | Yes                    | 31 (15.5)                | 5.78 ± 2.01                         | 0.389   |
|                            | No                     | 169 (84.5)               | 5.46 ± 1.90                         |         |
| 스타틴                        | Yes                    | 8 (4.0)                  | 5.02 ± 1.43                         | 0.455   |
|                            | No                     | 192 (96.0)               | 5.53 ± 1.93                         |         |

ACEI: angiotensin converting enzyme inhibitors, ARB: angiotensin receptor blockers, INR: international normalized ratio, SD: standard deviation

<sup>a</sup> Aortic plus mitral valve

<sup>b</sup> Any valve replacements including tricuspid valve

<sup>c</sup> including aspirin, cilostazol, clopidogrel

<sup>d</sup> including amiodarone, fluconazole

<sup>e</sup> including carbamazepine, phenytoin, rifampin

<sup>f</sup> including amiloride, furosemide, hydrochlorothiazide, spironolactone, torsemide

<sup>g</sup> Mean ± SD

[0099] 실시예 6: 전장유전체연관분석을 통한 와파린 유지 용량 예측용 SNP 마커 발굴

[0100] 상기 실시예 3에 기재된 내용을 토대로, 전장유전체연관분석을 통해 와파린 유지 용량과 SNP 간의 연관성을 분석하였다 (도 1 및 도 2). 그 결과, 가장 강한 신호는 16번 염색체에 위치한 VKORC1 (vitamin K epoxide reductase complex subunit 1) 유전자에서 발견되었으며, 그 중에서도 VKORC1의 SNP인 rs9934438가 가장 낮은 p-value를 나타냈다 ( $8.41 \times 10^{-20}$ ).

[0101] 다음으로, 미세 맵핑 분석(Fine mapping analysis) 결과 VKORC1 rs9934438 외에도 NKX2-6 (NK2 Homeobox-6)의 rs310279, FRAS1 (Fraser extracellular matrix complex subunit 1)의 rs4386623, FAM95C (family with sequence similarity 95 member C) 및 GABRB1 (gamma-aminobutyric acid type A receptor subunit beta1)의 rs117496075가 와파린 유지 용량과 연관성 있는 SNP인 것을 확인하였다 (도 3 내지 도 7).

[0102] 다음으로, 와파린 유지 용량과 유전자형의 연관성을 단변량 분석을 통해 확인하였다. 그 결과, GABRB1 rs17496075를 제외한 모든 리드 SNP는 평균 와파린 유지 용량에서 유의미한 차이를 보이는 것을 확인하였다 (표 2). 특히, FRAS1 rs4386623의 A allele을 가진 환자들은 그렇지 않은 환자들에 비해 유의미하게 높은 와파린 유지 용량이 요구되었다 ( $9.70 \pm 2.79$  vs.  $5.39 \pm 1.80$  mg/일,  $p < 0.001$ ).

### 표 3

[0103]

| CHR | Gene polymorphism  | Position | Allele frequency | Grouped genotypes | Number (%) | Stable dose (mg/day) (mean $\pm$ SD) | P value |
|-----|--------------------|----------|------------------|-------------------|------------|--------------------------------------|---------|
| 16  | VKORC1 rs9934438   | 31104878 | G:A = 0.11:0.89  | GG                | 5 (1.9)    | 8.79 $\pm$ 2.84                      | <0.001  |
|     |                    |          |                  | AG, AA            | 264 (98.1) | 5.05 $\pm$ 1.86                      |         |
| 8   | NKX2-6 rs310279    | 23618463 | A:G = 0.98:0.02  | AA                | 205 (96.2) | 5.36 $\pm$ 1.78                      | <0.001  |
|     |                    |          |                  | AG, GG            | 8 (3.8)    | 8.84 $\pm$ 2.78                      |         |
| 4   | FRAS1 rs4386623    | 78991190 | G:A = 0.99:0.01  | GG                | 209 (97.7) | 5.39 $\pm$ 1.80                      | <0.001  |
|     |                    |          |                  | GA, AA            | 5 (2.3)    | 9.7 $\pm$ 2.79                       |         |
| 4   | GABRB1 rs117496075 | 47013091 | G:A = 0.98:0.02  | GG                | 208 (97.2) | 5.39 $\pm$ 1.78                      | 0.055   |
|     |                    |          |                  | GA, AA            | 6 (2.8)    | 8.99 $\pm$ 3.54                      |         |
| 9   | FAM95C rs1890109   | 38643996 | A:G = 0.98:0.02  | AA                | 206 (96.7) | 5.39 $\pm$ 1.75                      | 0.029   |
|     |                    |          |                  | AG, GG            | 7 (3.3)    | 9.04 $\pm$ 3.39                      |         |

