



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112714797 A

(43) 申请公布日 2021.04.27

(21) 申请号 201980055868.2

(22) 申请日 2019.06.28

(30) 优先权数据

18180991.4 2018.06.29 EP

18/58167 2018.09.12 FR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.02.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2019/067330 2019.06.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/002602 FR 2020.01.02

(71) 申请人 生物梅里埃公司

地址 法国马西伊特莱尔

申请人 拜尔阿斯特公司

里昂国民医疗中心

(72) 发明人 马林·莫默特 奥利维尔·塔博恩
朱利安·特克托里斯
弗朗索瓦·马莱

(74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司
11332

代理人 刘明海 周瑞

(51) Int.Cl.

C12Q 1/6883 (2006.01)

权利要求书7页 说明书55页
序列表66页 附图9页

(54) 发明名称

用于体外或离体确定个体免疫状态的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种用于体外或离体确定个体(优选患者)的免疫状态的方法,所述方法包括在所述个体的生物学样本中检测和/或定量一种或多种HERV/MaLR序列的表达的步骤。本发明还涉及用于实施所述方法的工具及其用途。

1. 一种用于体外或离体确定个体优选患者的免疫状态的方法,所述方法包括在所述个体的生物学样本(或测试生物学样本)中检测和/或定量至少一种HERV/MaLR序列的至少一部分的表达的步骤,所述HERV/MaLR序列选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列,所述SEQ ID NO:1-34来自以下列表:

-列表1:

SEQ ID NO	GRCh38 定位	HERV-V3 芯片的相应探针组的名称
1	chr19:54891074-54891496	190665001-HERV0376
2	chr22:36153696-36154283	220247002-HERV0797
3	chr17:35505737-35508365	170369402HE41env
4	chr12:112971073-112971451	121601801-HERV0492
5	chr1:78648318-78648697	011052702-MALR1044
6	chr1:78623489-78623954	011052202-HERV1033
7	chr13:42884951-42886257	130360601-HERV0808
8	chr14:91230494-91230820	141107102-MALR1019
9	chr2:102363654-102366601	021460102-HERV0599uL
10	chr2:102013616-102013971	021456001-MALR1017uL
11	chr5:14551189-14551685	050286701-HERV0513
12	chr5:14562791-14563322	050287402-MALR1022

-列表2:

SEQ ID NO	GRCh38 定位	HERV-V3 芯片的相应探针组的名称
13	chr5:132453630-132454148	052182701-MALR1129
14	chr19:41812466-41813010	190478501-MALR1003
15	chr1:155637287-155637547	011790601ERV9sLU5
16	chr5:170290289-170290812	052681601-MALR1018
17	chr16:50662453-50662912	160627301-MALR1014
18	chr11:122671887-122672147	111686702-HERV0861
8	chr14:91230494-91230820	141107102-MALR1019
19	chr4:15825146-15825565	040318302-MALR1134
20	chr4:83464568-83464963	041529101-MALR1026
21	chr14:91222760-91223118	141106902-MALR1133

-列表3:

SEQ ID NO	GRCh38 定位	HERV-V3 芯片的相应探针组的名称
1	chr19:54891074-54891496	190665001-HERV0376
1	chr19:54891074-54891496	190665002-HERV0376
22	chr6:18403673-18404108	060281701-MALR1043
23	chr4:184850413-184850785	043166601-MALR1018
24	chr10:5856198-5856795	100090601-HERV0429
25	chr6:107800650-107801138	061529601-HERV0492
26	chr10:60410534-60411224	100871501-MALR1020
27	chr17:78345106-78345577	170842002-MALR1003

-列表4:

SEQ ID NO	GRCh38 定位	HERV-V3 芯片的相应探针组的名称
28	chr8:125945973-125951030	081921103-HERV0958
29	chr3:167401329-167401866	032622601MR41sLU5p
30	chr22:36147793-36148208	220246901-HERV0889
31	chr6:127790579-127792191	061827101-HERV0856
3	chr17:35505737-35508365	170369402HE41env
32	chr17:77462942-77463350	170828901-HERV0770
28	chr8:125945973-125951030	081921101-HERV0958
28	chr8:125945973-125951030	081921102-HERV0958
33	chr19:14612123-14612747	190148802-MALR1127
34	chr12:9038254-9038598	120093401-HERV1034

2. 根据权利要求1所述的方法,其进一步包括以下步骤:

- 将测试生物学样本中的表达与参考表达或与参考生物学样本中的表达进行比较,
- 然后从所述比较中确定所述个体的免疫状态。

3. 根据权利要求1和2的任一项所述的方法,其中所述表达在RNA转录物或mRNA水平进行检测和/或定量。

4. 根据权利要求3所述的方法,其中所述表达通过以下方法检测和/或定量:杂交方法,优选使用杂交芯片;原位杂交或Northern印迹;扩增方法,优选通过RT-qPCR;或测序,优选通过高通量测序。

5. 根据权利要求1-4的任一项所述的方法,其中所述免疫状态被确定为免疫抑制状态(或免疫抑制或免疫缺陷或免疫功能低下状态或免疫麻痹)、正常免疫状态(或免疫活性状态)、或炎症状态(或过度活跃的免疫状态)。

6. 根据权利要求1-5的任一项所述的方法,其中所述个体是遭受创伤的患者、遭受烧伤的患者、接受手术的患者或处于败血症状态的患者,优选遭受败血性休克的患者。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中所述测试生物学样本通过在进入医疗机构后的10天内采样获得。

8. 根据权利要求2-7的任一项所述的方法,其中所述参考生物学样本是从健康个体获得的生物学样本,优选地是从获得测试生物学样本的同一个体获得的但在感染或侵染之前收集的生物学样本,或是来自已知免疫状态的个体的生物学样本,优选地为炎症状态、正常免疫状态或免疫抑制状态的个体的生物学样本。

9. 一种试剂盒,其包含用于扩增和/或检测至少一个序列的构件,所述序列选自SEQ ID

NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列,所述试剂盒的特征在于所述扩增和/或检测构件允许扩增和/或检测总计至多100个生物标志物。

10. 根据权利要求9所述的试剂盒,其中:

-所述扩增构件包括至少一种引物对,所述引物对由两个扩增引物组成,所述两个扩增引物选自包含或由以下核苷酸序列组成的扩增引物:与选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列以及这些序列的互补序列的至少一部分互补的核苷酸序列,所述至少一种扩增引物对可以扩增,优选地,可以特异性地扩增选自SEQ ID No:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列以及这些序列的互补序列的至少一部分,和/或

-所述检测构件包括至少一种杂交探针,其核苷酸序列包含或由以下核苷酸序列组成:与选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列以及这些序列的互补序列的至少一部分互补的核苷酸序列。

11. 根据权利要求9或10所述的试剂盒,其特征在于所述至少一种扩增引物对选自以下扩增引物对:

引物对 #	引物 # (SEQ ID NO, 核苷酸序列)
1	正向: 引物 #1A (SEQ ID No : 35, TGTACAAA ACTCAAATGGTCTTC) 反向: 引物 #1B (SEQ ID No : 36, ATGACCAACTTAGATTTTCCTTGA)
2	正向: 引物 #2A (SEQ ID No : 37, GCCAGAGAGGCATAATGAAGCA) 反向: 引物 #2B (SEQ ID No : 38, GATTCTAAGCCTCCCCCTCATTT)
3	正向: 引物 #3A (SEQ ID No : 39, TGGCTCATAGGGATTCCAGACT) 反向: 引物 #3B (SEQ ID No : 40, AGCAAGTTGTCAAGAGCCAATCT)
4	正向: 引物 #4A (SEQ ID No : 41, CACTCTAGGAATCTTAGGCA) 反向: 引物 #4B (SEQ ID No : 42, TGAAACCAATAGTCCAGTG)
5	正向: 引物 #5A (SEQ ID No : 43, TTCTACTGTTCACTGCTATCCTCC) 反向: 引物 #5B (SEQ ID No : 44, CCTGTGGCAGCTTTTTGAAGTAA)
6	正向: 引物 #6A (SEQ ID No : 45, AGAGCAGAAGAAGATGGATACT) 反向: 引物 #6B (SEQ ID No : 46, CATGAGCTGACATCATCCAAT)

7	正向: 引物 #7A (SEQ ID No : 47, TCTGTACTGGTTGCCCAAC) 反向: 引物 #7B (SEQ ID No : 48, CGTGCCAGGCCTCTAATACTTTT)
8	正向: 引物 #8A (SEQ ID No : 49, AGGGAAGACCCCAAGATGATG) 反向: 引物 #8B (SEQ ID No : 50, CATGCAAAGTCCAACGAGAGG)
9	正向: 引物 #9A (SEQ ID No : 51, GGGTGGCTGCATCCTATGG) 反向: 引物 #9B (SEQ ID No : 52, CTGGTCAGGAAAAAATTTGCCTTC)
10	正向: 引物 #10A (SEQ ID No : 53, ACATGACATTGTCTGAACTTTGGG) 反向: 引物 #10B (SEQ ID No : 54, TAGGACCATGCAGATACTAGTGAC)
11	正向: 引物 #11A (SEQ ID No : 55, GAACTCCACAAACCTTGA) 反向: 引物 #11B (SEQ ID No : 56, GCTAGAAGCTTTGGATATCT)
12	正向: 引物 #12A (SEQ ID No : 57, TGGCTGTTACAACCTTTCATG) 反向: 引物 #12B (SEQ ID No : 58, TCTCCCTATTCTGAGCACA)

12. 根据权利要求9-11的任一项所述的试剂盒,其特征在于至少一种杂交探针选自序列SEQ ID No:59-274的杂交探针。

13. 根据权利要求9-12的任一项所述的试剂盒,其进一步包括用于扩增和/或检测其他生物标志物的构件,所述其他生物标志物特别是内源性生物标志物,例如其他HERV/MaLR和/或基因,优选参与炎症和/或免疫力的基因,和/或管家基因,和/或外源性生物标志物,

例如病毒。

14. 以下各项用于体外或离体确定个体优选患者的免疫状态的用途:

-至少一种序列,其选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列;和/或

-至少一种扩增引物对,所述引物对由两个扩增引物组成,所述两个扩增引物选自包含或由以下核苷酸序列组成的扩增引物:与选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列以及这些序列的互补序列的序列的至少一部分互补的核苷酸序列,所述至少一种扩增引物对可以扩增,优选地,可以特异性地扩增选自SEQ ID No:1-34所示的序列的或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列以及这些序列的互补序列的序列的至少一部分;和/或

-至少一种杂交探针,其核苷酸序列包含或由以下核苷酸序列组成:与选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID No:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列以及这些序列的互补序列的序列的至少一部分互补的核苷酸序列;和/或

-根据权利要求9-13中的任一项所述的试剂盒。

15. 根据权利要求14所述的用途,其特征在于:

-至少一种扩增引物对选自根据权利要求11所述的扩增引物对#1-12;和/或

-至少一种杂交探针选自序列SEQ ID NO:59-274的杂交探针。

用于体外或离体确定个体免疫状态的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于体外或离体确定个体(优选患者)的免疫状态的方法,所述方法包括在所述个体的生物学样本中检测和/或定量一种或几种HERV/MaLR序列的表达的步骤,以及用于实施其的工具及其用途。

背景技术

[0002] 免疫系统是一种用于使机体抵御被识别为异物的系统,所述异物如病原体(例如病毒、细菌、寄生虫)。在哺乳动物中,主要有两种机制:一种非特异性防御机制,也称为“先天”或“自然”免疫,以及一种特异性防御机制,也称为“获得性”或“适应性”免疫。

[0003] 这些免疫应答需要非常精细的调节。在健康的个体中,所述免疫应答将被视为“正常”(我们也可以说免疫状态为免疫活性)。但是,免疫应答有时会受损。当免疫系统比正常情况更活跃时(例如在炎性疾病或自身免疫性疾病的情况下),我们将讨论炎症状态或过度活跃的免疫状态。在自身免疫性疾病中,机体的免疫系统通过针对自身抗原的特征性免疫触发炎性应答。相反,当免疫系统的活性低于正常状态时,我们将讨论免疫抑制状态(或免疫抑制或免疫缺陷或免疫功能低下状态或免疫麻痹)。

[0004] 免疫抑制可具有多种来源,采取多种形式,并影响先天免疫和/或适应性免疫。特别地,败血症是主要的公共卫生问题,是重症监护病房死亡的主要原因。据估计,全世界每年有2800万人患有败血症,其中800万人将死于该病(Fleischmann等人(2016) American journal of respiratory and critical care medicine;193(3):259-72)。在败血症患者(也称为败血症状态)中,感染后免疫应答失调,导致多发性和可能致命的器官衰竭和功能障碍。这种免疫应答是复杂的,并且会随着时间而发展,具有伴随性的过度的促炎和抗炎现象。所有这些免疫系统病症都会导致器官衰竭、免疫系统麻痹和继发感染。败血性休克是败血症的一种亚型,其中尽管有足够的血管充盈,低血压仍持续(Singer等人(2016) JAMA;315(8):801-810)。在败血症的初始阶段,炎症甚至过度炎症应答似乎占主导地位,这是组织损伤和器官衰竭(尤其是肾脏衰竭)的原因。这就是为什么败血症领域的临床试验长期以来都集中在抗炎治疗上,却没有确定的结果的原因。关于败血症的病理生理学的最新研究表明,在一些处于败血症状态的患者中,伴随着最初的或后来的炎症发生抗炎或免疫抑制应答。然后,根据促炎和抗炎应答各自的程度,患者可能处于免疫抑制状态,这可能是严重的。这些免疫受抑制的患者存在医院内感染(或HAI,卫生保健相关感染)的高风险,可以从免疫刺激治疗中受益。

[0005] 因此,似乎重要的是能够确定个体的免疫状态,尤其是能够鉴别免疫抑制状态,以便能够适应治疗管理。然而,患有免疫系统病症的个体并未表现出特定的临床体征。因此,非常需要鉴定生物标志物,这使得确定个体的免疫状态成为可能。

[0006] 目前,用于监测重症监护患者(例如败血症、创伤、大手术、烧伤或胰腺炎患者)免疫改变的参考测试是通过流式细胞术测量的单核细胞表面上的HLA-DR(人类白细胞抗原D相关的)(mHLA-DR)的表达降低。实际上,所述标志物在预测死亡率或评估这些患者继发感

染的风险方面提供了有价值的信息。HLA-DR是属于II类MHC(主要组织相容性复合体)的表面受体。特别地,mHLA-DR表达的测量代表了鉴定患有败血症的患者是否被免疫抑制的金标准(Monneret和Venet(2016) Cytometry Part B(Clinical Cytometry) 90B:376-386)。但是,这种方法需要大量的分析前样本处理(Monneret和Venet(2014) HLA-DR monocyte in sepsis:shall we stop following the flow? Crit Care 18:102)。而且,并非在所有医院都总是可以使用流式细胞仪,并且所述测量难以从一个医院到另一家医院,乃至从一个操作员到另一个操作员进行标准化。

[0007] 为了克服这些缺点,已经提出了使用分子生物学工具的其他生物标志物,例如,例如基于D3天(将病人送进医疗机构后)CD74表达水平(mRNA水平)与D1天CD74表达水平之比的生物标志物。CD74代表HLA-DR的恒定链 γ 。已证明CD74 D3/D1表达比率与重症监护室获得性继发感染的发作有关(Peronnet等人(2017) Intensive Care Medicine;43(7):1013-20)。专利申请W02012/101387描述了一种通过对选自几组基因的至少两个基因的表达的分析来确定个体的免疫状态的方法。在专利申请W02013/156627中,还提出了一种方法,用于通过确定生物样本中的指环病毒属(anellovirus)负载来确定免疫抑制或非免疫抑制状态。然而,这些生物标志物都还没有取代mHLA-DR的使用。这些生物标志物的特殊缺点是无法鉴定患者处于哪个阶段(即炎症期与免疫抑制期),其目的主要是能够鉴定免疫抑制的患者,对于这些患者而言,这将与施用免疫刺激剂治疗有关。

[0008] 因此,在本发明的日期,仍然有必要寻找新的生物标志物,所述新的生物标志物使得确定个体的免疫状态成为可能。

发明内容

[0009] 内源性逆转录病毒或ERV(用于内源性逆转录病毒)表示生物体基因组的稳定序列,并与某些传染性外源性逆转录病毒(包括围绕着编码假定蛋白的基因的两个LTR(或长末端重复序列)的存在)具有结构相似性。它们的起源尚不确定,但最可能的假设是逆转录病毒感染生殖细胞。在逆转录病毒发生突变后(这可能会使其变得有缺陷),被感染的生殖细胞可以存活,并且整合到生物体基因组中的逆转录病毒基因组可以传递给下一代,并在后代中在生物体基因组内持续存在。

[0010] 在人类中,HERV(人类内源性逆转录病毒)仅在人类基因组测序后才被证实。连同具有类似于HERV的结构MaLR(哺乳动物表观LTR-逆转座子),它们占人类基因组的8.3%,具有超过40万数量的元件。相比之下,编码蛋白质的30000至40000个基因仅占人类DNA的2%。HERV被细分为三大类(I、II和III)和几个组(在本专利申请中有时称为“家族”)。HERV是仅通过复制和粘贴方式通过RNA中间体和逆转录酶转座的逆转录元件。长期以来,它们一直被认为是“垃圾DNA”。尽管它们可能由于突变或通过表观遗传机制而失活,但它们的作用在生理和病理背景下都开始显现。因此,已经表明HERV-W参与确保胎盘形成的机制之一。HERV-K超家族是关于致癌作用研究最多的。在某些自身免疫性疾病(例如多发性硬化症或红斑狼疮)以及干扰素病(interferonopathies)中也已经描述了某些HERV的表达,但没有暗示HERV的再活化与免疫状态之间可能存在联系。

[0011] 因此,从未描述或暗示分析人类中HERV的表达可能对确定个体的免疫状态有用。而且,从未在败血症的病理学中描述过HERV的再活化。

[0012] 然而,发现完全出乎意料的是,在大约420000种现有的HERV/MaLR中,对其中一些表达的分析使得确定个体的免疫状态成为可能。

[0013] 因此,本发明涉及一种用于体外或离体确定个体(优选患者)的免疫状态的方法,所述方法包括在所述个体的生物学样本(或测试生物学样本)中检测和/或定量至少一种HERV/MaLR序列的至少一部分(优选至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个、至少30个核苷酸大小的一部分)的表达的步骤,所述HERV/MaLR序列选自SEQ ID NO:1-34所示的序列,或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性,优选具有至少99.1%、优选至少99.2%、优选至少99.3%、优选至少99.4%、优选至少99.5%、优选至少99.6%、优选至少99.7%、优选至少99.8%、优选至少99.9%的同一性的序列,所述SEQ ID NO:1-34来自以下列表:

[0014] 表1.列表1

[0015]

SEQ ID NO	GRCh38 定位	对应于 HERV-V3 芯片的 探针组名称	HERV/MaLR 组名
1	chr19:54891074-54891496	190665001-HERV0376	HERV0376
2	chr22:36153696-36154283	220247002-HERV0797	HERV0797
3	chr17:35505737-35508365	170369402HE41env	HERV-E41
4	chr12:112971073-112971451	121601801-HERV0492	HERV0492
5	chr1:78648318-78648697	011052702-MALR1044	MALR1044
6	chr1:78623489-78623954	011052202-HERV1033	HERV1033
7	chr13:42884951-42886257	130360601-HERV0808	HERV0808
8	chr14:91230494-91230820	141107102-MALR1019	MALR1019
9	chr2:102363654-102366601	021460102-HERV0599uL	HERV0599
10	chr2:102013616-102013971	021456001-MALR1017uL	MALR1017
11	chr5:14551189-14551685	050286701-HERV0513	HERV0513
12	chr5:14562791-14563322	050287402-MALR1022	MALR1022

[0016] 表2.列表2

SEQ	GRCh38 位置	对应于 HERV-V3 芯片	HERV/MaLR
ID		的探针组名称	组名
NO			
13	chr5:132453630-132454148	052182701-MALR1129	MALR1129
14	chr19:41812466-41813010	190478501-MALR1003	MALR1003
15	chr1:155637287-155637547	011790601ERV9sLU5	ERV9
16	chr5:170290289-170290812	052681601-MALR1018	MALR1018
17	chr16:50662453-50662912	160627301-MALR1014	MALR1014
18	chr11:122671887-122672147	111686702-HERV0861	HERV0861
8	chr14:91230494-91230820	141107102-MALR1019	MALR1019
19	chr4:15825146-15825565	040318302-MALR1134	MALR1134
20	chr4:83464568-83464963	041529101-MALR1026	MALR1026
21	chr14:91222760-91223118	141106902-MALR1133	MALR1133

[0019] 表3.列表3

SEQ	GRCh38 位置	对应于 HERV-V3 芯片	HERV/MaLR
ID		的探针组名称	组名
NO			
1	chr19:54891074-54891496	190665001-HERV0376	HERV0376
1	chr19:54891074-54891496	190665002-HERV0376	HERV0376

[0021]

22	chr6:18403673-18404108	060281701-MALR1043	MALR1043
23	chr4:184850413-184850785	043166601-MALR1018	MALR1018
24	chr10:5856198-5856795	100090601-HERV0429	HERV0429
25	chr6:107800650-107801138	061529601-HERV0492	HERV0492
26	chr10:60410534-60411224	100871501-MALR1020	MALR1020
27	chr17:78345106-78345577	170842002-MALR1003	MALR1003

[0022] 表4. 列表4

[0023]

SEQ ID NO	GRCh38 位置	对应于 HERV-V3 芯片的探针组名称	HERV/MaLR 组名
28	chr8:125945973-125951030	081921103-HERV0958	HERV0958
29	chr3:167401329-167401866	032622601MR41sLU5p	MR41
30	chr22:36147793-36148208	220246901-HERV0889	HERV0889
31	chr6:127790579-127792191	061827101-HERV0856	HERV0856
3	chr17:35505737-35508365	170369402HE41env	HERV-E41
32	chr17:77462942-77463350	170828901-HERV0770	HERV0770
28	chr8:125945973-125951030	081921101-HERV0958	HERV0958
28	chr8:125945973-125951030	081921102-HERV0958	HERV0958

[0024]

33	chr19:14612123-14612747	190148802-MALR1127	MALR1127
34	chr12:9038254-9038598	120093401-HERV1034	HERV1034

[0025] 在本发明的背景中：

[0026] “确定个体的免疫状态”是指评估身体实施免疫应答以及抵御攻击或感染的能力。可以将免疫状态特别确定为正常免疫状态(或免疫活性状态)、免疫系统比正常水平更活跃时的炎症状态(或过度活跃的免疫状态)、或免疫系统的活力低于正常水平时的免疫抑制状态(或免疫抑制或免疫缺陷或免疫功能低下状态或免疫麻痹)。

[0027] 如引言中所述,术语“HERV/MaLR”表示HERV和MaLR类型的元件。有时也可以使用缩写术语“HERV”,其含义与“HERV/MaLR”相同。在文献中,已使用了许多别名用于描述相同的HERV元件或相同的HERV组(或家族),并且至今仍需要标准化。在本申请中,为了避免任何混淆,为了确定HERV元件的同一性,首先将参考所述HERV元件的染色体定位,更具体地基于GRCh38(参考基因组协会人类基因组版本38)。我们有时也可以参考靶向所述HERV元件的HERV-V3芯片的不同探针组和不同探针。还应注意,对于给定的HERV元件,如通过其GRCh38定位鉴别的,由于多态性,在不同个体中发现的序列可能与GRCh38碱基所示的序列不同(Wildschutte等人(2016),*Discovery of unfixed endogenous retrovirus insertions in diverse human populations*,PNAS 113(16):E2326-34)。

[0028] 术语“个体”表示一个人,无论其健康状况如何。在本发明的意义上,“健康个体”是指没有表现出免疫系统的任何调节异常的个体。术语“患者”是指与医疗保健专业人员(例如医师(例如,全科医生)或医疗机构(例如,医院急救或抢救服务或重症监护病房))接触过的个体。

[0029] 术语“检测序列的表达”是指证明所述序列的表达,而不必进行定量测量。在mRNA转录物的情况下,所述检测可以通过直接方法,通过本领域技术人员已知的可以确定所述转录物在样本中存在的任意方法来进行,或在将所述转录物转化为DNA之后,或者在所述转录物扩增之后,或者在将所述转录物转化为DNA之后获得的DNA扩增之后,通过间接检测所述转录物来进行。“序列表达的定量”是指对序列表达水平的定量评估。存在许多检测核酸的方法(参见,例如,Kricka等人,*Clinical Chemistry*,1999,No.45(4),p.453-458;Relier GH等人,*DNA Probes*,第二版,Stockton Press,1993,第5和第6节,173-249页)。

[0030] 术语“生物样本”是指可以具有各种性质的、来自个体的任何样本,其例如血液、血清、血浆、痰、尿、粪便、皮肤、脑脊液、支气管肺泡灌洗液、唾液、胃分泌物、精子、精液、眼泪、脊髓、三叉神经节、脂肪组织、淋巴组织、胎盘组织、胃肠道组织、生殖道组织、中枢神经系统组织。特别地,所述样本可以是生物流体,优选地选自全血(如从静脉途径收集的,也就是说包含白细胞和红细胞、血小板和血浆)、血浆和血清。它也可以是从血样中提取的任何类型的细胞,例如外周血单个核细胞(或PBMC),B细胞亚群,纯化的单核细胞或嗜中性粒细胞。

[0031] 为了确定一个核酸序列与另一个核酸序列的“序列同一性百分比”,首先将两个序列进行最佳比对。待比较的两个序列可以具有相同的大小或不同的大小。在某些情况下,可能需要在所述序列之一中引入“孔”,以便与第二序列进行最佳比对。所述序列的最佳比对尤其可以通过使用Smith和Waterman的算法(*J.Theor.Biol.*,91(2):370-380,1981)、Needleman和Wunsch的算法(*J.Mol.Biol.*,48(3):443-453,1972)或Pearson和Lipman的方法(*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*,85(5):2444-2448,1988)来进行。一些软件可以实施这些算法中的一些,例如GAP、BESTFIT、FASTA、TFASTA(Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0,Genetic Computer Group,575,Science Drive,Madison,Wisconsin)、BLAST

甚至CLUSTALW (Nucleic Acids Res.1994Nov 11;22 (22) :4673-80.CLUSTAL W:improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting,position-specific gap penalties and weight matrix choice)。在通过这些各种方法生成的那些比对中,选择最佳比对(即可以在比较窗口上获得最高同一性百分比的那一个)。然后比较位于每个序列相同位置的各个核苷酸。当在两个序列中给定的位置被相同核苷酸占据时,则所述序列在该位置是相同的。然后,在比较窗口的水平上,根据相对于可能已经进行比对的位置的核苷酸的总数的相应核苷酸相同的位置的数目,来确定序列同一性的百分比。

