



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02820672.X

[43] 公开日 2005年1月26日

[11] 公开号 CN 1571850A

[22] 申请日 2002.10.11 [21] 申请号 02820672.X

[30] 优先权

[32] 2001.10.19 [33] EP [31] 01402718.9

[86] 国际申请 PCT/EP2002/011397 2002.10.11

[87] 国际公布 WO2003/035904 英 2003.5.1

[85] 进入国家阶段日期 2004.4.19

[71] 申请人 图尔地区及大学医疗中心

地址 法国图尔赛戴克斯

共同申请人 英那特发玛公司

[72] 发明人 海尔韦·瓦捷 纪尧姆·卡特龙

菲利普·科隆巴

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责  
任公司

代理人 杨青 樊卫民

权利要求书3页 说明书26页 序列表13页  
附图11页

[54] 发明名称 评估抗体治疗反应的方法和组合物

[57] 摘要

本发明涉及用于评估或估计个体对特定治疗方法的反应的方法和组合物。具体来说，本发明提供了方法，用于确定个体的反应，或使治疗方案适合于用治疗抗体疗法的个体。本发明是基于确定个体的 FCGR3A 基因型。本发明可用于患有恶性肿瘤，特别是淋巴瘤的病人，并且适合于选择最好的反应者和/或为低反应者调整治疗条件或方案。

1. 一种评估个体对治疗抗体疗法的反应的方法，包括在体外测定该个体的 FCGR3A158 基因型。

5

2. 一种筛选病人用于治疗抗体疗法的方法，该方法包括在体外测定该个体的 FCGR3A158 基因型。

10

3. 一种改善治疗抗体疗法在个体中的效力、治疗条件或方案的方法，包括在体外测定该个体的 FCGR3A158 基因型。

4. 权利要求 1 到 3 中任一项所述的方法，包括对 FcγRIIIa 受体第 158 位上的氨基酸残基的确定，第 158 位是缬氨酸表明对该疗法有较好的反应，而第 158 位是苯丙氨酸表明对该疗法有较低的反应。

15

5. 权利要求 1 到 4 中任一项所述的方法，其中对 FcγRIIIa 受体第 158 位上的氨基酸残基的确定包括一个对 FcγRIIIa 受体基因或 RNA 或其含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分进行测序的步骤。

20

6. 权利要求 1 到 5 中任一项所述的方法，其中对 FcγRIIIa 受体第 158 位上的氨基酸残基的确定包括一个对 FcγRIIIa 受体基因或 RNA 或其含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分进行扩增的步骤。

25

7. 权利要求 6 中的方法，其中扩增通过聚合酶链式反应(PCR)进行，例如 PCR、RT-PCR 和嵌套 PCR。

30

8. 权利要求 1 到 7 中任一项所述的方法，其中对 FcγRIIIa 受体第 158 位上的氨基酸残基的确定包括一个等位基因特异的限制性酶消化的步骤。

9. 权利要求 1 到 8 中任一项所述的方法，其中对 FcγRIIIa 受体第 158 位上的氨基酸残基的确定包括一个用一种特异性针对基因型缬氨酸或苯丙氨酸的核酸探针，与 FcγRIIIa 受体基因或 RNA 或其含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分进行杂交的步骤。

5

10. 权利要求 1 到 9 中任一项所述的方法，其中对 FcγRIIIa 受体第 158 位上的氨基酸残基的确定包括：

从生物样品中获得基因组 DNA，

扩增 FcγRIIIa 受体基因或其含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分，以及

10

确定该 FcγRIIIa 受体基因第 158 位上的氨基酸残基。

11. 权利要求 1 到 9 中任一项所述的方法，其中对 FcγRIIIa 受体第 158 位上的氨基酸残基的确定包括：

15

从生物样品中获得基因组 DNA，

扩增 FcγRIIIa 受体基因或其含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分，

引入一个等位基因特异性限制性酶位点，

用特异性针对该限制性位点的酶消化核酸，以及

20

通过电泳分析消化产物，消化产物的存在表明等位基因的存在。

12. 权利要求 1 到 9 中任一项所述的方法，其中对 FcγRIIIa 受体第 158 位上的氨基酸残基的确定包括：从细胞或生物样品或生物流体中体外或离体提取总(或信使)RNA，任选进行 cDNA 合成，然后用特异的 FCGR3A 寡核苷酸引物进行(PCR)扩增，以及分析 PCR 产物。

25

13. 权利要求 1 到 4 中任一项所述的方法，其中对 FcγRIIIa 受体第 158 位上的氨基酸残基的确定包括一个对 FcγRIIIa 受体多肽或其含有第 158 位氨基酸残基的一部分进行测序的步骤。

30

14. 前面权利要求中任一项所述的方法，其中个体是人。

15. 权利要求 14 中的方法，其中个体患有肿瘤、病毒感染或与异源或病理性免疫活性细胞有关的病症。

5

16. 权利要求 15 中的方法，其中个体患有肿瘤，以及治疗抗体疗法的目的在于减小肿瘤的负荷。

17. 权利要求 16 中的方法，其中肿瘤是淋巴瘤，特别是 NHL。

10

18. 前面权利要求中任一项所述的方法，其中抗体是 IgG1 或 IgG3。

19. 权利要求 18 中的方法，其中抗体是抗 CD20 抗体，特别是美罗华。

15

## 评估抗体治疗反应的方法和组合物

5            本发明涉及用于评估或估计个体对特定治疗方法的反应的方法和组合物。具体来说，本发明提供了方法，用于确定个体的反应、或使治疗方案适合于用治疗抗体疗法的个体。本发明可用于患有恶性肿瘤、特别是淋巴瘤的病人，适合于选择最好的反应者和/或为低反应者调整治疗条件或方案。

10

## 简介

          人类中的多种治疗策略是基于使用治疗抗体。其中包括例如使用被开发用于减少靶细胞、特别是患病的细胞如病毒感染的细胞、肿瘤细胞或其它病原细胞包括异源的免疫活性细胞的治疗抗体。这样的抗体一般是 IgG 种类的单克隆抗体，典型的是 IgG1 和 IgG3。这些抗体

15            可以是重组抗体和人源化抗体，含有不同物种或来源或特异性的功能结构域。这样的治疗抗体的一个具体的例子是美罗华 (rituximab)(Mabthera<sup>®</sup>、Rituxan<sup>®</sup>)，它是一个嵌合的抗 CD20 IgG1 单克隆抗体，由人类的 $\gamma 1$  和 $\kappa$ 恒定区与鼠类的可变结构域连接而制成<sup>1</sup>。几年来，美罗华已显著地改变了针对 B 淋巴组织增生的恶性肿瘤、特别是非-Hodgkin's 淋巴瘤(NHL)的治疗策略。其它完整的人源化 IgG1 抗体的例子包括 alemtuzumab(Campath-1H<sup>®</sup>)，它用于治疗 B 细胞恶性肿瘤，或 trastuzumab(Herceptin<sup>®</sup>)，它用于治疗乳腺癌。其它的正在开发的治疗抗体的例子在本领域内也有公开。

25

          这些抗体代表了人类治疗、特别是肿瘤治疗的一种新的有效的方法，但是它们并不总是能够表现出强的效力，它们的使用可以通过评估个体对它们的反应来加以改进。例如，对于美罗华来说，单独使用或与化学治疗结合使用已显示出在治疗低中度<sup>2-8</sup>和高度 NHL<sup>6,9</sup>中是有效的，30%到 50%患有低度 NHL 的病人对美罗华没有临床反应<sup>4,5</sup>。

30

已经建议 CD20 在淋巴细胞中的表达水平<sup>2</sup>，在治疗时存在高肿瘤负荷<sup>6</sup>或者低血清美罗华浓度<sup>2</sup>可以解释美罗华在某些病人中缺乏效力。然而，治疗失败的真实原因大部分仍然不了解。

5           允许评估病人对抗体治疗的反应的方法的可用性将极大地增强这些产品的治疗效力。但是，这样的治疗抗体在体内的精确的作用方式尚未清楚地被证明。事实上，尽管体外研究建议了美罗华的多种可能的作用方式(抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)<sup>10,11</sup>、补体依赖性细胞毒性<sup>10,12,13</sup>、导致凋亡的直接信号<sup>14,15</sup>等)，这些减少靶细胞的抗  
10           抗体在人体内的清楚的作用还没有被证明。此外，尽管 ADCC 在消灭细胞内病原和肿瘤细胞中是一种重要的效应机制，但 ADCC 的作用仍然是有争议的<sup>12,13</sup>。

          本发明现在提出的新方法和组合物可以评估个体对治疗抗体的治疗反应。本发明还提出了筛选对治疗抗体疗法具有最好的反应图的病人的方法。本发明还涉及了用治疗抗体治疗病人的方法，包含了一个  
15           优先评估病人的反应的步骤。本发明还涉及了适合于执行本发明的组合物和试剂盒。本发明也可以用于临床试验或实验设置，以评估或监测个体的反应，或者证实抗体的作用方式。

20

          本发明部分地基于证实了个体的基因型及其对治疗抗体疗法反应的能力之间的相关性。具体来说，本发明显示了 FcγRIIIa 受体的基因型与个体对治疗抗体疗法的反应直接相关。

25

          在人类中，三类 FcγR(FcγRI、FcγRII 和 FcγRIII)及其亚型由 8 个基因编码，都位于染色体 1 的长臂上。这些基因中有些表现出功能性等位多态性，产生了具有不同的受体性质的同种异型。这些多态性已经被鉴定为能够增加对自身免疫病或传染疾病易感性的遗传因子<sup>19-21</sup>。这些遗传因子之一是 FCGR3A 中的基因二态性，它编码的 FcγRIIIa  
30           在第 158 位氨基酸是一个苯丙氨酸(F)或缬氨酸(V)<sup>22,23</sup>。这个残基与

IgG1 的下铰链区直接相互作用，正如近来由 IgG1-FcγRIII 共结晶化(co-cristallization)所显示<sup>24</sup>。已经清楚地证明人类的 IgG1 与纯合的 FcγRIIIa-158V 自然杀伤细胞(NK)的结合比与纯合的 FcγRIIIa-158F 或杂合的 NK 细胞的结合更强<sup>22,23</sup>。

5

我们着手评估了体内 FCGR3A 基因型和病人对治疗抗体疗法的反应之间的可能的相关性。我们的发明部分起源于出乎意料的发现，即在该基因型与该反应图之间存在非常强的相关性，在第 158 位存在一个缬氨酸残基是高反应速率的一个指示。更具体来说，对以前没有治疗过的滤泡性 NHL 病人仅使用美罗华，这是一种反应速率非常高的特别情况<sup>5</sup>，然后进行 FCGR3A 基因型分析。FCGR2A-131H/R 也被测定以作为对照，因为这个基因与 FCGR3A 共同位于染色体 1q22 上，并编码巨噬细胞 FcγRIIa 受体。

在 47 个以前没有治疗过而接受美罗华治疗的滤泡性非-Hodgkin's 淋巴瘤病人中确定了 FCGR2A-158V/F 的基因型。在两个月(M2)和 1 年(M12)时评估了临床和分子反应。阳性的分子反应被定义为在外周血和骨髓中 BCL2-JH 基因重排消失。FCGR2A-158V 纯合的病人是 21%，而 FCGR2A-158F 纯合的和杂合的病人(FCGR2A-158F 携带者)分别为 34%和 45%。在 M2 和 M12 时的目标反应速率在 FCGR2A-158V 纯合的病人中是 100%和 90%，相比而言在 FCGR2A-158F 携带者中是 65%( $p=0.02$ )和 51%( $p=0.03$ )。在 M12 时，在六分之五的 FCGR3A-158V 纯合的病人中观察到了阳性的分子反应，相比而言在 FCGR3A-158F 携带者中只有十六分之五有阳性反应( $p=0.04$ )。此外，纯合的 FCGR3A-158V 基因型在多变量分析中被证实是与临床和分子反应相关的单一参数，也与较低速度的疾病发展相关( $p=0.05$ )。

因此，本发明第一次在 FCGR3A 基因型和对治疗抗体的临床和分子反应之间建立了联系。本发明还提供了第一个独特的标记物，可用于监测、评估或筛选病人的反应。因此，本发明在患有恶性肿瘤、

30

病毒感染或其它与个体中存在病原细胞相关的疾病、特别是非-Hodgkin氏淋巴瘤的病人的管理方面引入了一种新的药物遗传学方法。

5 本发明的一个目的在于一种评估个体对治疗抗体疗法的反应的方法，包括在体外确定 FCGR3A 基因型和/或在该个体 FcγRIIIa 受体中多态性的存在。具体来说，该方法包括在体外确定该个体的 FCGR3A158 基因型。

10 本发明的另一个目的是一种为治疗抗体疗法筛选病人的方法，该方法包括在体外确定 FCGR3A 基因型和/或在该个体 FcγRIIIa 受体中多态性的存在。具体来说，该方法包括在体外确定该个体的 FCGR3A158 基因型。

15 本发明的另一个目的是一种在个体中改善治疗抗体疗法的效力或治疗条件或方案的方法，该方法包括在体外确定 FCGR3A 基因型和/或在该个体 FcγRIIIa 受体中多态性的存在。具体来说，该方法包括在体外确定该个体的 FCGR3A158 基因型。

20 具体来说，在体外确定个体的 FCGR3A158 基因型包含了确定 FcγRIIIa 受体的第 158 位的氨基酸残基(或在 FCGR3A 基因的相应密码子)，第 158 位是缬氨酸表明对该疗法有较好的反应，而第 158 位是苯丙氨酸表明对该疗法有较低的反应。

25 在本发明的上下文中，术语“治疗抗体”更具体来说是指任何能够减少病人中的靶细胞的抗体。这样的靶细胞的具体例子包括参与了过敏、自身免疫疾病、异源反应等的肿瘤细胞、病毒感染的细胞、异源的细胞、病原性免疫活性细胞(例如 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、抗原呈递细胞等)、或者甚至是健康的细胞(例如在一个抗血管增生(anti-angiogenic)治疗方案中的内皮细胞)。在本文的上下文中最优选的是肿瘤细胞和病毒感染的细胞。治疗抗体可以例如介导一种细胞毒性  
30

效应或细胞裂解，特别是通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC)。ADCC 需要白细胞受体来结合 IgG(Fc $\gamma$ R)的 Fc 部分，其功能是将 IgG 致敏的抗原与带有 Fc $\gamma$ R 的细胞毒性细胞连接起来并启动细胞活化机制。尽管这种作用的机理在人体内还没有被证实，它可以解释这样的减少靶细胞的治疗抗体的效用。治疗抗体可以是多克隆的，最好是单克隆的。它们可以通过杂交瘤或通过改建能够表达所需的可变和恒定结构域的重组细胞来生产。抗体可以是单链抗体或其它的保留了抗原特异性和下铰链区的抗体衍生物或其变体。它们可以是多功能抗体、重组抗体、ScFV、人源化抗体或其变体。治疗抗体对表面抗原例如膜抗原是特异性的。最优选的治疗抗体对肿瘤抗原(例如由肿瘤细胞特异性表达的分子)是特异性的，例如 CD20、CD52、ErbB2(或 HER2/Neu)、CD33、CD22、CD25、MUC-1、CEA、KDR、 $\alpha$ V $\beta$ 3 等，特别是淋巴瘤抗原(例如 CD20)。治疗抗体优选为 IgG1 或 IgG3，更优选为 IgG1。

15

本发明的治疗抗体的典型例子是美罗华、alemtuzumab 和 trastuzumab。这样的抗体可以按照经审定的在人类个体中使用的临床规程来使用。其它的治疗抗体的具体的例子包括例如 epratuzumab、basiliximab、daclizumab、cetuximab、labetuzumab、sevirumab、tuvirumab、palivizumab、infliximab、omalizumab、efalizumab、natalizumab、clenoliximab 等，如同在下面的表中所列：