[0105] 다음으로, 와파린 유지 용량의 변동성에 대한 독립 변수의 상대적 기여도를 확인하기 위해, 단계별 다중선형회귀분석을 수행하였다 (표 3). 먼저, 수술 연령, 성별 및 단변량 분석에서  $p < 0.05$ 인 요인을 통합한 모델 I을 수행한 결과  $R^2$  0.531로, 이는 연구 대상자에서 관찰된 와파린 유지 용량 차이의 53.1%를 설명할 수 있는 것으로 해석된다. 구체적으로, 유전적 요인과 비유전적 요인(수술 연령, 이노제, ARB)이 와파린 유지 용량 변동성을 각각 48.2% 및 6.4%를 설명했다. VKORC1 rs9934438 대립형질 변이가 가장 영향력이 커서 용량 변동성의 33.0%를 설명했고, FRAS1 rs4386623이 9.9%, FAM95C rs1890109가 4.0%로 그 뒤를 이었다. 다음으로, 와파린 유지 용량 관련 마커로 널리 알려진 CYP2C9을 추가로 포함하는 모델 II를 개발하여, 추가 분석을 수행했다. 그 결과, CYP2C9를 통합한 모델 II는 추가 용량 변동성( $R^2$  0.585)을 예측했으며, 이 SNP는 변동성의 5.2%에 기여했음을 확인하였다.

### 표 4

[0106]

| Predictors   | Model I                 |       |         | Model II                |       |         |
|--------------|-------------------------|-------|---------|-------------------------|-------|---------|
|              | $\beta$ (95% CI)        | $R^2$ | P value | $\beta$ (95% CI)        | $R^2$ | P value |
| 수술 당시 나이 (세) | -0.02<br>(-0.04, -0.01) | 0.011 | 0.027   | -0.02<br>(-0.04, -0.01) | 0.030 | 0.013   |

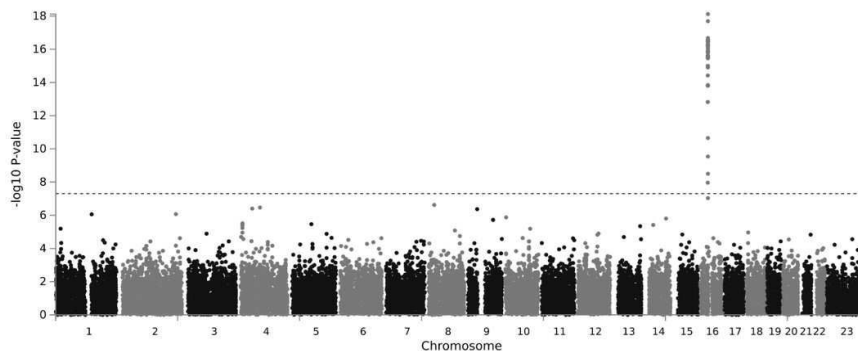
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                         |       |        |                         |       |        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------|--------|-------------------------|-------|--------|
| 안지오텐신 수용체 차단제 (ARB)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | -0.54<br>(-1.00, -0.09) | 0.021 | 0.019  | -0.56<br>(-0.99, -0.14) | 0.015 | 0.010  |
| 이뇨제 (Diuretics)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | -0.46<br>(-0.85, -0.06) | 0.032 | 0.024  | -0.39<br>(-0.76, -0.02) | 0.009 | 0.040  |
| <i>VKORC1</i> rs9934438 per A allele                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | -2.04<br>(-2.44, -1.64) | 0.330 | <0.001 | -1.98<br>(-2.44, -1.64) | 0.330 | <0.001 |
| <i>FRAS1</i> rs4386623 (0=GG, 1=AG, AA)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 3.25<br>(2.04, 4.45)    | 0.099 | <0.001 | 3.10<br>(2.04, 4.45)    | 0.099 | <0.001 |
| <i>FAM95C</i> rs1890109 (0=AA, 1=AG, GG)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 1.71<br>(0.65, 2.76)    | 0.040 | 0.002  | 1.91<br>(0.91, 2.90)    | 0.047 | <0.001 |
| <i>NKX2-6</i> rs310279 (0=AA, 1=AG, GG)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 1.43<br>(0.41, 2.44)    | 0.013 | 0.006  | 1.32<br>(0.36, 2.28)    | 0.020 | 0.007  |
| <i>CYP2C9</i> rs1057910 per C allele                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | -                       | -     | -      | -1.75<br>(-2.41, -1.08) | 0.052 | <0.001 |
| Adjusted R <sup>2</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                         | 0.531 |        |                         | 0.585 |        |
| Model I included variables of sex, age at operation, diuretics, ARB, <i>VKORC1</i> rs9934438, <i>FRAS1</i> rs4386623, <i>FAM95C</i> rs1890109, and <i>NKX2-6</i> rs310249. Model II included variables of sex, age at operation, diuretics, ARB, <i>VKORC1</i> rs9934438, <i>FRAS1</i> rs4386623, <i>FAM95C</i> rs1890109, <i>NKX2-6</i> rs310249, and <i>CYP2C9</i> rs1057910<br>CI: confidence interval |                         |       |        |                         |       |        |