[0032] “生物标志物”或“标志物”是可客观测量的生物学特征,其代表正常或病理性生物学过程或对治疗性干预的药理学应答的指标。它尤其可以是分子生物标志物,优选是在mRNA水平可检测到的。更特别地,所述生物标志物可以是内源性生物标志物或基因座(例如在个体的染色体物质中发现的HERV或基因)或外源性生物标志物(例如病毒)。

[0033] “败血症”是一种疾病,其中个体在感染后免疫应答失调,从而导致多器官功能衰竭和功能障碍,并且可能致命。“败血性休克”是败血症的一种亚型,其中尽管有足够的血液供应,但低血压持续存在。

[0034] 术语“扩增引物”是指这样的核苷酸片段,其可包含5至100个核苷酸,优选15至30个核苷酸,并且在为引发酶促聚合反应而确定的条件下,例如在靶核苷酸序列的酶促扩增反应中,具有与靶核苷酸序列杂交的特异性。通常,使用由两个引物组成的“引物对”。当期望扩增几种不同的HERV时,优选使用几种不同的引物对,每种引物对优选具有与不同的HERV特异性杂交的能力。

[0035] 术语“杂交探针”是指这样的核苷酸片段,其通常包含5至100个核苷酸,优选15至90个核苷酸,甚至更优选15至35个核苷酸,其在为与靶核苷酸序列形成杂交复合物而确定的条件下具有杂交特异性。所述探针还包括报告子(例如荧光团、酶或任何其他检测系统),其将允许检测靶核苷酸序列。在本发明中,所述靶核苷酸序列可以是信使RNA (mRNA)中包含的核苷酸序列或通过所述mRNA的反转录获得的互补DNA (cDNA)中包含的核苷酸序列。当期望靶向几种不同的HERV时,优选使用几种不同的探针,每种探针优选具有与不同的HERV特异性杂交的能力。

[0036] 术语“杂交”是指这样一种过程,在该过程中,在适当条件下,具有足够互补的序列的两个核苷酸片段,例如杂交探针和靶核苷酸片段,能够形成具有稳定和特异的氢键的双链。能够与多核苷酸“杂交”的核苷酸片段是能够在杂交条件下与所述多核苷酸杂交的片段,所述杂交条件可以在每种情况下以已知方式确定。所述杂交条件由严格性(即操作条件的严格性)决定。所述杂交更具特异性,因为它是在更高的严格性下进行的。所述严格性特别地根据探针/靶标双链体的基本组成以及两个核酸之间的错配程度来定义。严格性也可以是反应参数的函数,例如杂交溶液中存在的离子物种的浓度和类型、变性剂的性质和浓度和/或杂交温度。进行杂交反应的条件严格性主要取决于所使用的杂交探针。所有这些数据都是众所周知的,并且所述适当的条件可以由本领域技术人员确定。通常,取决于所用杂交探针的长度,用于杂交反应的温度在约0.5至1M的盐溶液中在约20至70°C之间,特别是在35至65°C之间。然后进行检测杂交反应的步骤。

[0037] 术语“酶促扩增反应”是指通过至少一种酶的作用产生靶核苷酸片段的多个拷贝

的过程。这样的扩增反应是本领域技术人员众所周知的,并且可以特别提及以下技术:PCR(聚合酶链式反应)、LCR(连接酶链式反应)、RCR(修复链式反应)、专利申请WO-A-90/06995的3SR(自我持续序列复制)、NASBA(基于核酸序列的扩增)、专利US-A-5,399,491的TMA(转录介导的扩增)以及专利US6410278的LAMP(环路介导的等温扩增)。当所述酶促扩增反应是PCR时,当扩增步骤之前是信使RNA(mRNA)成为互补DNA(cDNA)的逆转录步骤时,我们将更特别地谈及RT-PCR(RT称为“逆转录”),并且当PCR是定量的时,称为qPCR或RT-qPCR。

[0038] 就发明人的知识而言,从未描述或暗示过对HERV/MaLR表达的检测和/或定量可以使确定个体的免疫状态成为可能。特别地,在败血症领域中从未描述过HERV/MaLR的参与。

[0039] 已经在基因组中的大约420000个HERV/MaLR中鉴定出SEQ ID NO:1-34的全部HERV/MaLR。这些是我们可以使用HERV-V3芯片靶向的HERV/MaLR(Becker等人,BMC Genomics.2017;18:286)。更具体地,这些HERV/MaLR在实施例中使用的数据组中表达。甚至更特别地,这些表达的HERV/MaLR在实施例中保留的目标条件之间进行调节。

[0040] 用于确定个体的免疫状态的根据本发明的HERV表达的检测和/或定量,可以通过分子工具进行,所述分子工具在医院内的可及性和标准化方面,相对于使用流式细胞仪测量mHLA-DR具有优势。几乎不需要样品处理而且结果易于解释。此外,根据本发明的HERV的表达可以在几种类型的平台(例如DNA芯片)上或通过PCR进行检测和/或定量,以确定免疫状态。早期,可以从D1检测到根据本发明的一些HERV,而在D3上进行mHLA-DR的测量(Monneret和Venet(2014) Monocyte HLA-DR in sepsis:shall we stop following the flow? Crit Care 18:102)。

[0041] 优选地,本发明涉及用于体外或离体确定个体(优选患者)的免疫状态的方法,所述方法包括:

[0042] -在所述个体的生物学样本(或测试生物学样本)中检测和/或定量至少一种HERV/MaLR序列的至少一部分的表达的步骤,所述HERV/MaLR序列选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列,所述SEQ ID NO:1-34来自前述列表1至4;

[0043] -将测试生物学样本中的表达与参考表达或与参考生物学样本中的表达进行比较的步骤;

[0044] -从所述比较中确定个体的免疫状态的步骤。

[0045] 所述参考生物学样本可以具有多种性质,但是优选与测试生物学样本的性质在本质上相同或至少在本质上相似。例如,如果测试生物学样本是全血样本,则参考生物学样本将优选是全血样本,或者可能是血浆或血清样本。所述生物学参考样本可以是“天然”样本,也就是说,来自其免疫状态已知或已根据参考方法(例如,通过mHLA-DR方法)确定的个体。例如,它可以来自具有已知为免疫活性状态、炎症状态或免疫抑制状态的免疫状态的个体。优选地,如果所述测试生物学样本来自人,则所述参考生物学样本也来自人。甚至更优选地,所述参考生物学样本与所述测试生物学样本来自同一个体。所述参考生物学样本也可以是“合成的”样本,也就是说,包含校准量的序列SEQ ID NO:1-34中的至少一种的样本。

[0046] 优选地,如上所述,本发明涉及一种用于确定个体的免疫状态的方法,其中检测和/或定量至少2种不同序列的表达,所述序列选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列。列表1至4彼此互补,这些至

少两种不同的序列优选地在两个不同的列表中选择。

[0047] 优选地,如上所述,本发明涉及一种用于确定个体的免疫状态的方法,其中检测和/或定量至少3种不同序列的表达,所述序列选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列。这些至少三种不同的序列优选地选自两个不同的列表,更优选地选自三个不同的列表。

[0048] 优选地,如上所述,本发明涉及一种用于确定个体的免疫状态的方法,其中检测和/或定量至少4种、至少5种、至少6种、至少7种、至少8种、至少9种、至少10种、至少11种、至少12种、至少13种、至少14种、至少15种、至少16种、至少17种、至少18种、至少19种、至少20种、至少21种、至少22种、至少23种、至少24种、至少25种、至少26种、至少27种、至少28种、至少29种、至少30种、至少31种、至少32种、至少33种、至少34种不同序列的表达,所述序列选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列。这些至少4种、至少5种、至少6种、至少7种、至少8种、至少9种、至少10种、至少11种、至少12种、至少13种、至少14种、至少15种、至少16种、至少17种、至少18种、至少19种、至少20种、至少21种、至少22种、至少23种、至少24种、至少25种、至少26种、至少27种、至少28种、至少29种、至少30种、至少31种、至少32种、至少33种、至少34种不同序列优选地选自两个不同的列表,更优选地选自三个不同的列表,甚至更优选地选自四个不同的列表。

[0049] 如实施例中所述,SEQ ID NO:1、3和8的HERV根据两种不同的策略鉴定,因此分别处于两个列表中。此外,发明人为不同序列的HERV指定了等级,如实施例4至6中所述。在实施例7中,按重要性顺序对HERV进行排序。同样,非常优选地,本发明涉及一种用于确定个体的免疫状态的方法,如上所述,其中检测和/或定量至少1种、至少2种、至少3种、至少4种、至少5种、至少9种、至少7种不同序列的表达,所述序列选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13以及SEQ ID NO:28所示的序列,或选自与SEQ ID NO:1、3、8、11、12、13和28之一具有至少99%、至少99.1%、至少99.2%、至少99.3%、至少99.4%、至少99.5%、至少99.6%、至少99.7%、至少99.8%、至少99.9%同一性的序列。下面表5中列出了至少2种相应的HERV的优选组合。

[0050] 表5

组合中的 HERV 的 数目	至少 2 种 HERV 的优选组合
2	SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 11 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 12 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 13 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8

[0051]

[0052]

	<p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 12</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11</p> <p>SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12</p> <p>SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12</p> <p>SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p>
<p>3</p>	<p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 12</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13</p>

[0053]

	SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 13 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12 SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13 SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13 SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13 SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28
4	SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11

[0054]

SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 13
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12
SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13
SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13
SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28
SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28

[0055]

	<p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p>
<p>5</p>	<p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p>

[0056]

	<p>ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p> <p>SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28</p>
6	SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13,SEQ ID NO : 28

[0057]	ID NO : 12, SEQ ID NO : 13 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12, SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 13, SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13, SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13, SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 1,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13, SEQ ID NO : 28 SEQ ID NO : 3,SEQ ID NO : 8,SEQ ID NO : 11,SEQ ID NO : 12,SEQ ID NO : 13, SEQ ID NO : 28
7	SEQ ID NO : 1, SEQ ID NO : 3, SEQ ID NO : 8, SEQ ID NO : 11, SEQ ID NO : 12, SEQ ID NO : 13, SEQ ID NO : 28

[0058] 如上所述,根据任何实施方案,用于体外或离体确定个体免疫状态的方法还可以包括在测试生物学样本中检测和/或定量至少一个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个、至少30个、至少31个、至少32个、至少33个、至少34个、至少35个、至少36个、至少37个、至少38个、至少39个、至少40个、至少41个、至少42个、至少43个、至少44个、至少45个、至少46个、至少47个、至少48个、至少49个、至少50个、至少51个、至少52个、至少53个、至少54个、至少55个、至少56个、至少57个、至少58个、至少59个、至少60个、至少61个、至少62个、至少63个、至少64个、至少65个、至少66个、至少67个、至少68个、至少69个、至少70个、至少71个、至少72个、至少73个、至少74个、至少75个、至少76个、至少77个、至少78个、至少79个、至少80个、至少81个、至少82个、至少83个、至少84个、至少85个、至少86个、至少87个、至少88个、至少89个、至少90个、至少91个、至少92个、至少93个、至少94个、至少95个基因的表达的步骤,所述基因选自以下基因:

[0059] CD74、CX3CR1、IL-10、S100A8、S100A9、MERTK、CLEC7A、CD36、TIMP2、CCL13、PTGS2、IL-12B、IL-6、IL-1A、CCL20、MX1、OAS-1、CCL15、OAS-3、EIF2AK2、IFN γ 、NEFH、MMP10、SERPINB2、THBD、STAT1、CCR4、HLA-DRB1/B3、TCF7、EOMES、BCL11B、ITGA7、IL-18R1、NLRC4、CYP1B1、HGF、IL-5RA、CCLP4、CD3G、CD40LG、CD3D、CD127、ICOS、IL-1R2、IL-1RN、IL-18、IL-

18RAP、OX40L、PD-1、PD-L1、Zonulin (HP)、BTLA、C3AR1、CD154、GM-CSF、IFIH1、IL-15、MCP1、PCSK9、STAT4、LTR82B、CIITA、LILRB2、CD177、ADGRE3、FLT-1、CD64、TREM-1、TNF- α 、IL-1 β 、ALOX5、IL-17A、NF κ B、TBX21、HIF1 α 、ROR γ T、OAS-2、GNLY、CTLA-4、TIM3、CD274、IL-2、IL-7R、GATA3、CXCL10、FAS、GSN、MDC1、DYRK2、TDRD9、CNB1IP1、ZAP70和ARL14EP。

[0060] 优选地,如上所述,本发明涉及一种用于确定个体的免疫状态的方法,其中在RNA转录物水平或信使RNA (mRNA) 水平上检测和/或定量表达。RNA转录物或mRNA水平的检测和/或定量可以通过本领域技术人员已知的任何方式进行。特别地,可以引用以下作为实例:

[0061] -杂交方法,优选使用杂交芯片,通过原位杂交或通过Northern印迹;

[0062] -扩增方法,优选通过RT-PCR(“逆转录酶聚合酶链式反应”),更优选通过RT-qPCR(定量RT-PCR)。可以特别提及嵌套式PCR。PCR反应也可以多重进行;

[0063] -测序方法,优选地通过高通量测序。

[0064] 优选地,如上所述,本发明涉及一种用于确定个体的免疫状态的方法,其中所述免疫状态被确定为免疫抑制状态(或免疫抑制或免疫缺陷状态或免疫功能低下状态或免疫麻痹)、正常免疫状态(或免疫活性状态)或炎症状态(或过度活跃的免疫状态)。所述炎症状态包括过度炎症状态。

[0065] 优选地,如上所述,本发明涉及一种用于确定个体的免疫状态的方法,其中所述个体是在医疗机构内接受治疗的患者,优选地是在重症监护室、急诊室中或在抢救中的患者。同样优选地,所述个体是创伤患者、烧伤患者、手术患者或败血症患者,优选败血症性休克患者。甚至更优选地,所述测试生物学样本通过在进入医疗机构之后的10天内进行采样来获得,优选在9天内、优选在8天内、优选在7天内、优选在6天内、优选在5天内、优选在4天内、优选在3天内、优选在2天内、优选在24小时内。

[0066] 优选地,如上所述,本发明涉及一种用于确定个体的免疫状态的方法,其中所述参考生物学样本是从健康个体获得的生物学样本,优选地是从获得测试生物学样本的同一个个体的但在感染或侵染之前收集的生物学样本,或是来自已知免疫状态(优选地,为炎症状态、正常免疫状态或免疫抑制状态)的个体的生物学样本。

[0067] 优选地,如上所述,根据本发明,在用于确定个体的免疫状态的方法中使用的测试生物学样本和/或参考生物学样本是血液样本,优选全血、血浆或血清样本,或是从血液样本中提取的外周血单个核细胞样本。

[0068] 优选地,如上所述,根据本发明的用于确定免疫状态的方法包括施用适于个体的免疫状态的治疗,优选免疫调节治疗的步骤。优选地,如果确定所述个体具有免疫抑制状态,则所述免疫调节治疗是免疫刺激治疗,或者如果确定所述个体具有炎症状态,则所述免疫调节治疗是抗炎治疗。在可以选择的免疫刺激治疗中,例如可以提及以下的组:白介素(特别是IL-7、IL-15或IL-3)、生长因子(特别是GM-CSF)、干扰素(特别是IFN γ)、Toll激动剂、抗体(特别是抗PD1、抗PDL1、抗LAG3、抗TIM3、抗IL-10或抗CTLA4抗体)、转铁蛋白和细胞凋亡抑制分子、FLT3L、胸腺素 α 1、肾上腺素拮抗剂。在抗炎治疗中,尤其可以提及以下的组:糖皮质激素、细胞抑制剂、作用于亲免疫蛋白和细胞因子的分子、阻断IL-1受体的分子和抗TNF治疗。

[0069] 本发明还涉及至少一种、至少2种、至少3种、至少4种、至少5种、至少6种、至少7种、至少8种、至少9种、至少10种、至少11种、至少12种、至少13种、至少14种、至少15种、至少16

种、至少17种、至少18种、至少19种、至少20种、至少21种、至少22种、至少23种、至少24种、至少25种、至少26种、至少27种、至少28种、至少29种、至少30种、至少31种、至少32种、至少33种、至少34种序列的用途,用以体外或离体确定个体(优选患者)的免疫状态,所述序列选自如列表1至4中出现的SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列。

[0070] 本发明还涉及一种鉴定或选择适于治疗个体(优选患者)的治疗方法,所述治疗优选免疫调节治疗,更特别是免疫刺激治疗或抗炎治疗,所述方法包括以下步骤:

[0071] a.通过前述方法确定所述个体的免疫状态,

[0072] b.根据步骤a)中确定的免疫状态,鉴定合适的治疗。

[0073] 优选地,如果确定所述个体具有免疫抑制状态,则所述免疫调节治疗是免疫刺激治疗,或者如果确定所述个体具有炎症状态,则所述免疫调节治疗是抗炎治疗。

[0074] 本发明进一步涉及一种用于评估对个体(优选患者)的治疗的有效性的方法,所述治疗优选免疫调节治疗,更特别是免疫刺激治疗或抗炎治疗,所述方法包括以下步骤:

[0075] a.在治疗之前收集的所述个体的第一生物学样本中,以及在治疗之后收集的所述个体的第二生物学样本中,检测和/或定量序列的至少一部分的表达,所述序列选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列,

[0076] b.比较关于步骤a)中的2种生物学样本所获得的表达,

[0077] c.根据步骤b)的比较,评估治疗效果。

[0078] 本发明的另一主题涉及扩增引物,其包含或由以下组成:与选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列的至少一部分互补的核苷酸序列,以及与这些序列互补的序列。优选地,根据本发明的扩增引物选自表6中所示的引物。

[0079] 表6

SEQ ID NO	引物 #	核苷酸序列
35	1A	TGTACAAAACCTCAAATGGTCTTC
36	1B	ATGACCAACTTAGATTTCTTGA
37	2A	GCCAGAGAGGCATAATGAAGCA
38	2B	GATTCTAAGCCTCCCCCTCATT
39	3A	TGGCTCATAGGGATTCCAGACT
40	3B	AGCAAGTTGTCAAGAGCCAATCT
[0080] 41	4A	CACTCTAGGAATCTTAGGCA
42	4B	TGAAACCAATAGTCCAGTG
43	5A	TTCTACTGTTCACTGCTATCCTCC
44	5B	CCTGTGGCAGCTTTTTGAAGTAA
45	6A	AGAGCAGAAGAAGATGGATACT
46	6B	CATGAGCTGACATCATCCAAT
47	7A	TCTGTACTGGTTGCCCAAC
48	7B	CGTGCCAGGCCTCTAATACTTTT
49	8A	AGGGAAGACCCCAAGATGATG
50	8B	CATGCAAAGTCCAACGAGAGG
51	9A	GGGTGGCTGCATCCTATGG
52	9B	CTGGTCAGGAAAAAATTTGCCTTC
[0081] 53	10A	ACATGACATTGTCTGAACTTTGGG
54	10B	TAGGACCATGCAGATACTAGTGAC
55	11A	GAACTCCACAAACCTTGA
56	11B	GCTAGAAGCTTTGGATATCT
57	12A	TGGCTGTTACAACCTTTCATG
58	12B	TCTCCCTATTCTGAGCACA

[0082] 本发明还涉及扩增引物对,其由选自上述引物的两个扩增引物组成,并且可以扩增,优选地可以特异性扩增选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示

的序列之一具有至少99%同一性的序列的序列的至少一部分,以及与这些序列互补的序列。优选地,根据本发明的扩增引物对选自表7中所示的引物对。

[0083] 表7

[0084]

引物对 #	引物 #
1	正向: 引物 #1A 反向: 引物 #1B
2	正向: 引物 #2A 反向: 引物 #2B
3	正向: 引物 #3A 反向: 引物 #3B
4	正向: 引物 #4A 反向: 引物 #4B
5	正向: 引物 #5A

[0085]

	反向: 引物 #5B
6	正向: 引物 #6A 反向: 引物 #6B
7	正向: 引物 #7A 反向: 引物 #7B
8	正向: 引物 #8A 反向: 引物 #8B
9	正向: 引物 #9A 反向: 引物 #9B
10	正向: 引物 #10A 反向: 引物 #10B
11	正向: 引物 #11A 反向: 引物 #11B
12	正向: 引物 #12A 反向: 引物 #12B

[0086] 本发明的另一主题涉及杂交探针,其核苷酸序列包含或由以下组成:与选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID No:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列以及这些序列的互补序列的序列的至少一部分互补的核苷酸序列。优选地,根据本发明的杂交探针选自表8中所示的杂交探针。

[0087] 表8

[0088]

SEQ ID NO	探针 #	HERV-V3 芯片探针名称	核苷酸序列
59	1A	190665001-HERV0376uL_a t1	ATGACCAACTTAGATTTCCTTGAG T

[0089]

60	1B	190665001-HERV0376uL_a t2	GTCAAGGGTAAAGCTGTGAAAGT TT
61	1C	190665001-HERV0376uL_a t3	GGAAGACCATTGAGTTTTGTACA C
62	1A'	190665001-HERV0376uL_st 1	ACTCAAGGAAATCTAAGTTGGTCA T
63	1B'	190665001-HERV0376uL_st 2	AAACTTTCACAGCTTACCCTTGA C
64	1C'	190665001-HERV0376uL_st 3	GTGTACAAAACCTCAAATGGTCTTC C
65	1D	190665002-HERV0376uL_a t1	GAAGATATGGGCCAGAACTTGTAT A
66	1E	190665002-HERV0376uL_a t2	CAGGACCTGAGTTAAGCCAAGAAT A
67	1F	190665002-HERV0376uL_a t3	ACCTGAGTTAAGCCAAGAATACAG T
68	1D'	190665002-HERV0376uL_st 1	TATACAAGTTCTGGCCCATATCTTC
69	1E'	190665002-HERV0376uL_st 2	TATTCTTGGCTTAACTCAGGTCCTG
70	1F'	190665002-HERV0376uL_st 3	ACTGTATTCTTGGCTTAACTCAGG T
71	2A	220247002-HERV0797uL_a t1	GTAAGATTCTAAGCCTCCCCCTCA T
72	2B	220247002-HERV0797uL_a t2	GATTCTAAGCCTCCCCCTCATTAA
73	2C	220247002-HERV0797uL_a t3	CTAAGCCTCCCCCTCATTAAAGG A

74	2A'	220247002-HERV0797uL_st 1	ATGAGGGGGAGGCTTAGAATCTTA C
75	2B'	220247002-HERV0797uL_st 2	TTAAATGAGGGGGAGGCTTAGAAT C
76	2C'	220247002-HERV0797uL_st 3	TCCTTTAAATGAGGGGGAGGCTTA G
77	3A	170369402HE41env_at1	ATGGCTCATAGGGATTCCAGACTC C
78	3B	170369402HE41env_at2	GGCTCATAGGGATTCCAGACTCCC A
79	3C	170369402HE41env_at3	CTCATAGGGATTCCAGACTCCCAT T
80	3A'	170369402HE41env_st1	GGAGTCTGGAATCCCTATGAGCCA T
81	3B'	170369402HE41env_st2	TGGGAGTCTGGAATCCCTATGAGC C
82	3C'	170369402HE41env_st3	AATGGGAGTCTGGAATCCCTATGA G
83	4A	121601801-HERV0492uL_a t1	TGAAACCAATAGTCCAGTGGTGGC C
84	4B	121601801-HERV0492uL_a t2	TTCCAGTGATTTAGATAAAATCCCT
85	4C	121601801-HERV0492uL_a t3	TTTCTGCCTAAGATTCCTAGAGTG C
86	4A'	121601801-HERV0492uL_st 1	GGCCACCACTGGACTATTGGTTTC A
87	4B'	121601801-HERV0492uL_st 2	AGGGATTTTATCTAAATCACTGGA A

[0090]

[0091]

88	4C'	121601801-HERV0492uL_st 3	GCACTCTAGGAATCTTAGGCAGAA A
89	5A	011052702-MALR1044uL_a t1	CTGTGGCAGCTTTTTGAAGTAAGG A
90	5B	011052702-MALR1044uL_a t2	ATGGTTAGTGCAGAGTAAAGTTTG G
91	5C	011052702-MALR1044uL_a t3	AGGATAGCAGTGAACAGTAGAAT GG
92	5A'	011052702-MALR1044uL_s t1	TCCTTACTTCAAAAAGCTGCCACA G
93	5B'	011052702-MALR1044uL_s t2	CCAAACTTTACTCTGCACTAACCA T
94	5C'	011052702-MALR1044uL_s t3	CCATTCTACTGTTCACTGCTATCCT
95	6A	011052202-HERV1033uL_a t1	AGATCCAACATGAGCTGACATCAT C
96	6A'	011052202-HERV1033uL_st 1	GATGATGTCAGCTCATGTTGGATCT
97	7A	130360601-HERV0808cL_at 1	GAGGTTGGGGCAACCAGTACAGA TT
98	7A'	130360601-HERV0808cL_st 1	AATCTGTACTGGTTGCCCAACCT C
99	8A	141107102-MALR1019uL_a t1	CCCCAAGATGATGGACTCTGGTGA T
100	8B	141107102-MALR1019uL_a t2	CACTGCCATCACTTTGGGAAAGAC T
101	8C	141107102-MALR1019uL_a t3	AAGCAGCCTCTCGTTGGACTTTGC A

[0092]

102	8A'	141107102-MALR1019uL_s t1	ATCACCAGAGTCCATCATCTTGGG G
103	8B'	141107102-MALR1019uL_s t2	AGTCTTTCCCAAAGTGATGGCAGT G
104	8C'	141107102-MALR1019uL_s t3	TGCAAAGTCCAACGAGAGGCTGC TT
105	9A	021460102-HERV0599uL_a t1	GAGGGCAGTTTGGAACAGTTGGA AC
106	9B	021460102-HERV0599uL_a t2	TGAGAGACGATTATCTGGAAGAAG A
107	9C	021460102-HERV0599uL_a t3	TCACAGCTTGAGAATGTGGTAGGA G
108	9D	021460102-HERV0599uL_a t4	GGAATGGGGGGGCATGGAATTA GC
109	9A'	021460102-HERV0599uL_st 1	GTTCCAACTGTTCCAACTGCCCT C
110	9B'	021460102-HERV0599uL_st 2	TCTTCTTCCAGATAATCGTCTCTCA
111	9C'	021460102-HERV0599uL_st 3	CTCCTACCACATTCTCAAGCTGTG A
112	9D'	021460102-HERV0599uL_st 4	GCTTTAATTCCATGCCCCCATTC
113	10A	021456001-MALR1017uL_ at1	AGTCCCTAACTGTCTGCAAACCCA C
114	10B	021456001-MALR1017uL_ at2	ACTGTCTGCAAACCCACAATGGAC C
115	10C	021456001-MALR1017uL_ at3	CAATGGACCTGTTGCATGTGTAAG A

[0093]