20

抗体特异性	DCI	商品名	典型的指示
抗 CD20	美罗华	MabThera®, Rituxan®	LNH B
抗 CD52	alemtuzumab	CAMPATH-1H®	LLC, 同种异体移植
抗 CD33		ZamyI™	急性骨髓性白血病
抗-HLA-DR		Remitogen™	LNH B
抗 CD22	epratuzumab	LymphoCide™	LNH B
抗-erbB2	trastuzumab	Herceptin®	转移性乳腺癌

(HER-2/neu)			
抗-EGFR (HER-1、erbB1)	cetuximab		ORL 和结肠直肠癌
抗-MUC-1		Therex®	乳腺和上皮癌
抗 CEA	labetuzumab	CEA-Cide™	
抗- $\alpha V\beta 3$		Vitaxin	癌症(抗-angiogenic)
抗-KDR (VEGFR2)			癌症(抗-angiogenic)
抗 VRS 融合蛋白	palivizumab	Synagis®	病毒疾病
同上		Numax™	同上
CMV	sevirumab	Protovir	CMV 感染
HBs	tuvirumab	Ostavir™	乙型肝炎
抗-CD25	basiliximab	Simulect®	同种异体移植排斥的预防 /治疗
抗-CD25	daclizumab	Zenapax®	同种异体移植排斥的预防 /治疗
抗-TNF-a	infliximab	Remicade™	Crohn 病, polyarthrite rhumatoid
抗 IgE	omalizumab	Xolair™	哮喘
抗整合蛋白 $\alpha L$ (CD11a, LFA-1)	efalizumab	Xanelim™	牛皮癣
抗 CD4	keliximab		
抗 CD2	siplizumab		
抗 CD64			贫血
抗 CD147			GvH
抗整合蛋白 $\alpha 4$ ( $\alpha 4\beta 1$ - $\alpha 4\beta 7$ )	natalizumab	Antegren®	硬化症, Crohn
抗整合蛋白 $\beta 7$			Crohn, RCH
抗 CD4*	clenoliximab		

在本发明的上下文中，个体或病人包括了任何哺乳动物个体或病人，更优选为人类个体或病人。

按照本发明，术语 FCGR3A 基因是指任何在个体中编码 FcγRIIIa 多肽的核酸分子。该术语具体来说包括了基因组 DNA、cDNA、RNA(rRNA 前体、信使 RNA 等)等或任何含有其序列的全部或部分的合成核酸。合成核酸包括从 RNAs 制备的 cDNA，其含有 FCGR3A 基因组 DNA 的序列的至少一部分，例如作为一个或多个内含子或含有一个或多个突变的一部分。最优选的情况下，术语 FCGR3A 基因是指基因组 DNA、cDNA 或 mRNA，典型为基因组 DNA 或 mRNA。FCGR3A 基因优选是人类的 FCGR3A 基因或核酸，即含有一个核酸序列，它编码了一个具有人类的 FcγRIIIa 多肽序列的 FcγRIIIa 多肽的全部或部分。这样的核酸可以根据现有的技术分离或制备。例如，它们可以通过杂交技术从基因文库或库中分离。它们也可以被遗传地或化学地合成。图 2 描述了一个人类 FCGR3A 基因的遗传结构。图 3 代表了人类 FcγRIIIa 的氨基酸序列。第 158 位的氨基酸是从成熟蛋白的第一个残基开始计数的。它相当于具有信号肽的蛋白前体的第 176 位残基。图 4 代表了野生型 FCGR3A 基因的序列(也可参见 Genbank 登记号 AL590385，或者部分序列可参见 NM\_000569)。

20

在本发明的上下文中，一部分或部分意味着至少 3 个核苷酸(例如一个密码子)，优选为至少 9 个核苷酸，更优选为至少 15 个核苷酸，可以包含多达 1000 个核苷酸。这样的一部分可以通过本技术领域内任何广为人知的技术来获得，例如酶法和/或化学切割、化学合成或这些方法的组合。为了清楚起见，编码第 158 位氨基酸的 FCGR3A 基因的一部分序列表述如下：

cDNA	540	550	560	570	580
基因组DNA	4970	4980	4990	5000.	
158F 等位基因	tcctacttctgcagggggccttttgggagtaaaaatgtgtcttca				
	S Y F C R G L <u>F</u> G S K N V S S				
158V 等位基因	tcctacttctgcagggggccttgggagtaaaaatgtgtcttca				
	S Y F C R G L <u>V</u> G S K N V S S				

30

正如上面指出的,本发明包含了在体外确定该个体的 FCGR3A158 基因型的方法。更具体地说包含了确定在 FcγRIIIa 多肽的第 158 位存在(或被编码)的氨基酸残基的性质的方法。

5

在该个体中的 FCGR3A 基因或相应的多肽的基因分型可以通过多种技术来完成,包括对编码的核酸分子或被编码的多肽进行分析。分析可以包括测序、迁移、电泳、免疫技术、扩增、特异性消化或杂交等。

10

在一个特定的实施方案中, FcγRIIIa 受体第 158 位氨基酸残基的确定包括一个对 FCGR3A 受体基因或 RNA 或其中含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分进行测序的步骤。

15

在另一个特定的实施方案中, FcγRIIIa 受体第 158 位氨基酸残基的确定包括一个对 FCGR3A 受体基因或 RNA 或其中含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分进行扩增的步骤。扩增可以通过聚合酶链反应(PCR)进行,例如简单的 PCR、RT-PCR 或嵌套 PCR,可以使用例如常规的方法和引物。

20

在这点上,用于本发明的扩增引物更优选为含有少于大约 50 个核苷酸,更优选为少于 30 个核苷酸,一般来说少于大约 25 个或 20 个核苷酸。另外,优选的引物通常含有至少 5 个、优选为至少 8 个核苷酸,以确保特异性。引物的序列可以基于 FCGR3A 基因的序列制备,以优选允许完全的互补性。探针可以使用任何现有的技术标记,例如放射性、荧光、酶法、化学法标记等。标记可以使用例如磷 32、生物素(16-dUTP)、地高辛(11-dUTP)。应该理解本发明并不被特定的检测或标记技术所束缚或限制。如下面公开的,引物还可以包含限制性内切酶位点,以便在扩增的核酸中引入等位基因特异性的限制性内切酶位点。

30

这样的扩增引物的具体的例子例如 SEQ ID NO:1-4。

5 应该理解专业技术人员也可以设计其它的引物，例如任何  
FCGR3A 基因的片段，以用于扩增步骤，特别是一对含有正向序列和  
反向序列的引物，其中该引物对中的引物与 FCGR3A 基因的一个区域  
杂交，以允许扩增 FCGR3A 基因至少含有第 158 位密码子的一部分。  
在一个优选实施方案中，每对引物含有至少一个与第 158 位密码子互  
10 补并重叠的引物，以允许区分 158V(gtt)和 158F(ttt)。扩增的条件也可  
以由专业技术人员根据通用的知识和说明书中包含的指南进行调整。

因此，在一个特定的实施方案中，本发明的方法包含了用特异性的  
寡核苷酸引物对细胞中或生物样品中的 FCGR3a 的 mRNA 或 gDNA  
的一部分进行 PCR 扩增，该部分中包含了第 158 位密码子，并且通过  
15 例如电泳，特别是变性凝胶梯度电泳(DGGE)对 PCR 产物进行直接或  
间接的分析。

在另一个特定的实施方案中，FcyRIIIa 受体第 158 位氨基酸残基  
的确定包括了一个等位基因特异性的限制性内切酶消化的步骤。这可以  
20 通过使用能够切割特定的等位基因的编码序列(例如 158V 等位基因)  
而不能切割其它的等位基因(例如 158F 等位基因)的限制性酶来进行，  
反之亦然。当这样的等位基因特异性的限制性酶位点在序列中不是天然  
存在时，它们可以通过使用在其序列中含有这样的位点的等位基因  
特异性扩增引物来扩增核酸而被人工地引入。扩增后，可以通过例如  
25 电泳来分析消化的产物以确定一个等位基因的存在。这种技术也可以  
鉴别对于选定的等位基因是纯合的或杂合的目标。

等位基因特异性扩增引物的例子包括例如 SEQ ID NO:3。SEQ ID  
NO:3 引入了 NlaIII 位点(5'-CATG-3')的前 3 个核苷酸。切割发生在 G  
30 后。该引物含有 11 个不能与 FCGR3A 杂交的碱基，使引物延伸以便

于对扩增的产物进行电泳分析，以及含有 21 个能够与 FCGR3A 杂交的碱基，只有第 31 位的核苷酸(A)例外，它产生了限制性酶位点。

5 在另一个特定的实施方案中，FcγRIIIa 受体第 158 位氨基酸残基的确定包括了一个将 FCGR3A 受体基因或 RNA 或其含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分与一个特异性针对缬氨酸或苯丙氨酸基因型的核酸探针进行杂交，以确定杂交的存在或不存在的步骤。

10 应该理解上面的方法可以单独使用也可以不同的组合使用。此外，其它专业技术人员熟知的技术也可用于确定 FCGR3A 158 基因型，例如任何使用扩增(例如 PCR)、特异性引物、特异性探针、迁移等的方法，一般使用定量 RT-PCR、LCR(连接酶链反应)、TMA(转录介导的扩增)、PCE(一种酶放大的免疫分析)和 bDNA(分支 DNA 信号扩增)分析。

15 在本发明的一个优选实施方案中，FcγRIIIa 受体第 158 位氨基酸残基的确定包括：

- 从生物样品中获得基因组 DNA，
- 扩增 FcγRIIIa 受体基因或其含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分，以及
- 确定该 FcγRIIIa 受体基因第 158 位的氨基酸残基。

20 扩增可以使用任何特异性的技术来完成，例如 PCR、包括嵌套 PCR，使用上述的特异性引物。在一个最优选的实施方案中，第 158 位氨基酸残基的确定通过等位基因特异性限制性酶消化来进行。在这种情况下，方法包括：

- 从生物样品中获得基因组 DNA，
- 扩增 FcγRIIIa 受体基因或其含有编码第 158 位氨基酸残基的一部分，
- 引入一个等位基因特异性限制性酶位点，

- 用特异性针对该限制性位点的酶消化核酸，以及
- 通过电泳分析消化产物，消化产物的存在表明了等位基因的存在。

5            在另一个特定的实施方案中，确定基因型的方法包括：从细胞或生物样品或体外或离体的生物体液中提取总(或信使)RNA，任选进行cDNA合成，然后用 FCGR3A 特异性的寡核苷酸引物进行(PCR)扩增，以及分析 PCR 产物。

10           本发明的方法也可以包括直接对 FcγRIIIa 受体多肽或其含有第158位氨基酸残基的一部分进行测序、或通过使用特异性针对 FcγRIIIa 多肽的每个等位基因的试剂，来确定 FcγRIIIa 受体第158位的氨基酸残基。这可以通过任何适合的技术来确定，包括通过免疫分析(ELISA、EIA、RIA等)。这可以使用任何特异性针对 FcγRIIIa158 多肽的亲试剂来进行，更优选为任何抗体或其片段或衍生物。在一个特定的实施方案中，FcγRIIIa158 多肽用一个能够分辨 FcγRIIIa158V 和 FcγRIIIa158F 的抗 FcγRIIIa158 抗体(或其一个片段)来检测，更优选为一个单克隆抗体。抗体(或亲和试剂)可以通过任何适当的方法(放射性、荧光、酶法、化学法等)来标记。此外，FcγRIIIa158 抗体免疫复合物可以使用第二种试剂(例如抗体)来确定(和/或定量)，  
20           例如能够与抗 FcγRIIIa158 抗体结合的标记。

             上述的方法是基于在个体的生物样品中的 FCGR3A158 的基因分型。生物样品可以是任何含有 FCGR3A 基因或相应的多肽的样品，特别是血液、骨髓、淋巴结或含有 FCGR3A 基因或多肽的体液，尤其是血液和尿液。此外，因为 FCGR3A158 基因一般存在于上述的细胞、组织或体液内，本发明的方法经常使用一种处理样品，以使基因或多肽可用于检测或分析。处理可以包括任何常规的固定技术、细胞裂解(机械的或化学的或物理的)、或任何其它常规的用于例如免疫组织化学或  
25           生物学的方法。  
30

本方法特别适合于确定个体对抗肿瘤治疗抗体疗法的反应。关于这一点，在一个特定的实施方案中，个体患有肿瘤，治疗抗体疗法的目的在于减少肿瘤的负荷，特别是减少肿瘤细胞。在更优选的情况下，  
5 肿瘤是淋巴瘤，例如更优选为 B 淋巴瘤，特别是 NHL。正如前面指出的，抗体优选为 IgG1 或 IgG3，特别是抗 CD20 的 IgG1 或 IgG3，更优选为人源化抗体，例如美罗华。

本发明还涉及了一种双特异性抗体，其中该双特异性抗体特异性地结合 CD16 和一种肿瘤抗原，例如 CD20 抗原。本发明还包括了含有这样的双特异性抗体和可药用的赋形剂或佐剂的药物组合物。  
10

本发明的其它方面和优点将在下面的实施例中公开，这些实施例应该被当作是说明性的，并没有对本申请的范围进行限制。  
15

#### 附图说明

图 1：根据 FcyR3a-158V/F 基因型在美罗华治疗后肿瘤没有发展的存活率的调整的 KAPLAN-MEIER 估计(p=0.05)。

图 2：人类 FCGR3A 基因的遗传结构

20 图 3：人类 FcyRIIIa158F 的氨基酸序列(SEQ ID NO:7)

图 4：人类 FCGR3A158F 的核酸序列(SEQ ID NO:8)

#### 材料和方法

##### 病人与治疗

25 临床试验设计、合格性判据和终点评估以前已经报道<sup>5</sup>。简单地说，包含在本研究中的病人，如果根据 REAL 分类他们患有以前未治疗过的滤泡性 CD20 阳性 NHL，那么他们就是合格的病人。病人需要表现出根据 Ann-Arbor 分类为 II 期到 IV 期的病症，并具有至少一个可测量的病灶。所有的病人需要具有按照 GELF 标准为低度的肿瘤负载<sup>27</sup>。总共 4 剂 375mg/m<sup>2</sup>的美罗华(Roche, Neuilly, France)通过静脉  
30

内灌注给药(在第 1、8、15、22 天)。灌注及不利事件的管理已经被报道过<sup>5</sup>。研究规程被一个伦理委员会批准,所有的病人被告知同意。

#### 监测和终点

5            基线评估包括临床检查、X-射线胸透、胸部、腹部和骨盆计算机断层分析(CT)、以及单侧骨髓活组织检查。反应由一组独立的放射学家评估,他们总结了所有被包括的病人的 CT 扫描图。最初的效力终点是目标反应率,即获得了按照一个国际专家委员会最近提出的标准<sup>28</sup>为完全的缓解(CR)、未经确认的 CR(CRu)或部分的反应(PR)的病人的比例。临床反应在第 50 天和第 78 天进行评估。只考虑了最大的反应,该评估的时间点被命名为 M2。在 1 年时(M12)评估所有的病人的进展情况。在 M2 时骨髓浸润消失并且在 M12 时淋巴细胞重新在骨髓中出现的 CR 或 CRu 病人被当作“有进展的”;在 M2 时骨髓活组织检查为阴性并且在 M12 时活组织检查为阳性的 PR 病人被当作 PR。