[0108]

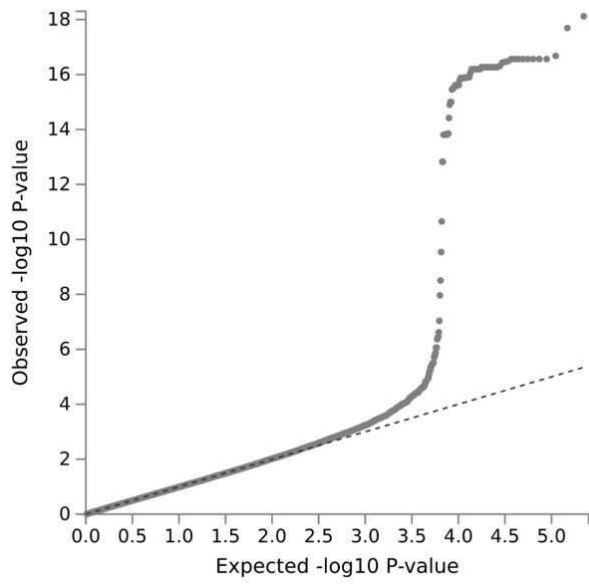
전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

## 도면

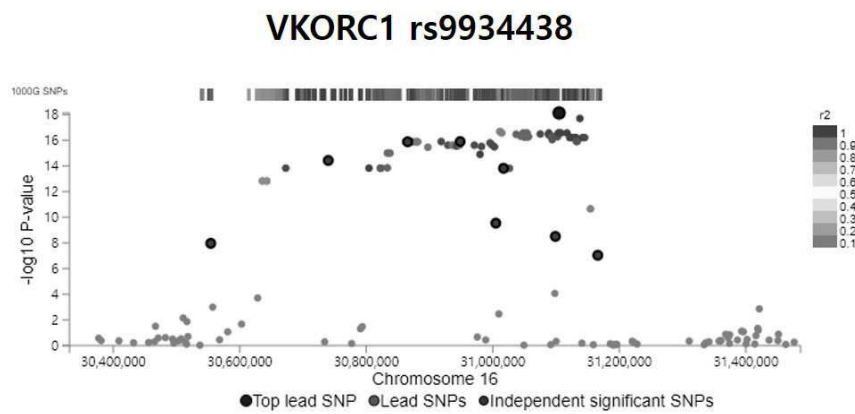
### 도면1



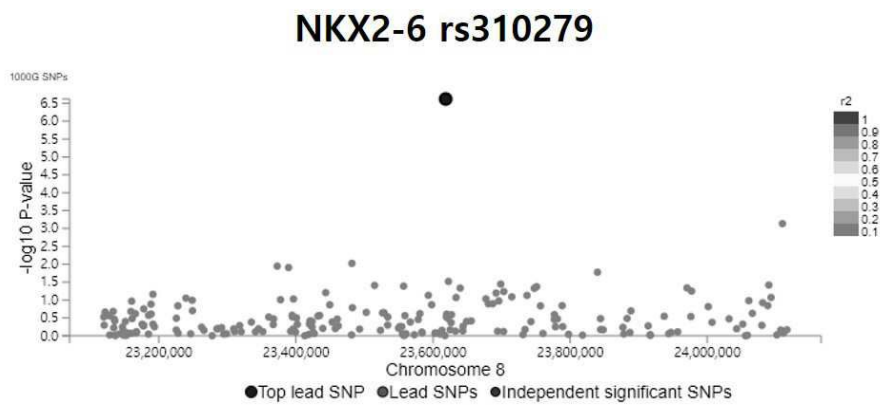
도면2