116	10A'	021456001-MALR1017uL_s t1	GTGGGTTTGCAGACAGTTAGGGA CT
117	10B'	021456001-MALR1017uL_s t2	GGTCCATTGTGGGTTTGCAGACAG T
118	10C'	021456001-MALR1017uL_s t3	TCTTACACATGCAACAGGTCCATT G
119	11A	050286701-HERV0513uL_a t1	CTGCATCCTATGGTGTTTCTACATG
120	11B	050286701-HERV0513uL_a t2	ATAATCTTTTCCGGCATGTTGGTAT
121	11C	050286701-HERV0513uL_a t3	TAAAGATAGTGTTTCCTATTGTGTC
122	11A'	050286701-HERV0513uL_st 1	CATGTAGAAACACCATAGGATGCA G
123	11B'	050286701-HERV0513uL_st 2	ATACCAACATGCCGGAAAAGATTA T
124	11C'	050286701-HERV0513uL_st 3	GACACAATAGGAAACACTATCTTT A
125	12A	050287402-MALR1022uL_ at1	ACAGAGACTGCAAGAGTAATGAC AT
126	12B	050287402-MALR1022uL_ at2	TCTGAACTTTGGGAAACAATTATG T
127	12C	050287402-MALR1022uL_ at3	ACTTTCCAGTTAATCGAATCAATCC
128	12D	050287402-MALR1022uL_ at4	TTTAAACCTAGACTAGTTCCA ACT G
129	12E	050287402-MALR1022uL_ at5	GTCACTAGTATCTGCATGGTCCTAA

[0094]

130	12A'	050287402-MALR1022uL_s t1	ATGTCATTACTCTTGCAGTCTCTGT
131	12B'	050287402-MALR1022uL_s t2	ACATAATTGTTTCCCAAAGTTCAG A
132	12C'	050287402-MALR1022uL_s t3	GGATTGATTTCGATTAAGTGGAAAG T
133	12D'	050287402-MALR1022uL_s t4	CAGTTGGAAGTCTAGGTTAAA A
134	12E'	050287402-MALR1022uL_s t5	TTAGGACCATGCAGATACTAGTGA C
135	13A	052182701-MALR1129uL_a t1	TTATTCCAGTCACCTCGAGTCATTC
136	13B	052182701-MALR1129uL_a t2	TCATCCTAGCCGTCGTAGAGCAGA G
137	13C	052182701-MALR1129uL_a t3	TGCCCTTCTGACTCCTTGACAGTG G
138	13A'	052182701-MALR1129uL_s t1	GAATGACTCGAGGTGACTGGAATA A
139	13B'	052182701-MALR1129uL_s t2	CTCTGCTCTACGACGGCTAGGATG A
140	13C'	052182701-MALR1129uL_s t3	CCACTGTCAAGGAGTCAGAAGGG CA
141	14A	190478501-MALR1003cL_a t1	TAAGTGGGACCAAGACACAAACC AA
142	14B	190478501-MALR1003cL_a t3	ACCAAGACACAAACCAACATGCC TG
143	14A'	190478501-MALR1003cL_s t1	TTGGTTTGTGTCTTGGTCCCCTTA

[0095]

144	14B'	190478501-MALR1003cL_s t3	CAGGCATGTTGGTTTGTGTCTTGG T
145	15A	011790601ERV9sLU5p_at1	CTGAGGTCCATGGCTTCTTTCCTT G
146	15A'	011790601ERV9sLU5p_st1	CAAGGAAAGAAGCCATGGACCTC AG
147	16A	052681601-MALR1018uL_ at1	CCTTTGTTTTCTACTGACAGGTC C
148	16B	052681601-MALR1018uL_ at2	TTCAAATATTTAACTCTCCAGGCT
149	16C	052681601-MALR1018uL_ at3	GAGGTCACATGACTCTGTTGTGGA C
150	16A'	052681601-MALR1018uL_s t1	GGACCTGTCAGTAGGAAAACAAA GG
151	16B'	052681601-MALR1018uL_s t2	AGCCTGGAGAGTTAAATATTTTGA A
152	16C'	052681601-MALR1018uL_s t3	GTCCACAACAGAGTCATGTGACCT C
153	17A	160627301-MALR1014uL_ at1	CAGCTGAGATCCGTTGACGCCAGC C
154	17B	160627301-MALR1014uL_ at2	TCCGACATGTGGGTGAACTCAGCC A
155	17C	160627301-MALR1014uL_ at3	TTCTCAGCCATGTGTTTTGTGAAC T
156	17A'	160627301-MALR1014uL_s t1	GGCTGGCGTCAACGGATCTCAGCT G
157	17B'	160627301-MALR1014uL_s t2	TGGCTGAGTTCACCCACATGTCGG A

[0096]

158	17C'	160627301-MALR1014uL_s t3	AGTTCACAAAACACATGGCTGAG AA
159	18A	111686702-HERV0861uL_at 1	TTGAGGCAGGACAGAACCAGGCT CC
160	18B	111686702-HERV0861uL_at 2	GGACAGAACCAGGCTCCTGTTAGT C
161	18C	111686702-HERV0861uL_at 3	AGTTTACTGAGCAGTGACTTTGTG T
162	18A'	111686702-HERV0861uL_st 1	GGAGCCTGGTTCTGTCCTGCCTCA A
163	18B'	111686702-HERV0861uL_st 2	GACTAACAGGAGCCTGGTTCTGTC C
164	18C'	111686702-HERV0861uL_st 3	ACACAAAGTCACTGCTCAGTAAA CT
165	19A	040318302-MALR1134uL_a t1	ATAGGGATGATCCTGCACGAATGG C
166	19B	040318302-MALR1134uL_a t2	GGATGATCCTGCACGAATGGCATG G
167	19A'	040318302-MALR1134uL_s t1	GCCATTCGTGCAGGATCATCCCTAT
168	19B'	040318302-MALR1134uL_s t2	CCATGCCATTCGTGCAGGATCATC C
169	20A	041529101-MALR1026uL_ at1	AGTGGACACTTTTTAGGATGTCTG C
170	20B	041529101-MALR1026uL_ at2	GCCCTGACATAAGAGTTTGCCAGT T
171	20C	041529101-MALR1026uL_ at3	CCTGTACCCACCTTTCACCAGAGC T

[0097]

172	20A'	041529101-MALR1026uL_s t1	GCAGACATCCTAAAAAGTGTCCAC T
173	20B'	041529101-MALR1026uL_s t2	AACTGGCAAACCTCTTATGTCAGGG C
174	20C'	041529101-MALR1026uL_s t3	AGCTCTGGTGAAAGGTGGGTACA GG
175	21A	141106902-MALR1133uL_a t1	AATTGTTGGAATTTGAAAGTGGGG T
176	21A'	141106902-MALR1133uL_s t1	ACCCCACTTTCAAATTCCAACAAT T
177	22A	060281701-MALR1043uL_ at1	GTCAGCACCGTGCTTCTCTAACTT T
178	22B	060281701-MALR1043uL_ at2	GCACCGTGCTTCTCTAACTTTCCA C
179	22C	060281701-MALR1043uL_ at3	CGTGCTTCTCTAACTTTCCACCTG C
180	22A'	060281701-MALR1043uL_s t1	AAAGTTAGAGAAGCACGGTGCTG AC
181	22B'	060281701-MALR1043uL_s t2	GTGGAAAGTTAGAGAAGCACGGT GC
182	22C'	060281701-MALR1043uL_s t3	GCAGGTGGAAAGTTAGAGAAGCA CG
183	23A	043166601-MALR1018uL_ at1	CAGCCTCGCACCTAAGAACGCCGT G
184	23B	043166601-MALR1018uL_ at2	CAGTGAGAAATCTGCTGGGGATGC C
185	23C	043166601-MALR1018uL_ at3	GAAAGGGACATACCTGGCAGGTG CC

186	23A'	043166601-MALR1018uL_s t1	CACGGCGTTCTTAGGTGCGAGGCT G
187	23B'	043166601-MALR1018uL_s t2	GGCATCCCCAGCAGATTTCTCACT G
188	23C'	043166601-MALR1018uL_s t3	GGCACCTGCCAGGTATGTCCCTTT C
189	24A	100090601-HERV0429uL_a t1	GGTAGAGACCGAGGCGGATATACA G
190	24B	100090601-HERV0429uL_a t3	GAGACCGAGGCGGATATACAGGC CT
191	24A'	100090601-HERV0429uL_st 1	CTGTATATCCGCCTCGGTCTCTACC
192	24B'	100090601-HERV0429uL_st 3	AGGCCTGTATATCCGCCTCGGTCT C
193	25A	061529601-HERV0492uL_a t1	TATACTGGGGCCCAATTCTACAGA C
194	25B	061529601-HERV0492uL_a t2	CAGACATTACTTCTTTGCCAGTTG G
195	25C	061529601-HERV0492uL_a t3	GACACATTGCAAGTCTGGAAGAG GA
196	25A'	061529601-HERV0492uL_st 1	GTCTGTAGAATTGGGCCCCAGTAT A
197	25B'	061529601-HERV0492uL_st 2	CCAACTGGCAAAGAAGTAATGTCT G
198	25C'	061529601-HERV0492uL_st 3	TCCTCTTCCAGACTTGCAATGTGT C
199	26A	100871501-MALR1020cL_a t1	CATGATCCTGGGTGAAGCCATGTG T

[0098]

[0099]

200	26B	100871501-MALR1020cL_a t2	TGTGTCTGAGGATGAAAGGGGATG C
201	26C	100871501-MALR1020cL_a t3	CAGATTGATGTGACATGTGGCACC T
202	26A'	100871501-MALR1020cL_s t1	ACACATGGCTTCACCCAGGATCAT G
203	26B'	100871501-MALR1020cL_s t2	GCATCCCCTTTCATCCTCAGACAC A
204	26C'	100871501-MALR1020cL_s t3	AGGTGCCACATGTCACATCAATCT G
205	27A	170842002-MALR1003uL_ at1	AGAGGGAGCACGGTCCCAGTACA CC
206	27B	170842002-MALR1003uL_ at2	CACGGTCCCAGTACACCTTGAGTG T
207	27C	170842002-MALR1003uL_ at3	TGTTACGGCTGTCCCAGGAAAGG AA
208	27A'	170842002-MALR1003uL_s t1	GGTGTACTGGGACCGTGCTCCCTC T
209	27B'	170842002-MALR1003uL_s t2	ACACTCAAGGTGTACTGGGACCGT G
210	27C'	170842002-MALR1003uL_s t3	TTCCTTTCCTGGGACAGCCGTAAC A
211	28A	081921103-HERV0958uI_at 1	ACTAAGAGCAACAGCCTGAGGCT AA
212	28B	081921103-HERV0958uI_at 2	GGCTCACCGGAAACAGGCTGAAT GT
213	28C	081921103-HERV0958uI_at 3	GAGACACCAGATGACCGCTTGGT CT

[0100]

214	28D	081921103-HERV0958uI_at 4	CAGCTTCCCTAGAATTATACACCA G
215	28E	081921103-HERV0958uI_at 5	TACTGAACAGGTTACTTCAACTTG C
216	28F	081921103-HERV0958uI_at 6	TTGTAAAAATATAAACGTGAGGCA A
217	28A'	081921103-HERV0958uI_st 1	TTAGCCTCAGGCTGTTGCTCTTAG T
218	28B'	081921103-HERV0958uI_st 2	ACATTCAGCCTGTTTCCGGTGAGC C
219	28C'	081921103-HERV0958uI_st 3	AGACCAAGCGGTCATCTGGTGTCT C
220	28D'	081921103-HERV0958uI_st 4	CTGGTGTATAATTCTAGGGAAGCT G
221	28E'	081921103-HERV0958uI_st 5	GCAAGTTGAAGTAACCTGTTCAGT A
222	28F'	081921103-HERV0958uI_st 6	TTGCCTCACGTTTATATTTTACAA
223	28G	081921101-HERV0958uI_at 1	GATGACAGTTAAGACCCTAGGTTG C
224	28H	081921101-HERV0958uI_at 2	CAATCTCAAGTCTGATGACTTGTT A
225	28I	081921101-HERV0958uI_at 3	AGACCCATCATTGCTAGCAGACTA T
226	28J	081921101-HERV0958uI_at 4	AAGGATGGGAAATGCTCAGGTCA CG
227	28K	081921101-HERV0958uI_at 5	AGGGCTCATCCACTAACCCCCTGA A

[0101]

228	28L	081921101-HERV0958uI_at 6	GAAATGGATACCCTTGGGTCAAC T
229	28G'	081921101-HERV0958uI_st 1	GCAACCTAGGGTCTTAACTGTCAT C
230	28H'	081921101-HERV0958uI_st 2	TAACAAGTCATCAGACTTGAGATT G
231	28I'	081921101-HERV0958uI_st 3	ATAGTCTGCTAGCAATGATGGGTC T
232	28J'	081921101-HERV0958uI_st 4	CGTGACCTGAGCATTGCCATCCT T
233	28K'	081921101-HERV0958uI_st 5	TTCAGGGGGTTAGTGGATGAGCCC T
234	28L'	081921101-HERV0958uI_st 6	AGTTGAACCCAAGGGTATCCATTT C
235	28M	081921102-HERV0958uI_at 1	GTGCCATAACGACAATTAATTTTT
236	28N	081921102-HERV0958uI_at 2	AGTCTTTTGTTATCTATGGAGGACT
237	28O	081921102-HERV0958uI_at 3	GTTGTGTTAAAGTTTCTAATTACG
238	28P	081921102-HERV0958uI_at 4	GTAAC TTTGGGACCAAACAATGA A
239	28Q	081921102-HERV0958uI_at 5	TCATAAGCCTACTAATCCGGGATC A
240	28R	081921102-HERV0958uI_at 6	GGGACAAGAACTAATTCCACAGG AG
241	28M'	081921102-HERV0958uI_st 1	AAAAATTTAATTGTCGTTATGGCA C

[0102]

242	28N'	081921102-HERV0958uI_st 2	AGTCCTCCATAGATAACAAAAGAC T
243	28O'	081921102-HERV0958uI_st 3	ACGTAATTAGAACTTTAACACAA C
244	28P'	081921102-HERV0958uI_st 4	TTCATTGTTTTGGTCCCAAAGTTAC
245	28Q'	081921102-HERV0958uI_st 5	TGATCCCGGATTAGTAGGCTTATGA
246	28R'	081921102-HERV0958uI_st 6	CTCCTGTGGAATTAGTTCTTGTCCC
247	29A	032622601MR41sLU5p_at1	GCCCTTTCTTGAGGTCTGGGTCTG C
248	29A'	032622601MR41sLU5p_st1	GCAGACCCAGACCTCAAGAAAGG GC
249	30A	220246901-HERV0889uL_a t1	AGGCTGTAACCCCCCTTAAACTGC C
250	30B	220246901-HERV0889uL_a t2	CAACTATGGGGAACTTAACTGGAG T
251	30C	220246901-HERV0889uL_a t3	GGAGTCGTTTCAGATGGGTGCTTA C
252	30A'	220246901-HERV0889uL_st 1	GGCAGTTTAAGGGGGGTTACAGC C
253	30B'	220246901-HERV0889uL_st 2	ACTCCAGTTAAGTTCCCCATAGTT G
254	30C'	220246901-HERV0889uL_st 3	GTAAGCACCCATCTGAAACGACTC C
255	31A	061827101-HERV0856uL_a t1	GAAGAGTTTCAGCCCTTCAGACA AC

[0103]

256	31B	061827101-HERV0856uL_a t2	GATCCAGGTTTGTACGCAAGCTG A
257	31C	061827101-HERV0856uL_a t3	CCGAGTGGGCACATCAAGCACAG TG
258	31A'	061827101-HERV0856uL_st 1	GTTGTCTGAAGGGCTGAAACTCTT C
259	31B'	061827101-HERV0856uL_st 2	TCAGCTTGCGTGACAAACCTGGAT C
260	31C'	061827101-HERV0856uL_st 3	CACTGTGCTTGATGTGCCCACTCG G
261	32A	170828901-HERV0770cL_at 1	CACAGGTCTTGCCGAGACCCCA CG
262	32B	170828901-HERV0770cL_at 2	CCACGGGCTCACTGTTTCAGTCAT C
263	32C	170828901-HERV0770cL_at 3	GCTCTGTACAGTTTCCCACGACT T
264	32A'	170828901-HERV0770cL_st 1	CGTGGGGGTCTCGGCAAGACCTG TG
265	32B'	170828901-HERV0770cL_st 2	GATGAGCTGAACAGTGAGCCCGT GG
266	32C'	170828901-HERV0770cL_st 3	AAGTCGTGGGAAACTGTGACAGA GC
267	33A	190148802-MALR1127uL_a t1	GGCCAAATTGTGCCACCCCTCCCA A
268	33B	190148802-MALR1127uL_a t2	AATCCCAGGACCTCCTAATATGG C
269	33C	190148802-MALR1127uL_a t3	GGTCGTTGTAGGCCCAGCACAGTG G

[0104]	270	33A' t1	190148802-MALR1127uL_s	TTGGGAGGGGTGGCACAATTTGGC C
	271	33B' t2	190148802-MALR1127uL_s	GCCATATTAGGAGGTCCTGGGAAT T
	272	33C' t3	190148802-MALR1127uL_s	CCACTGTGCTGGGCCTACAACGAC C
	273	34A t1	120093401-HERV1034uL_a	CCTAGCCATGAGCCAATTCCTTGC A
	274	34A' 1	120093401-HERV1034uL_st	TGCAAGGAATTGGCTCATGGCTAG G

[0105] 本发明的另一主题是,如上所述,至少一种、优选至少2种、优选至少3种、优选至少4种、优选至少5种、优选至少6种、优选至少7种、优选至少8种、优选至少9种、优选至少10种、优选至少11种、优选至少12种、优选至少13种、优选至少14种、优选至少15种、优选至少16种、优选至少17种、优选至少18种、优选至少19种、优选至少20种、优选至少21种、优选至少22种、优选至少23种、优选至少24种、优选至少25种、优选至少26种、优选至少27种、优选至少28种、优选至少29种、优选至少30种、优选至少31种、优选至少32种、优选至少33、优选至少34种根据本发明的引物对,

[0106] 和/或至少一种、优选至少2种、优选至少3种、优选至少4种、优选至少5种、优选至少6种、优选至少7种、优选至少8种、优选至少9种、优选至少10种、优选至少11种、优选至少12种、优选至少13种、优选至少14种、优选至少15种、优选至少16种、优选至少17种、优选至少18种、优选至少19种、优选至少20种、优选至少21种、优选至少22种、优选至少23种、优选至少24种、优选至少25种、优选至少26种、优选至少27种、优选至少28种、优选至少29种、优选至少30种、优选至少31种、优选至少32种、优选至少33、优选至少34种根据本发明的杂交探针,

[0107] 用于体外或离体确定个体(优选患者)的免疫状态的用途。

[0108] 本发明的另一主题是,如上所述,用于体外或离体确定个体免疫状态的方法,其中使用至少一种、优选至少2种、优选至少3种、优选至少4种、优选至少5种、优选至少6种、优选至少7种、优选至少8种、优选至少9种、优选至少10种、优选至少11种、优选至少12种、优选至少13种、优选至少14种、优选至少15种、优选至少16种、优选至少17种、优选至少18种、优选至少19种、优选至少20种、优选至少21种、优选至少22种、优选至少23种、优选至少24种、优选至少25种、优选至少26种、优选至少27种、优选至少28种、优选至少29种、优选至少30种、优选至少31种、优选至少32种、优选至少33、优选至少34种如上所述的引物对;

[0109] 和/或使用至少一种、优选至少2种、优选至少3种、优选至少4种、优选至少5种、优选至少6种、优选至少7种、优选至少8种、优选至少9种、优选至少10种、优选至少11种、优选至少12种、优选至少13种、优选至少14种、优选至少15种、优选至少16种、优选至少17种、优选至少18种、优选至少19种、优选至少20种、优选至少21种、优选至少22种、优选至少23种、优选至少24种、优选至少25种、优选至少26种、优选至少27种、优选至少28种、优选至少29

种、优选至少30种、优选至少31种、优选至少32种、优选至少33、优选至少34种如上所述的杂交探针。

[0110] 本发明的另一主题是一种试剂盒,其包含用于扩增和/或检测至少一种、优选至少2种、优选至少3种、优选至少4种、优选至少5种、优选至少6种、优选至少7种、优选至少8种、优选至少9种、优选至少10种、优选至少11种、优选至少12种、优选至少13种、优选至少14种、优选至少15种、优选至少16种、优选至少17种、优选至少18种、优选至少19种、优选至少20种、优选至少21种、优选至少22种、优选至少23种、优选至少24种、优选至少25种、优选至少26种、优选至少27种、优选至少28种、优选至少29种、优选至少30种、优选至少31种、优选至少32种、优选至少33、优选至少34种序列的构件(means),所述序列选自SEQ ID NO:1-34所示的序列或选自与SEQ ID NO:1-34所示的序列之一具有至少99%同一性的序列。

[0111] 优选地,在根据本发明的试剂盒中:

[0112] 所述扩增构件包括以下、优选地由以下组成:至少一种、优选至少2种、优选至少3种、优选至少4种、优选至少5种、优选至少6种、优选至少7种、优选至少8种、优选至少9种、优选至少10种、优选至少11种、优选至少12种、优选至少13种、优选至少14种、优选至少15种、优选至少16种、优选至少17种、优选至少18种、优选至少19种、优选至少20种、优选至少21种、优选至少22种、优选至少23种、优选至少24种、优选至少25种、优选至少26种、优选至少27种、优选至少28种、优选至少29种、优选至少30种、优选至少31种、优选至少32种、优选至少33、优选至少34种如上所述的引物对;

[0113] 和/或所述检测构件包括以下、优选地由以下组成:至少一种、优选至少2种、优选至少3种、优选至少4种、优选至少5种、优选至少6种、优选至少7种、优选至少8种、优选至少9种、优选至少10种、优选至少11种、优选至少12种、优选至少13种、优选至少14种、优选至少15种、优选至少16种、优选至少17种、优选至少18种、优选至少19种、优选至少20种、优选至少21种、优选至少22种、优选至少23种、优选至少24种、优选至少25种、优选至少26种、优选至少27种、优选至少28种、优选至少29种、优选至少30种、优选至少31种、优选至少32种、优选至少33、优选至少34种如上所述的杂交探针。

[0114] 还优选地,根据本发明的试剂盒还包括用于扩增和/或检测其他生物标志物的构件,所述其他生物标志物特别是内源性生物标志物(或基因座),例如其他HERV/MaLR和/或基因,优选参与炎症和/或免疫的基因,和/或管家基因,和/或外源性生物标志物,例如病毒。在参与免疫的基因中,可特别提及以下特别受关注的基因:

[0115] CD74、CX3CR1、IL-10、S100A8、S100A9、MERTK、CLEC7A、CD36、TIMP2、CCL13、PTGS2、IL-12B、IL-6、IL-1A、CCL20、MX1、OAS-1、CCL15、OAS-3、EIF2AK2、IFN γ 、NEFH、MMP10、SERPINB2、THBD、STAT1、CCR4、HLA-DRB1/B3、TCF7、EOMES、BCL11B、ITGA7、IL-18R1、NLRC4、CYP1B1、HGF、IL-5RA、CCLP4、CD3G、CD40LG、CD3D、CD127、ICOS、IL-1R2、IL-1RN、IL-18、IL-18RAP、OX40L、PD-1、PD-L1、Zonulin (HP)、BTLA、C3AR1、CD154、GM-CSF、IFIH1、IL-15、MCP1、PCSK9、STAT4、LTR82B、CIITA、LILRB2、CD177、ADGRE3、FLT-1、CD64、TREM-1、TNF- α 、IL-1 β 、ALOX5、IL-17A、NF κ B、TBX21、HIF1 α 、ROR γ T、OAS-2、GNLY、CTLA-4、TIM3、CD274、IL-2、IL-7R、GATA3、CXCL10、FAS、GSN、MDC1、DYRK2、TDRD9、CNB1IP1、ZAP70和ARL14EP。

[0116] 甚至更优选地,根据本发明的试剂盒包括用于扩增和/或检测总共最多100种、优选最多90种、优选最多80种、优选最多70种、优选最多60种、优选最多50种、优选最多40种、

优选最多30种、优选最多20种、优选最多10种生物标志物的构件。

[0117] 本发明还涉及如上所述的试剂盒在体外或离体确定个体(优选患者)的免疫状态中的用途。

附图说明

[0118] 图1:HERV-V3芯片分析流程图。此图表示分析HERV-V3芯片数据所需的不同步骤。

[0119] 图2:图2A和2B分别示出了由从5名健康志愿者采集的、被LPS刺激的PBMC产生的TNF- α 和IL-10在蛋白质和分子(mRNA)水平的表达水平。通过ELISA测试对内毒素耐受性模型完成后获得的培养上清液进行蛋白质定量。在图2A中,y轴描绘了TNF- α 和IL-10的蛋白质浓度(pg/mL)。在图2B中,y轴描绘了TNF- α 和IL-10的表达水平(以表达比例或倍数变化(FC)表示)。示出了三种情况,NS表示阴性对照(无刺激),LPS表示用100ng/mL LPS刺激一次的细胞,ET表示用LPS刺激两次(2ng/mL,然后100ng/mL)的细胞。进行配对的Wilcoxon检验以对结果进行统计学分析:***,表示在两个条件(NS vs.LPS或NS vs.ET或LPS vs.ET)之间的p值<0.01。**,表示2个条件之间的p值<0.05。*,表示2个条件之间的p值<0.1。

[0120] 图3:图3示出了PBMC的TNF- α (A) 和IL-10 (B) 的基因的表达,以及序列SEQ ID NO 1 (C)、SEQ ID NO 4 (D)、SEQ ID NO 5 (E) 以及SEQ ID NO 6 (F) 的表达,所述PBMC取自5名健康志愿者,在内毒素耐受性模型完成后被LPS刺激并通过生物芯片定量。y轴描绘了每种杂交探针的荧光强度:(A) 207113_s_at表示TNF alpha,(B) 207433_at表示IL-10,(C) 190665001-HERV0376uL_at表示SEQ ID NO 1,(D) 121601801-HERV0492uL_at表示SEQ ID NO 4,(E) 011052702-MALR1044uL_at表示SEQ ID NO 5,以及(F) 011052202-HERV1033uL_at表示SEQ ID NO 6。示出了三种情况,NS表示阴性对照(无刺激),LPS表示用100ng/mL LPS刺激一次的细胞,ET表示用LPS刺激两次(2ng/mL然后100ng/mL)的细胞。