15

BCL2-JH 基因重排的分子分析如前所述<sup>5</sup>通过 PCR 在 M2 和 M12 诊断时获得的淋巴结上和既在外周血和又在骨髓上进行。

#### FCGR3A-158V/F 基因分型

20            在包含在临床试验中的 50 个病人中,一个病人在组织学检查后被排除,另外有两个病人的 DNA 没有获得。因此有 47 个病人可以进行 FCGR3A 基因型分析。所有的样品在同一个实验室中进行分析,使用标准的程序提取 DNA,并小心以避免交叉污染。DNA 从外周血(n=43)、骨髓(n=3)或淋巴结(n=1)中分离。FCGR3A-158V/F 多态性的基因分型按照 Koene 等<sup>22</sup>描述的方法进行,使用嵌套 PCR 然后进行等位基因特异性限制性酶消化。简单地说,两个 FCGR3A 特异性引物(5'-ATATTTACAGAATGGCACAGG-3', SEQ ID NO:1; 5'-GACTTGGTACCCAGGTTGAA-3', SEQ ID NO:2)(Eurobio, Les Ulis, France)被用于扩增一个含有多态性位点的 1.2kb 的片段。PCR 分析按照生产商的推荐使用了 1.25μg 基因组 DNA、200ng 每种引物、

25

30

200 $\mu$ mol/L 每种 dNTP(MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania)和 1U Taq DNA 聚合酶(Promega, Charbonniere, France)。第一次 PCR 为 95 $^{\circ}$ C 10 分钟, 然后进行 35 个循环(每个循环包括 3 个步骤: 95 $^{\circ}$ C 1 分钟、57 $^{\circ}$ C 1.5 分钟、72 $^{\circ}$ C 1.5 分钟), 以及 72 $^{\circ}$ C 8 分钟进行完全的延伸。第二次 PCR 使用引物(5'-ATCAGATTCGATCCTA CTTCTGCAGGGGGGCAT-3' SEQ ID NO:3; 5'-ACGTGCTGAGCTTGAGTGAT GGTGATGTTTAC-3' SEQ ID NO:4)(Eurobio)扩增了一个 94bp 的片段, 只在 FCGR3A-158V 等位基因中产生了一个 NlaIII 限制性位点。该嵌套的 PCR 使用了 1 $\mu$ L 扩增的 DNA、150ng 每种引物、200 $\mu$ mol/L 每种 dNTP 和 1U Taq DNA 聚合酶。第一个循环为在 95 $^{\circ}$ C 5 分钟, 然后进行 35 个循环(每个循环包括 3 个步骤: 95 $^{\circ}$ C 1 分钟、64 $^{\circ}$ C 1 分钟、72 $^{\circ}$ C 1.5 分钟), 以及 72 $^{\circ}$ C 9.5 分钟进行完全的延伸。然后将扩增的 DNA(10 $\mu$ L)用 10U 的 NlaIII(New England Biolabs, Hitchin, England)在 37 $^{\circ}$ C 消化 12 小时, 然后在 8% 的聚丙烯酰胺凝胶上通过电泳分离。用溴化乙锭染色后, DNA 带在紫外光下观察。对于纯合的 FCGR3A-158F 病人, 只能够看见一条不被消化的带(94bp)。在杂合的病人中可以看见 3 条带(94bp, 61bp 和 33bp), 而对于纯合的 FCGR3A-158V 病人, 只能获得两条被消化的带(61bp 和 33bp)。

## 20 FCGR2A-131H/R 基因分型

FCGR2A-131H/R 的基因分型按照 Liang 等<sup>28</sup>的方法使用 PCR、然后通过等位基因特异性的限制性酶消化来进行。有义引物(5'-GGAAAATCCCAGAAATTCTCGC-3' SEQ ID NO:5)(Eurobio)已经被修饰成在 R 等位基因的情况下产生一个 BstUI 限制性位点, 而反义引物(5'-CAACAGCCTGACTACCTATTACGCGGG-3' SEQ ID NO:6)(Eurobio)已经被修饰成带有第二个 BstUI 限制性位点作为内部对照。PCR 扩增在 50 $\mu$ L 反应体系中进行, 使用 1.25 $\mu$ g 基因组 DNA、170ng 每种引物、200 $\mu$ mol/L 每种 dNTP、0.5U Taq DNA 聚合酶以及生产商的缓冲液。第一个循环为 94 $^{\circ}$ C 3 分钟, 然后进行 35 个循环(每个循环包括 3 个步骤: 94 $^{\circ}$ C 15 秒、55 $^{\circ}$ C 30 秒、72 $^{\circ}$ C 40 秒), 以及 72 $^{\circ}$ C 7 分

钟进行完全的延伸。然后将扩增的 DNA(7 $\mu$ L)用 20U 的 BstUI(New England Biolabs)在 60°C 消化 12 小时。进一步的分析参照在 FCGR3A 基因分型中的描述。FCGR2A-131H 和-131R 等位基因分别可被显示为 337bp 和 316bp 的 DNA 片段。

5

### 统计分析

使用平方分布检验法或在合适时使用费歇耳恰当检验法对不同基因型组的病人的临床和生物学特征及临床和分子反应进行比较。对数回归分析包括：性别、年龄(>或 $\leq$ 60 岁)、包括的额外结点数( $\geq$ 或 $<$ 2)、骨髓的介入、诊断时 BCL2-JH 的重排状态和 FCGR3A 基因型，被用于鉴定影响临床和分子反应的独立的预后变量。无进展的生存率按照 Kaplan 和 Meier<sup>29</sup> 的方法计算，测量从治疗开始直到进展/恶化或死亡。FCGR3A 基因型的无进展生存率使用对数等级检验法进行比较。P $<$ 0.05 被认为是统计学显著的。

15

### 结果

#### 临床反应

在 49 个进行 FCGR3A-158V/F 多态性测试的病人中，10 个(20%)和 17 个(35%)分别是 FCGR3A-158V 和 FCGR3A-158F 纯合的，而 22 个(45%)是杂合的。3 个组在诊断时的性别、疾病阶段、骨髓的介入、包括的额外结点数或外周血和骨髓中 BCL2-JH 重排的存在这些方面没有区别(表 1)。当将纯合的 FCGR3A-158V 病人与 FCGR3A-158F 携带者(FCGR3A-158F 纯合的和杂合的病人)进行比较时，或将纯合的 FCGR3A-158F 病人与 FCGR3A-158V 携带者(FCGR3A-158V 纯合的和杂合的病人)进行比较时，没有发现区别。在 M2 时的目标反应率在 FCGR3A-158V 纯合、FCGR3A-158F 纯合和杂合的病人中分别是 100%(CR+CRu=40%)、70%(CR+CRu=29%) 和 64%(CR+CRu=18%)(P=0.09)。在 FCGR3A-158V 纯合病人和 FCGR3A-158F 携带者之间观察到了目标反应率的显著差别，后者的目标反应率为 67%(CR+CRu=23%)(相对风险=1.5; 95% CI, 1.2-1.9; P=0.03)(表 2)。

30

在 FCGR3A-158F 纯合病人和 FCGR3A-158V 携带者之间没有观察到差别。在 M12 时，目标反应率在 FCGR3A-158V 纯合、FCGR3A-158F 纯合和杂合的病人中分别是 90%(CR+CRu=70%)、59%(CR+CRu=35%) 和 45%(CR+CRu=32%)(P=0.06)。在治疗 1 年后，在 FCGR3A-158V 纯  
5 合组和 FCGR3A-158F 携带者之间目标反应率的不同仍然存在，后者的目标反应率为 51%(CR+CRu=33%)(相对风险=1.7; 95% CI, 1.2-2.5; P=0.03)。对数回归分析显示纯合的 FCGR3A-158V 基因型在 M2(P=0.02) 和 M12(P=0.01)时是唯一的可以预测临床反应的因素。在 3 年时的无  
10 进展生存率(中值随访 35 个月; 31-41)(图 1)在 FCGR3A-158V 纯合病人中是 56%，而在 FCGR3A-158F 携带者中是 35%。在进行了 FCGR2A-131H/R 多态性分析的 45 个病人中，FCGR2A-131R 纯合和 FCGR2A-131H 纯合的分别为 9 个(20%)和 13 个(29%)，而杂合的为 23 个(51%)。对于这 3 个组，或对于纯合的 FCGR2A-131H 病人和 FCGR2A-131R 携带者，或对于纯合的 FCGR2A-131R 病人和  
15 FCGR2A-131H 携带者，在包含的特征和对美罗华治疗的临床反应方面没有区别(数据未显示)。

### 分子反应

在诊断时，在 30 个(64%)能够继续随访的病病人的外周血和骨髓中  
20 均检测到了 BCL2-JH 重排。在 M2 和 M12 时分别对 25 个病人(6 个 FCGR3A-158V 纯合病人和 19 个 FCGR3A-158F 携带者)和 23 个病人(6 个 FCGR3A-158V 纯合病人和 17 个 FCGR3A-158F 携带者)在外周血和骨髓中均分析了 BCL2-JH 重排(表 3)。在 M2 时，在 3/6 的 FCGR3A-158V 纯合病人和 5/19 的 FCGR3A-158F 携带者中观察到 BCL2-JH 重排的清除。  
25 相反，在 M12 时，在 FCGR3A-158V 纯合病人中的 BCL2-JH 重排清除率(5/6)高于在 FCGR3A-158F 携带者中的清除率(5/17)(相对风险=2.8; 95% CI, 1.2-6.4; P=0.03)。对数回归分析显示 FCGR3A-158V 纯合基因型是唯一与在 M12 时具有较高几率表现出 BCL2-JH 重排清除相关的因素(P=0.04)。有一个 FCGR3A-158V 纯合病人在 M12 时仍  
30 然在外周血和骨髓中均存在 BCL2-JH 重排，是位于美罗华治疗后 23

个月的 CR 组中。相反，在 M2 和 M12 时的分子反应不受 FCGR2A-131H/R 多态性的影响(数据未显示)。

#### 讨论

5           因为美罗华在 B 细胞淋巴增殖性恶性肿瘤中的应用越来越多，因此需要对治疗失败和美罗华的作用方式有更深入的了解。为此，我们对具有明确的临床和实验室特征并且只用美罗华治疗过的滤泡性 NHL 病人进行了 FCGR3A 基因分型<sup>5</sup>。具体来说，所有包含在这个研究中的病人患有低肿瘤负荷的 NHL，并在诊断时和随访中进行了 BCL2-JH  
10 分子分析。在该人群中 FCGR3A 等位基因频率与普通的高加索人群中的频率相同<sup>23,24</sup>。我们的结果显示了在 FCGR3A 基因型和对美罗华的反应之间有联系。事实上，占总人群五分之一的纯合的 FCGR3A-158V 病人，具有较高的经历临床反应的可能性，在 M2 和 M12 时的目标反应率分别为 100%和 90%。此外，被分析了 BCL2-JH 重排的 6 个  
15 FCGR3A-158V 纯合病人中有 5 个在 M12 时显示了分子反应，与此相比在 17 个 FCGR3A-158F 携带者中有 5 个显示了反应。FCGR3A-158V 的纯合性是临床和分子反应相关的唯一因素。但是，这些较高的临床和分子反应仍然不足以在纯合的 FCGR3A-158V 病人中提高无进展的存活率。

20

          这是第一个用于对美罗华的临床和分子反应可容易评估的遗传预测因素的报告。但是，遗传联系并不表明美罗华参与 FcγRIIIa 的作用方式。在 FCGR3A 基因型和对美罗华的反应之间所观察到的联系可能是由于另一个在连接不均衡性中的遗传多态性。那些多态性可能位于  
25 FCGR3A 本身中类似三等位基因的 FCGR3A-48L/H/R 多态性<sup>31</sup>，或位于其它的 FcγR 编码基因中，因为 FCGR3A 位于染色体 1 的长臂中，该长臂包含了 3 个 FCGR2 基因和 FCGR3B<sup>32</sup>。已经报道了在 FCGR2A 和 FCGR3B 之间具有连接不均衡性<sup>33</sup>。但是，FCGR2A-131H/R 多态性与对美罗华的反应较好无关这一事实，强烈地支持了一个非常靠近  
30 FCGR3A 的基因或 FCGR3A 自身的直接参与。

几个体外研究的证据支持 FCGR3A-158V/F 多态性的直接参与。首先, Koene 等<sup>23</sup> 已经表明, 以前报道的 IgG 与 3 种 FcγRIIIa-48L/H/R 同种型之间结合的不同<sup>31</sup> 是连锁的 FcγRIIIa-158V/F 多态性的结果, 有几个组已经证实来自 FCGR3A-158V 等位基因同种异型纯合的个体的自然杀伤细胞对人的复合 IgG1 有较高的亲和性, 并对 IgG1 致敏的靶有更高的细胞毒性<sup>23,24,34</sup>。我们现在的结果表明 FCGR3A-158V 纯合的病人对美罗华有较好的反应, 这可能是由于嵌合的人 IgG1 在体内与 FcγRIIIa 结合得更好。其次, 自然杀伤细胞和巨嗜细胞介导的 ADCC 在体外<sup>8,11,12</sup> 和鼠模型体内<sup>17,19</sup> 是由抗 CD20 抗体引发的一种机制, 而美罗华介导的凋亡被 FcγR 表达细胞放大了<sup>15,16</sup>。在所有的 FcγR 中, FcγRIIIa 是唯一为自然杀伤细胞和巨嗜细胞所共有的受体。因此, 我们推测 FCGR3A-158V 病人表现出对美罗华较好的反应是因为它们有较好的针对淋巴细胞的 ADCC 活性。超过 50% 的 FCGR3A-158F 携带者仍然表现出对美罗华的临床反应这一事实, 可以被虽然较低但是仍然足够的 ADCC 活性来解释, 或者更可能的是通过其它在体内操纵的机制例如补体依赖性细胞毒性、补体依赖性细胞介导的细胞毒性<sup>11,13,14</sup> 和/或细胞凋亡<sup>15,16</sup> 来解释。然后可以将 ADCC 看作是对美罗华反应的另一个机制, 它在 FCGR3A-158V 纯合的病人中特别有效。

体外的研究表明了一种“基因-剂量”效应, IgG1 与来自 FCGR3A 杂合供体的自然杀伤细胞的结合水平介于用来自 FCGR3A-158V 和 FCGR3A-158F 纯合子的自然杀伤细胞所观察到的结合水平之间<sup>23</sup>。但是, 杂合的病人的临床反应显示出与 FCGR3A-158F 纯合的病人相似。为了在体内得出与“基因-剂量”效应相反的结论需要在较大组病人中进行进一步的研究。

因为 FcγRIIIa 与对美罗华的较好反应有很强的相关性, 在开发新的针对 CD20 抗原的药物时需要把它考虑在内。例如, 有可能可以使用改造的美罗华来治疗患有 B 细胞淋巴瘤的 FCGR3A-158F 携带病人。

事实上，通过对 IgG1 下铰链区的不同残基进行修饰，Shields 等最近获得了能够比天然的 IgG1 更强烈地与 FcγRIIIa-158F 结合的 IgG1 突变体<sup>34</sup>。

5                   合在一起，这些结果允许在首先确定病人 FCGR3A 基因型的基础上建立新的针对 B 淋巴增殖性紊乱的治疗策略。因为该多态性在不同种族的人群，包括黑人和日本人中，具有相同的分布，这样的策略可以在世界范围内应用<sup>23,35,36</sup>。此外，这样的药物遗传学方法也可以适用于其它用于治疗 B 细胞恶性肿瘤，例如 Campath-1H 的完整的人源化 IgG1 抗体，或者那些用于治疗其它恶性肿瘤的人源化 IgG1 抗体，  
10                   例如 trastuzumab(Herceptin®)。在更普遍的意义，本方法可以适用于其它被开发用来减少靶细胞的完整的(人源化)治疗(IgG1)抗体。

#### 参考文献

- 15                   1. Maloney DG, Liles TM, Czerwinski DK 等: Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma(在 B 细胞淋巴瘤复发的病人中逐步增加地灌注单一剂量的嵌合的抗 CD20 单克隆抗体(IDEC-C2B8)的 1 期临床试验). Blood. 1994; 84: 2457-2466.
- 20                   2. McLaughlin P, Grillo-Lopez AJ, Link BK 等: Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program(复发的无痛性淋巴瘤的美罗华嵌合抗 CD20 单克隆抗体治疗: 一半的病  
人对四剂的治疗程序有反应). J Clin Oncol. 1998;16: 2825-2833.
- 25                   3. Maloney DG, Grillo-Lopez AJ, White CA 等: IDEC-C2B8(Rituximab)anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma(在复发的低度非 Hodgkin 氏淋巴瘤病人中 IDEC-C2B8(美罗华)单克隆抗体治疗). Blood. 1997; 90:2188-2195.
- 30                   4. Hainsworth JD, Burris HA 3rd, Morrissey LH 等: Rituximab

monoclonal antibody as initial systemic therapy for patients with low-grade non-Hodgkin lymphoma(美罗华单克隆抗体作为患有低度非Hodgkin 淋巴瘤的病人的起始的全身疗法). *Blood*. 2000; 95: 3052-3056.