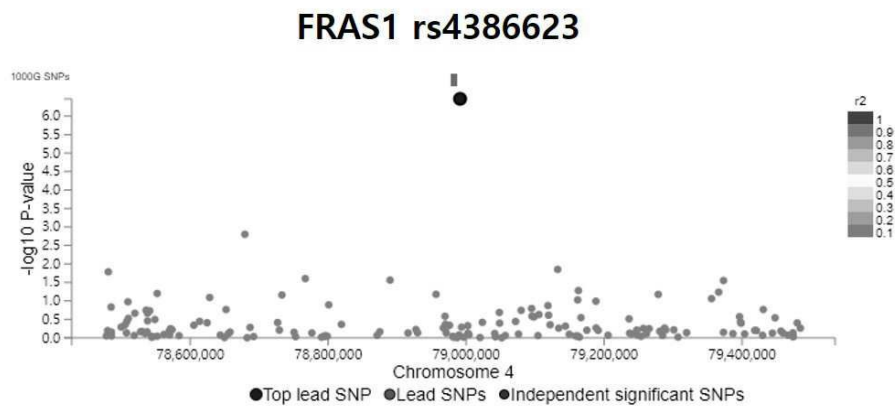
도면3



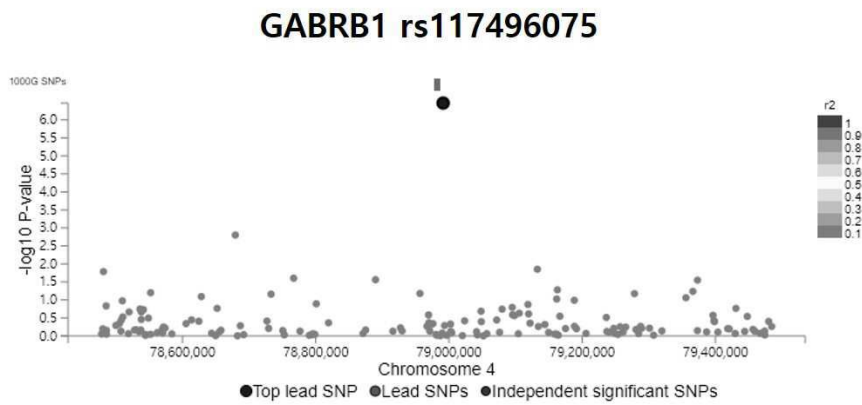
도면4



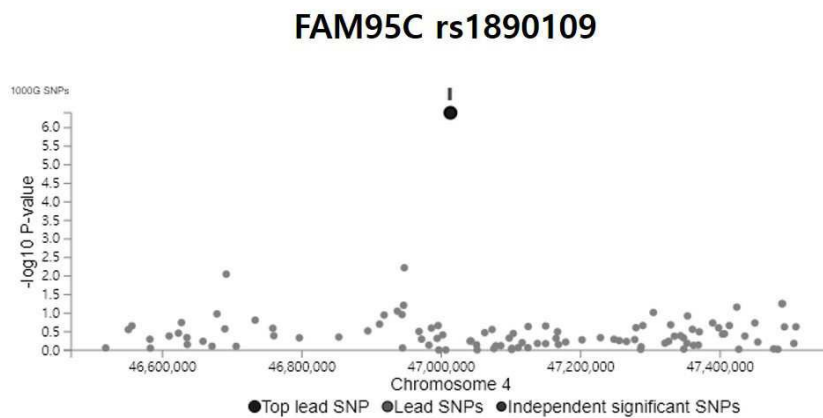
도면5



도면6



도면7



## 서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.