[0121] 图4:图4示出了PBMC的序列SEQ ID NO 1 (C)、SEQ ID NO 4 (D)、SEQ ID NO 5 (E)、SEQ ID NO 6 (F) 的表达,所述PBMC取自5名健康志愿者,在内毒素耐受性模型完成后被LPS刺激并通过RT-qPCR定量。y轴描绘了上述序列的表达率。示出了三种情况,NS表示阴性对照(无刺激),LPS表示用100ng/mL LPS刺激一次的细胞,ET表示用LPS刺激两次(2ng/mL然后100ng/mL)的细胞。进行配对的Wilcoxon检验以对结果进行统计学分析:***,表示在两个条件(NS vs.LPS或NS vs.ET或LPS vs.ET)之间的p值<0.01。**,表示2个条件之间的p值<0.05。*,表示2个条件之间的p值<0.1。

[0122] 图5:图5示出了序列SEQ ID NO 2 (A)、SEQ ID NO 3 (B)、SEQ ID NO 7 (C)、SEQ ID NO 8 (D)、SEQ ID NO 11 (E) 和SEQ ID NO 12 (F) 的表达,所述序列来自20名患败血性休克的患者的全血,根据mHLA-DR的表达水平进行分级并通过生物芯片进行定量。y轴描绘了每种杂交探针的荧光强度:(A) 220247002-HERV0797uL表示SEQ ID NO 2,(B) 170369402HE41env表示SEQ ID NO 3,(C) 130360601-HERV0808cL表示SEQ ID NO 7,(D) 141107102-MALR1019uL表示SEQ ID NO 8,(E) 050286701-HERV0513uL表示SEQ ID NO 11以及(F) 050287402-MALR1022uL表示SEQ ID NO 12。示出了三种情况,HV表示健康志愿者,并且在D1和D3上,DR+表示具有HLA-DR的高表达的患者,其被认为是免疫活性的,DR-表示具有HLA-DR的低表达的患者,其被认为是免疫抑制的。

[0123] 图6:图6示出了序列SEQ ID NO 2 (A)、SEQ ID NO 3 (B)、SEQ ID NO 7 (C)、SEQ ID

NO 8(D)、SEQ ID NO 11(E)和SEQ ID NO 12(F)的表达,所述序列来自20名患败血性休克的患者的全血,根据mHLA-DR的表达水平进行分级并通过RT-qPCR进行定量。y轴描绘了上述序列的表达率。示出了三种情况,HV表示健康志愿者,并且在D1和D3上,DR+表示具有HLA-DR的高表达的患者,其被认为是免疫活性的,DR-表示具有HLA-DR的低表达的患者,其被认为是免疫抑制的。

[0124] 图7:图7示出了序列SEQ ID NO 9(A)和SEQ ID NO 10(B)的表达,所述序列来自102名患败血性休克的患者的全血,根据D3上CD74的表达水平与D1上CD74的表达水平之比进行分级,并通过生物芯片进行定量。y轴描绘了每种杂交探针的荧光强度:(A) 021460102-HERV0599uL_st表示SEQ ID NO 9以及(B) 021456001-MALR1017uL_at表示SEQ ID NO 10。在D1、D3和D6上示出了以下情况,免疫活性的患者(“高”CD74 D3/D1比)和免疫抑制的患者(“低”CD74 D3/D1比)。

[0125] 图8:图8示出了序列SEQ ID NO 9(A)和SEQ ID NO 10(B)的表达,所述序列来自102名患败血性休克的患者的全血,根据D3上CD74的表达水平与D1上CD74的表达水平之比进行分级,并通过RT-qPCR进行定量。y轴描绘了上述序列的表达率。在D1、D3和D6上示出了以下情况,免疫活性的患者(“高”CD74 D3/D1比)和免疫抑制的患者(“低”CD74 D3/D1比)。

[0126] 图9:图9示出了表示标志物的标记的大小与被认为是免疫活性的患者和被认为是免疫抑制的患者之间的辨别能力之间的关联的图。

[0127] 通过以下实施例以非限制性方式说明本发明。

[0128] 实施例1:内毒素耐受(ET)模型

[0129] 内毒素耐受性对应于细胞或生物体不能响应由第一内毒素刺激引起的内毒素刺激的暂时状态。

[0130] 建立内毒素耐受模型,一方面模拟由脂多糖(LPS)刺激引起的炎性环境,另一方面模拟表示细胞“无应答”状态的单核细胞无反应性(anergy)。免疫力的这些组成部分存在于不同类型的患者中,例如患有败血症、创伤、烧伤或进行过大手术的患者。

[0131] 材料和方法

[0132] PBMC刺激

[0133] 由来自健康志愿者的5袋柠檬酸化血液建立内毒素耐受模型,所述血液根据献血的标准程序在EFS收集,并在收到后立即使用。PBMC,即外周血单个核细胞,使用调整为200万个细胞/毫升的密度梯度进行分离,并在X-Vivo培养基(Lonza)中于37°C和5%CO₂中培养。该模型中使用的内毒素是脂多糖(LPS),这是革兰氏阴性细菌外膜的主要成分。LPS获自三种大肠杆菌菌株的混合物:0111:B4、055:B5和0127:B8(Sigma)。所有条件均一式三份进行。在这种内毒素耐受性的离体模型中,首先将PBMC在无(NS对照细胞和模拟炎症状态的LPS细胞)或有2ng/ml的剂量的LPS(模拟单核细胞无反应性、免疫抑制状态的ET细胞)下培养15小时。洗涤步骤后,将PBMC在无(NS对照细胞)或有100ng/ml的剂量的LPS(LPS和ET细胞)的情况下第二次培养,持续6小时。

[0134] 在实验结束时,收获培养物上清液并在-80°C保存。在进行RNA提取(Qiagen市售试剂盒)以用于转录组学研究之前,还将细胞收获、裂解并保存在-80°C。为了验证模型的功效,通过ELISA(市售R&D System试剂盒)从PBMC的培养上清液中确定促炎细胞因子TNF- α (“可耐受基因”)和抗炎细胞因子IL10(“不可耐受基因”)的浓度

[0135] RNA提取和扩增

[0136] 使用市售试剂盒(RNeasy Mini Plus试剂盒,QIAGEN)从上述PBMC的离体培养物中提取mRNA。

[0137] 然后对总mRNA进行测定和表征。使用Bioanalyser 2100通过毛细管电泳对mRNA进行表征。通过计算RIN(RNA完整值)来评估mRNA样品的质量。该值基于18S和28S核糖体RNA的检测,如果RIN趋于10,则表示该mRNA是完整的(接受RIN \geq 7)。

[0138] 互补DNA(cDNA)的合成和扩增步骤通过NuGEN Technologies公司在2005年描述的线性及等温方法进行(Kurn N等人Novel isothermal, linear nucleic acid amplification systems for highly multiplexed applications. *Clinical chemistry*. 2005; 51(10):1973-81)。使用Ribo-SPIA扩增方法(Watson JD等人Complementary RNA amplification methods enhance microarray identification of transcripts expressed in the *C. elegans* nervous system. *BMC genomics*. 2008; 9: 84),使用16ng的总RNA(WTO pico市售试剂盒,Nugen)并包括三个步骤。第一步从mRNA模板通过逆转录产生cDNA的第一条链,这是通过使用随机引物和oligo-dT的混合物进行的。第二步是在反应中加入DNA聚合酶,从而诱导产生cDNA的第二条链。第三步涉及通过链置换进行的SPIA扩增。当与cDNA模板复合时,杂交DNA/RNA引物会被DNA聚合酶的RNase H活性降解。(与mRNA模板互补的)单链DNA合成被启动并继续进行,从而授权将新的SPIA引物固定在cDNA模板上,从而维持重复的链合成过程。然后使用DNase从5 μ g纯化和扩增的DNA中将cDNA片段化为50-200bp的片段(市售试剂盒,Nugen),并在3'标记(Nugen市售试剂盒)。在生物分析仪上验证了cDNA的扩增和片段化。扩增谱涵盖了从25到4000个核苷酸大小的cDNA,峰值约为1500pb。片段分布图应集中在大小约为100个核苷酸的核酸群体上,建议在Affymetrix微阵列上杂交。

[0139] 通过生物芯片进行分析

[0140] 鉴定具有表达差异的序列是基于设计和使用GeneChip格式的高密度DNA芯片,即HERV-V3,其由发明人设计,其制造已转包给Affymetrix公司。该芯片包含与人类基因组中不同的HERV序列杂交的探针。这些序列是从已经公开的发明人专用数据库中提取的(Becker等人A comprehensive hybridization model allows whole HERV transcriptome profiling using high density microarray, *BMC Genomics* 2017 18: 286)。

[0141] HERV-V3芯片靶向353994个HERV/MaLR元件和超过1500种免疫力基因。

[0142] 一旦cDNA被扩增并片段化,它们即可在HERV-V3芯片上杂交,所述杂交在50 $^{\circ}$ C的烤箱中进行,持续18小时,并以60rpm的速度不断搅拌。流控系统可实现清洗和着色步骤的自动化,并在完成所有这些步骤之后,最后使用荧光扫描仪读取芯片。

[0143] 原始数据组是通过传统Affymetrix方法汇总每个芯片的CEL文件而创建的。

[0144] 在对原始数据进行首次质量控制之后,执行以下几个步骤:通过鲁棒多阵列平均(Robust Multi-array Average (RMA))方法校正背景噪声,通过分位数标准化每个芯片的数据,将探针数据分组为探针的组(探针组中的探针)以及平滑中位数。进行质量控制的第二步。因此,所有这些步骤使得可以获得包含归一化数据的矩阵。

[0145] 芯片的预处理以及统计分析均通过使用R/Bioconductor进行。

[0146] 预分析步骤包括在归一化之前和之后评估芯片的质量。为此,必须考虑几个标准:RNA的质量、cDNA的扩增和片段化控制、扫描后产生的芯片图像、Affymetrix对照的杂交、信号强度(归一化之前和之后)、探针组均匀性(RLE和NUSE图),芯片相关性(归一化之前和之后)和主成分分析。对于所有这些标准,统计分析允许识别每个芯片的极值,然后将数据分组在一起。通过少于5个质量控制的芯片将从分析中删除。对于每个数据组,然后生成决策表以汇总所有质量标准,并快速确定要从分析中删除的芯片。

[0147] 有时需要一种校正方法来分析数据。这种所谓的COMBAT校正(用于组合Batches)可以校正数据组的技术变异性,从而得出其生物学变异性。

[0148] 最后,执行数据过滤步骤以减少数据组并获得分析的统计功效。强度阈值定义为变异系数分布的第75个百分位数低于10%的最小强度值。以此方式,所述强度阈值为 $2^{5.5}$ 。超过68%的所有样本(45个样本中的31个)中强度阈值以下的探针组被淘汰。

[0149] 在靶向HERV/MaLR的71063个探针组和靶向在上一步选择的基因的42560个探针组中,进行了差异表达分析。

[0150] 研究两个条件之间的差异表达就像计算表达比或倍数变化(FC)。例如条件A下的表达值等于10,条件B下的值等于5,则A/B的FC等于2。FC数据将以 $\log_2 FC$ 表示。为了确定基因或HERV/MaLR序列在两个条件之间的差异表达,使用了Limma方法(Smyth GK. Linear models and empirical bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments. *Statistical applications in genetics and molecular biology* 2004,3:Article3)。计算统计检验及其相关的p值,以评估观察到的表达变化的显著性。根据Benjamini和Hochberg的方法,通过控制错误发现率(FDR,由于多次检验)来调整p值(Hochberg等人Controlling the False Discovery Rate:A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)* 1995, Vol. 57, No. 1 (1995), pp. 289-300)。当 $\log_2 FC$ 的绝对值大于1且拟合p值小于0.05时,认为探针组表达差异显著(参见图1)。

[0151] 从与能够产生HERV-V3芯片的那些相同的样本中通过RT-qPCR验证被生物芯片鉴定为最差异表达的序列。

[0152] 结果

[0153] 如上所示,为了验证模型的功效,通过ELISA(市售R&D System试剂盒)从PBMC培养物的上清液中确定促炎细胞因子TNF- α (“可耐受基因”)和抗炎细胞因子IL10(“不可耐受基因”)的浓度。

[0154] 如图2A所示,与仅刺激一次的细胞(LPS模型,炎性条件)(500-2000pg/mL)相比,用LPS刺激两次的细胞(ET模型,免疫抑制条件)产生少量的TNF- α (100-500pg/mL)。相反,与刺激一次的细胞(50-400pg/mL)相比,这些相同的细胞分泌更高浓度的IL-10(100-1000pg/mL)。在蛋白质水平上的这些结果在mRNA水平上得到了证实,因为与一次刺激的PBMC相比,在被LPS刺激两次的细胞中观察到TNF- α 的表达显著下降,而IL-10的基因表达则增加(图2B)。

[0155] 这些结果可以验证该模型的有效性。

[0156] 在由发明人设计的HERV-V3生物芯片上分析了未经刺激的PBMC(NS,对照)、用LPS刺激一次的PBMC(LPS,炎性条件)或用LPS刺激两次的PBMC(ET模型,免疫抑制条件)的HERV/

Ma1R和基因的表达。

[0157] 使用这种方法处理由HERV-V3芯片的分析所生成的数据,可以鉴定出4组探针(或“探针组”)的组。在不同条件(健康患者、炎性条件和免疫抑制条件)之间表达具有统计学显著差异的序列中,这些“探针组”的表达具有最大的统计学意义上的差异。如前所述,为了使表达差异具有统计学显著性, \log_2 倍数变化的绝对值必须大于或等于1,并且调整后的p值必须小于或等于0.05。这些标准适用于所有实施例。这4个“探针组”与SEQ ID NO 1和4至6所示的HERV序列相关。每个序列的染色体定位在GRCh38参考文献中给出。在下面的表9中,列出了已鉴定的序列。

[0158] 表9

SEQ ID NO	HERV-V3 芯片的探针组的名称	家族名称	整个元件的 GRCH38 定位
SEQ ID NO	190665001-HERV0376	LTR101	chr19:54891074-54891496
1			
SEQ ID NO 4	121601801-HERV0492	LTR33	chr12:112971073-112971451
SEQ ID NO 5	011052702-MALR1044	MSTC	chr12:112971073-112971451
SEQ ID NO 6	011052202-HERV1033	MLT2B5	chr1:78623489-78623954

[0161] 如在图3C中观察到的,与LPS和ET条件相比,在NS条件下序列SEQ ID NO 1的表达在统计学上显著更大。

[0162] 图3D和3F示出了用HERV-V3芯片在PBMC中观察到的序列SEQ ID NO 4和SEQ ID NO 5的表达模式。这些图显示了相似的表达模式,即对于这两个序列,与NS和ET条件相比,在LPS条件下表达增加,其中在LPS和ET之间具有统计学上的显著差异。

[0163] 与ET条件相比,序列SEQ ID NO 6就其本身而言在NS和LPS条件下具有更高的表达,其中在NS和ET之间以及LPS和ET之间具有统计学上的显著差异(图3F)。

[0164] 这些结果示出了在内毒素耐受模型中这些序列的表达的调节,以及因此它们可用作免疫状态标志物的能力。

[0165] 结果还显示,序列SEQ ID NO 4至6在内毒素耐受性模型中具有“可耐受”的特征(炎性条件),而序列SEQ ID NO 1在内毒素耐受性模型中具有“不可耐受的”特征(免疫抑制条件)。

[0166] 图3示出了序列SEQ ID NO 1(C)、SEQ ID NO 4(D)、SEQ ID NO 5(E) SEQ ID NO 6(F)在PBMC上的表达,所述PBMC获得自与HERV-V3生物芯片相同的5名健康志愿者,其被LPS刺激并在内毒素耐受性模型完成后通过RT-qPCR定量。

[0167] 结果表明,对于每个鉴定的序列,观察到与在生物芯片上获得的相同的谱。因此,通过RT-qPCR证实了通过HERV-V3生物芯片获得的数据(图3)。

[0168] 实施例2:重症监护患者

[0169] 材料和方法

[0170] 患者和生物学样本

[0171] 这项回顾性观察研究是在败血性休克后接受重症监护的37至77岁患者(男13例,女7例,中位年龄:59岁)中进行的。

[0172] 在接受重症监护后第1天(D1)和第3天或第4天(D3),将败血性休克的这20名患者的全血样品收集在PAXgene管(PreAnalytix)中,然后进行保存(回顾性队列)。

[0173] 根据单核细胞表面HLA-DR的表达水平(mHLA-DR),对这一队列的患者进行分级。通过流式细胞术,在D3(第3或4天)测量mHLA-DR的表达。

[0174] 选择该队列中的20例患者,其中10例患者(50%)在第3或4天具有HLA-DR的高表达(超过表达的30%),而10例患者(50%)在第3或4天具有HLA-DR的低表达(少于表达的30%)。

[0175] HLA-DR高表达的患者被认为具有免疫活性状态(DR+),HLA-DR低表达的患者被认为具有免疫抑制状态(DR-)。

[0176] 本研究还包括5名健康志愿者。

[0177] RNA提取

[0178] 按照制造商的建议,使用PAXgene血液RNA试剂盒(PreAnalytix)进行RNA提取。在RNA洗脱步骤之前,通过DNase的作用除去了残留的基因组DNA。通过荧光测定法(Qubit的RNA测定试剂盒,Life Technologies)测定RNA浓度。然后在Bioanalyzer(Agilent Technologies)上使用RNA 6000Nano试剂盒控制RNA的质量,认为RIN(RNA完整值)大于6的收集是高质量的。

[0179] 如实施例1所述进行RNA扩增、生物芯片分析和通过RT-qPCR验证序列的步骤,所述序列通过生物芯片被鉴定为差异表达。

[0180] 结果

[0181] 使用这种方法处理由HERV-V3芯片的分析所生成的数据,可以鉴定出6组探针(或“探针组”)的组。在两种条件(免疫活性条件和免疫抑制条件)之间表达具有统计学显著差异的序列中,这些“探针组”的表达具有最大的统计学意义上的差异。这6个“探针组”与由SEQ ID NO 2、3、6、7、8、11以及12所示的HERV序列相关。每个序列的染色体位置在GRCh38参考文献中给出。在下面的表10中,列出了6种已鉴定的序列。

[0182] 表10

SEQ ID NO	HERV-V3 芯片的探针组的名称	家族名称	整个元件的 GRCH38 位置
2	220247002-HERV0797	MER4B	chr22:36153696-36154283
3	170369402HE41env	HERV-E4.1	chr17:35505737-35508365
7	130360601-HERV0808	MER50C	chr13:42884951-42886257
8	141107102-MALR1019	MLT1J1	chr14:91230494-91230820
11	050286701-HERV0513	LTR40A	chr5:14551189-14551685
12	050287402-MALR1022	MLT1K	chr5:14562791-14563322

[0185] 如图5A和5C中所观察到的,与具有免疫活性的患者相比,免疫抑制患者(DR-)从接受重症监护后的D1开始,序列SEQ ID NO 2和7的表达降低。而与具有免疫活性的患者相比,在接受重症监护后的D3免疫抑制患者(DR-)的SEQ ID NO 3、8、11和12的表达降低了(见图5B、5D、5E和5F)。

[0186] 因此,这些结果表明序列SEQ ID NO 2和7从D1开始作为免疫抑制标志物的有用性。就其本身而言,序列SEQ ID NO 3、8、11和12是在D3的免疫抑制的标志物。

[0187] 通过RT-qPCR验证了被生物芯片鉴定为差异性表达的这些序列。该结果示于图6中。

[0188] 对于每个鉴定的序列,观察到与在生物芯片上获得的那些类似的表达模式。因此,通过RT-qPCR证实了通过HERV-V3生物芯片获得的数据。

[0189] 实施例3:复苏患者

[0190] 材料和方法

[0191] 患者和生物学样本

[0192] 这项回顾性观察研究于2009年至2011年在法国6家医院的接受复苏的患者中进行。纳入标准如下:

[0193] -患者年龄为18岁或以上;

[0194] -临床医生预测重症监护病房的住院时间至少为2天;

[0195] -临床医生根据临床或临床旁表现怀疑或确认至少有一个急性感染的部位的患者;

[0196] -符合以下至少两项标准的患者:

[0197] o体温高于38°C或低于36°C;

[0198] o心率大于90次/分钟;

[0199] o呼吸频率大于20次呼吸/每分钟或PaCO₂<32mmHg;

[0200] o白细胞数目大于12000/mm³或小于4000/mm³。

[0201] 排除标准如下:

[0202] -已存在的免疫抑制,包括最近的化学疗法或免疫抑制治疗,

[0203] -高剂量的糖皮质激素(>5mg/kg泼尼松龙当量,持续时间>5天)或长期的糖皮质激素治疗(0.5mg/kg泼尼松龙,>30天);

[0204] -发育不全(循环嗜中性粒细胞<500个细胞/mm³),

[0205] -原发性免疫缺陷,以及

[0206] -进入重症监护室前一个月的体外循环。

[0207] 在所有患者中,有102位患者符合以下标准:

[0208] -患者患有败血性休克;

[0209] -第一次采血在患者到达重症监护室的第一个24小时内(D1)进行;

[0210] -第二次采血在患者到达重症监护室后的3至4天(D3)进行;

[0211] -第三次采血在患者到达重症监护室后的6天(D6)进行;

[0212] 然后,根据CD74在D3的表达水平与CD74在D1的表达水平的比率,通过RT-qPCR对这一队列的患者进行分级。

[0213] 将该队列分为两类。CD74 D3/D1比值大于1.23的人被称为“高”,并被认为具有免疫活性状态。CD74 D3/D1比值小于1.23的人被称为“低”,并被认为具有免疫抑制状态。

[0214] 在该队列的102名患者中,有52名患者(51%)被认为具有免疫抑制状态(“低”CD74 D3/D1比),且有50名患者(49%)被认为具有免疫活性状态(“高”CD74 D3/D1比)。

[0215] 如实施例2中所述实施RNA提取步骤。

[0216] 如实施例1中所述实施扩增RNA、通过生物芯片分析和通过RT-qPCR(在D1和D3)验证序列的步骤,所述序列通过生物芯片被鉴定为差异表达。

[0217] 结果

[0218] 使用这种方法处理由HERV-V3芯片的分析所生成的数据,可以鉴定出2组探针(或

“探针组”)的组。在两种条件(免疫活性条件和免疫抑制条件)之间表达具有统计学显著差异的序列中,这些“探针组”的表达具有最大的统计学意义上的差异。这2个“探针组”与由SEQ ID NO 9和10所示的HERV序列相关。每个序列的染色体定位在GRCh38参考文献中给出。在下面的表11中,列出了已鉴定的2种序列。

[0219] 表11

SEQ ID N°	HERV-V3 芯片的探针组 的名称	家族名称	整个元件的 GRCH38 定位
[0220] SEQ ID NO 9	021460102-HERV0599uL	LTR82B	chr2:102363654-102366601
SEQ ID NO 10	021456001-MALR1017uL	MLT1I	chr2:102013616-102013971

[0221] 如图7A中观察到的,与具有“高”CD74 D3/D1比率的患者相比,具有“低”CD74 D3/D1比率的患者序列SEQ ID NO 9的表达在D3更高。

[0222] 相同地,对于序列SEQ ID NO 10的表达(图7B),与具有“高”CD74 D3/D1比率的患者相比,具有“低”CD74 D3/D1比率的患者在D3更高。

[0223] 因此,这些结果表明,SEQ ID NO 9和10这些序列在D3作为免疫抑制状态标志物的有用性。

[0224] 这些被生物芯片鉴定为差异表达的序列在D1和D3通过RT-qPCR进行了验证,所述序列来自队列的102名患者中的30名患者。该结果示于图8中。

[0225] 对于每个鉴定的序列,观察到与在生物芯片上获得的那些类似的表达模式。因此,从30名患者中通过RT-qPCR证实了通过HERV-V3生物芯片获得的数据。

[0226] 实施例4:所鉴定的序列的注释

[0227] 对于在实施例1至3中鉴定的每个序列(SEQ ID NO 1-12),发明人已经指定了等级。该等级是基于在芯片中对于实施例2的队列所观察到的序列SEQ ID NO 1至12的表达模式。

[0228] 发明人分配了从1至4星的等级。根据显示不同鉴定序列表达的图表,所有标准都是可视的。如前所述,所有这些序列都已经根据表达水平和表达差异进行了选择。分配等级的方法在下面的表12中进行了描述。

[0229] 表12

	标准	等级
[0230]	低 DR 患者中的表达在 D3 增加, 与 D1 有明显差异	****
	低 DR 患者中的表达在 D3 增加, 与 D1 没有明显差异	***
	低 DR 患者中的表达从 D1 开始减少, 与 D3 有或没有明显差异	**
[0231]	低 DR 患者中的表达在 D3 减少, 与 D1 没有明显差异	*

[0232] 在下面的表13中, 获得实施例1至3中鉴定的每个序列的等级。

[0233] 表13

[0234]

SEQ ID NO	HERV-V3 芯片的探针组的名称	染色体定位	得分
SEQ ID 1	190665001-HERV0376	chr19:54891074-54891496	***
SEQ ID 2	220247002-HERV0797	chr22:36153696-36154283	**
SEQ ID 3	170369402HE41env	chr17:35505737-35508365	*
SEQ ID 4	121601801-HERV0492	chr12:112971073-112971451	**
SEQ ID 5	011052702-MALR1044	chr1:78648318-78648697	**
SEQ ID 6	011052202-HERV1033	chr1:78623489-78623954	**
SEQ ID 7	130360601-HERV0808	chr13:42884951-42886257	***
SEQ ID 8	141107102-MALR1019	chr14:91230494-91230820	*
SEQ ID 9	021460102-HERV0599	chr2:102363654-102366601	***
SEQ ID	021456001-MALR1017	chr2:102013616-102013971	***

	10			
[0235]	SEQ ID 11	050286701-HERV0513	chr5:14551189-14551685	****
	SEQ ID 12	050287402-MALR1022	chr5:14562791-14563322	****

[0236] 实施例5:免疫抑制的HERV标志物

[0237] 为了鉴定对免疫抑制具有特异性的标志物,发明人使用了通过分析来自实施例2的样本的HERV-V3芯片而产生的数据。

[0238] 因此,发明人选择了在被认为是免疫抑制的患者(DR-)和被认为是具有免疫活性的患者(DR+)之间在D3差异表达的HERV序列,但是所述HERV序列在研究的健康志愿者和所有患者之间没有差异表达(无论是DR+还是DR-,无论在D1还是在D3)。

[0239] 所述选择允许鉴定17个HERV序列。对于每种鉴定的序列,发明人根据几个标准(表达模式、倍数变化、表达水平、有义和反义探针之间表达模式的一致性、从D1开始可见的表达差异以及患者之间没有太大的变异性)分配了得分。下面的表14描述了每个标准的归因点的模式。

[0240] 表14

	标准	描述	点数
[0241]	表达模式	与被认为是免疫抑制的患者(DR+)相比,在 被认为具有免疫活性的患者(DR-)中增加	2 或

[0242]