5  
5. Colombat P, Salles G, Brousse N 等: Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) as first-line therapy of follicular lymphoma patients with a low tumor burden: clinical and molecular evaluation(美罗华(抗CD20 单克隆抗体)作为随时可使用的治疗方法用于患有低肿瘤负载的滤泡性淋巴瘤的病人: 临床和分子评估). *Blood*. 200; 97: 101-106.

10  
6. Coiffier B, Haioun C, Ketterer N 等: Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma: a multicenter phase II study(美罗华(抗CD20 单克隆抗体)用于治疗复发的或顽固性攻击性淋巴瘤病人: 多通道 II 期研究). *Blood*. 1998; 92: 1927-1932.

15  
7. Foran JM, Rohatiner AZ, Cunningham D 等: European phase II study of rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) for patients with newly diagnosed mantle-cell lymphoma and previously treated mantle-cell lymphoma, immunocytoma, and small B-cell lymphocytic lymphoma(美罗华(嵌合的抗 CD20 单克隆抗体)用于新诊断的套细胞淋巴瘤和以前治疗过的套细胞淋巴瘤、免疫细胞瘤和小 B 细胞淋巴瘤病人的欧洲 II 期研究). *J Clin Oncol*. 2000; 18: 317-324.

20  
8. Anderson DR, Grillo-Lopez A, Varns C, Chamber KS, Hanna N: Targeted anti-cancer therapy using rituximab, a chimaeric anti-CD20 antibody (IDEC-C2B8) in the treatment of non-Hodgkin's B-cell lymphoma(使用美罗华、一种嵌合的抗 CD20 抗体(IDEC-C2B8)的靶向抗癌疗法用于治疗非 Hodgkin 氏 B 细胞淋巴瘤). *Biochem Soc Trans*. 1997; 25: 705-708.

25  
9. Vose J, Link B, Grossbard M 等: Phase II study of rituximab in combination with CHOP chemotherapy in patients with previously untreated intermediate or high-grade non-Hodgkin's lymphoma (NHL)(美罗华与 CHOP 化学疗法相结合用于以前未治疗过的中度或高度非 Hodgkin 氏

30

淋巴瘤(NHL)病人的 II 期研究). *Ann Oncol.* 1999; 10:58.

10. Berinstein NL, Grillo-Lopez AJ, White CA 等: Association of serum Rituximab (IDEC-C2B8) concentration and anti-tumor response in the treatment of recurrent low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma(在治疗复发性低度或滤泡性非 Hodgkin 氏淋巴瘤中血清的美罗华 (IDEC-C2B8)浓度与抗肿瘤反应的关系). *Ann Oncol.* 1998; 9: 995-1001.

11. Harjunpaa A, Junnikkala S, Meri S: Rituximab (anti-CD20) therapy of B-cell lymphomas: direct complement killing is superior to cellular effector mechanisms(B 细胞淋巴瘤的美罗华(抗 CD20)疗法: 直接的补体杀死超过了细胞效应机制). *Scand J Immunol.* 2000; 51: 634-641.

12. Reff ME, Carner K, Chambers KS 等: Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20(在体内通过一个针对 CD20 的嵌合的小鼠-人单克隆抗体减少 B 细胞). *Blood.* 1994; 83: 435-445.

13. Idusogie EE, Presta LG, Gazzano-Santoro H 等: Mapping of the C1q binding site on rituxan, a chimeric antibody with a human IgG1 Fc(Rituxan, 一个带有人 IgG1 Fc 的嵌合抗体上的 C1q 结合位点的作图). *J Immunol.* 2000; 164: 4178-4184.

14. Golay J, Zaffaroni L, Vaccari T 等: Biologic response of B lymphoma cells to anti-CD20 monoclonal antibody rituximab in vitro: CD55 and CD59 regulate complement-mediated cell lysis(B 淋巴细胞在体外对抗 CD-20 单克隆抗体美罗华的生物学反应: CD55 和 CD59 调节补体介导的细胞裂解). *Blood.* 2000; 95: 3900-3908.

15. Shan D, Ledbetter JA, Press OW: Apoptosis of malignant human B cells by ligation of CD20 with monoclonal antibodies(通过用单克隆抗体连接 CD20 引起的人恶性 B 细胞的凋亡). *Blood.* 1998; 91: 1644-1652.

16. Shan D, Ledbetter JA, Press OW: Signaling events involved in anti-CD20-induced apoptosis of malignant human B cells(参与抗 CD20 诱

导的人恶性B细胞凋亡的信号事件). *Cancer Immunol Immunother.* 2000; 48: 673-683.

5 17. Hooijberg E, Sein JJ, van den Berk PC 等: Eradication of large human B cell tumors in nude mice with unconjugated CD20 monoclonal antibodies and interleukin 2(在裸鼠中用非结合的 CD20 单克隆抗体和白细胞介素 2 根除大的人 B 细胞肿瘤). *Cancer Res.* 1995; 55: 2627-2634.

10 18. Funakoshi S, Longo DL, Murphy WJ: Differential in vitro and in vivo antitumor effects mediated by anti-CD40 and anti-CD20 monoclonal antibodies against human B-cell lymphomas(由针对人 B 细胞淋巴瘤的抗 CD-40 和抗 CD-20 单克隆抗体介导的体外和体内抗肿瘤效应的区别). *J Immunother Emphasis Tumor Immunol.* 1996; 19: 93-101.

15 19. Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV: Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets(抑制性 Fc 受体在体内调节了针对肿瘤靶的细胞毒性). *Nat Med.* 2000; 6: 443-446.

20 20. Fijen CA, Bredius RG, Kuijper EJ 等: The role of FcD receptor polymorphisms and C3 in the immune defence against *Neisseria meningitidis* in complement-deficient individuals(在补体缺乏的个体中 Fc $\gamma$ 受体多态性和 C3 在针对脑膜炎奈瑟氏菌的免疫防御中的作用). *Clin Exp Immunol.* 2000; 120: 338-345.

20 21. Dijstelbloem HM, Scheepers RH, Oost WW 等: Fc $\gamma$  receptor polymorphisms in Wegener's granulomatosis: risk factors for disease relapse(Wegener 氏肉芽肿病中的 Fc $\gamma$ 受体多态性: 疾病复发的风险因素). *Arthritis Rheum.* 1999; 42: 1823-1827.

25 22. Myhr KM, Raknes G, Nyland H, Vedeler C: Immunoglobulin G Fc-receptor (Fc $\gamma$ R) IIA and IIIB polymorphisms related to disability in MS(免疫球蛋白 G Fc 受体(Fc $\gamma$ R) IIA 和 IIIB 多态性与 MS 中的能力丧失相关). *Neurology.* 1999; 52: 1771-1776.

30 23. Koene HR, Kleijer M, Algra J, Roos D, von Clem Borne AE, de Haas M: Fc $\gamma$ RIIIa-158V/F polymorphism influences the binding of IgG by natural killer cell Fc $\gamma$ RIIIa, independently of the Fc $\gamma$ RIIIa-48L/R/H

phenotype(FcγRIIIa-158V/F 多态性影响 IgG 与自然杀伤细胞 FcγRIIIa 的结合, 与 FcγRIIIa-48L/R/H 基因型无关). *Blood*. 1997; 90: 1109-1114.

24. Wu J, Edberg JC, Redecha PB 等: A novel polymorphism of FcγRIIIa (CD16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease(FcγRIIIa (CD16)的一个新的多态性改变了受体的功能并导致易感染自身免疫疾病). *J Clin Invest*. 1997; 100: 1059-1070.

25. Sondermann P, Huber R, Oosthuizen V, Jacob U: The 3.2-A crystal structure of the human IgG1 Fc fragment-FcγRIII complex(人类 IgG1 Fc 片段-FcγRIII 复合物的 3.2-A 晶体结构). *Nature*. 2000; 406: 267-273.

26. Harris NL, Jaffe ES, Stein H 等: A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group(修订的欧洲-美国淋巴瘤生物分类: 国际淋巴瘤研究组的提议). *Blood*. 1994; 84: 1361-1392.

27. Brice P, Bastion Y, Lepage E 等: Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine, or interferon alfa: a randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte(最初未治疗的、松龙苯芥治疗的或α干扰素治疗的组之间低肿瘤负荷的滤泡性淋巴瘤的比较: 随机化的研究). *J Clin Oncol*. 1997; 15: 1110-1117.

28. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B 等: Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working(NCI 赞助的国际工作组关于对非 Hodgkin 氏淋巴瘤的反应标准进行标准化的国际研讨会报告). *J Clin Oncol*. 1999; 17: 1244.

29. Jiang XM, Arepally G, Poncz M, McKenzie SE: Rapid detection of the FcγRIIA-H/R 131 ligand-binding polymorphism using an allele-specific restriction enzyme digestion (ASRED)(使用等位基因特异性限制性酶消化(ASRED)快速检测 FcγRIIA-H/R131 配体结合的多态性). *J*

Immunol Methods. 1996; 199: 55-59.

30. Kaplan E, Meier P: Nonparametric estimation from incomplete observations(根据不完全观察进行的非参数性估算). J Am Stat Assoc. 1958; 53: 457-481.

5 31. de Haas M, Koene HR, Kleijer M 等: A triallelic Fc $\gamma$  receptor type IIIa polymorphism influences the binding of human IgG by NK cell Fc $\gamma$  RIIIa(一个三等位基因的 Fc $\gamma$ 受体型 IIIa 多态性影响了人 IgG 与自然杀伤细胞 Fc $\gamma$  RIIIa 的结合). J Immunol. 1996; 156: 3948-3955.

10 32. Peltz GA, Grundy HO, Lebo RV, Yssel H, Barsh GS, Moore KW: Human Fc $\gamma$  RIII: cloning, expression, and identification of the chromosomal locus of two Fc receptors for IgG(人的 Fc $\gamma$  RIII: 两个 IgG 的 Fc 受体的克隆、表达及染色体上的定位). Proc Natl Acad Sci U S A. 1989; 86:1013-1017.

15 33. Schnackenberg L, Flesch BK, Neppert J: Linkage disequilibria between Duffy blood groups, Fc $\gamma$  IIa and Fc $\gamma$ IIIb allotypes(Duffy 血液组 Fc $\gamma$ IIa 和 Fc $\gamma$ IIIb 等种型之间的连接不均衡性). Exp Clin Immunogenet. 1997;14: 235-242.

20 34. Shields RL, Namenuk AK, Hong K 等: High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc $\gamma$  RI, Fc $\gamma$  RII, Fc $\gamma$  RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc $\gamma$  R(人类 IgG1 上的 Fc $\gamma$  RI、Fc $\gamma$  RII、Fc $\gamma$  RIII 和 FcRn 结合位点的高分辨率作图以及与 Fc $\gamma$  R 具有改进结合的 IgG1 变异体的设计). J Biol Chem.; 276: 6591-6604.

25 35. Leppers-van de Straat FG, van der Pol WL, Jansen MD 等: A novel PCR-based method for direct Fc $\gamma$  receptor IIIa (CD16) allotyping(使用一种基于 PCR 的新方法对 Fc $\gamma$ 受体 IIIa (CD16)进行直接的同种异型分型). J Immunol Methods. 2000; 242: 127-132.

30 36. Lehrnbecher T, Foster CB, Zhu S 等: Variant genotypes of the low-affinity Fc $\gamma$  receptors in two control populations and a review of low-affinity Fc $\gamma$  receptor polymorphisms in control and disease populations(低

亲和性 Fc $\gamma$ 受体在两个对照人群中的变异基因型以及对照和疾病人群中低亲和性 Fc $\gamma$ 受体多态性的综述). *Blood*. 1999; 94: 4220-4232.

表 1、按照 FCGR3A-158V/F 多态性分类的病人的特征

	FCGR3A- 158VV	FCGR3A- 158VF	FCGR3A- 158FF	P*
n (%)	10(20%)	22(45%)	17(35%)	
性别				
男	3	12	10	ns
女	7	10	7	
疾病阶段				
II-III 期	3	6	6	ns
IV 期	7	16	11	
是否包括骨髓				
是	7	16	9	ns
否	3	6	8	
包括的额外结点数				
<2	8	20	13	ns
≥2	2	2	4	
在外周血中的 BCL-JH 重排	8	12	11	ns
在骨髓中的 BCL-JH 重排	7	12	11	ns

5 \*纯合的 FCGR3A-158V 病人和 FCGR3A-158F 携带者和纯合的 FCGR3A-158F 病人三个组对 FCGR3A-158V 携带者的统计学比较。

表 2、通过 FCGR3A-158V/F 多态性对美罗华的临床反应

	FCGR3A-158VV	FCGR3A-158F 携带者	P*
M2 时的临床反应			
目标反应	10(100%)	26(67%)	0.03
完全的症状缓解	3	7	
未证实的完全症状缓解	1	2	
部分反应	6	17	
无反应	0(0%)	13(33%)	
无变化	0	10	
疾病发展	0	3	
M12 时的临床反应			
目标反应	9(90%)	20(51%)	0.03
完全的症状缓解	6	11	
未证实的完全症状缓解	1	2	
部分反应	2	7	
无反应	1(10%)	19(49%)	
无变化	0	2	
疾病发展	1	17	

\*纯合的 FCGR3A-158V 病人对 FCGR3A-158F 携带者的统计学比较。与三个基因型亚类相关的数据在文中给出。

5 表 3、通过 FCGR3A-158V/F 多态性在 M2 和 M12 时对美罗华的分子反应

	FCGR3A-158VV	FCGR3A-158F 携带者	P*
M2 时的分子反应			
BCL2-JH 重排的清除	3	5	ns
BCL2-JH 重排的保持	3	14	
M12 时的分子反应			
BCL2-JH 重排的清除	5	5	0.03
BCL2-JH 重排的保持	1	12	

- 
- <110> 图尔地区及大学医疗中心 (CHRU de Tours)  
英那特发玛公司 (INNATE PHARMA)
- <120> 评估抗体治疗反应的方法和组合物  
(Methods and compositions to evaluate antibody treatment response)
- <130> SCT041074-47
- <140>
- <141>
- <160> 8
- <170> PatentIn Ver. 2.1
- <210> 1
- <211> 21
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工序列描述: FCGR3A 特异引物
- <400> 1  
atatttacag aatggcacag g 21
- <210> 2
- <211> 20
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人工序列描述: FCGR3A 特异引物
- <400> 2  
gacttggtac ccaggttgaa 20
- <210> 3
- <211> 32
- <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 扩增引物