	或 与被认为是免疫抑制的患者 (DR+) 相比, 在 被认为具有免疫活性的患者 (DR-) 中减少	1
表达水平	表达水平一般高于 5	1
倍数变化	高倍数变化 (\log_2 FC 显著大于 1.5)	1
有义/反义一致性	有义和反义探针之间的表达模式相同	1
从 D1 可见的差异	从 D1 开始, 可见的高 DR 和低 DR 患者之间的 差异 (即使差异很小)。	1
变异性	如果变异性太高, 则罚分。	-1
得分		/6

[0243] 因此, 由于这种归因得分方式, 发明人选择了 10 名候选人, 而排除了表现似乎不足的 7 名候选人。在下面的表 15 中, 用其各自的分数鉴定了 10 种标志物。

[0244] 表 15

[0245]

SEQ ID	HERV-V3 芯片的探针组的	染色体定位	得分
---------------	------------------------	--------------	-----------

[0246]

NO	名称		
SEQ ID 13	052182701-MALR1129	chr5:132453630-132454148	5
SEQ ID 14	190478501-MALR1003	chr19:41812466-41813010	4
SEQ ID 15	011790601ERV9sLU5	chr1:155637287-155637547	4
SEQ ID 16	052681601-MALR1018	chr5:170290289-170290812	4
SEQ ID 17	160627301-MALR1014	chr16:50662453-50662912	4
SEQ ID 18	111686702-HERV0861	chr11:122671887-122672147	3
SEQ ID 8	141107102-MALR1019	chr14:91230494-91230820	3
SEQ ID	040318302-MALR1134	chr4:15825146-15825565	2

	19			
[0247]	SEQ ID 20	041529101-MALR1026	chr4:83464568-83464963	2
	SEQ ID 21	141106902-MALR1133	chr14:91222760-91223118	2

[0248] 序列SEQ ID 13至18和19至21是新鉴定的序列。对于序列SEQ ID 8,这是在实施例2中已经鉴定的序列。

[0249] 实施例6:炎症的HERV标志物

[0250] 为了鉴定炎症的特异性标志物,发明人使用了通过分析来自实施例1和2的样本的HERV-V3芯片而产生的数据。

[0251] 因此,本发明人选择了HERV序列,所述HERV序列一方面在实施例1中在LPS条件(免疫抑制条件)和NS条件(阴性对照)之间差异表达,另一方面,在实施例2中,在D1或D3的患者与健康志愿者相比差异表达。

[0252] 该选择可以鉴定13个HERV序列。如实施例5,对于每个鉴定的序列,发明人基于相同的标准分配得分。下表16中描述了每个标准的归因点方式。

[0253] 表16

[0254]	标准	描述	点数

[0255]

表达模式	与健康志愿者相比，在患者中增加	2
	或 与健康志愿者相比，在患者中减少	或 1
表达水平	表达水平一般高于 5	1
倍数变化	高倍数变化 (\log_2 FC 显著大于 1.5)	1
有义/反义 一致性	有义和反义探针之间的表达模式相同	1
从 D1 可见 的差异	从 D1 开始，可见的 DR+和低 DR-患者之间的差异（即使差异很小）。	1
变异性	如果变异性太高，则罚分。	-1
得分		/6

[0256] 由于这种归因得分方式，发明人选择了7名候选人，而排除了表现似乎不足的6名候选人。在下面的表17中，用其各自的分数鉴定了7种标志物。

[0257] 表17

[0258]

SEQ ID NO	HERV-V3 芯片的探针组的名称	染色体定位	得分
-----------	-------------------	-------	----

[0259]

SEQ ID 1	190665001-HERV0376	chr19:54891074-54891496	6
SEQ ID 1	190665002-HERV0376	chr19:54891074-54891496	6
SEQ ID 22	060281701-MALR1043	chr6:18403673-18404108	5
SEQ ID 23	043166601-MALR1018	chr4:184850413-184850785	5
SEQ ID 24	100090601-HERV0429	chr10:5856198-5856795	4
SEQ ID 25	061529601-HERV0492	chr6:107800650-107801138	3
SEQ ID 26	100871501-MALR1020	chr10:60410534-60411224	3
SEQ ID 27	170842002-MALR1003	chr17:78345106-78345577	3

[0260] 鉴定炎症标志物的这种策略使得有可能鉴定6个新序列(SEQ ID 22至27)并发现在实施例1中已鉴定的序列(SEQ ID 1)。还应注意,两组探针(探针组)靶向相同的HERV序列(SEQ ID 1)。

[0261] 实施例7:免疫状态标志物的标记(signature)

[0262] 对于这个实施例,目的是确定标志物的标记,从而可以最好地区分被认为是免疫抑制的患者和被认为是具有免疫活性的患者。为此,发明人使用了通过分析来自实施例2和3的样本的HERV-V3芯片而产生的数据。

[0263] 发明人选择了在被认为是免疫抑制的患者(DR-)和被认为是具有免疫活性的患者(DR+)之间在D3差异表达的HERV序列。所述选择允许鉴定193个HERV序列的列表。

[0264] 为了从这193个HERV序列中获得缩减的标记(其仍然可以最好地区分被认为是免疫抑制的患者和被认为是具有免疫活性的患者),发明人应用了“随机森林”方法(Tin Kam Ho, Random Decision Forests, AT&T Bell Laboratories)。这种方法可以根据两种研究条件(免疫抑制和免疫活性)之间的区分能力对每个序列进行分类。

[0265] 然后,为了确定标记中的最佳序列数,发明人对实施例3的队列计算了预测性能,通过在D3和D1之间具有低CD74比率的患者和具有其高比率的患者之间,使用大小为2-30个标志物的标记的区分能力。因此,他们确定10个序列大小的标记具有最佳性能(最佳的曲线下面积:AUC)(参考图9)。

[0266] 在下表18中,构成标记的标志物列表使得可以最佳地区分被认为是免疫抑制的患者和被认为是具有免疫活性的患者。

[0267] 表18

[0268]

SEQ ID NO	HERV-V3 芯片的探针组的名称	染色体定位
SEQ ID 28	081921103-HERV0958	chr8:125945973-125951030
SEQ ID 29	032622601MR41sLU5p	chr3:167401329-167401866
SEQ ID 30	220246901-HERV0889	chr22:36147793-36148208
SEQ ID 31	061827101-HERV0856	chr6:127790579-127792191
SEQ ID 3	170369402HE41env	chr17:35505737-35508365
SEQ ID 32	170828901-HERV0770	chr17:77462942-77463350

[0269]

SEQ ID 28	081921101-HERV0958	chr8:125945973-125951030
SEQ ID 28	081921102-HERV0958	chr8:125945973-125951030
SEQ ID 33	190148802-MALR1127	chr19:14612123-14612747
SEQ ID 34	120093401-HERV1034	chr12:9038254-9038598

[0270] 应当注意,该标记由使用10组不同探针的8个序列组成。实际上,三组探针靶向相同序列(SEQ ID NO 28)。另外,在该标记中,我们发现了实施例2中已经鉴定的序列SEQ ID 3。HERV序列根据根据患者的免疫状态,基于随机森林分类算法赋予患者的得分,以反映其在患者分层中的“重要性”的顺序显示在上表中。

序列表

<110> 生物梅里埃公司

拜尔阿斯特公司

里昂国民医疗中心

<120> 用于体外或离体确定个体免疫状态的方法

<130> HERV 免疫

<160> 274

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 423

<212> DNA

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

```

aaaatcagaa caaactgaag atatgggcca gaacttgtat aaagtgtgaa aagcagtcaa 60
taaagaaagt tagaaatact ttgcattttt tttttaatca caggacctga gttaagccaa 120
gaatacagta gaaattttat caagtagaga taagctctca gtaaaggata aaagtgggcc 180
taagtccctt cagtttcact ggaagtagga cccttacatt ttataattat attttcatac 240
ataagctact ggacaatgaa gtaaatagca atcagtgaaa gagccacata tgaccaactt 300
agatttcctt gagtaaagtc tgtcaagggt aaagctgtga aagtttataa gaaaaaagaa 360
tggggaatta tttggaagac catttgagtt ttgtacacaa gaatttaatg tttgcacact 420
tga 423

```

<210> 2

<211> 588

<212> DNA

<213> 智人

<400> 2

```

ataaaccaaaa agtaagattc taagcctccc cctcatttaa aggacttctt cctcagccag 60
ggctcttaaaa atttaacctg aaagactggg tcaggccatg aagggaaatg ggggtcagac 120
atgcttcatt atgcctctct ggcattaata tcaacacagg ctttcagtct aataagaaac 180
atttttacagc ctgtttctct gtgaagcctg ctagctgaaa gcttcatctg caggataaaa 240
ctttgggtctc cacaacctct tatcacaact caaacattcc ttctattga tctccggtct 300
ttagacaaaac tcaaccaatt gtcaaccaga aaacgtttca atttacctgt agcctggaaa 360
cgccccacttt gagttgtccc gcctttctag accaaaccga tgtattttctc aagtgtactt 420
aattgatgtc tcatgtctcc taagtgtata aatcaagct acacccaac caccttgggc 480
acatgtcatc aggacttctt gaggetgtgt cacaggcata cgtctcaac cttggcaaaa 540
taaactttct aaattaactg acaccagtct cagattttcc gggttcac 588

```

<210> 3

<211> 2629

<212> DNA

<213> 智人

<400> 3

```

aaccctgta aagtgactct gaagaagacg agaagccctg ctccagtcac acccagaagc 60
taactggctc acgcatggct gaagcatgag aaaactcttc atgggactca ttttccttaa 120
aatttgactc tgtatagtaa gtacttcaac tgaccttctc cagactgagg actgttccca 180
gtgtatatat caagtcacag aggtaggaca aaaagttgct acagtcttat tttatgctta 240
ttgtaagtgt actgggactg taaaaagaac ttgtttgtat aatgctattc tatacaaggt 300
atgtagccca ggaaatgacc aacctgatgt gtgttatgac ccatctgagc ctcccatgac 360
cacagtttta aaaataagat taagtactga ggactgggtg gggctcataa atgatatgag 420
taaagtgtta gccaaaacag aaggaaagaa aagggatcc caaacaagtc accttgaaat 480
ttgatgcctg tgctgtcatt aatagtaata agttagaaac atgatgtggt tctcttaatt 540
aggaaagagg ctgtatggca gaaaataagt acatttgtea tgaattagga ctgtgtggaa 600
ataaatgtag atactggtct tgtgtcattt aggctatgtg gataaaaaat aaaaagaatc 660
ctgtccacct tcagaaaggg aaagtggccc ttctgttacc agtggtcagt gtaaccctt 720
agaactagta ataaccaatc cccttgatcc ttgctgaaaa aatggggagc atgtaaccct 780
agaaattgat ggggctggac tggatcctcg agtaaatac gtggtttgag gagaagttta 840
taaagtctct cctgagccag tatttcaaat cttctatgat gaactaaatg tgccagtacc 900
agaaattcca ggaaaaacaa gaaatttggt ttgcaataa gccgagcatg tagcccagtc 960
tctcaatgtc acttcatggt atgtatgtgg aggaactgta atgggagatc aatggccatg 1020
ggaagcccga gaattagtag ctacagacc agttctgat aaattcccag ctcaaagac 1080
tcaccctgat aacttctagg tcctaaaagc ctcaatcatt agacaatact gtatagcaag 1140
agtggggaag gacttcccc ttctgtggg aagactcagc tgccttgggc aaaaactgta 1200
taatagtact acaaaaacag ccacctggtg gaggttcaac cacactaaga aaaatccatt 1260
tagttaattc ccaaagttgc aaactgtgtg gaccacca gagtcccacc aggactggac 1320
agccccact ggattatact ggatatgtgt gcatagagct tacaccaaat taccggcca 1380
gtgggcaggc agttgtgtta ttggcactat taaaccatct ttcttctac tgcccataa 1440
gacaggtgaa ctctgggct tcctgtcta tgcttctgc aaaaagagaa gcatagctat 1500
aggaaattgg aaagatgatg aatggcccc tgaaagaata atataatatt atgggcctgc 1560
tacttgggca caagatggct catagggatt ccagactccc atttacatac tcaaccaa 1620
catatgggta caagctatct tagaaataat cactaataag actggcagag ccttgactat 1680
tctggcccag caagaaactc agatgagaaa tgctatctat caaatagat tggctcttga 1740
caacttgcta gcagctgaag gaggggtctg taggaaattt aaccttacta attgctgtct 1800
acacatagat gatcagggca agcagttgaa gacatagtta gaaatataac aaaattggca 1860
catgtgccc a tgcaagtgtg gcatggattt gatcctgggg ccatgtttga aaaatggttc 1920
ccagtgetaa gaagatttaa aactcttata ataggagtta taatagtaat agaaacctgc 1980
ttactgetcc ctgtttgtc acccatactt cttcaaatga taaaagctt catcactacc 2040
ttagtttacc aaaaatgctc agcacaagtg tactatatga atcactatcg atctgtctta 2100
caagaagaca tgggtagtga gaatgaaagt gagaactccc actaatgagt gagatttctca 2160

```

aagaggggga ataaggagg agaccacccc tcatattgtc ttatgcccaa tttctgcctc 2220
 caaagaagaa gaagtaaaaa ctaaaaggca gaaatgaaat ccacaggcag atagcctggt 2280
 gccgtgccct gggcctgggt aaagatcaac ccctgaccta atcagttacg ttatctatag 2340
 attccagaca ttgtatggaa aagcactgtg aaaatccctg tctgtttctg ttccgtttctg 2400
 attactgggtg catgcagccc ccagtcatgt accgcctgct tgctcaatca atcacgacct 2460
 tttcatgtgg acccccttag agctgtaagc cttaaaagg gacaggaatt gctcactcgg 2520
 ggagctcagt ttttgagac gtgagtctgc tgatgctccc agtggagtaa agctcttctc 2580
 tctacaactc ggtgtctgag tggttttgtc tgcagctcat cctgctaca 2629

<210> 4

<211> 379

<212> DNA

<213> 智人

<400> 4

tacatgtctc agactcctct gcagccagag gtctggctgt aatttagatt ctgctaagaa 60
 agggagggtg gatccgtctt cccgcagctc tggcagctgg ccatccctga tggatgtttg 120
 tggttgcagg aatctaacct aggtctcgac tccagttttg tccatgtggg gcagtgatgg 180
 caggggtagt ggtggcatta gcagtagcag tggctgctct ctggcctctg attcggctac 240
 agtggctctaa tattgaaacc aatagtccag tgggtggctc tgccttctgc tectccagcc 300
 tttccagtga tttagataaa atccctttct gcctaagatt cctagagtgc tttctgtttt 360
 ctgggctgaa ccttgacta 379

<210> 5

<211> 380

<212> DNA

<213> 智人

<400> 5

taatcacccc tgtggcagct ttttgaagta aggagttcag tatggttagt gcagagtaaa 60
 gtttggagga ggatagcagt gaacagtaga atggaggac caggtggaga taattgaatc 120
 atggggcagt tgcacatcata gtgagttagt tcttataaga tgtgatggtt ttataaaggg 180
 cttccccctt ctctgggcac tcatttcct ctctgctgc cacgtgaaga aggacatggt 240
 tgcttccctt tctgacatga ttgtaagctt cctgaggcct cctcagccct gtggaactgt 300
 gagtcaatta aacctcttc cttatacat taccagctc caggcagttc tttatagcag 360
 tgtgagaaca gactaataca 380

<210> 6

<211> 466

<212> DNA

<213> 智人

<400> 6

agattagcat ttgaattagt aaactgcata aaaaagatcc aacatgagct gacatcatcc 60
 aatccattga gggcccaaat agagcaaaaa ggcagaggaa gagcaaattc tctattcttg 120

agctggagta tccatcttct tctgctctca gatatctgag ctcttggttc tcaaacattc 180
 ggattctggg acttacacct ccagctctct cagttccac agttcccagg actttgattt 240
 cagactggga gttccaccac tggctccacc agttctcagg catttgatt cagactgaat 300
 tacaccacca gctttcctgg ctttacatct ggcaggtggc agatagttag acttctcgcc 360
 ctccaacacc acatgagcca cctcccataa caaatttctct tagttttttt ttaattttat 420
 tttttttatg ttggttcagt ttctctgaag aacgctgact aataca 466

<210> 7

<211> 1307

<212> DNA

<213> 智人

<400> 7

ttatagtaga tagtcaggca gacaggagca ggccaagaga ggccccact accaggaatg 60
 tcaggcaacc atcaggatgat ggtcagccaa gttatTTTTT ttgtttttct ttttttttga 120
 gatggagtct cactctgttg cccaggttgg agtacagtgg catgacctcg gctcactgca 180
 acctctgcta cccgggttca agagattctc ctgectcaaa ctccaagta gctgggatta 240
 cagtctccca cccgccacca cgcccagcta attgttgtat ttttagtaga gacggggttt 300
 tgccacgttg gccaggctgg tctcaaactc ctgacctcag gtgatccgcc tgectcagcc 360
 tcccaaagtg ctgggattac aggcatgagc cactgcacc agccggccag ccagttgtta 420
 agctgactct ctaaagtaat aattggttgc agccagtgcc agggaaaggc agtctcccaa 480
 tagatagaaa cacctgaaac tggatgatcag cagcttctga taagatctca ggatttgggc 540
 aagaaagctc aagcatgtac attaaggggc aaaatggcag agtttaactg atacatgacc 600
 ttacaggaac attcactggt taaggaaga acgcctcaag taagtatatg cacaactcca 660
 gtaaacacac tgggcttgc gccctcca agtgcctggcc ggccactgcg catgcagaca 720
 gccacccca agggaatcat tgactccaga agattgcaa catataaac cccaagtcaa 780
 aggccaaacc atgcaccaa tctccaagt tgctcacttg gccttcttcc aagtgtactt 840
 gacttccttt cattctgct ctaatttttt tttttttttt aacacagagt ttatttcttg 900
 ttgccaggc tggagtcaa cggcacgac tcggtcact caacctctgc ctctgggtt 960
 ccagtgattc tcctgcctca gcctcccag tagctgggat tataggcata tgccaccatg 1020
 cccggctaatt tttgtatTTT tagtagagac ggggtttctc catgttggtc aggctggtct 1080
 tgaatttctg acctcaggtg atccgccgc cttggcctcc caaagtgtg ggattacagg 1140
 tgtgaccac cgtgccagc ctctaatact ttttaataaa ctctcactcc cgctctaaaa 1200
 cttgtctcag tctctctgcc ttatgccct tggttgaatt tcttctgagg aggcaagaat 1260
 tgaggttggg gcaaccagta cagattcact gctgctaaca gttgtag 1307

<210> 8

<211> 327

<212> DNA

<213> 智人

<400> 8

tgtcagagac tggccagata ctaccaatt ctgctctct ttctgcatc cataggaaaa 60

ctacctttcc cagcctccct tgcaagttagg ttgaggccac atgcctggga tctgaccaat 120
 ggaatgtaag tagcagggat atccgccatt tccacacttg gccaaaaacc cctgtgagat 180
 tctctttttg ctgcatcccc ttacctgtgt gggtgaaaag ggaagacccc aagatgatgg 240
 actctggatga tgggaggatc ctgaatcact gccatcactt tgggaaagac ttgccagaaa 300
 gcagcctctc gttggacttt gcatgaa 327
 <210> 9
 <211> 2948
 <212> DNA
 <213> 智人
 <400> 9
 gtaaatgtgt accagaagtg ggggtgctact gtaaagatac acaaaatgtg gaagtgactt 60
 tggaactgca tacaggcaga ggttggaca gtttggaggg cagtttgaa cagttggaac 120
 agtttgaaga agataagaaa atatggaaa gtttggaaact tcctaaagac ttgttaaagt 180
 gctttaacca aaatgctgat aatgttatgg acaataaagt ccaggctgag gtggtctcag 240
 atggagatga ggaacttttg gggagctgga gcaaaagtga atcttgttat gtttagcaaa 300
 gagattagtt gcattttgcc cttgtcctag agatctatgg aactttgaac ttgagagacg 360
 attatctgga agaagaaatt tctaaagagc aatcattca agaggtgaca gagcataaga 420
 gtttggaaaa ttcacagctt gagaatgtgg taggagagaa aatccatgt tcgtgggaat 480
 ggggggcatg gaattaaagc tggttcaga aatttgcata agaaatgagg actcaaatgt 540
 taattgcaa gacaagggga aaaatgcctc tagggtatgt cagagatctt catgagagac 600
 cctccatca caggcccaga ggcctaagag gaaaaatga tttcctggga tgggcccagg 660
 gtccctttct gtgtgcagcc tagggatttg gtgcctgca tcctaccct ccagccattg 720
 ctaaacaggg ccaagatacc aggtcaggct gtggttcag agggtgcaag ccccaaacct 780
 tggcagcttc cacatggtgt tgaggctgca ggtgcacaaa agtcaagaat tgaggtttg 840
 gaacctacgc ctaggtttca gaggatgtat ggaaatgctg gatgtccagg caaaagtttg 900
 ctgcaggggt ggaaccctca tgtagaatct ttgctagggt agtgtggaag gaaatgtgg 960
 tgttggggct cccatacaga gtccccactg gactacagct agtggagtta agagaagaaa 1020
 gccaccatcc tccaggcccc aggatgatag attcactgac agcttgacc atgcacttga 1080
 aaaagcccag aaactcaaca ccagcccatg aaagaaacca ggaagaaaga tgtaccctgc 1140
 aaagccacag gagcatagct gcccaaggcc atgggatcct acctcttga gcagcgtgac 1200
 ctggatatga gacatggagt tgaaggagac tattttgaa ctttaagggt taatgactgc 1260
 cctattaaat ttagaacttg catggggcca gtageccctt tgttttagtc aatttctccc 1320
 atttggaagg ggtgtattta ctcaatgcct gtactccat tgtatctagg aagtaactaa 1380
 attgctcttg aatttactga ctcataggaa gggaccttc ttgtctcaga tgagactttg 1440
 gacttggatt ttagagttaa tgctggaatg agtgaagact ttgggggact gttagaaggg 1500
 catgattgtg ttttgaatg tgagagcatg agatttggga gaggccagg gtggaatgat 1560
 atgatttggc tataccccaa cccaaatcat cttgaattgt agttccata agccccatgt 1620
 gtcataaggag ggacctggtg gaagtaatt taatcatggg ggtgattacc ctcatgctgt 1680
 gctcctgata gtgagtgagt tctcataaga tctgatgttt ttataagggg cttttcccct 1740

ttttgctcag ccttctcctt gatgccacca tgtgaagaag gatatgtttt cttccccttc 1800
 cactatgatt gtaagcttcc tgaggcctcc ccagccatac agaactgtga atcaataaag 1860
 tctctttcct ttataaatta cccagtctca agtatgcctt tattagcagc atgagaatgg 1920
 actaatacac attccttgaa aacatggatg tcgaatctac cacaaaacac aagagttaag 1980
 gagcaccaac ttcatgtttt ctggttgcaa tacaatctct attttatact aatacttcaa 2040
 catagaaggt gtgatacatg tgtatatgtg ggtgtcagct tcaattgaca tgcaaaaccc 2100
 tggtagtgca ttaacagttc atttatttt ctgttttaga gttaatataa taaaatgcat 2160
 aggctataca atatgtgctc ctttatgtct gggttatfff gacatgattg ttataaatgc 2220
 attcatgctg tagcagtgat gtgttctttt ctattgttaa ttagtatctt aatcgtgtta 2280
 ccatttcgca atttatccat ttataaaaag gatgcatggt ggggatttgg tttattaaac 2340
 aaatgtctgt tggatattgg cttatfttcta ggttttcagg ttttcgcttg tcttaaaaag 2400
 cttctataaaa cacatatgac tgtgtttgga tggacatgtg ctctctggaa gtattaccat 2460
 ttgaagaaac ttaatgtgaa ttacacactc tccagaggtg ggaggttgat aattgaaagt 2520
 ccacaccacc cccctcctca ggcagctaga agctttggat atctaatacat ggtttaccat 2580
 tagaggcttt gttgattacc ataattgctt ttggaaatgg tccttgatgg gataaataag 2640
 tggaaattcaa ggtttgtgga gttccaagtg ccaaaatagg cactcctatt gttccataaa 2700
 cacagtataa gaaccagca gtgccaacaa ccaatgcctt ttggaataaa gtctgtgttt 2760
 gaaactgtct tgagtttga caatcatagc attttgtcat ttaaactcaa ctaggttcag 2820
 tgaatctac atgtagaaca ttgtcatgtc tcctagagt gaaacattca tgaaaagtgc 2880
 tcttcagggc aggcagctgg gagcttgca actttgcaca actggctgca tggctgtttc 2940
 tgtgcctg 2948

<210> 10

<211> 356

<212> DNA

<213> 智人

<400> 10

gtgatagtca ttcgtagtgc tgctcacaa ataggcccag ttctccctat tctgagcaca 60
 tgggtgatca catgtcctcg tccccactgt ggggactctt cctagctcat gagttatatg 120
 tgtggccctt ctacatgaaa gttgtaacag ccatgagaga cctccaaag caggcttctt 180
 gctctagcaa ccaaccaata acatttgaag tagtgactgt gactgctcct tcagcctaag 240
 tccctaactg tctgcaaacc cacaatggac ctgttgcatt tgtaagaaat aagcccttgt 300
 tatttttaagc cactgagatt taggagctat ttgttacagc agcataacct tgactg 356

<210> 11

<211> 497

<212> DNA

<213> 智人

<400> 11

gttgggtggc tgcattcctat ggtgttttcta catgtttcat gatagctttt atcttgaata 60
 atcttttccg gcatgttggc atagtgaaca gccttggaag ataaagatag tgtttcctat 120

tgtgtcagaa ggcaaatttt ttctgacca ggcttataaa gataacatct tccgctggag 180
 caaaggttgg gcagatttgt tagcagtccc ctataaaaa tcaaggtttt tcaagctcaa 240
 agtcccttcag ctatgacata gatctactgt gtatatgaca tccacctggc cctgccatca 300
 tcatccccat gagactagga gggacaagaa ccagcgtgaa cataaagctc atagtctcctg 360
 cagtgtctgtg aataataaag tcctttgtct ctgaccagg agcattgtgt cttctgccag 420
 catctatgaa actatggcag actaatttgt tagcttgcaa gtagcataaa atctcagacc 480
 cttcttagtt cctgaca 497

<210> 12

<211> 532

<212> DNA

<213> 智人

<400> 12

tggatttctg tagtttctgc ctgctgtga tacctcctc tttcttctgg taacaaactg 60
 ggctgtccac ttgggaattg ttgattggtg agttgtcaaa tgcagggcc accactctcc 120
 tcctctgggt tcacgatcca ggctagcttc atacaatggt atatgcaatg attagtctcag 180
 aattttgtgt gtgtgtgtga gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgc gtgtgtatgt 240
 gatgtttaat gggggaccag aatcctttct tggagattac catggttgct tggagagaga 300
 atcttctttt ttgagagtg tgtgtgctaa ggatcacagg aacctggatg tgttgagaga 360
 cagagactgc aagagtaatg acatgacatt gtctgaactt tgggaacaa ttatgtttgg 420
 agccagagct accccttga ctttcagtt aatcgaatca atccattgtc tttttaacct 480
 agactagttc caactgggat tctgtcacta gtatctgcat ggtcctaatt tc 532

<210> 13

<211> 519

<212> DNA

<213> 智人

<400> 13

ctctggatga gggatggtg aatttaaaag atggttgcaa attctttgac atttctcaa 60
 tggagagggtg ggtctgtgc tccttcctg aacctgtgtg gatttctgac tacagtggaa 120
 atgagctatg tgacttcaa ggctgggaca tacacagcca tgcagcttct gtcttgctgg 180
 ccagaacact cacaccagag acttgagggtg cctcgtaaga ggtccaatga ccaggccatg 240
 gtgctggaga catcatgtgt agtctctctg gteaacagtc ccagctgagc ccagccttcc 300
 agctctcttt gccaaagtga caacgatctt acaagtggac cttcagccc cagctgttcc 360
 aactcccagt tattccagtc acctcgagtc attccagtea tctagccgt cgtagagcag 420
 agaattgccc ttctgactcc ttgacagtgg cccaaaaat ggttggtgtt ttatgctact 480
 aagttttgag gtggtttgtt atgtagcgtt caataacta 519

<210> 14

<211> 545

<212> DNA

<213> 智人

<400> 14

cccctctcaa agatgcacac atcctcatcc caagatctgt gaatatggca catggtcaaa 60
gacacttagc agataaatga aggatgatga gatggggaga ttattgtggt ttatccaggt 120
gggtccaaaa taaccataca agtgagacag ggaggcgggg aagtcagtga ggatggaagc 180
agagcacaga gaggtttcaa gatgctgtac tgctcgcttt gaagatggag gaaggggcca 240
aagttaagga tgcaggcggc ctctagtaat tggaaaaggt gagggaacag acttttcct 300
ggagctgcca ggaagaacac agccaagtgg acacgttggt gttttatgcc actaagttaa 360
caatggagtt gtcactctctg ttgcctagc cagcgtgcag tgggtgtgac agagctcact 420
gcagcctcaa cctcctgggc tcaagcgatc ctctgcctc agcctcttga gtaagtggga 480
ccaagacaca aaccaacatg cctggcctgt gggaatttgt cacagcatca acaggaaact 540
gacac 545

<210> 15

<211> 261

<212> DNA

<213> 智人

<400> 15

tctctaattgg agctgtaaca ctcaccactg aggtccatgg cttctttcct tgaagcctgt 60
gaaaccacga acccttcaat caagaaaaga ctttgatca ggagaagact tctcgtctca 120
tttctgggga cacattcagg atttctcaa agcagtgagt aacattgaac ccctcttctgt 180
tgctattctg ttctatcttc tcattagaaa ttggaagaaa acaccaggca cctgtcagcc 240
atttaaatgt gacaagcggc c 261

<210> 16

<211> 524

<212> DNA

<213> 智人

<400> 16

tgtggcagac atggctgctt gcctaccaa taccactct ccctttgttt tcctactgac 60
aggctcctggg ttctattcag ggcagtaa atgtgctgttc aaaatattta actctccagg 120
ctccccttgca gatgggtggag gtcacatgac tctgtttggt acagtaagat ataaccaag 180
tctgctggat ggagcttctg gaaaagttac tacttccctg gaaaaaggg agcatgcatt 240
taccattcac catacactt ctctctttg cttttctccc cgtctccctg cctgcatgg 300
agatatgatg cctaaagtg gagtagcaa ctgacaactg ttaggacaga agccacaggc 360
tttttccatc ggtagatga agcctgggtt cttgatgtct tctttacca tcccctggca 420
cccgcctata catttattac ttgaaacaga ctgacctta tttggttagg ccaactgtgt 480
caggtttctg caacatgggg tcacatgcct tcccaactga caca 524

<210> 17

<211> 460

<212> DNA

<213> 智人

<400> 17

ggtgaattgc agggatggcc tgggtcttca tcctctgtct ccatgccatt tgccacacac 60
 atttgcagtt cttgtcacta aacaagcacg gtaatttcc ctcccctttg agtccgggct 120
 gtcctggaca ctggcttcgg cccatgtcat gtggcagaag ggacagtgtg ccagctccaa 180
 gccttggcct caagagacct cgtgcatttc acttgcccc ttgagcttct gttgttgtca 240
 tgagaagaaa atgcccaggg tatccggctg gagacacagg atgaggtgac acatggatct 300
 gagccaaggg cagctgagat ccgttgacgc cagcccactc cgacatgtgg gtgaactcag 360
 ccaagatcag ccaattctca gccatgtgtt ttgtgaactc aatcagatg ttattgttgt 420
 tttggggctg tttgttatgt aggaatagct agctgataca 460

<210> 18

<211> 261

<212> DNA

<213> 智人

<400> 18

gtatgtgaag ttttttttgg tttgtttttt gttgtttggt tttttaatgt tccttttcca 60
 tcttctgcat gctggggcac cagccgctgc cccagaatgg gttgtcctgg gaaacaggtc 120
 atgcagggct accgatgttt agtctggaaa agacatgcag agataaggaa gatgttgagg 180
 caggacagaa ccaggctcct gttagtccaa caaaagtta ctgagcagtg actttgtgtc 240
 aggcacctgg gaattgtgcc g 261

<210> 19

<211> 420

<212> DNA

<213> 智人

<400> 19

tgctatagtt tggatattta actctccaaa cttatgttg aaattcgacc cccagtgttg 60
 gagctcggga ctagtaggag gtgtttgggt catagggatg atcctgcacg aatggcatgg 120
 tgctgtcctt atagtaatga gttcttactc tactagtctc caggacagct ggtcattaca 180
 aacagcctgg cacctcccct gacctctctc tgetttctc cctcaccatg tgatctctgt 240
 aatgccagc tccccttccc cttctccatg agtggaaaca gcctcaggcc ttcacccgaa 300
 gtggatgctg gtaccctact tcttgtacag cctgcgtaac tgtgagtcaa ataaacctct 360
 tttctttata aattacgcag cctcaggtat tcttaatag caacacaaat ggactaatat 420

<210> 20

<211> 396

<212> DNA

<213> 智人

<400> 20

tagtggacac tttttaggat gtctgccaag cctacttttt acaaactttt tttgcctga 60
 cataagagtt tgccagttac cctgtacc acctttcacc agagctgacc caaacagaac 120
 caatgagatt cttgcctggc aatctggagg tattacatag ccaattggca gatcttatgc 180

tctagaagag atctaaatgc aggagctgtg ggttgctgt tttctggcct gccagtggat 240
 gaagaaacaa aaaggtctgg aaggatagca atgtgcagac acagaaagtt ctatggcatt 300
 ctagctcctg gttccaattc cttcctaaag ttcagctgct ttctgcctac agttcttatg 360
 atatacctct acattcccta ttttagccca agttgg 396

<210> 21

<211> 359

<212> DNA

<213> 智人

<400> 21

ttatggactc aatatgtacc ctcaaatttt gtatgttgaa cctaactctc aattggttga 60
 atttgaaagt ggggtctttg ggaggttaata agattgagat gaggtcatga gtgagggtca 120
 ggatgtgaag tgctcttata agaaaaagag aaaccagagc tctcgtctc tccaccacat 180
 gcggactcag caagaaggcg gccatctgta agccaggaag agagtcccca ccagtgaatc 240
 aaaactactg gcacctgat gttggacttc ccaatctcta gaactgtgag aactaaattt 300
 ctgttgttca agccacctag tctatagttg ttttttaaaa tagcagcttg agctacgac 359

<210> 22

<211> 436

<212> DNA

<213> 智人

<400> 22

tgctatgggt tggatatggt ttgtttatcc ccaccaaatt tcacattgaa atttcttccc 60
 cagtgtagta gtgttgggag gtgggacctg gttggggaat ggcttgggtc cactctctag 120
 gtagtggctg agttcttgct gtggcgagaa tgaattagtt cttgcgggaa tgaattctta 180
 atagttcctg ccagagtgag tttttagaaa gccaggatgc cccttgggtt ttgtctcttt 240
 tcacatgtcc actttccctt tgaccttctc tgctgtgttt tgacctagca tgagaccttc 300
 accagaagcc aagtagatgt cagcaccgtg cttctctaac tttccacctg caaaactgtg 360
 agctaaataa acctcttttc tttataaatt acctagcctc tgtattctgt tatagcaaca 420
 caaaatggac taagac 436

<210> 23

<211> 373

<212> DNA

<213> 智人

<400> 23

ccagcctcgc acctaagaac gccgtgggat gcagtttcag acagtgagaa atctgctggg 60
 gatgcctggg aaaggacat acctggcagg tgccgctcca tggecttctt gctgccttga 120
 attgggacat gagcctgagt cgcagcagcc gtcttgtgac tgagaggtgg caagcaggag 180
 gaagaggcta agagaaataga gacactgttg agctgctgaa gcacagcaag cggccacttc 240
 tctatgcttc ttgctatttg actgttaagc tagtgcaagt tacttttctg gtcagaatga 300
 attcataact gaaacatgct ttaaagtatg actattatta ttaaagtcag cataagcttt 360

ccatagctgc tac 373

<210> 24

<211> 598

<212> DNA

<213> 智人

<400> 24

tgtaaggtat atagatgtga tttggtcaag gtagagaccg aggcggatat acaggcctgc 60
 acggctcagt gagtttgggt cgcaggecga cacctccgct tgttacataa cctgtttgtg 120
 taagttcata cttggctctg agccactatt gtctgtaaaa ggtataactg ccctgctgac 180
 gccgtacagg tgcttttgag gctcagcttg gctcgacatg gcttgatgtg gtgggtgctg 240
 tggcgcccag agaaaggag acagccaaag ctgtccatct tntagacaga caggaggagg 300
 ccaggacaca gctctgcttg cttgtgccag agaaagaaag agttaagctg ctgaccctga 360
 aggcaaggga gagccggggg tcacaggagc cacagagcca aagcaaatag cagagataaa 420
 ggtggacagg gtgagagagc taatgtgagt aagctgctaa taaaagcca ttgatgagaa 480
 ctgctgctga ataaaacat attcacctgc ctaggcccc tgcaccaaag cgtttctgct 540
 catccacccc actcacctg gacttcagca tgggctggac ctggaccggg gtctgaca 598

<210> 25

<211> 489

<212> DNA

<213> 智人

<400> 25

tattgctttt cagcaacaaa tccatcttc tttcccctc tctgttatac tggggcccaa 60
 ttctacagac attacttctt tgccagttgg cttaatgtta ggtcctgtca atagagggca 120
 ttggagacac attgcaagtc tggagagga aaaaaggact ttttcttctt ccagtgttgt 180
 atttttctac ttggtggcaa gtagatcaat aagcaagggt cctggcagtg ttaaacagag 240
 gaggacagtt atttgatttg ggagcaagtg ctcccataa tcagtcaact tgccctgtcc 300
 attgacaaga gtccgaatct taacctgca ggggctccc tcttccaagt ttctgcgttc 360
 cttcatcatt tacttttctt tgaacttca gagtagttac tgatctctgc atttactact 420
 ttaagagttt tttatattaa aacttccta ttccaattgc caatgtggtt tatgtcttct 480
 gactgaacc 489

<210> 26

<211> 691

<212> DNA

<213> 智人

<400> 26

gtagcagaga ctggctagat atttttcaaa caattttcat gatcctgggt gaagccatgt 60
 gtctgaggat gaaaggggat gcagattgat gtgacatgtg gcacctccag gcctggctct 120
 taaaaacctc tcacccaatt ttttttctt tgagacaggg tctcaatctg ttgcccaagc 180
 tggagtgcaa ttgtgcaatc atagctcacc gcactctcaa actcctggtt caaggaatcc 240

tctgtctta gcatcctgag tagctgggac tacaggtgca caccagaatg cctggccaat 300
 tttttttttt tcattttttg cagtgacaag gtctccctat gtgttgctca tgctggcttt 360
 gaactcccgg cctcaggcaa tcctcctgtc tctgcttccc aaagtgctgg aattacaggc 420
 gtaagccact gtacctggcc tctcccatcc aatctttatc cctctccttc ctttttcttc 480
 tcctggccttt tgacctcagct accaaggatc cactggggga actccaagga actggtggat 540
 aatggagccc caagctggaa ggcgcttggg ttccaaataa ctgcagcctc tacaccaagc 600
 cacattggac tgtgacgtga accagaaaca aacttttatt atgtagatt tggaggttgt 660
 ttgttttagc agttaggtta cactgactca c 691

<210> 27

<211> 472

<212> DNA

<213> 智人

<400> 27

tgtactgggt cgaatggcgt cccccccac caaattcatg tctgcatgga acctacaaat 60
 gtgactttgt ttggaaagag ggtctttgca gatgtaatta agatgtactc cacaggcctg 120
 gggagatcaa ggctaacagc atgttgtatg aggatggccc cagtccaatg actgatgccc 180
 ttatatgagg gaaatctgga cacagacaca cagagaaggc cacgcggtgg tggaggcaga 240
 gatgggagag atgtgtctac aagccaagga gcgagcagga ccgccggcca ccaccaggag 300
 ctggcagggg caaggaagtc attcttcctt gggggcttca gagggagcac ggtcccagta 360
 caccttgagt gttggccttc tggcctccag agctgtgaga gaatccattt tggttgtttg 420
 aagctgctga gtttgtggcg tttgtttacg gctgtcccag gaaaggaata ca 472

<210> 28

<211> 5058

<212> DNA

<213> 智人

<400> 28

tgatgccatg acttgacaa aatgcccatt gcctctgggt cctgctttct tcaccagtg 60
 ctgccttatt ggactccttg tgcctctcct tggtgggga aatcagaata cacagtggta 120
 agtcatgatt tctaatccag tgcctccagc gtctgtctgt tntagcacag tgagaagttg 180
 acttatatct ctctcatttt tgcattttc ttctgttttt ccatctttcc cttctgcctt 240
 ttttgagtgt ggtgaaagcc cctcattctc tctgagaat catacctgag ttgaaatccc 300
 aaagcctcta gcaccagcag gtgtcccttc cattatcatg agaaaccgtc aatttggctg 360
 ttgttctcca gaacctcaa ctctgggta tgctctgtgt tactatggta ataattccac 420
 ccactttctt ccaaaaaaaaa aaatggcaat attttacaac ttaaatttca atggcctctt 480
 tggagaacgt agaatttttc caaattgcct cattctgcga agggcaattg aatcctgtgc 540
 caccaagatc tcatccaagc aatagatgct ttgttagtgg tgggtggcat ttggtacaaa 600
 gaggcagaaa aaaaaaatgc tctctctcaa aaacttttca gtgaccattg cttctttcaa 660
 agacagtcat ccttcccaa tctgtgacct gtgtcttctc atcacctatc cccaatctc 720
 tcttttctac catcttccat gttcccttca gctcccttta atccttgat cttctctttt 780

caaccctcta tctcctccac ctttccatcc actcctgcca gacctttcct ctcccactct 840
ggccccctcaa ttccttataa tcccttgagc ttttaagtct gtcccttcat gggaggctct 900
agagaagccc aggggcacta agagcaacag cctgaggcta aaaaggctca ccgaaacag 960
gctgaatggt ttatcccctc aggtgggctc tggagacacc agatgaccgc ttggtctctc 1020
ctccatgcct cccttgaaat tgagtccaca gttccctag aattatacac cagagccaag 1080
ggtagcttat gggctctccta cacaaatatt ggtgaagatg cttcagttct catactgaac 1140
aggttacttc aacttgcccc atctacaaa aatattatcc ttgtaaaaat ataaacgtga 1200
ggcaatgatg atactttggt tgtttgttta tttgtttggt ttttgagatg gaatctcact 1260
ctgttgccag gctgggtgac agtgggtgca tctcgactca ctgcaatctc tacctcccag 1320
gttcaagcga ttctcctgcc gcagcctcca aagtagctgg gattacaagc acatgccacc 1380
atgctcagct aatttttgta ttttttagtag aactgtggtt tcacatggt ggccaggatg 1440
gtctcgatct tctgacttaa tgatctgacc gccttggcct cccaaagtgc tgagattaca 1500
ggcatgagcc accgtgcccc gtcaatactc tgttttttta tatgaatcag tgagttttgc 1560
atctctgtga ttatgcctaa gtcattggta aaatttaaaa attaaagctg taagttggct 1620
atgtctgcct atatgtttat gtatgtgtgt ttgtgcatgt gcacatacat tttgtttgtg 1680
taatattttc ctacctccag atggtattac cacattaat tataaaacgc cttaaataag 1740
ctccttctgg attgtcttag agatgaatga gacctacat aagttaagta ttcttgaact 1800
tccttgaaat taggaaaatc aaatttctaa tatcatcaat gtgaaaaaag tattttttata 1860
aaagcttaac aaagtgttta aaaattcaag ttcacctaatt ttagataaac ctttggccat 1920
tgagagtagt ttaatataat tgatttaata aatataagct tgtcttctga gttgtccaca 1980
tggtagaat acatttttgt tctacttgag tatttttttc ctaaactat acaaatatac 2040
tgaatctctt tgcttgataa tctaaatata ttcttggat attctaacta tatgtttgat 2100
atattcatga cacattatgt ctcatgatta tcatgttatt tctttttttt tttttttttt 2160
tttttttttt tgagatggag tctcactctg ttgccaggc tggagtgcag tggcacgatc 2220
tcggctcact acaacctccg cctcccaggt tcaagagatt ctctgcctc agcctcccga 2280
gtagctggga ctacaggtga ctgccatcac acctggctaa tttttgtatt tttagtagag 2340
acggggtttt accatgttgg ccaggctggg ctccaactcc tgacctatg cttgtgatcc 2400
gcctgcctca gcctcccaaa ctgctgggat tacaggcatg agccactgcg cccagataat 2460
catgttatat ctgaaaatgt tttctctata aaaactatgc ccatccactt tcataaattt 2520
gatgtaatat ccacctttt ttgaaaataa aattaattat tatgtttaca catattttct 2580
ctgaaacttt ttgtagcaac ttttaagtgc ataacgaca ttaaattttt ctgtcaatgt 2640
attattttta tagcaaaact tcatcagatc ttttactttc aaaaattatc aaaaatatgt 2700
taaccacagc aattttaagt cttttgttat ctatggagga ctttgtttcc acaaaaaagg 2760
actgactcag aagtatgtgg aaaaggatta tgctaggtgc tgttgtgtta aagtttctaa 2820
ttacgttgtt taagtaactt tgggacaaa acaatgaact gagttaggaa ttccagaact 2880
ctagttgaaa aagagatggg ttcataagcc tactaatccg ggatcaagtg ggacaagaac 2940
taattccaca ggagtgaatg aactgatgat agataattat gggacttttt tggaataggg 3000
ctatagggct attcctttaa tgtactatct tctttttttt tttgagacag agttttgctc 3060
ttatgcccag gctggagtgc aatggcgtga tctcagctca ctgcaacctc tgctcccag 3120

gttcaaacaa ttctcctgtc tcagcctccc aagtagctgg gattacaggg tagtgccacc 3180
 acacttggct gtttttgtat ttttagtagt gacgggtttt caccatgttg gccaggatgg 3240
 tctcgatctc ttgacctcat gatccacccg cctcggcctc ccaaagtgct ggaataacag 3300
 atgtgagcca ccacgctcgg cctaatatcc tattttctgg acataagaaa acccctcctc 3360
 ttttttttaa gctattcatc actcataaca atttcataga ccatgctaatt ttcttgtaaa 3420
 cagaaatgaa acttctttct tttcttcctt gactcaccca ttcaaaattt gaaattctc 3480
 cttgagtctt cttattttca tggcaatatg gttatttga tagattcagt aagagtctgt 3540
 cctctttgtt aacagggcac aaaaacattg gtaatacaac caaggctttg cctggatgtc 3600
 atatttgaga gtgacgctta ttaatacaga tatgaccaga cacttttaag gaactaaggt 3660
 tgaccttata gggccaatgc ttacaaagct cctcttgca aactggctt gaaacctggc 3720
 tttgcagggt ttgcagctt gcaggtgagc aaggaatgtc acttcccagc aggctctgga 3780
 atcttaggat atttgtggga tctcaagaag aaaggaatgc ctgccaatc gataggtact 3840
 gcatgtgaaa tctgatgtga gttgttggtt tggcttctta tectcaagag gctttgaaa 3900
 gtccaatttg acattcttta tgaaaactt cagcaaagca aatataatat gatctatatg 3960
 taaattgctg ctcttgacg acctatgcaa ataaccaggc cgaatctcat gagaccaacc 4020
 ttaatttggt atcaagaata atctttctt gagattgtct ttgatcaaaa gaggaggagt 4080
 aactgtagaa agaaaatttg tgtttccatg ggaaatcata gcacatctt ctggattatc 4140
 agattctgat cctgttaatt tgtgtttgag ctatttagtg cctcttggt aactgagagt 4200
 aactgatagt tatgcaaact ctctcttctc tagtagagat ttaattgact ttctctcaca 4260
 ctatgggaca atcagttttt gtaactacta ataaattgta cttgaatctg ttatcttgca 4320
 caaattgtcc acttttacta aattttcaa tcttccaatt tcctcaata tctagccata 4380
 aaccctcaa ctaacgttc aattttctc ctttttgtt actcatagtc actgagaaaa 4440
 ctttactatc cagatgacag ttaagacct aggttgctt gtggctggcc cccagtctct 4500
 gaagtattac tacaatctca agtctgatga cttgttataa acatataag acccatcatt 4560
 gctagcagac tatgcatggt tctcttttc tctggacaag ccctgactgg accacaaaa 4620
 aaggatggga aatgctcagg tcacgcatgt tctgatagaa gaggtaatcc aggctctggg 4680
 caacattacc aagagcatca aaacgctcaa agagcaatgc tacatgatca aaagggtca 4740
 tccactaacc ccctgaaatc ccctgaaatg gataccctt ggttcaact ctgtctttct 4800
 cagtttaatc tctctttcta tattaacatt tctcttttt ctttttaggt atcccacttc 4860
 taagatgctt gatctgaagg acagtaaac aactgacctt tgccagcatg taaaacacat 4920
 ggtttaacta gtccctcagg aacaacactg agcaatctg acctgggact actttactcg 4980
 gccatctcct acttgagatg ctcttgtct ctctgttcaa ggacacctt tctgagcctt 5040
 tcttgaacaa gactggag 5058

<210> 29

<211> 538

<212> DNA

<213> 智人

<400> 29

tgctcagaggt gtgtgaacca gagcaactcc gtctagaaca ggagctgggt aaaatgaggc 60

tgcgacccat ggggctgcat tcccagacag ttaaggcatt ctaagtatag gaggttgca 120
 gaagatacag gtcataaaga ccttgctgat aaaacagttt acttcaaaga agccaactaa 180
 aaccaaccaa aaccaagatg gtgatgagtg acctctggtt gtcctcactg ctacactccc 240
 accagtgccca tgacagttta cagatgacat ggcaacatca ggaagttacc ctatatggtc 300
 taaaaagggg aggcataaat aattcacccc ttgtttagca tataatcaag aaatggccat 360
 aaaaataagc aaccagcagc cttccgggct gctgtctata gggtagccat tttttgttc 420
 tttacttacc taatgaactt gctttcactt tactctatgg actcgccctg aattccttct 480
 tacacgagat ccaagagccc tttcttgagg tctgggtctg caccctttc ctgcaaca 538

<210> 30

<211> 416

<212> DNA

<213> 智人

<400> 30

gttaaagcaa acttaaaatg aacacctggg caaacaaaag caaacaggcc ttcagaaagg 60
 ctgtaacccc ccttaaaactg ccaactatgg ggaacttaac tggagtcggt tcagatgggt 120
 gcttacgtta ggcacaaaaca aaacttaact tcggccagtc atgagcagcc agctgacaga 180
 cgggtacacg actaggaatt ttccaacaag gtaaaccaaa aacataatt tgacaactgc 240
 aacaaatcaa ataatgtcct tattccactt ccatattcac cctataaata cctgcctctg 300
 acacttttcc atcataacat gaaatgtctt tcattttgat gtttccact tcatgacttg 360
 cttcttcctc aaataaagtc ttcaaaattc gattggacct cagattttcc tttgac 416

<210> 31

<211> 1613

<212> DNA

<213> 智人

<400> 31

tgatggcagc ggcggccccac cttgagtggc cgctgcatga cactggctac aatgggggag 60
 gcacagccag ggctgagtgc tccatagaac tgggtgggagc cgggaacagg tggaagccat 120
 gcccccttcc aagttggagg agctggagcc ctgccctccc aggggcagct gtggcagagc 180
 agccagctgt ggactcaggc atcactgcac tctcagggcc ccaggaaaca cccttgcccc 240
 ttcaggctca aaagtgcctg ctctcgctgc ctgacctctg cccattcca gtgcccactc 300
 caatttcaga gcaaagtgtg ggccaagcct gggggctgtc acgactcggc tgggtgtgtg 360
 cacgcttggg gcagcactga aacaccagcc ccctateacc tcagcctcct ccagattttg 420
 ggtgctcaca aacatgggag ggagggtgag gtgggggcta aggggtggctc agcgcagtct 480
 tgcaggcacc acttggcaca aagagccagg gcacatagg caccatggag agcaggttaa 540
 tggtggtagg atgcaaacag gctcctgggc agaaaggagc agatccccag taaagcccca 600
 tcttcaggcc agggacggcc tgaagcctgc cggagggtg ccatggagtg agaacttaat 660
 ggagcttgct ctggggcctc ccatgactgc tcacgggccg atcagcacct actttctccc 720
 ctcttaagcc cataaaaaatc ttggactcag ccagacttga gcagatgat ggatggcctg 780
 cctacagaaa ggaactaccc attgtgggtc tctgtctcc tgagagctga gtggacaacg 840

ggacaatcag cctgcagaaa ggagctaccc actgtgggtc tcctttctgc tgacagctga 900
 acagatattg ggatgacctg cctatggaga ggagctaacc actgtgggtc tcctctgagc 960
 tgttctgttg ctcaataaag tacctcttca ccttgctcac cctctacttg tctgcataac 1020
 tcattcttcc tggatgcagt acaagaactt gggacctgcc gaatggtggg gctgaaagag 1080
 atgtaacaca aacagggctg aaatacacc cctgcttgcc acatggcagg caacaagaaa 1140
 aagataagaa agaaggagag aagagtttca gcccttcaga caaccagac ctgggagcac 1200
 cctgagccag ggctgtgatg ccctttttgg gtttctgtgg ttcttgcat ctccaagttt 1260
 ctgggtgcca ccacattccc tggtgccagc catggaagct acttgacagt tgcctcatcc 1320
 agccacagcc ttgcagggag ctggtgctg gcactgccc cctgctgca gccagagtgc 1380
 ctggctgtgg gcagtggctg gacccatgc ttgctcattc acacaatcct caccgctctg 1440
 tgcctggctc acccttggca ggcatgggat ccaggtttgt cacgcaagct gagttcaggc 1500
 tgccaggccg agtgggcaca tcaagcacag tgggccaag caaattcag acaaaggcac 1560
 caccgaccac agaggtttct ggacagaaaa gcgacacctg aaggatccta tga 1613