<400> 3

atcagattcg atcctacttc tgcagggggc at

32

<210> 4

<211> 32

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 扩增引物

<400> 4

acgtgctgag cttgagtgat ggtgatgttc ac

32

<210> 5

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 扩增引物

<400> 5

ggaaaatccc agaaattctc gc

22

<210> 6

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 扩增反义引物

<400> 6

caacagcctg actacctatt acgcggg

27

<210> 7

<211> 254

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：人 FCGR3A158F 的氨基酸序列

<400> 7

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala

1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro

20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln

35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu

50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr

65 70 75 80

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu

85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln

100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys

115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn

130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro

145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Phe

165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln

	180		185		190										
Gly	Leu	Ala	Val	Ser	Thr	Ile	Ser	Ser	Phe	Phe	Pro	Pro	Gly	Tyr	Gln
	195						200				205				
Val	Ser	Phe	Cys	Leu	Val	Met	Val	Leu	Leu	Phe	Ala	Val	Asp	Thr	Gly
	210						215				220				
Leu	Tyr	Phe	Ser	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Arg	Ser	Ser	Thr	Arg	Asp	Trp
225					230					235				240	
Lys	Asp	His	Lys	Phe	Lys	Trp	Arg	Lys	Asp	Pro	Gln	Asp	Lys		
			245					250							

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 22685

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列描述: 人 FCGR3A158F 的核酸引物

&lt;400&gt; 8

```

cagcctggct gacacagtga gacctcatct ctaaaaaaaaa aagcaagcag aatattttct 60
taaaaggcaa ttatattcct tcttggccag gccagtggc tcacacctgt aatcccagca 120
ctttgggagg ccgagatggg tggatcacct gaggtcagga gttcgagacc agcctggcca 180
acatggcgaa aaccctgtgc tactaaaaat acaaaaatta gctgggcatg ggggcatatg 240
cctgtaatcc cagctacttg ggaggctgag acaggagaat cgcttgacc cgggaggcag 300
agattgcagt gagccgatg catgccactg cactccagcc ttggcgacag agtgaggctt 360
tgtctaaaaa aaaaaaggta tttttgcct ctctgttgg accaattggt aaattctttg 420
tggaccactg atgcttacca aaaaaaaaaa aaaaaaaagt gggggcatca tatttctct 480
agttgacatt aagacacagt aatttagcca gaggagatct tagcaaacat acagtccaca 540
ctccactttc tcatttcatg attgtagaga ctgagatcta gacaatttaa tcggtggtca 600
cctgggtga catagctagg tctagagctc ctggtctcca ggtcagcatt tctttcttct 660
tcattaaatg tcaagtttcc tcccctgttc attattagct ccttccagaa agagagtttc 720
ttatcttttt agtaggtact cagtaaatac caaggtatc actaggatgc ctttggatga 780
agtaacaag ccctgactta aattggctta aacagcaggg aaatttactt gaaattgtaa 840
gaaatctggg ttggttgcgt tagaagctca gtgatgtcac caagaccata ttctatcct 900
ccactctgtc ctccctggct atttggcatt gacctcagac tggtgcctt caaatctta 960
ggttttgcca gcagaaccta ggacaaaatg agcccttggt catgtacagt gggagagaga 1020
gatcatctct cccaaacatg gcactcccct ctaccagatt ggccctattt aggacaaagt 1080
tcgctcttct cccacttaac caataaaagc caggggaatg ctacaccctg agtggcttag 1140
atcagtcaag atccacctct gcatatgagg gtgattcctg aatagaatca aggttatatt 1200

```

agaagggagg gagagggatg gatatcaggc tagtacatca tattctattt gttgagttaa 1260  
 ctgagtcata gcaattgttg agttggaaaa aactcagaac ctactgtgga ttcaagtca 1320  
 agaaatcatt ctttctaca tacaacagca ttgctctgta gccctgagct aagagagcat 1380  
 cacgaaatac agtcttcttg ctgtttataa tcgtaagcaa actcttggac ctgggagggg 1440  
 atgaatggat aatgtctgtc tgacttgctt ctttctagtt agtaccaact acctcccttc 1500  
 ttctctgat tgttcttaga ataggataaa aaatcttccc ttccctagat cttacagtct 1560  
 ccccttcccc caggcctttc tattttcag gattttactc taatcacacc accgaagaat 1620  
 caagaaatct ttaaagtgtg ttagagtagc tagttgtggc agcactaaaa cacggctgca 1680  
 aattctttga cactctctcc atcaagaaat gaggcctaca tcctctacce ttgaatctgg 1740  
 gtgggcttat aacttctggg gattagacta cagcagaaag agaagctgta tagcttcccta 1800  
 aatgttataa agtcttaagg atagctgcca gcaagacctt aggacaaaat gagcccttgt 1860  
 tcacgtccag tgggagagag agagagagac cctctctccc aaatatggca atcctctcta 1920  
 cctataacat ttacataaat gttatagggt aaacgttcca caacaaacta agtactattt 1980  
 aacatcaaga ggaaaaagag acaggagaaa gggtaataa gcctgttgat gaggatctaa 2040  
 gaagaacaaa ggaggcctgg tttgggcctg gctaccggtt ggtcttgcaa agaagagtct 2100  
 gaggtggcag agccttcagt ggcagatgcc aaattatcat catgagtgc tgcaagacag 2160  
 tgtcagctaa gatagccatt tcaagctgt gaaggccttc tcttttagtc gtggagtctt 2220  
 gtgataagaa ctgaaagtgt gaagagtgtg cttgtctgtg gccttatttg gtcggatgca 2280  
 gtctttatca tttttaattt gtttcttaga acattttatc ttgttggcca aatgccctac 2340  
 gaaatataaa atggagtctt tttctaagat ggagttagtt atgtcaaggg tcctttatac 2400  
 agtcttcatc ctttttcttg gcatacaact ctaaaaatcc ttagaatctc caaagtgatg 2460  
 tcttttggtg tgctaatgag gtaactgatg gctggcagct cttaggtage ttcataacag 2520  
 gggctgggca caagaaagat catggcaagg tcagaggatt ggggctttca gctccacct 2580  
 ccaaactccc tctgggaagt ggagaggggc tgaaggttga attgatcacc aatagccaat 2640  
 gacttaatta atcattccta agtaataaag ctcccataaa aaccctaaaag gacagggttt 2700  
 ggagatcctc cagagagccg aacacagaga ggttcttggg gggtagtgca ccagagggca 2760  
 tggagctcc aagccccttc ccacaggtct tgccctatgt actctttact tgtgtccttt 2820  
 gtaatattct ttatcacaaa ctgataaatg taaatgtttc cctgagtact gagagccact 2880  
 ctagcaaat aattgaacct aagatgcagg tgggtgggaa cccatttat aactggttgg 2940  
 tcaaaagcac aggtaaaaca acctggggct tcctctgga gtatcagaag tgtcttgtga 3000  
 gactgagccc ttcacttgtg tcacctgatg ctatttcag ttagatagt ttggaattca 3060  
 attgaatttg agcagaagtc ccaatcccca gacctgtagt tgtcagtgc ctcttaggaa 3120  
 ctgggctgca cagcaggaag tgaggggagc gtggggagca aagctttatc tgtatttaca 3180  
 gtagatcccc atggctcaca tcaccgctg agtcctctc cctatcagat cagctgtggc 3240  
 attaaattat cacaggagca tgaaccctat tgtgaagtac gcatgcaagg gatctaggtt 3300  
 gcattctcct tatgagaatc taatgcctga tgacctggca ttgtctcca tcaccctaga 3360  
 tgggactgtc tagttgcaag aaaacaagct cggggctccc cctgattcta cattatggta 3420  
 agttgtataa ttacttcatt aaatattaca ctgtaataat aatagaaatg aagtgcacaa 3480  
 taaatgtaat gcacttgaat catcctgaaa ccatcccca ccccctacc cctgtccgag 3540  
 gaaaaattgt cttccatgaa gccaatccct ggtgcaaaa attttgaga cactggatt 3600  
 agaagacacc cagtttgtgc ccactgctga attgcttgc tgccttgcctt cttgcttggc 3660  
 agtggagaga aatccccaca tatctgttgt cagaaatgtg ttgtgagagc atagtgggag 3720  
 gaactgagtt tgtttttct acagttacag caataggtaa ctggaattca actgctggac 3780  
 tataccaaag actgccaggc cagcctacct ttctcacagc cttcttgact acctgtcttg 3840

gatgagctca ctgaaagccc acataccttc attctagcat ttccctcagtc tggttgagct 3900  
gctttggagg taatacaggt tgtaggactt ccctccactc ctgctcagga ccgttttcag 3960  
caggctaatac agacagcagt tggcactgag tacaactgga gaaatgttat cagcactgaa 4020  
gactgctcca gctacaaatg cacagcgacc cacctcagct ggacctttgg cattgcttgg 4080  
caatcettac aactgtttgg aattcttggg aattcttcta catacaaaca gtcggctcct 4140  
tctcccatgc accacaatgg ccattctcaa ctctgggtgt ctcaaacccc caccacaact 4200  
gttaccact ctttctcgac aagtgtcttt gactcctcct taaccaagaa aatcaggacc 4260  
agcagatgtg gatggtcact caacatctga aatggattt gcatatgtac cccctcagct 4320  
cctgccttca gctcagagcg agaggtaatc cgtatccagt tcacagccaa ctccctgtcc 4380  
atgtcccatt cccatctcct caggaccac acttgcttct ctaggtgttc cgtccctgtt 4440  
aggcatccaa ctctccac cctgctggct tcttcccaa gacctataac caagctcgt 4500  
tcttactt aaaagaaaac aaaaactccc attctctgt aactacctt gcagaattgt 4560  
gtctgaaaca gtgagagaga tctaacttaa ttgactccat cttgcttcta acctccaagc 4620  
tgtcttctt cattcttggg cataggctga actaacttt ggagaaactt agtttatagt 4680  
ttgtggttta aagcaaagat gataacagc ctttccagg gcagacctc ttttttctg 4740  
aagactagat tgtctttgta ggactaacat tagccacaag attggaatt atggtttagg 4800  
aatcatgcag gtggaggcta caagattctg acccttcta agcactgatc ctaagatcgg 4860  
tgcttgagat attttgcaga ccctgcactt gatggatcac ctggcaacac ccagatcaat 4920  
aaactggctc atctgatctt gtggtgccc cccaggaact gactcagaac aagaagacag 4980  
cttcaacttc ctgtgatttc atccctgacc aatcaacact cctggctcac tggcttccc 5040  
tccaccaacc aagtgtctt taaaaactct gctccccgaa tgctctggaa gactgattg 5100  
agtaataata aaactccagt ctctggctca gtcagctctg catgaattac tctttctcta 5160  
ttgcaattcc cctgtcttga tgaatcagct ctgtctagtt accatcctc acttctcctt 5220  
tcttatgtg tcaacttagg ctctgggtta taaacaactt taccagaate cagatctttt 5280  
aagtagagga aaaagattta ttggatggaa actagaggag gtgagccat cccactgctg 5340  
tgatgactgg gaccaacca tctcctctc ctagaagtga atctccctta tgagtaaaca 5400  
agtgctactt attcaggatt catctcagaa gagactctaa tggccaaac ctcagttata 5460  
tgctgtcct ctgtctgcct gtatcagtt gctagcactt ttataacaaa gtaccacaga 5520  
ctgggtggct taaacaacaa aatgtattt tcttacagtt cttgaggctg caagtccaag 5580  
atcaagggtg tgacagggtt ggtttctttt aattttttt taaaaattt tatttttagat 5640  
ttaggggtat gcgtgcaggt ttgctacata ggtaaacctc taccagggg gttgttgca 5700  
cacattatt catcaccat gtactaagcc tagttactca atagttattt tttccgatcc 5760  
tctcctctt cctaccctc accctcaagt aggccctcag gtgtctgttg ttcttcttt 5820  
gagtcacatag ggttggttt ttctgaggec tctctcctg gctttaggt gtccatctt 5880  
tcctgtatg ggtctgtgtc ccaactaaca aggacatcag tcatattgga ctagagccca 5940  
cctaattgatt ttattttaac ttaattacct ctttaaaggc tctatatcca catatagtca 6000  
catcctgagg tatagggggt tccacatgtg gacttcaaca tatgaactgg gagagacaaa 6060  
athtagtct taatagtgcc ccaaagtggg gaaaaggaag atctggacc tgggtttcc 6120  
atagtagaaa gcaatcactg ctttctatta agtactcaca gtggggctt tccagaaaga 6180  
atgatatgct aataagaagg ggaggaggaa gtgatcctgg acagccagat gatatgtgca 6240  
ctattccttc ataattggaga ttctgaagag gagaagcact tgactaaaca ctttttcatt 6300  
cctactcctg cttaaccaa aagctgtcaa acttctgtt ctcagccca gccctgaaa 6360  
ttgctcagga aaaggtcatt aatagttcct tgattgcat attcaatca aactcttgtt 6420  
tgaattctt tctacaacat taatactgtt actgttgact actccttct tgaagatctg 6480

ttcccactaa acttccttgt tccctcctct tcagcccctc ctatacaaac tcctttgtca 6540  
 gctatttttc ctgtgcacgc ttcaaaaatg tttgcatgtc aagtttctgt cattgactct 6600  
 ctctcttctt cctctcccctc tcaatcccctc cttcctttcc ctcactgttt ccctttaatt 6660  
 ctctctcaat actcttacag tttcagagat cttatcctta ctttatctta acctaggatc 6720  
 tctggatgga ttcaaataga gcttcttaaa ttaaaggaaa cataatgtgt atatttgcac 6780  
 cctttcttgg gagaaggccc aaagggtttt atcagagggt tgaacctca accgtgttg 6840  
 tgcctcctaa attgtgtctt ttgtcaagac ctgtcttctg agttccaggg ccatgtgtct 6900  
 cactgcctac tggaaatctt cacctgaaac cttcacaget acctcaaact caataacatc 6960  
 aaaagctgaa atcattgtct ctcctccca aagcctgctc atcttccat ttttctttg 7020  
 tccatgaaag ctactgcat cctccttacc acccaaatta gaaatccgag catcaccag 7080  
 acctctccc cttcatcacc ctcagccaa tcactacca agtcttctc atccttctt 7140  
 cctaacttct ctctggatg cttccattgc atatccactt tttaaacaga gtggctctt 7200  
 tctcaactag actgttgaat taatcttcca acttttccct ccacctcca tctctctccc 7260  
 ctctaactca ttcttggac tgctgtcaga gtacttttca taaaatataa aacagatctt 7320  
 gtgattcccc agtctaaagc ctttttatta gtcccatta ccttttagaa taaaatag 7380  
 actgttcatc ctgacacaca aaactcttcg tgataaatac taattgagtg cctagtagt 7440  
 gcctgccctt gtgctaaatg ttgagggtac aggggtaaac aagggtgaaca gcttccctgc 7500  
 tctccaagac ctttcagtc acaaatgcaa tgagtttaca gaggagaagc acaagctct 7560  
 aaaggagtgg ggggtggggtt gggggtcaga acctaattha gaaaattgag gaaggtctca 7620  
 acctccatc ttgcatttac aatagtaatc agcagggtgtg gtaccaaata tggaaacca 7680  
 aattttatct gcattatctc atttaagcca tgagtgcct tattgttagc ctactttac 7740  
 agataaggaa actgagggtc agaaggttaa ataagtggca gagttgggat ttcctccaga 7800  
 ttctgtgag acccagacat cttaatcctt ttggaacctg tgcttctcct ttgtagtact 7860  
 cactacactt gtggaactac atccaactac acttgtggaa ctacagccag ctctgcaaac 7920  
 atgacagtct acttactc aagtcttgc tcatgtgtc cctcttgctt ggaatgccta 7980  
 tttctctcaa aaatcttct gctgaatatt ttgcatctc attaaagtgt tctctctcc 8040  
 atgtacactc ctccctcaga tagaattagc cactgtcttc tttgtgcata cacagcattt 8100  
 cataaatact gtcacagtc ctctagcact tcaaatactt atctgatgtt ctccccctaa 8160  
 gaaactgtaa gtctagagg atgacaatca actgaattcc atagtacaga acttctgctg 8220  
 tgcttgccct tccaatgaga aaaggagaga agaggagggg aaggaagaaa aagggaagga 8280  
 gaagaaagaa aagcaaacat gaagataaac acttcaatat atgatatccc aagaccatct 8340  
 accttttgt aaaaattttg cttttttttt ttcccccca agagtacagg tctcactctg 8400  
 tcgcccaggc tagagtgcag tgccatgaac ataactcact gtagcctcta actccggggc 8460  
 tcaagcaatc ctctgcctc agcctcctgg gtagctggga ctacaggcat gcaccaccac 8520  
 atctggctat tattattatt actatattag tagagatggg gtctttctat gttgcctagg 8580  
 ctggctctca attcctggcc tcaagcaatt cttccacctc acattggcct tccaaagtgc 8640  
 tgggattaca ataagccacc ataggccaaa attttgcatt ttatccatta ctgtaaaatt 8700  
 aacccttaga aatccaacaa cactcaattt gagaattgtt caacaaccac ttaatgaaaa 8760  
 ccccctgaaa gcttcccac cttgtgcagt ccctttctct cctcctgtgc tctctctct 8820  
 tcttctatc tagcccacc ttttggcagc taagaattcc tccctccatt ggagagccac 8880  
 agaccaaga ggagtcaaat aagaaaataa gacctcaaag aaggaaaaca aagtgaaggc 8940  
 cttgcatcag aagtcacgtg gcagaaagcc acctggatat ctgaaaagaa gaaagaattg 9000  
 aggatattcc gctttttgcc tcagagacca tccttagccc tgaaggctt gtttctgctt 9060  
 taggtttccc agataagcat ccgaagtgtc acagcaagga actttaagtt tccagatact 9120