<210> 32

<211> 409

<212> DNA

<213> 智人

<400> 32

gcaatcagga gcctgggtaa agcagactgt gtgctctgat gggggtgggc ctcacccgat 60
 cagttgaagg caacagggtc tggaaacgac actccaagat acagtgcctt ggcatagtaa 120
 atattttcag ctgaaggaat ttaagaaatg gcaggtccaa gaagaactca ctgacctgcc 180
 ctttctctga agtagatcat aagcccctca cgtaagaggt gccctcccta caccagcgg 240
 aaaggaacag cctcatctcc agagacagag gatctgagag gggccccagt acacaggtct 300
 tgccgagacc cccacgggtc cactgttcag ctcatctttt gttgctctgt cacagtttcc 360
 cagcactttc cactcttcat caaaccagc ataaaaacgc tcaggccta 409

<210> 33

<211> 625

<212> DNA

<213> 智人

<400> 33

tgttatgggc caaattgtgc caccctccc aatgcatat gtttaaattc taattcccag 60
 gacctcctaa tatggctgta tttggagaca ggatctttaa agtggtcggt gtaggcccag 120
 cacagtggct catgcctgta atcccagcac tttgggggac caaggtgggc agattgcttg 180
 agcctaggag ttcaaaaacca gtctgggcaa catggtgaaa ccccgttgct acaaaaaata 240
 caagaattaa ccaggcacgg tggtgcacac ctgtaatccc agctactcag gaggtgagg 300
 cgggaggatg cttaagcctg ggaggtggaa gttgcagtga gctgagatca caccactgca 360
 ctccagcctg agtgacagag cgagaccctg tctcaaaaac aaaagaagag gaggaggaga 420
 ttaggacca gacacacaga aggagaacca ggtgaagaca cagggagaag aggatcatct 480
 acaagccaag acaggaggcc tcagaagaaa ttaaccctgc caacaccttg atcttggaca 540

tccagcctcc ggaactgtga gaaaatgcat tctgttgctg aagccacca gtcctttgtt 600
atggcagccc cagcaacta acaca 625

<210> 34

<211> 345

<212> DNA

<213> 智人

<400> 34

gggatggttt tttcatgtgt caactttgct aggcaatagt ccctgttac tcaatccaac 60
actaatctag atatttattg aaggtatatt gtagatttcg ttaaagtccg taaccagttg 120
attttaagta agggaaagta tctagataa tctaggtgaa attgattcaa tatcagttga 180
aaggtcttaa gagtggatt aaggttccc tgataaacat gaatttctac ctatagacag 240
cagcttcagc agctttgget tetgetagag agtcccagcc tgcccttct ggcagcctgc 300
cttatggatt ttggaattgc ctagccatga gccatttct tgcag 345

<210> 35

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 35

tgtacaaaac tcaaatggtc ttc 23

<210> 36

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 36

atgaccaact tagatttct tga 23

<210> 37

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 37

gccagagagg cataatgaag ca 22

<210> 38

<211> 23

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 38
gattctaagc ctccccctca ttt 23
<210> 39
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 39
tggtcatag ggattccaga ct 22
<210> 40
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 40
agcaagttgt caagagccaa tct 23
<210> 41
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 41
cactctagga atcttaggca 20
<210> 42
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 42
tgaaaccaat agtccagtg 19
<210> 43

<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 43
ttctactggt cactgctatc ctcc 24
<210> 44
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 44
cctgtggcag ctttttgaag taa 23
<210> 45
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 45
agagcagaag aagatggata ct 22
<210> 46
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 46
catgagctga catcatccaa t 21
<210> 47
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 47
tctgtactgg ttgccccaac 20

<210> 48
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 48
cgtgccaggc ctctaatact ttt 23
<210> 49
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 49
agggaagacc ccaagatgat g 21
<210> 50
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 50
catgcaaagt ccaacgagag g 21
<210> 51
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 51
gggtggctgc atcctatgg 19
<210> 52
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 52

ctggtcagga aaaaatttgc cttc 24

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 53

acatgacatt gtctgaactt tggg 24

<210> 54

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 54

taggaccatg cagatactag tgac 24

<210> 55

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 55

gaactccaca aaccttga 18

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 56

gctagaagct ttggatatct 20

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 扩增引物

<400> 57
tggctgttac aactttcatg 20
<210> 58
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 扩增引物
<400> 58
tctccctatt ctgagcaca 19
<210> 59
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 59
atgaccaact tagatttcct tgagt 25
<210> 60
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 60
gtcaagggtgta aagctgtgaa agttt 25
<210> 61
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 61
ggaagaccat ttgagttttg tacac 25
<210> 62
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 探针
<400> 62
actcaaggaa atctaagttg gtcac 25
<210> 63
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 63
aaactttcac agctttaccc ttgac 25
<210> 64
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 64
gtgtacaaaa ctcaaatggc cttcc 25
<210> 65
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 65
gaagatatgg gccagaactt gtata 25
<210> 66
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 66
caggacctga gttaagccaa gaata 25
<210> 67
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针
<400> 67
acctgagtta agccaagaat acagt 25
<210> 68
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 68
tatacaagtt ctggcccata tette 25
<210> 69
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 69
tattcttggc ttaactcagg tcctg 25
<210> 70
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 70
actgtattct tggcttaact caggt 25
<210> 71
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 71
gtaagattct aagcctcccc cteat 25
<210> 72
<211> 25
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 72
gattctaagc ctccccctca tttaa 25
<210> 73
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 73
ctaagcctcc ccctcattta aagga 25
<210> 74
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 74
atgaggggga ggcttagaat cttac 25
<210> 75
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 75
ttaaataagg gggaggctta gaatc 25
<210> 76
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 76
tcctttaaata gaggggagg cttag 25
<210> 77
<211> 25

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 77
atggctcata gggattccag actcc 25
<210> 78
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 78
ggctcatagg gattccagac tccca 25
<210> 79
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 79
ctcatagga ttccagactc ccatt 25
<210> 80
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 80
ggagtctgga atccctatga gccat 25
<210> 81
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 81
tgggagtctg gaatccctat gagcc 25
<210> 82

<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 82
aatgggagtc tggaatccct atgag 25
<210> 83
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 83
tgaaaccaat agtccagtgg tggcc 25
<210> 84
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 84
ttccagtgat ttagataaaa tcct 25
<210> 85
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 85
tttctgccta agattcctag agtgc 25
<210> 86
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 86
ggccaccact ggactattgg tttca 25

<210> 87
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 87
agggatttta tctaaatcac tggaa 25
<210> 88
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 88
gcactctagg aatcttaggc agaaa 25
<210> 89
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 89
ctgtggcagc tttttgaagt aagga 25
<210> 90
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 90
atggttagtg cagagtaaag tttgg 25
<210> 91
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 91

aggatagcag tgaacagtag aatgg 25

<210> 92

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 92

tccttacttc aaaaagctgc cacag 25

<210> 93

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 93

ccaaacttta ctctgcacta accat 25

<210> 94

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 94

ccattctact gttcactgct atcct 25

<210> 95

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 95

agatccaaca tgagctgaca tcate 25

<210> 96

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 96
gatgatgtca gctcatgttg gatct 25
<210> 97
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 97
gaggttgggg caaccagtac agatt 25
<210> 98
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 98
aatctgtact ggttgcccca acctc 25
<210> 99
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 99
ccccaagatg atggactctg gtgat 25
<210> 100
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 100
cactgccatc actttgggaa agact 25
<210> 101
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 探针
<400> 101
aagcagcctc tcgttggact ttgca 25
<210> 102
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 102
atcaccagag tccatcatct tgggg 25
<210> 103
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 103
agtctttccc aaagtgatgg cagtg 25
<210> 104
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 104
tgcaaagtcc aacgagaggc tgctt 25
<210> 105
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 105
gagggcagtt tggaacagtt ggaac 25
<210> 106
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针
<400> 106
tgagagacga ttatctggaa gaaga 25
<210> 107
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 107
tcacagcttg agaatgtggt aggag 25
<210> 108
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 108
ggaatggggg gcatggaatt aaagc 25
<210> 109
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 109
gttccaactg ttccaaactg ccctc 25
<210> 110
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 110
tcttcttcca gataatcgtc tetca 25
<210> 111
<211> 25
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 111
ctcctaccac attctcaagc tgtga 25
<210> 112
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 112
gctttaattc catgcccccc attcc 25
<210> 113
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 113
agtccctaac tgtctgcaaa cccac 25
<210> 114
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 114
actgtctgca aaccacaat ggacc 25
<210> 115
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 115
caatggacct gttgcatgtg taaga 25
<210> 116
<211> 25

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 116
gtgggtttgc agacagttag ggact 25
<210> 117
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 117
ggtccattgt gggtttgcag acagt 25
<210> 118
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 118
tcttacacat gcaacaggtc cattg 25
<210> 119
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 119
ctgcatccta tgggttttct acatg 25
<210> 120
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 120
ataatctttt ccggcatggt ggtat 25
<210> 121

<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 121
taaagatagt gtttcctatt gtgtc 25
<210> 122
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 122
catgtagaaa caccatagga tgcag 25
<210> 123
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 123
ataccaacat gccgaaaag attat 25
<210> 124
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 124
gacacaatag gaaacactat cttta 25
<210> 125
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 125
acagagactg caagagtaat gacat 25

<210> 126
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 126
tctgaacttt gggaaacaat tatgt 25
<210> 127
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 127
actttccagt taatcgaatc aatcc 25
<210> 128
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 128
ttttaaccta gactagttcc aactg 25
<210> 129
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 129
gtcactagta tctgcatggt cctaa 25
<210> 130
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 130

atgtcattac tcttgcagtc tctgt 25
<210> 131
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 131

acataattgt ttcccaaagt tcaga 25
<210> 132
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 132

ggattgattc gattaactgg aaagt 25
<210> 133
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 133

cagttggaac tagtctaggt taaaa 25
<210> 134
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 134

ttaggacat gcagatacta gtgac 25
<210> 135
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针

<400> 135
ttattccagt cacctcgagt cattc 25
<210> 136
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 136
tcatcctagc cgtcgtagag cagag 25
<210> 137
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 137
tgcccttctg actccttgac agtgg 25
<210> 138
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 138
gaatgactcg aggtgactgg aataa 25
<210> 139
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 139
ctctgctcta cgacggctag gatga 25
<210> 140
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 探针
<400> 140
ccactgtcaa ggagtcagaa gggca 25
<210> 141
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 141
taagtgggac caagacacaa accaa 25
<210> 142
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 142
accaagacac aaaccaacat gcctg 25
<210> 143
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 143
ttggtttgtg tcttggctcc actta 25
<210> 144
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 144
caggcatggt ggtttgtgct ttggt 25
<210> 145
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针
<400> 145
ctgagggtcca tggcttcttt ccttg 25
<210> 146
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 146
caaggaaaga agccatggac ctcag 25
<210> 147
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 147
cctttgtttt cctactgaca ggtcc 25
<210> 148
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 148
ttcaaaatat ttaactctcc aggct 25
<210> 149
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 149
gaggtcacat gactctgttg tggac 25
<210> 150
<211> 25
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 150
ggacctgtca gtaggaaaac aaagg 25
<210> 151
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 151
agcctggaga gttaaatatt ttgaa 25
<210> 152
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 152
gtccacaaca gagtcatgtg acctc 25
<210> 153
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 153
cagctgagat ccggtgacgc cagcc 25
<210> 154
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 154
tccgacatgt gggatgaactc agcca 25
<210> 155
<211> 25

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 155
ttctcagcca tgtgttttgt gaact 25
<210> 156
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 156
ggctggcgtc aacggatctc agctg 25
<210> 157
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 157
tggctgagtt cacccacatg tcgga 25
<210> 152
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 158
agttcacaaa acacatggct gagaa 25
<210> 159
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 159
ttgaggcagg acagaaccag gctcc 25
<210> 160

<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 160
ggacagaacc aggctcctgt tagtc 25
<210> 161
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 161
agtttactga gcagtgactt tgtgt 25
<210> 162
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 162
ggagcctggg tctgtcctgc ctcaa 25
<210> 163
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 163
gactaacagg agcctggg tctcc 25
<210> 164
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 164
acacaaagtc actgctcagt aaact 25

<210> 165
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 165
atagggatga tcctgcacga atggc 25
<210> 166
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 166
ggatgacct gcacgaatgg catgg 25
<210> 167
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 167
gccattcgtg caggatcatc cctat 25
<210> 168
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 168
ccatgccatt cgtgcaggat catcc 25
<210> 169
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 169

agtggacact ttttaggatg tctgc 25
<210> 170
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 170

gccctgacat aagagtttgc cagtt 25
<210> 171
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 171

cctgtacca cctttcacca gagct 25
<210> 172
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 172

gcagacatcc taaaaagtgt ccact 25
<210> 173
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 173

aactggcaaa ctcttatgtc agggc 25
<210> 174
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针

<400> 174
agctctgggtg aaaggtgggt acagg 25
<210> 175
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 175
aattgttga atttgaaagt ggggt 25
<210> 176
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 176
acccacttt caaattccaa caatt 25
<210> 177
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 177
gtcagcaccg tgcttctcta acttt 25
<210> 178
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 178
gcaccgtget tctctaactt tccac 25
<210> 179
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 探针
<400> 179
cgtgcttctc taactttcca cctgc 25
<210> 180
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 180
aaagttagag aagcacggtg ctgac 25
<210> 181
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 181
gtgaaagtt agagaagcac ggtgc 25
<210> 182
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 182
gcaggtgaa agttagagaa gcacg 25
<210> 183
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 183
cagcctcgca cctaagaacg ccgtg 25
<210> 184
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针
<400> 184
cagtgagaaa tctgctgggg atgcc 25
<210> 185
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 185
gaaagggaca tacctggcag gtgcc 25
<210> 186
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 186
cacggcgttc ttaggtgcga ggctg 25
<210> 187
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 187
ggcatcccca gcagatttct cactg 25
<210> 188
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 188
ggcacctgcc aggtatgtcc ctttc 25
<210> 189
<211> 25
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 189
gtagagacc gaggcggata tacag 25
<210> 190
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 190
gagaccgagg cggatataca ggcct 25
<210> 191
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 191
ctgtatatcc gcctcgtct ctacc 25
<210> 192
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 192
aggcctgtat atccgctcg gtctc 25
<210> 193
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 193
tatactgggg cccaattcta cagac 25
<210> 194
<211> 25

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 194
cagacattac ttctttgccca gttgg 25
<210> 195
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 195
gacacattgc aagtctggaa gagga 25
<210> 196
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 196
gtctgtagaa ttgggccccca gtata 25
<210> 197
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 197
gtctgtagaa ttgggccccca gtata 25
<210> 198
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 198
tcctcttcca gacttgcaat gtgtc 25
<210> 199

<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 199
catgatcctg ggtgaagcca tgtgt 25
<210> 200
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 200
tgtgtctgag gatgaaaggg gatgc 25
<210> 201
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 201
cagattgatg tgacatgtgg cacct 25
<210> 202
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 202
acacatggct tcacccagga tcatg 25
<210> 203
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 203
gcatcccctt tcatcctcag acaca 25

<210> 204
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 204
aggtgccaca tgtcacatca atctg 25
<210> 205
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 205
agagggagca cgtcccagt acacc 25
<210> 206
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 206
cacggtccca gtacaccttg agtgt 25
<210> 207
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 207
tgttacggct gtcccaggaa aggaa 25
<210> 208
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 208

ggtgtactgg gaccgtgctc cctct 25
<210> 209
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 209

acactcaagg tgtactggga ccgtg 25
<210> 210
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 210

ttcctttcct gggacagccg taaca 25
<210> 211
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 211

actaagagca acagcctgag gctaa 25
<210> 212
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 212

ggctcaccgg aaacaggctg aatgt 25
<210> 213
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针

<400> 213
gagacaccag atgaccgctt ggtct 25
<210> 214
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 214
cagcttccct agaattatac accag 25
<210> 215
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 215
tactgaacag gttacttcaa cttgc 25
<210> 216
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 216
ttgtaaaaat ataaacgtga ggcaa 25
<210> 217
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 217
ttagcctcag gctggtgctc ttagt 25
<210> 218
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 探针
<400> 218
acattcagcc tgtttccggt gagcc 25
<210> 219
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 219
agaccaagcg gtcactctggt gtctc 25
<210> 220
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 220
ctggtgtata attctagga agctg 25
<210> 221
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 221
gcaagttgaa gtaacctggt cagta 25
<210> 222
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 222
ttgcctcacg tttatatattt taaa 25
<210> 223
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针
<400> 223
gatgacagtt aagaccctag gttgc 25
<210> 224
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 224
caatctcaag tctgatgact tgta 25
<210> 225
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 225
agacccatca ttgctagcag actat 25
<210> 226
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 226
aaggatggga aatgctcagg tcacg 25
<210> 227
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 227
agggetcatc cactaacccc ctgaa 25
<210> 228
<211> 25
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 228
gaaatggata cccttgggtt caact 25
<210> 229
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 229
gcaacctagg gtcttaactg tcate 25
<210> 230
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 230
taacaagtca tcagacttga gattg 25
<210> 231
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 231
atagtctgct agcaatgatg ggtct 25
<210> 232
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 232
cgtgacctga gcatttccca tcett 25
<210> 233
<211> 25

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 233
ttcaggggt tagtggatga gccct 25
<210> 234
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 234
agttgaacc aagggtatcc atttc 25
<210> 235
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 235
gtgccataac gacaattaaa ttttt 25
<210> 236
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 236
agtcttttgt tatctatgga ggact 25
<210> 237
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 237
gttgtgtaa agtttctaat tacg 24
<210> 238

<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 238
gtaactttgg gaccaaaaaca atgaa 25
<210> 239
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 239
tcataagcct actaatccgg gatca 25
<210> 240
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 240
gggacaagaa ctaattccac aggag 25
<210> 241
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 241
aaaaatttaa ttgtcgttat ggcac 25
<210> 242
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 242
agtcctccat agataacaaa agact 25

<210> 243
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 243
acgtaattag aaactttaac acaac 25
<210> 244
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 244
ttcattgttt tggccccaaa gttac 25
<210> 245
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 245
tgatccccgga ttagtaggct tatga 25
<210> 246
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 246
ctcctgtgga attagttctt gtccc 25
<210> 247
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 247

gccctttctt gaggtctggg tctgc 25

<210> 248

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 248

gcagaccag acctcaagaa agggc 25

<210> 249

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 249

aggctgtaac ccccctaaa ctgcc 25

<210> 250

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 250

caactatggg gaacttaact ggagt 25

<210> 251

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 251

ggagtcgttt cagatgggtg cttac 25

<210> 252

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 252
ggcagtttaa ggggggttac agcc 24
<210> 253
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 253
actccagtta agttcccat agttg 25
<210> 254
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 254
gtaagcaccc atctgaaacg actcc 25
<210> 255
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 255
gaagagtttc agcccttcag acaac 25
<210> 256
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 256
gatccaggtt tgtcacgcaa gctga 25
<210> 257
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 探针
<400> 257
ccgagtgggc acatcaagca cagtg 25
<210> 258
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 258
gttgtctgaa gggtgaaac tette 25
<210> 259
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 259
tcagcttgcg tgacaaacct ggatc 25
<210> 260
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 260
cactgtgctt gatgtgcca ctcgg 25
<210> 261
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 261
cacaggtctt gccgagaccc ccacg 25
<210> 262
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针
<400> 262
ccacgggctc actgttcagc tcatac 25
<210> 263
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 263
gctctgtcac agtttcccac gactt 25
<210> 264
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 264
cgtgggggtc tcggcaagac ctgtg 25
<210> 265
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 265
gatgagctga acagtgagcc cgtgg 25
<210> 266
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 266
aagtcgtggg aaactgtgac agagc 25
<210> 267
<211> 25
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 267
ggccaaattg tgccaccct cccaa 25
<210> 268
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 268
aattcccagg acctcctaat atggc 25
<210> 269
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 269
ggtcgttgta ggcccagcac agtgg 25
<210> 270
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 270
ttgggagggg tggcacaatt tggcc 24
<210> 271
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 271
gcatattag gaggtcctgg gaatt 25
<210> 272
<211> 25

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 272
ccactgtgct gggcctacaa cgacc 25
<210> 273
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 273
cctagccatg agccaattcc ttgca 25
<210> 274
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 探针
<400> 274
tgcaaggaat tggctcatgg ctagg 25