tgtctggatt ttgcaaggcg tagatgagtc acttgagaag gagaactgga atggctgcct 9180  
 gggttcattt ccatgtcca atccaagggc ctgtggagaa ggggctgctg caagactctg 9240  
 tgtgtggcgg ggggaggggt ggttacgtgg atggcaatgg gaggatcaat taactccacc 9300  
 caggagccaa atgaaacaca caaataaaaa acaaaacctg agtagtggtt tttaggtcat 9360  
 tctggagtag aaagagcatt catttatagc aaaggttggc gggcacctgt gtcagcccct 9420  
 gcctccactc caccctaac aagtatcagg tgcacacacg ggccctgctg tcgctcctg 9480  
 ggcttttcta agccaggtga gacctgtccc agatgtccac gaatccactg ggggagtggc 9540  
 actatcaagc agagtcactt gattttctgc ctgggacctg gaccattgtg agagtaacca 9600  
 acgtgggggt acgggggaga atctggagag aagagaagag gttaacaacc ctcccacttc 9660  
 ctggccaccc cctccacct tttctggtaa ggagccctgg agccccggct cctaggtgta 9720  
 cagaccagcc cagatccagt ggcccggagg ggccctgagct aaatccgcag gacctgggta 9780  
 acacgaggaa ggtaaagagt tctgtcctc gcccctccc acccccacct tttctgtgat 9840  
 cttttcagcc tttcgtggt gacttgttct tccagggccc atttctctac cctacctggg 9900  
 tttcttctaa cctggaatc taatgatcaa atcacactaa aaagtcaagta gctcctgtgg 9960  
 attacatc ccaggagcat atagatttg aatttgaat tttgaaaga attctgcgtg 10020  
 gagataatat tgaggcagag aactgctag tggctgaag atttgaag accactttct 10080  
 gtgtgcaggc agggcctcag ctggagatag atgggtctgg gcgaggcagg agagtgaaa 10140  
 gttctgaggt gaaatgaagg aagccctcag agaatgctc tcccacctg aatctcacc 10200  
 ccagggtctc actgtcccat tcttgggtgct gggtggatcc aaatccagga gatggggcaa 10260  
 gcatcctggg atggctgagg gcacactctg gcagattctg tgtgtgtcct cagatgtca 10320  
 gccacagacc tttgagggag taaagggggc agaccaccc acctgcctc caggctctt 10380  
 ccttctggt cctgttctat ggtggggctc ccttgcaga cttcagactg agaagtcaga 10440  
 tgaagttca agaaaaggaa attggtgggt gacagagatg ggtggagggg ctggggaaaag 10500  
 gctgtttact tctcctgtc tagtcggttt gtcccttta gggctccgga tatctttggt 10560  
 gacttgtcca ctccagtgtg gcatcagggg ctggggaaaag gctgtttact tctcctgtc 10620  
 tagtcggttt ggtcccttta gggctccgga tatctttggt gacttgtcca ctccagtgtg 10680  
 gcatcatgtg gcagctgtc ctccaactg ctctgtact tctaggtgag tcagggtctc 10740  
 cctggttag ggagaagttt gagatgcctt gggtcagca gagaccctt ttcaggctac 10800  
 gaatgagact cccacgaagg gatgggacct ctcaccacat ctatagctgt ggattgagct 10860  
 cctaggacaa gccaatgagg ggctagaaat gaggagaatg ctggttcaa ttggggcata 10920  
 ctcatgagtg aggccagtca cttaccctt ctgggtcca gaatcactct gtggaaccaa 10980  
 agagcttca ctagatggtc ctagggtct gtctcttca gtttgacatt ccagggttct 11040  
 cctctatgat tttcaattc tacccttct tgtggggata tgggttagg ctctttctgt 11100  
 agcttggttc agggaaatc aacctgtacc ctaatttgt gagtttgac agggagcaag 11160  
 gggtaaggga gcagtgtga aatagggat ttgtgtgac agtggcgca gaggcagaa 11220  
 cagtggagac cagagagcag gtagcaaggt tccaccaga aacatcctga ttcttggaa 11280  
 aattgggctc ctggggcaga ggagggcagg ggagttttaa actcactcta tgttctaata 11340  
 actctgatct ctgcccctac tcaatattg attatcttt tttcttgag tttcagctgg 11400  
 catgaggact ggtgagtcag cttcatggtc ttgattgac ccagtggggc acatattggg 11460  
 acaaaggcca taagatatg ggaatgctt gttgaatggg aaaatgctga tgtggggtta 11520  
 gcagggatag ttcctcaac acagcagaac ttggccctgt gcttctctgg ccagcttcc 11580  
 ttaagatact gaacaggcca aaaatggggc caagatgctc taagactgag ccaccaagca 11640  
 tgggtttgca atgagctcat tctggcttg aggtccctg ggaatggcag ttagagcct 11700  
 gctcctctcc ctgtcctcac cccacattat cttggctcct cagaagatct cccaaggct 11760

gtggtgttcc tggagcctca atggtacagg gtgctcgaga aggacagtgt gactctgaag 11820  
 tgccagggag cctactcccc tgaggacaat tccacacagt ggtttcacaa tgagagcctc 11880  
 atctcaagcc aggctcagag ctacttcatt gacgctgcca cagtcgacga cagtggagag 11940  
 tacaggtgcc agacaaacct ctccaccctc agtgaccggg tgcagctaga agtccatata 12000  
 ggtgagttga tgaaggggaa gaggaaaatc accaataaag ggtgaaacaa agggctctga 12060  
 aatacttggg aagagccaga gatgatattc ttagagataa aagctaagat gagatgatgt 12120  
 gtggtcccac tgaatggtat cagagttgta gtcttagctc taagtaggtc ttgggcaaaa 12180  
 tgtcaaagcc tgcagacag tagatatagg actgctgcat tgcacaattc caagaatccc 12240  
 catatggagt gcatacaatg tgaatgtgtc atgtgaaggg taggcatggg catagatgct 12300  
 caataatagt tatttatata tttatattca ttttttttaa ttttattttt tgagacagag 12360  
 tactactctg tcaccagcggc tggagtgcaa tgcggcaatc tcagctcact gcaacttctg 12420  
 ccccttggg ttgtagtgat tctcctgctc cagcctcccg agtagctgag attacaggca 12480  
 cccgccacca cgccagcta atttttgat ttttagtaga gacagggttt caccatgttg 12540  
 gtcagtctgg tctcaaactc ctgacctcag gtgattcacc agccttggct tcccaaagtg 12600  
 ctgggactac aggcgtgagc caccacacct ggccaataat atttattgaa taaattaatg 12660  
 aatttgggtg taggacctca atctccttct cgctctcaga catgtaatgc cctaagccac 12720  
 ctcccaaagc aatcctagtg gcctagcctc atatcttctc gtctcctcat caatgctata 12780  
 ctcaaaccta taattaagca taaatttggg aatgtgatag ctcttccaat agaggcagat 12840  
 acatgttcag cctgcacatt aatcatgaca tgaagttctc tgtgtactat taacagaata 12900  
 tagacgtcag acacaggtag gagaaatatt ttgaaggcag aggtctttcc tgggtctcct 12960  
 acaatcttac cacataggct ggtccctgca gtgtcgcctc gcaaacctaa ctctacttcc 13020  
 acggctgttc cattcataca atgtttatgg gtggaacaag ctttggggga agaagggcat 13080  
 aaggaggtgg atctgcaaga gagctccatg gaattggggc tctgaaactg atttttgtgg 13140  
 ctctttggcc tctgacagta cactcaact gacatggtct tctctcca gagctacaag 13200  
 aagatatgtc catttctagc taggtaagag atgtccacct acaaccaaataaaaatggggg 13260  
 aattaccaag agaaagcaat agaaaaatca agtctaagag ttactagttt gccttgaact 13320  
 tggctctaga aactggcttt agaagtctag ccaatcaagg ctatattaaa ctgtgacat 13380  
 gagaattagc ttcaccaggt aaacttctga gcatccttta atcctttagg acccatttca 13440  
 cttatgtcct cctctgagaa gcatttttta cttctttttt tgtttgtttg tttgtgtttg 13500  
 tttttgtttt tgtttttgag acagagtctc tctctgtcac ccaagctgga gtgcagtggc 13560  
 gcaatcttgg ctactgcaa cctccacctc cgggttcaa gcaattctcc tgcctcagcc 13620  
 tcccaagtag ctgggactac aggtgcatgc caccagccc ggctaatttt ttgtattttt 13680  
 agtagagaca gggtttcgca gcgttagcca ggatggtctt gatctcctga cttcatgatc 13740  
 tgcccacctc ggctcccaa agtactagga ttacagatgt gagccaccgc gccagcctg 13800  
 cattttttac ttctttcagg cagaatttct ttattccaat ctagtccagc ccgcagtcct 13860  
 ttattcttag cctgtttag cacttgtcat attgtattgt gattatttct gaatatttat 13920  
 gtttctatgt ctgactgta gattctttga ggctgagaac tatatgtccc atcatctggg 13980  
 tatctccagt ccacagtgtg tcatacatag tgagtgttg atgaaatata acttgaagga 14040  
 atatacatat ggacattcac tgggtccatg acaggataga ttcgaacaag aatgttctc 14100  
 caaagccac cagactatat actaacatg actttatgct aataatgatt catctctctg 14160  
 ctgaaaaagt aagtggatag ataggcacat ggcttctttt gataaatgat atctcttaat 14220  
 aggtaatgaa gattactttc tgtttggcaa atcctttgtg tagagaatca tgaccaacac 14280  
 acgtctacc aattttgttt agcatcaggt agtagatttt ttaaattata gtaattcaag 14340  
 ctgagaatgt agatttaaaa aataaaatta ttgtaaattt tgtttgttc ttattacaaa 14400

agtcatttgg ggcaatttc aaaaatata aaaagtaaac aggagaaatt taaaatgtcc 14460  
 ttcagtccca ctccctcaga gaaaaccct gtaatatgt aagtgcata cttcttttt 14520  
 tctgtgcata atacttttta aatatattga agtattatgc ttttttaact taaaattgtc 14580  
 tcatgaatat tttcttatgc cattataata cttacctata acatcattat tttttaatta 14640  
 ttcaggccct tccccacca tgacctcatg ttctctcttt gtgaagtctg attacttgg 14700  
 gacatgatcg tgagaataag ctctggcgat ataagaattt cctctcttga aggccatgct 14760  
 cagtaaatta ctgggtgaca tgatcgtgag aataagctct ggcgatacaa gaatttcctc 14820  
 tcttgaaggc catgctcagt aataaagttg gtctcaccga ggcctctgta caccttagaa 14880  
 acccgaatt gccaggctga gcaataccag tccccctt ccctccctg gtgtttacat 14940  
 tgagttctcc ttcacaattt ctgcagccac tccgtggcca ccgtcacctt attcctgact 15000  
 gccacaagag ttttcaata ttcctttgat tgcctattcc ttctgaaac taccttttcc 15060  
 tctaataagg caattcatca ttttcaatg caatttttac tctgatctag aacttactgt 15120  
 gaatccttgt cacctgccac agcaaatcta agtctagcac ttaaggatcc tgcagatatg 15180  
 ctcatcgttg ctctcactt acctcattgc ttagtccctc tgcctaacct ctgtgtgttg 15240  
 atcacatgtg tgtgtgtccc tcttccccat tagacaaagg tcttggatg acttcagttc 15300  
 tcttgcaggg ccccatcagc tcttcccaa agggagctat gcagggttga ctcccaatct 15360  
 ggctttccct tatgtctcag gatctgggtg gtacgtggcc ccttcacaaa gctctgact 15420  
 gagagctgag gcctcccggg cctgggggtg ctgtgtcttt caggctggct gttgctccag 15480  
 gccctcggg ggggtttcaa ggaggaagac cctattcacc tgagggtgca cagctggaag 15540  
 aacactgtc tgcataaggt cacatattta cagaatggca aaggcaggaa gtattttcat 15600  
 cataattctg acttctacat tccaaaagcc aactcaaac acagcggctc ctacttctgc 15660  
 agggggcttt ttgggagtaa aatgtgtct tcagagactg tgaacatcac catcactcaa 15720  
 ggtgagacat gtgccaccct ggaatgcca gggacgcctg tgtgtggaac ctgcaatcac 15780  
 actgggaagt tgagttggga ggagattcct gattcttaca cgcaacttct catatgtggt 15840  
 tccctcctgg tgatcaccag gaggtccca aaagtccctg attgcagggt aggtttgcag 15900  
 ctctgtttca gtccattctt ttggggtagc taggaggtgt cattcactct gcagcatgat 15960  
 ggcaggagca gaagccacat ctctcccca ataaatacct ctgtctttcc ttacgctaata 16020  
 cacaccacag gtgtcatatg ttctatcgt gctggcctcc ttcttatcca agccttttag 16080  
 ccacgatcca aactggcagg agcccctcat cccctcacag aaagagcca gaacctgggt 16140  
 tctggccctg cagctaatta accatctgac cagaggtgag ccacttagtc tctctgaacc 16200  
 ccaatttctt ctccgtaac aaaaataagc tgacatttat tgggcacctt tcagtgtgct 16260  
 agactctgtg ctaaacaatt cttacatgc acctggttg actatcacag tagaccttca 16320  
 caacatgaga taggtaatat tccattttac agatgaagta accgaggtgc aaaaataaat 16380  
 aaataagttt ccctaaggtc acatcaaga cttcaaagcc tgtatattta accagtaagt 16440  
 aaaagattg aacaagcact aatatactat gatccatta agtcatccac aaaacatctc 16500  
 taggttctgt agcaccagcc tccagaatca gagctctaga gtgggtgacc tggactttcc 16560  
 agtttcacag aacttctatc tgtaactagc ccaagacata aattgtaaac aatttgcag 16620  
 tagaaaggca gaaaacacc ttttgagatt ttgacactac aatgccataa tttgtacaaa 16680  
 aataatttca tgacacttta aactgaaagt aaatactccc aagtggtag gaaaagagag 16740  
 caaataaagc aatggggta acatgtaaac aatgagtgga tctgggtaaa ggatatacga 16800  
 gattaaacta ttctggtcat tttttttta agtttgaaa tatatcaaaa tcaagagttt 16860  
 aaaaaattga aatgcaaat caacaaattt gtcccagttt ctagaccata gcattgtctg 16920  
 acaatttctt aactgtcaca caaacccag cttacaacct aacttgtaa cgctccctgt 16980  
 cacatctctg tcaacaagc agggacctt gctcagttt tgggtgagctg tcctctgctc 17040