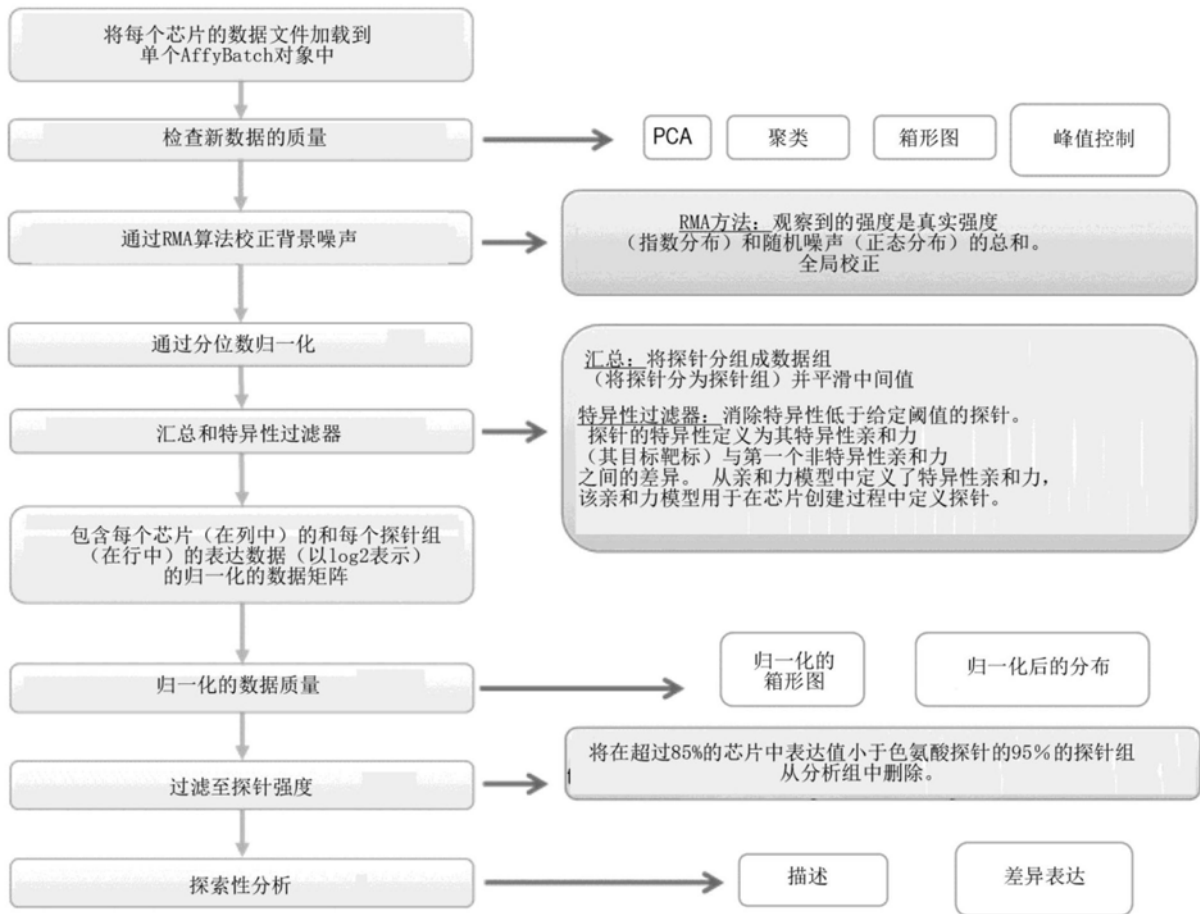


图1

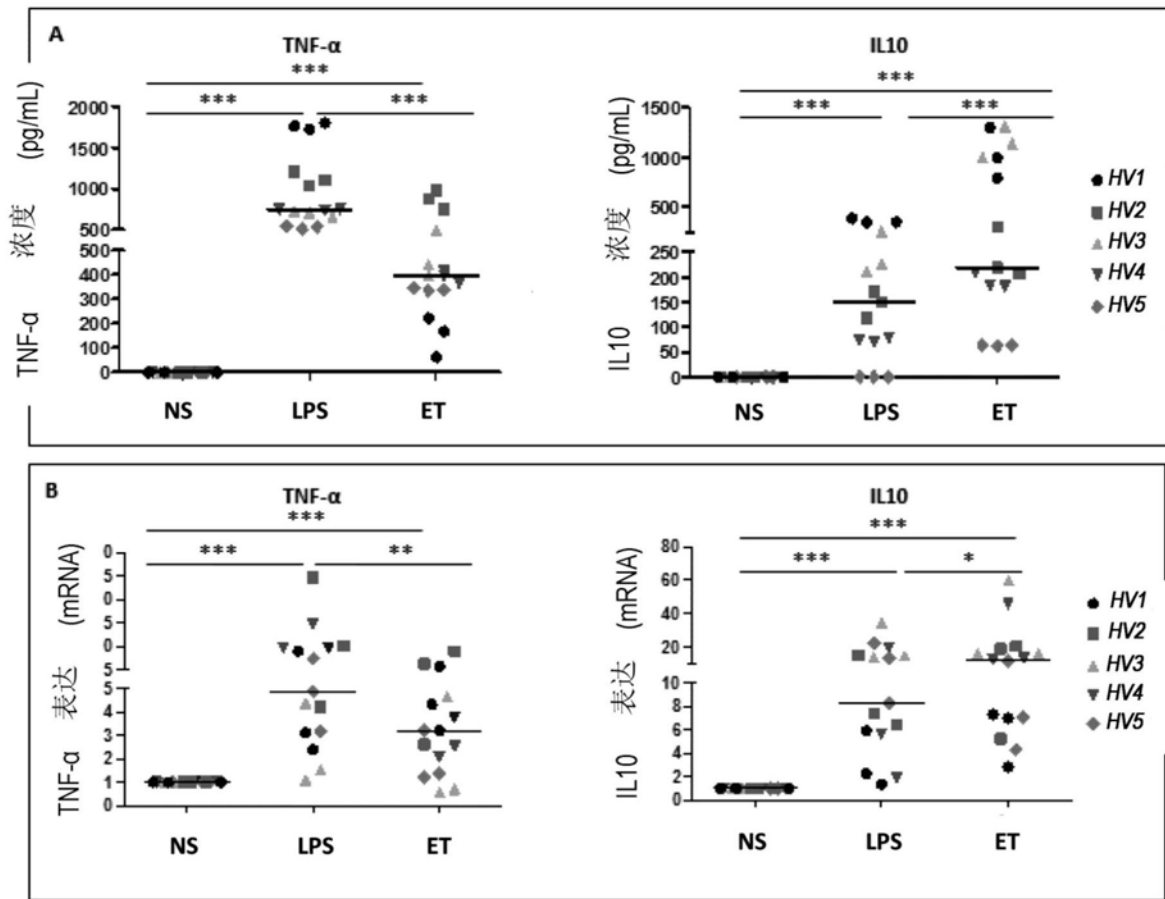


图2

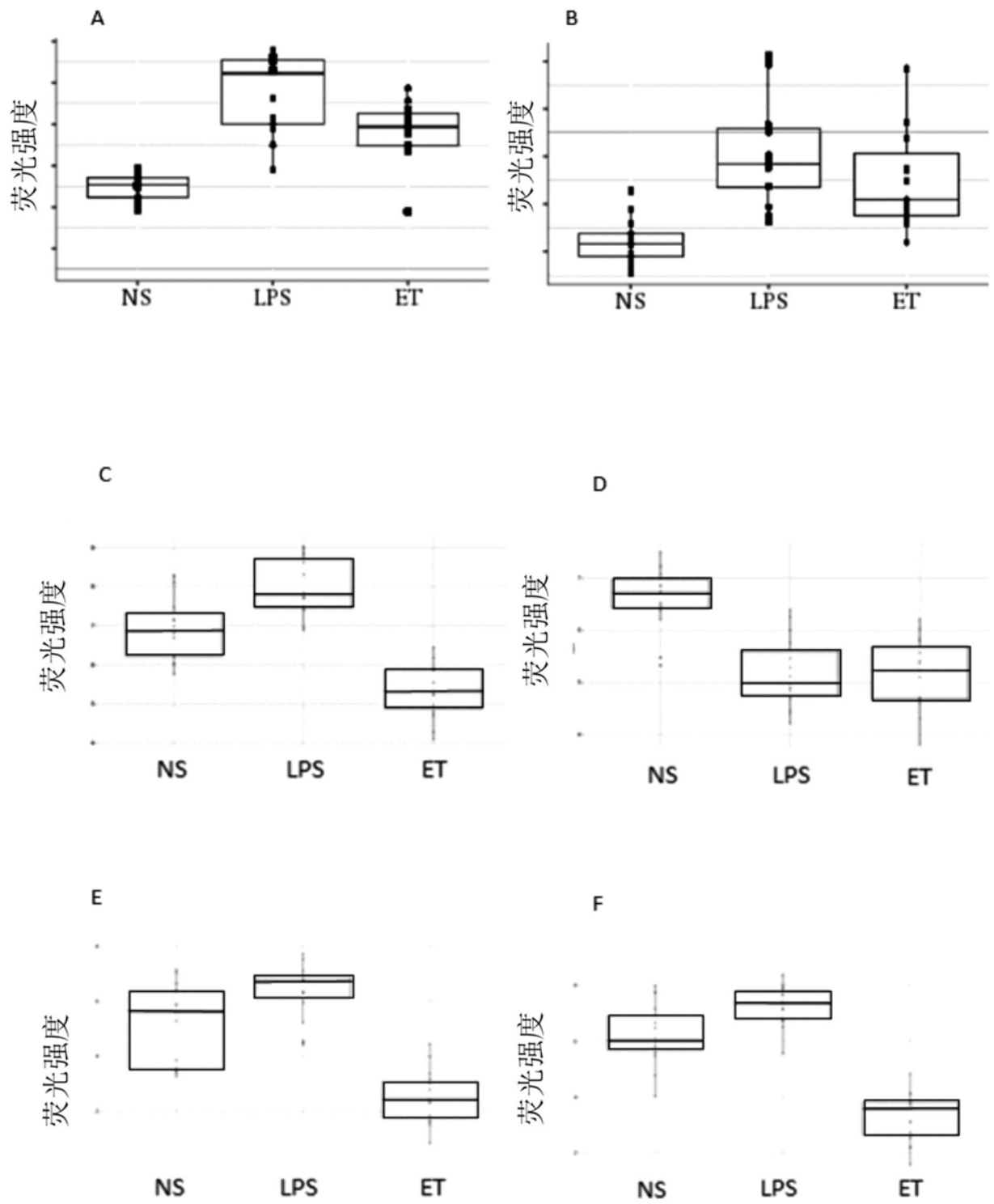


图3

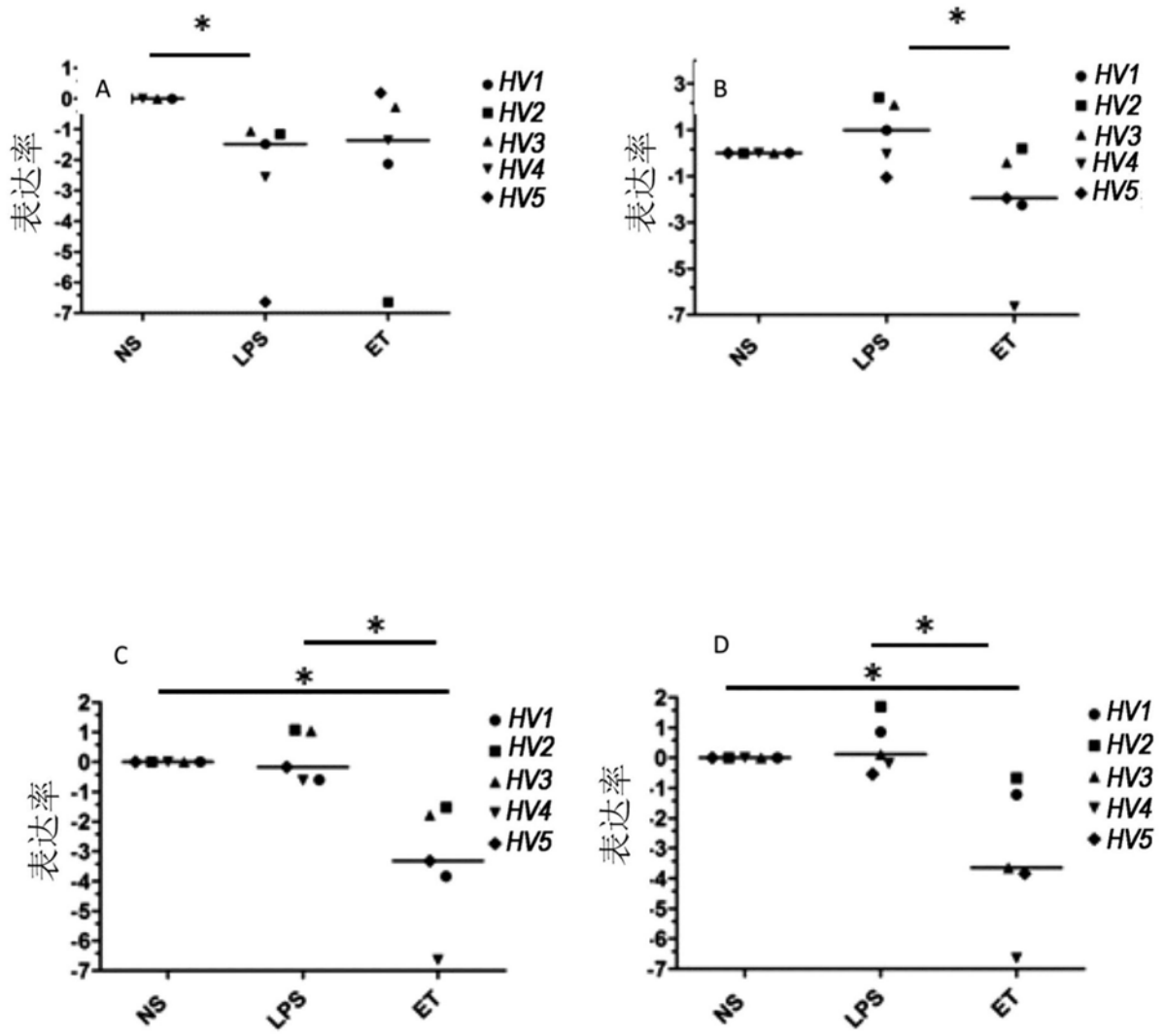


图4

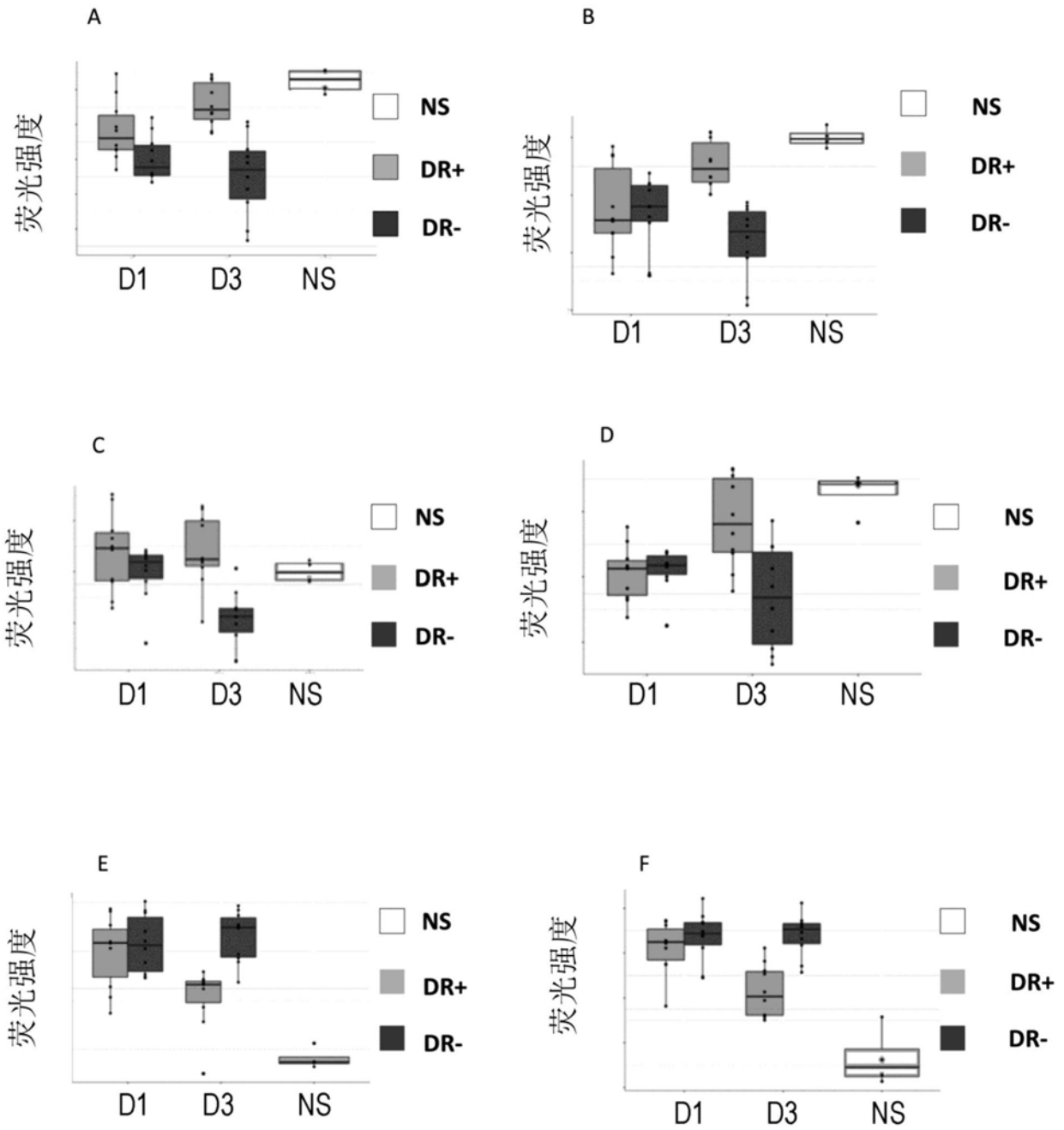


图5

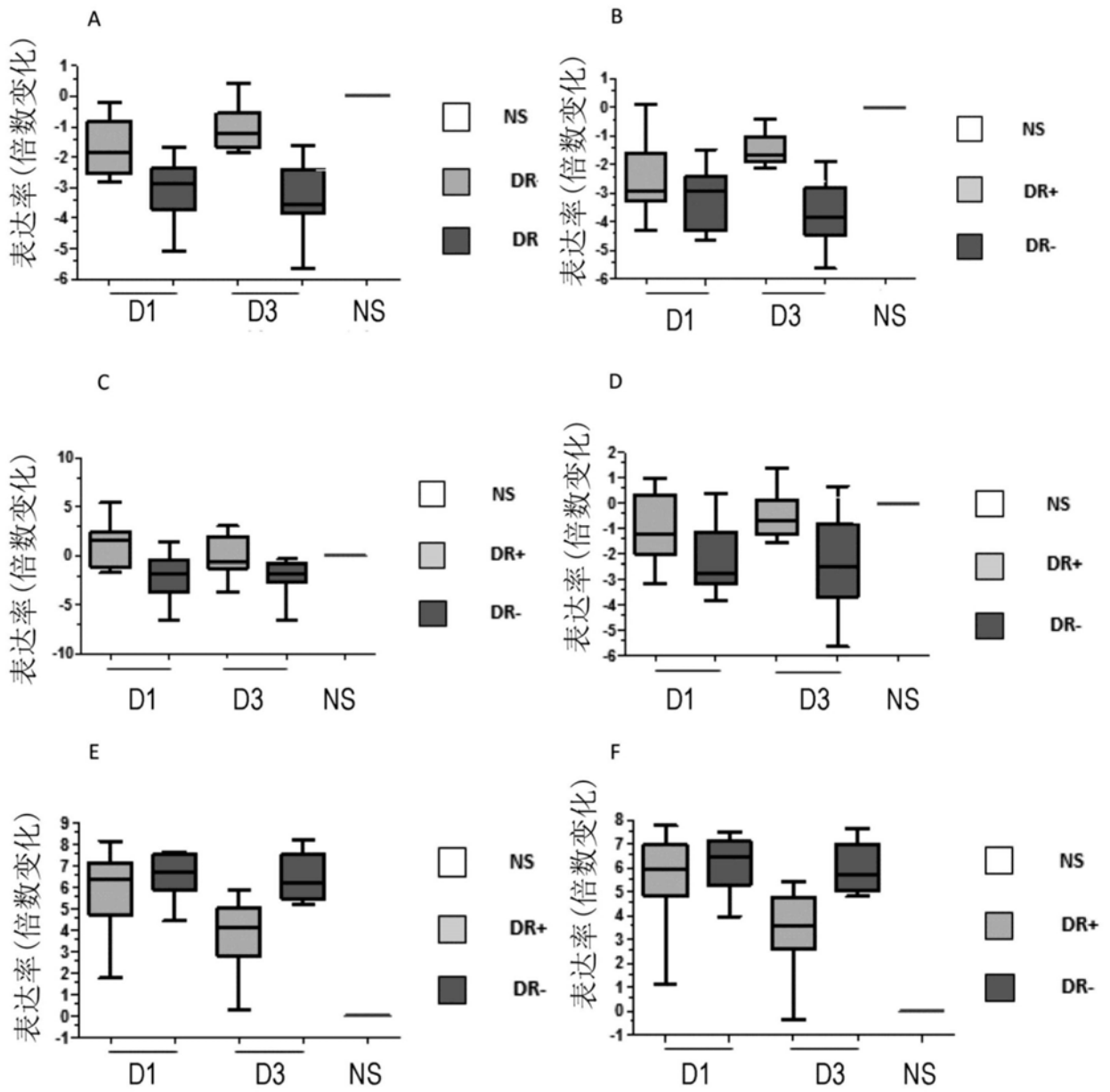


图6

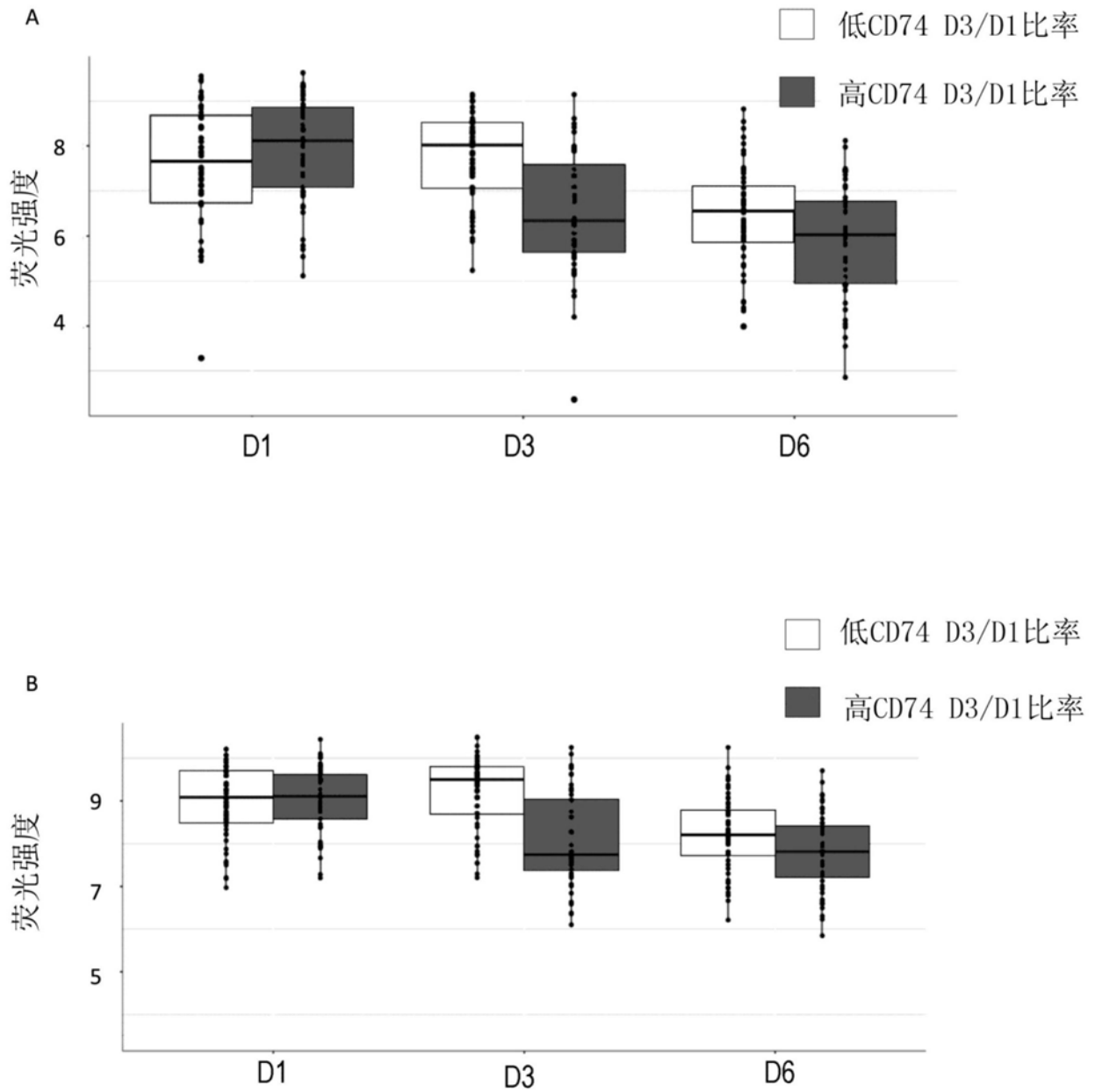


图7

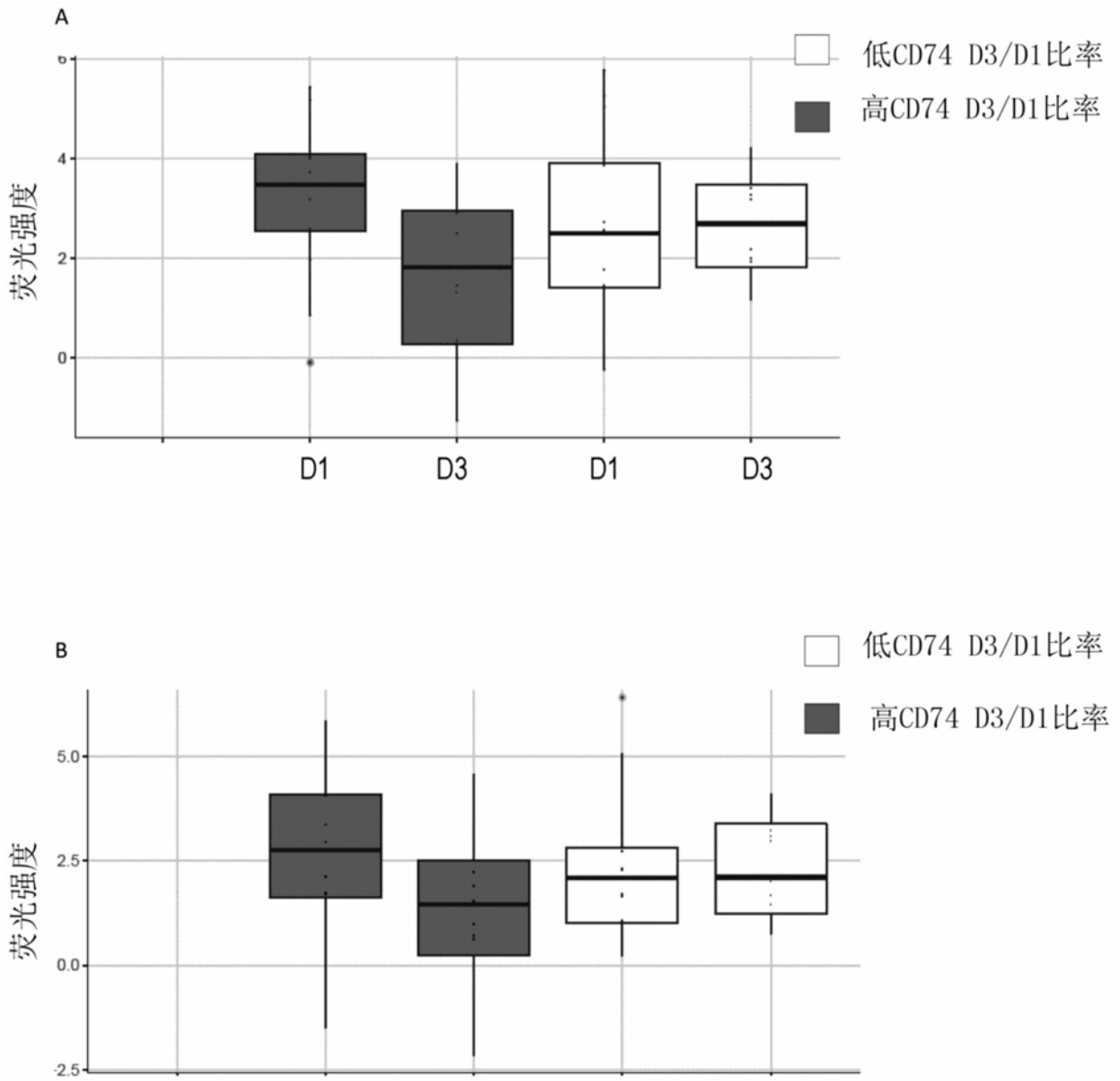


图8

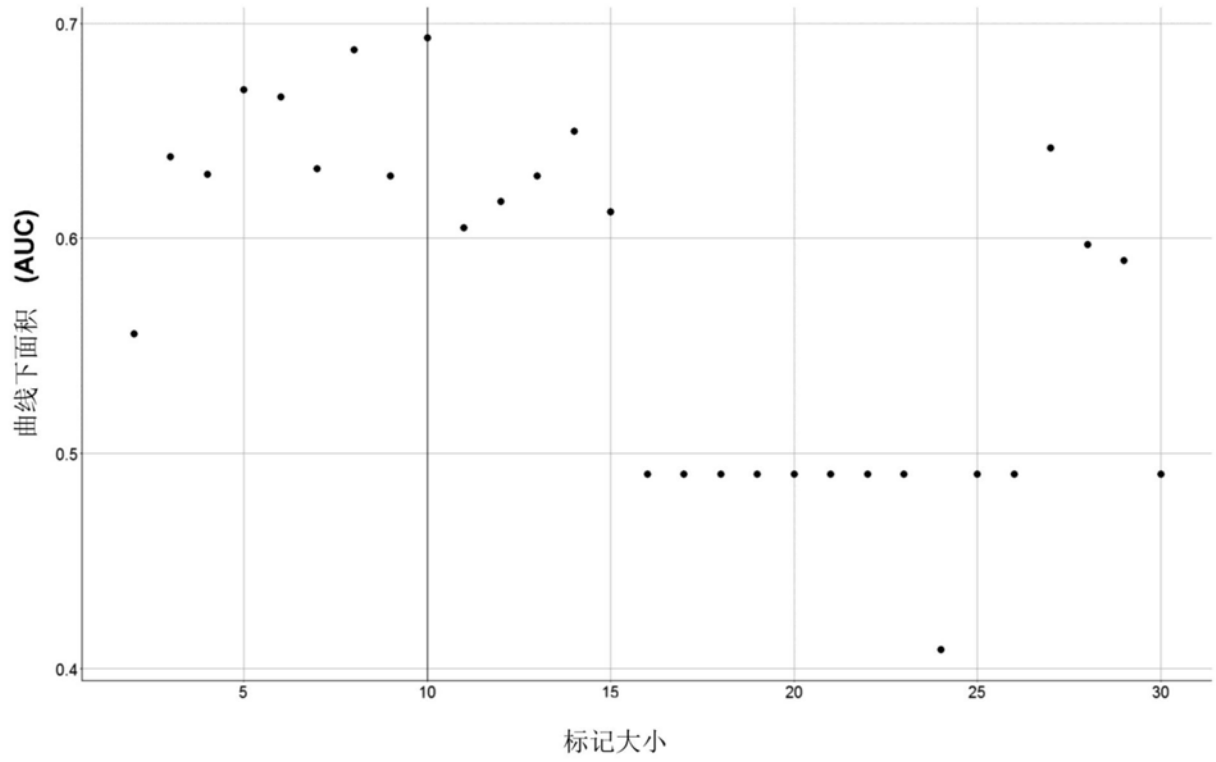


图9