agatagcact aagatcagga accaatggga ggaagcaata ctttcccca gacttcccca 17100  
 ccattcctac cacttgctg ttggctgtg tcaaagactt tctactggtg acctcactgt 17160  
 ttgttccaaa tatctgcctt agtgactgtc atttttttcc atctctccac ttctcctaata 17220  
 aggtttggca gtgtcaacca tctcatcatt ctttccacct gggtaccaag tctctttctg 17280  
 cttggtgatg gtactccttt ttgcagtgga cacaggacta tatttctctg tgaagacaaa 17340  
 cattcgaagc tcaacaagag actggaagga ccataaattt aatggagaa aggaccctca 17400  
 agacaaatga cccccatccc atgggggtaa taagagcagt agcagcagca tctctgaaca 17460  
 tttctctgga tttgcaacc catcatctc aggcctctct acaagcagca ggaaacatag 17520  
 aactcagagc cagatccctt atccaactct cgacttttcc ttggtctcca gtggaaggga 17580  
 aaagcccatg atcttcaagc aggggaagccc cagtgagtag ctgcattcct agaaattgaa 17640  
 gtttcagagc tacacaaaca cttttctgt cccaaccgtt ccctcacagc aaagcaacaa 17700  
 tacaggctag ggatggtaat cctttaaaca taaaaaatt gctcgtgta taaattacc 17760  
 agtttagagg ggaaaaaaaaa acaattattc ctaaataaat ggataagtag aattaatggt 17820  
 tgaggcagga ccatacagag tgtgggaact gctggggatc tagggaattc agtgggacca 17880  
 atgaaagcat ggctgagaaa tagcaggtag tccaggtatg tctaaggagag gtgttcccat 17940  
 ctgagcccag agataagggt gtcttcttag aacattagcc gtagtggaat taacaggaaa 18000  
 tcatgagggt gacgtagaat tgagtcttcc aggggactct atcagaactg gaccatctcc 18060  
 aagtatataa cgatgagtcc tcttaatgct aggagtagaa aatggtccta ggaaggggac 18120  
 tgaggattgc ggtgggggggt ggggtggaaa agaaagtaca gaacaaacc tgtgtcactg 18180  
 tccaagttg ctaagtgaac agaactatct cagcatcaga atgagaaagc ctgagaagaa 18240  
 agaaccaacc acaagcacac aggaaggaaa ggcagaggag tgaatgct ttcttgcca 18300  
 gggtagtaag aattagagggt taatgcaggg actgtaaac caccttttct gcttcaatat 18360  
 ctaattcctg ttagctttg ttcatgcat ttattaaaca aatgttgtat aaccaatact 18420  
 aatgtacta ctgagcttc ctgagtaag ttatgaaact ttcaaatcct tcatcatgtc 18480  
 agttccaatg aggtggggat ggagaagaca attgttgcct atgaaagaaa gctttagctg 18540  
 tctctgtttt gtaagctta agcgcaacat ttcttggtc caataaagca ttttacaaga 18600  
 tcttgcatgc tactcttaga tagaagatgg gaaaaccatg gtaataaaat atgaatgata 18660  
 aaattctttc ttcttccctt tgtccaacat tgtaacagag attggtttgg attggttaaga 18720  
 aacaccccct cctcccagca accatctcac cacaactcat ataaattagc cagcttgctt 18780  
 tccaaatctt gctgagacaa ttgggctaag gaggattctt atgggaagta tgggatagga 18840  
 ggtgtaataa gcattagaga tcgttttaga gcattggggc agataggaga aggcacagct 18900  
 acacaggagg tagaggcctg ggcagaggta gaggtcagc ctgattgtat gaattatgag 18960  
 ctatatacca agacgattca agctagattg catacataaa tattacataa gattccgaca 19020  
 cgacacaggt gcatttgaa accttgaca ttcaactcac atttatttac tacctacaat 19080  
 gtcaagctt gagttcaggt gctgaagata ccagatgaac aacacagggt cattccctgg 19140  
 agaagcttta ttctagtga gaaaaacagt taaataggaa gagaatgaag aaaggctgc 19200  
 agaaaagagg cttgatttg ggggtgtggt catgaaggat gagtaggagt tcgccaggca 19260  
 aagaagagaa gaaaagccca aggttcatag gcaaagattc aaaaaccaga gtgtgagttc 19320  
 aagaaagcag tttggttctg tgtcgggtgag ggagaggaaa gagtttcagg gccagatcat 19380  
 gaagggcatt accttccaaa ctaaggagat cgtatcagac cctgcaatac attgagagag 19440  
 ttaagcaga ccaggtttgt accgtatagt attttagaag gattctctcg caactacttg 19500  
 atggatggac gggacaggag agttgaagac cagaagccaa atagggcagc aaggcaggat 19560  
 gcagtaacc aaaggagca atgaggaagt aactggcggg gaggtggag aggaaggctgc 19620  
 ttaatcaaca aggtatttag gaggccgact ctccaagaat tggcagccag cagtacacgg 19680

cgtgactaag gaccaggttc cacacatagt gcccgttttc tgagttagga aatagaaagg 19740  
 caaggcaggt acaggtttgg tggaaagaca aacaattcgt tttggtatta ttagtactta 19800  
 cttcctttgg tcagtaaatt ttcttaaagt gtcagtttcc ataacgtaat tgccgtggtt 19860  
 aagcagctaa gagttatcac tacaacccta gtcggaaaaa ccaataacct caaaattacc 19920  
 cgtacagcac taaggcagaa gaggacattg ggaaccacac aacgcggagg tctgctacca 19980  
 gagctccctg cggtagcac cgcggctggt tttgagcgc aaggccccag cgctcccagc 20040  
 ggatagcatc gcacgcagtt ttttcagtca aagtttcaa aaccagggt tcacaaaatg 20100  
 cgacttccgt ccctgggtgg gatcgaacca ccaaccttc ggttaacagc cgaacgcgct 20160  
 aaccgattgc gccacagaga cgggcgttgg cgattttggc tgccaagtca cttcactgaa 20220  
 gaaaaaatgc tcagcactca cgtctccaaa aaaattgagg ttgattgaa accagtgaca 20280  
 caattagctt tccgtgcttc agggcgcggc tcatagccct gagcgaggca ggtctttttt 20340  
 ctgcgctagc acttgcttag atctggagca ggactcagct tccagcagaa gaggttgaga 20400  
 aaaggagagc agaagagaat gcaggaacga agggctctcg gggaatccaa aatggatgct 20460  
 ctctgtgggt tccgggggttc cgttgatttt ggtcagagaa gtacgacgat aagctttttt 20520  
 tgctgatgta gacaacttat gtatgcatgt gcacacgttt agtgctgact cataataagc 20580  
 ttattatcgt gagcattaa aatattttct ttcaggcca atcacgtcca gcaaaatgtg 20640  
 atgtctaagt aagtgagttt tgtgttacia aattagctt caaccacgc tgttttga 20700  
 ggtttctacc ggcatattag acatgcagac agaacacgga gcttaaaaag cctgtaacat 20760  
 tccaattaat ggtattcagc ttggaaataa aaaatatttt ttaaaaatg cgtgcaactt 20820  
 aaggactttc atgctgacat atccagatcc aaatatctga ggacagagac ccctaattcc 20880  
 accaccatcg acctagggaa cctcgtcagt gctgggtcta aaaaggcttt tttttttct 20940  
 ttaattcata tgtatatata ctttattcat atatatatat actttaagtt ctaggctaca 21000  
 tgtgcacaag gtcaggttc gttacatata catgtgcat gttggtgtgc tgcaccatt 21060  
 aactcgtcat ctacattagg tgtttctcct aatggtatcc ctccctcctt cccccacca 21120  
 cgacaggtcc cgggtgtgta tgttcctac catgcacacg tatgtttatt gtggaactat 21180  
 tcacaatagc aaagacttgg aaccaacca aatgtccatc aatgatagac tggattaaga 21240  
 aaatgtggca catatacact atggaatact atgcagccat aaaaaggat gagttcatgt 21300  
 cttttagtag gacatagatg aagctggaaa ccatcagtct gaacaaacta tcacaaggac 21360  
 agaaaatcag acaccgatg ttctcactca taggtgggaa ttgaacaata agaacacttg 21420  
 gacgaaagcc attttctata ttgccccaaa accagggtct ctccatagcc tccacacaga 21480  
 atctcctttc tttctgacct gccatcctct gtcatcagtg ggctccagtt taggagcagg 21540  
 tggagtttt caatgatgtt cagtgaaatg agaagacatg caaacataga tatgtatatg 21600  
 cagaaattat atatgcatat atgtttatat gtacacagta tcatatgtat aataaataag 21660  
 taaataaata aataaatttg ccaaatgatc ttaaaactag agtcatttat tttttttatt 21720  
 aatttttttt tttgagatgg agtcttgctc tgtcgccag gctggagtgc agtggcgcaa 21780  
 tcttggtca ctgcaacct caccctccac attcaagcaa ttctcctgct tcagcctcct 21840  
 gagtagctga gattacagtc atgggccacc atgcccggct aatttttgta ttttttttt 21900  
 tttttttttg agacagagtc tcgctgctgc ccaggttggg gtgcagttggc gcgatctcgg 21960  
 ctactgcag gctccgcccc ccgggattca cgcattctc ctgcctcagc ctctgagta 22020  
 gctgggacta caggcacctg ccacctgcc cggctaattt ttttgtattt ttggtagaga 22080  
 tgggctttcg ctatgttggc caggctggtc tcaaacctc gacctcaggt gatcctcctg 22140  
 cctcagcctc ccaactgct gggattacag gtgagagcca ctgtaccagg cctagagtca 22200  
 tttcttttat actttaaatt tttgtctctg ttcttttgct cagacctgtg gagctggcaa 22260  
 tatgggcaag tgtcatggac tgtctactgc caggaagctc cattgtcacc gacaggatca 22320

---

gaagtggcat ggtaaattgt acaagaaagc ccattcgggc acagtcctga agaccagcct 22380  
ttttggaggt gcttctcatg caaagggaat tgggctggaa aaagtaggga ttggagccaa 22440  
atagcccagc tctgccactg agaagtgtgc cagggccaaag ctgatcatcc agcataagct 22500  
agatgctgtg gtctccactg gcacagctga tcctcttgtt acaggatgga ggctgtgagg 22560  
cagatgagag aacagcaaga aaatcacagc ctttgtacct gatgatgatt gcttgaattt 22620  
tattgaaaaa aatgatgaag ttctgtatca ggggaaccag cacccaatat ttcaatgtag 22680  
gttct 22685

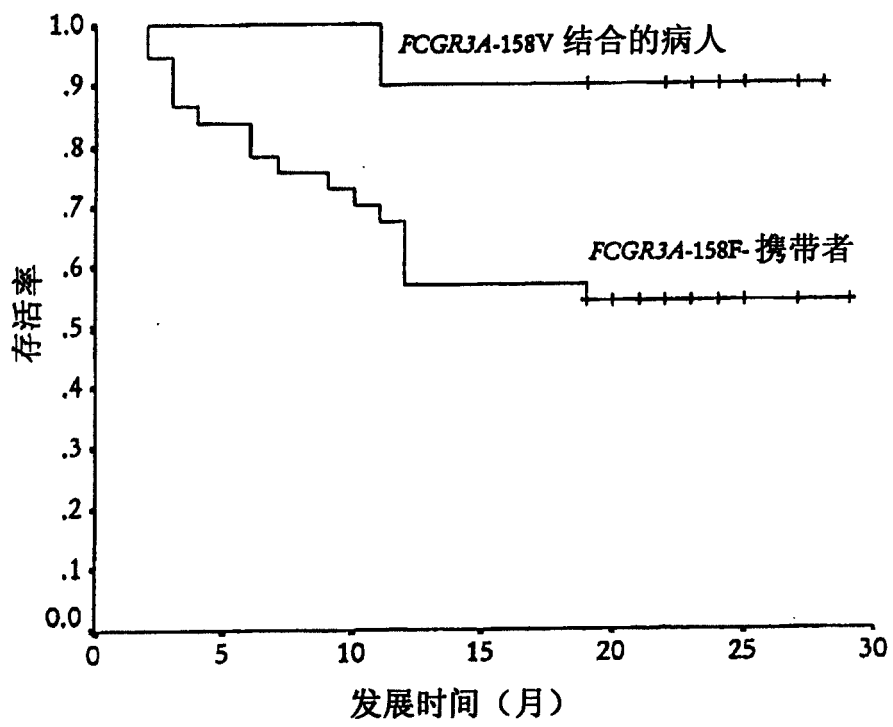


图1

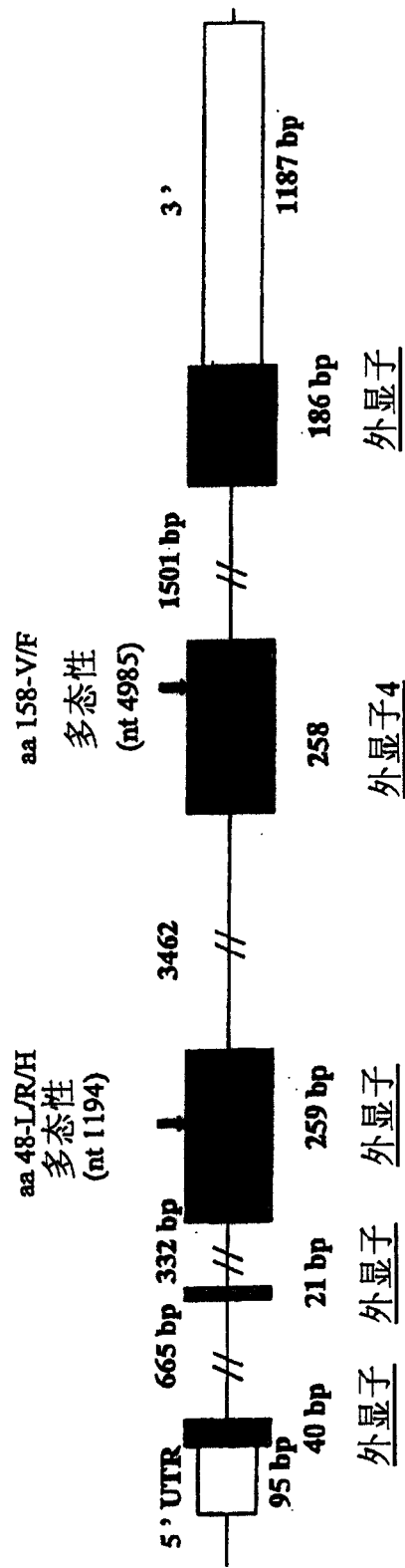


图2







-2900 gggatttccctcagattcctgtgagaccagacatcttaatccttttggaaacctgtgcttctccttgtagtactcactcaacttggaaactacatcca  
 -2800 actacacttggaaactacagcagctctgaaacatgacagctctactcaactccaagctcttgcctcatgtgctcctcttgcctggaaactgctatcttct  
 -2700 ctcaaaaatctcctgctgaatatttggagatcaattaaagtgctctctctcctcatgtaactcctcctcagatagaatagccactgtctctcttctg  
 -2600 gcatacacagatctcataaactgtcacagctccctcactcaactactatctgattgtctccctcaagaaactgtaagtctcagagatgac  
 -2500 aatcaactgaatcccatagtcagaactctgtgctgctgacctccaaatgagaaag  
 -2400 agaaaaagcaaacatgaagataaacactcaatataatgataccccagaccatctacccttttggtaaaaatttgccttttttcccccccaagagt  
 -2300 cagggtctcactgtgcgccaggtgagtgagtgccatgaacataactcactgagcttaactcgggctcaactcgggctcaagcaatctctcctcagcct  
 -2200 ctgggtagctgggactacaggtacaccacacatctgctattattataactataatagtagagatgggctttctctatgttccctagagctggt  
 -2100 ctcaaatctcctggcctcaagcaatcttccactcacaatggcctcccaagtctgggatacaatagccaccctaaagcaaccatagggcccaaatctgcaatttctc  
 -2000 cattactgtaaaataaacttagaatacaaacactcaatggagaattgtcaacaaccctaaatgaaaacccccctgcaaaccttcccatctctgtt  
 -1900 gcagtccttctcctcctgtcct  
 -1800 aagagggtcaaatagaataaagacctcaagaaagaaacaaatgaaagccttggcagctagaatctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcct  
 -1700 aagaagaagaattgaggataccgcttttgcctcagagaccatccttagcctgaggttggctcagaaagtcaagtggcaaaagccctggatctctgaa  
 -1600 gtgtacagcaaggaacttaagttccagatactgtctggatttggcaagccttggcagctcacttgcaatggcctcctcctcctcctcctcctcctcct  
 -1500 cattccattgtccaatccaaagggcctgtgagaagggctgtgcaagactctgtgtggcgggggagagagagagagagagagagagagagagagagag  
 -1400 tcaattactccaccagagcccaatgaaacacacaaaataaaac  
 -1300 atagcaagggtggcggaccctgtgtccagatgtccacgaatccactgggggag  
 -1200 tctaaagcaggtgagaccctgacag  
 -1100 ttgtgagagtaccacagctggggtacggggag  
 -1000 ggtaaaggcctggagcccgctcctagctgacag  
 -900 aggaagtaagagttcctgtcctgctcct  
 -800 tctaccctacctgggtttcttcaacctgaaatcaatgactcaatcaactcaactcaactcaactcaactcaactcaactcaactcaactcaactcaact  
 -700 ttttgaatttgaatttgaagaaattctgctggagataatgtgagcagagacactgctagtggtctgagatttaaatccccaggagcatalaga  
 -600 caggcagggcctcagctggagatagatgggtctgggag  
 -500 ccttgaatctcaatccccagggtctcactgtccatctctgggtctgggtgggtccaaatccagagagatggggcaagcactcctggatggctgagggcaca  
 -400 ctctggcagatctgtgtgtcctcagatgctcagccacagaccttgaaggagtaaaagggggcagaccaccacccctcctcctcctcctcctcctcct  
 -300 ctggctcctgtctatgggtgggctcct  
 -200 aggggctggggaaggctgttacttctcct

AL590385 -100 -90 -80 -70 -60 -50 -40 -30 -20 -10 -1  
 NM\_000569 aggggctggggaaggctgttacttactcctcctgtcagtcagggttggctcctttagggctcgggatacttggtagctgtccactccagtggtggcctc  
 tctttggtagctgtccactccagtggtggcctc  
 外显子1 (5'-UTR)

n° 1 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100  
 AL590385 atgtggcagctgctcctcccaactgctctgctactcttaggtaagtcagggctcctcctggttggggagagatttgagatgcttgggttcagcagagagac  
 NM\_000569 atgtggcagctgctcctcccaactgctctgctactcttag  
 NP\_000560 M W Q L L L P T A L L L L L

图4 (续)

外显子1





NM\_000569  
 NP\_000560  
 tcggtgggtgttcaagggaagaccctattcacctgaggtgtcacagctggaagaacactgctctgcataaaggctcacatattacagaatggcaaggc  
 R W V F K E D P I H L R C H S W K N T A L H K V T Y L Q N G K G

外显子4

4901 4910 4920 4930 4940 4950 4960 4970 4980 4990 5000  
 aggaagtatttcatcataaattctgacttctacattccaaaagccacactcaagacagggctctactctgcaggggctttttgggagtaaaaaatg  
 aggaagtatttcatcataaattctgacttctacattccaaaagccacactcaagacagggctctactctgcaggggctttttgggagtaaaaaatg  
 R K Y F H H N S D F Y I P K A T L K D S G S Y F C R G L F G S K N

外显子4

5001 5010 5020 5030 5040 5050 5060 5070 5080 5090 5100  
 tgtcttcagagactgtgaacatcaccatcactcaaggtggacatgtgccaccctggaaatgcccaggagcctgtgtggaacctgcaatcacactgg  
 tgtcttcagagactgtgaacatcaccatcactcaag  
 V S S E T V N I T I T Q

外显子4

AL590385 5101  
 AL590385 5201  
 AL590385 5301  
 AL590385 5401  
 AL590385 5501  
 AL590385 5601  
 AL590385 5701  
 AL590385 5801  
 AL590385 5901  
 AL590385 6001  
 AL590385 6101  
 AL590385 6201  
 AL590385 6301  
 AL590385 6401  
 gaagttgagttggaggattcctgattcttacacgcactcttcataatgtggttccctcctggatcacaccaggaggtcccccacaaagtcctgattgc  
 aggtaggtttgcagctctgttccagtcattcttttgggtagtaggtgtcattcctctgcageatgatggcaggagcagaagaccacatctctcc  
 cccaaataaacctctgtcttccctacgctaatcacaccacgggtcataatgttccctatcgtgtggtcctcttattccaagccttttagccac  
 atccaaatggcaggagccctcatccctcacagaagagccagaacctgggttctggccctgcagtaataaacctatgaccagaggtgagccac  
 tagtctctgaaccccaattctctctcgtaacaaaatagctgacatttattggcacccttcagtgctgtagactgtgctaaacaattctta  
 catgcacctggtttgactatcacagtgaacttcacaacatgagataggttaattccatttacagatgaatgaaagcttgaacagcactaatactatgaccattta  
 agttccctaaaggtcacataaagactcaagcctgataatttaaccagtagtaaaagattgaacagcactaatactatgaccatttaagtc  
 tccacaaaactctcagttctgtgacacagcctccagaatcagagctctagagttgggtgctggacttccagttccagtaactatgaccatttaagtc  
 ctagcccagacataaatgttaacaatttgcattgtagaagggcagcaaacaccttttgagatttgacactacaatgcccataatttgaacaaaata  
 ttctatgaccttaaacgaaagtaaatcctcccaagtttaggaaagagcaataaagcaaatggggtaacatgtaaaccaatgagtggtctgg  
 gtaaggataacgagataaactattctgacatttcttaactgtcacacaaaaccagcttacacctaacttgaacgctccctgtcacat  
 aatttgcagtttctagaccatagctgtgacatttcttaactgtcacacaaaaccagcttacacctaacttgaacgctccctgtcacat  
 ctctgtcaacaagcaggagccttctcagtttgggtgctcctctcagatagactaagatcaggaaccaaattgggaggaagcaatacttcc  
 cccagacttccccaccattcctaccacttgcctgttggctgtgtcaagacttctactggtgacctgcttgttccaataatctgcttagtga

6501 6510 6520 6530 6540 6550 6560 6570 6580 6590 6600  
 ctgtcatttttttcatctctcacttctcctaataaggtttggcagtgccaaccatctcatcattcttccacctgggtaccaagtctcttctgcttgg  
 gtttggcagtgccaaccatctcatcattcttccacctgggtaccaagtctcttctgcttgg  
 G L A V S T I S S F P P G Y Q V S F C L

外显子5

6601 6610 6620 6630 6640 6650 6660 6670 6680 6690 6700  
 tgatggtactcttttgcagtggaacacagagactatatttctctgtgaagacaacattcgaagctcaacaagactggaagaccataaatttaaattg  
 tgatggtactcttttgcagtggaacacagagactatatttctctgtgaagacaacattcgaagctcaacaagactggaagaccataaatttaaattg  
 V M V L L F A V D T G L Y F S V K T N I R S S T R D W K D H K F K K W

图4 (续)

AL590385  
 NM\_000569  
 NP\_000560

6701 6710 6720 6730 6740 6750 6760 6770 6780 6790 6800  
 gagaaaggaccctcaagcacaatgaccctccatcccatggggtaataagagcagtagcagcagcatctctgaaacattctctgatttgcaaccccatca  
 gagaaaggaccctcaagcacaatgaccctccatcccatggggtaataagagcagtagcagcagcagcatctctgaaacattctctgatttgcaaccccatca  
 R K D P Q D K \_

外显子5

6801 6810 6820 6830 6840 6850 6860 6870 6880 6890 6900  
 tctcaggcctctctacaagcagcaggaacatagaactcagagccagatcccttaccactctgacttcccttggtctccesagtgaagggaagaagc  
 tctcaggcctctc

外显子5 (3' UTR)

AL590385  
 NM\_000569

6901 7001 7101 7201 7301 7401 7501 7601 7701 7801 7901 8001 8101 8201 8301 8401 8501 8601 8701 8801 8901 9001 9101 9201 9301 9401 9501 9601  
 ccattgatctcaagcaggaagccccagtgatgctgcatctcctagaatagaagttgaagtttcagagctacacaaacacttttctgtcccaacogttccctc  
 acagcaagcaacaatacagcctaggatggtaactccttaaacatacaaaaattgctcgtgtataaaattaccagtttagaggggaaaaaaaacaat  
 tatcctaaataaatggataagtgaatlaattggttgaggcaggaccatcacagctgtggaactctggtggaactctggtggaacttcagtggaacatgaa  
 agcatggtgagaataagcaggtagtcaggtccaggtatgctaacaggaggtgtccctctgagccagagataaggggtctctctagaaacatagccgtagt  
 ggaattaacaggaaatcatgaggtgacgtagaattgagctctccagggactctacagaactggaccatctccaagttataaagcagtagctctctta  
 atgctaggagtagaaatggtcctaggaagggactgaggtatgctggtgggggtggaaagaagtagacaagcaacccctgtgtcactgtccca  
 agtctgctaatgtaacagaactatctcagcatcagaatgagaaagcctgagaaagaaacccacagcacaaggaagaaagcagaggtgaa  
 atgcttcttggccaggtagtgaatagaggttaagcaggtactactgagctctgctgagtttaagttagaacttcaaatctctgtgagcttctctcat  
 tgcatttataaacaattgtataaccaatactaaattgctgagctctgctgagtttaagttagaacttcaaatctctgtgagcttctctcat  
 caatgggtgggtgagagagacaattgtgctatgaaagaagctttagctctgctgagtttaagttagaacttcaaatctctgtgagcttctctcat  
 aagcatttacaagacttgcactgctactcttagtagaagtagaagtaggaaacacctggttaaatgagctttagagcacaacttctctctctctctcc  
 aacattgtaacagagattggttggattggttagaacaacccctctccagcaacctctaccacaactcataaaattagccagcttgccttccca  
 atcttctgtagacaattggcctaaggagattcttatgggaagtatggataggaggtgaaatagcattagagatcgttttagagcattggggsagata  
 ggagaaggcacagctacacaggttagggctgagggctgggaaggtgaggtgaggtgacatggaacctggaaacctcaactcacttattactacctacaatgtgca  
 gatgcatacataaaattacataagattccgacacgacacaggtgcatctcctggagaagcttattcttagtgagaaaaacagttataataggaaagaa  
 tgaagaaaggctgcagaaagagcttgattgggggtggtcctatgaaaggttagttaggattcgcaggcaagaaagaaagaaagaaagaaagaaagaa  
 cataggcaagattcaaaaaccagagtgagttcaagaaagcagtttggctctgctggtgagggagagaaagagtttcaggccagatcatgaagg  
 gcatcacttccaaactaaaggagatcgtatcagacctgcaatacattgagagagtttaagcagaccaggtttagaccgtatagttttagaaggattc  
 tctcgaactacttggatggacggacagagagttgagaccgaagcacaataggcagcaagcaggtatgcaagtaaccgaagggagcaatgag  
 gaagtaactggggtgaggtggaggaaggtgcttaatacaaaagttataggaggccgactctccaagaattggcagcagcagtagcacaggggtgga  
 ctaggaccaggttccacacatagtccctgttctgagttaggaatagaaaggaagcaggtacaggttgggtgaaagacaaacaattcgttttgg  
 tattattagtaactacttcttggctcagtaaaatttctaaagctatcccaaacgtatgcccgtggttaagcagcagtaagagttatcactacaa  
 ccttagtcgaaaaacaaaatacctcaaaataccctacagcactaagcagagagagagtaggcaacacacaaagggaggtctgctaccagagct  
 ccttggttagcacccggctggttttagagcccaagccccagcctccagcgttagcatcggcagcagtagcctcagctcaagtttcaaaaaaccc  
 agggttcacaaaaatggactccgtccctgggtggatggaaccacaacttccgttaacagccgaagcctaacgattgcccacagagacgggc  
 gttggcagatttggctgcaagtcacttcaatgaaaaaaaatgctcagcactcagcttcccaaaaaattgaggttgaattgaaaccagtgacacaatt  
 agcttccctgcttcaggggcggctcattagccctgagcggcaggtcttttctcgtcgttagcacttgcctagatctggagcaggtcagcttccag

图4 (续)



专利名称(译)	评估抗体治疗反应的方法和组合物		
公开(公告)号	<a href="#">CN1571850A</a>	公开(公告)日	2005-01-26
申请号	CN02820672.X	申请日	2002-10-11
[标]发明人	海尔韦瓦捷 纪尧姆卡特龙 菲利普科隆巴		
发明人	海尔韦·瓦捷 纪尧姆·卡特龙 菲利普·科隆巴		
IPC分类号	G01N33/53 C12N15/09 C12Q1/68 C12Q1/6886 G01N27/447 G01N33/566		
CPC分类号	C12Q1/6886 C12Q1/6881 C12Q2600/106 C12Q2600/156		
代理人(译)	杨青		
优先权	2001402718 2001-10-19 EP		
其他公开文献	CN1329524C		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及用于评估或估计个体对特定治疗方法的反应的方法和组合物。具体来说，本发明提供了方法，用于确定个体的反应，或使治疗方案适合于用治疗抗体疗法的个体。本发明是基于确定个体的FCGR3A基因型。本发明可用于患有恶性肿瘤，特别是淋巴瘤的病人，并且适合于选择最好的反应者和/或为低反应者调整治疗条件或方案。

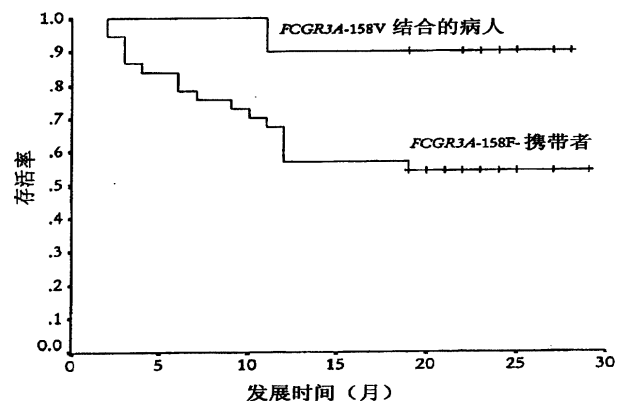


图1