

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-525823

(P2010-525823A)

(43) 公表日 平成22年7月29日(2010.7.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C12Q 1/68 (2006.01)</b>	C12Q 1/68 A	4B024
<b>C12N 15/09 (2006.01)</b>	C12N 15/00 A	4B029
<b>C07K 16/18 (2006.01)</b>	C12N 15/00 F	4B063
<b>C12M 1/00 (2006.01)</b>	C07K 16/18	4B065
<b>C12N 1/15 (2006.01)</b>	C12M 1/00 A	4H045
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 80 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2010-506653 (P2010-506653)	(71) 出願人	306036668 ユニバーシティ オブ マイアミ アメリカ合衆国 フロリダ 33136, マイアミ, エヌ. ダブリュー. 12 ティーエイチ アベニュー 1475
(86) (22) 出願日	平成20年5月1日(2008.5.1)	(74) 代理人	100080089 弁理士 牛木 護
(85) 翻訳文提出日	平成21年12月24日(2009.12.24)	(74) 代理人	100137800 弁理士 吉田 正義
(86) 国際出願番号	PCT/US2008/062290	(74) 代理人	100119312 弁理士 清水 栄松
(87) 国際公開番号	W02008/137595	(74) 代理人	100125081 弁理士 小合 宗一
(87) 国際公開日	平成20年11月13日(2008.11.13)	(74) 代理人	100161665 弁理士 高橋 知之
(31) 優先権主張番号	60/915, 215		
(32) 優先日	平成19年5月1日(2007.5.1)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 心筋炎のトランスクリプトームのバイオマーカー

(57) 【要約】

心筋炎、これらの心臓病のための非常に高感度な診断マーカーとして機能する分子的特徴が同定される。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

1553145\_\_at (仮想タンパク質 FLJ39653)、1553575\_\_at、1557236\_\_at (アポリポロタンパク質L、6)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1560752\_\_at (F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、200068\_\_s\_\_at (カルネキシンノノカルネキシン)、201031\_\_s\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、202646\_\_s\_\_at (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_at (CD8a分子ノノCD8a分子)、206188\_\_at (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_at (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_at、213317\_\_at (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_at (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_at (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_at (CDNA:FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_at (PRO1073タンパク質)、224321\_\_at (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_at (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_at (CDNA クローン IMAGE:5278517)、226173\_\_at (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_at (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_at (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_at (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE:5263455)、231735\_\_s\_\_at (PRO1073タンパク質)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_at (CDNA クローン IMAGE:6622963)、236953\_\_s\_\_at (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_at (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_at ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、分子組成物。

## 【請求項2】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを検出することが、心筋炎及び心筋障害の診断となることを特徴とする、請求項1に記載の分子組成物。

## 【請求項3】

遺伝子配列のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心筋炎、特発性心筋症、心疾患及びこれらの障害の診断となることを特徴とする、請求項1に記載の分子組成物。

## 【請求項4】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%、2%、5%、10%のレベル過剰発現されることを特徴とする、請求項2又は3に記載の分子組成物。

## 【請求項5】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約50%過剰発現

されることを特徴とする、請求項 2 又は 3 に記載の分子組成物。

【請求項 6】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約 75% 過剰発現されることを特徴とする、請求項 2 又は 3 に記載の分子組成物。

【請求項 7】

1553145\_\_a t ( 仮想タンパク質 F L J 3 9 6 5 3 )、1553575\_\_a t、1557236\_\_a t ( アポリポロタンパク質 L、6 )、1558142\_\_a t ( トリヌクレオチドリピート含有 6 B )、1560752\_\_a t ( F - ボックス及び W D - 40 ドメインタンパク質 2 )、1565614\_\_a t ( ジンクフィンガータンパク質 337 )、1567100\_\_a t ( ダックスフントホモログ 1 ( D r o s o p h i l a ) )、200068\_\_s\_\_a t ( カルネキシン / / / カルネキシン )、201031\_\_s\_\_a t ( ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 H 1 ( H ) )、202646\_\_s\_\_a t ( コールドショックドメイン含有 E 1、RNA 結合 )、205758\_\_a t ( C D 8 a 分子 / / / C D 8 a 分子 )、206188\_\_a t ( ジンクフィンガータンパク質 623 )、212637\_\_s\_\_a t ( W W ドメイン含有 E 3 ユビキチンタンパク質リガーゼ 1 )、212920\_\_a t、213317\_\_a t ( 塩素細胞内チャネル 5 )、213619\_\_a t ( ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 H 1 ( H ) )、215443\_\_a t ( 甲状腺刺激ホルモン受容体 )、216198\_\_a t ( 活性化転写因子 7 相互作用タンパク質 )、217870\_\_s\_\_a t ( シチジル酸キナーゼ )、218087\_\_s\_\_a t ( ソルビン及び S H 3 ドメイン含有 1 )、222145\_\_a t ( C D N A : F L J 2 3 5 7 2 f i s、クローン L N G 1 2 4 0 3 )、223577\_\_x\_\_a t ( P R O 1 0 7 3 タンパク質 )、224321\_\_a t ( E G F - 様及び 2 つのフォリスタチン - 様ドメインを有する膜貫通タンパク質 2 )、224373\_\_s\_\_a t ( I Q モチーフ及び W D リピート 1 )、224644\_\_a t ( C D N A クローン I M A G E : 5 2 7 8 5 1 7 )、226173\_\_a t ( オルニチンアミノトランスフェラーゼ - 様 1 )、226773\_\_a t ( C D N A F L J 3 5 1 3 1 f i s、クローン P L A C E 6 0 0 8 8 2 4 )、226880\_\_a t ( 核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質 1 )、228980\_\_a t ( リングフィンガー及び F Y V E - 様ドメイン含有 1 )、229569\_\_a t ( C D N A クローン I M A G E : 5 2 6 3 4 5 5 )、231735\_\_s\_\_a t ( P R O 1 0 7 3 タンパク質 )、233765\_\_a t ( 仮想 L O C 1 9 7 1 3 5 )、235803\_\_a t ( サイトカイン受容体 - 様因子 3 )、236131\_\_a t ( C D N A クローン I M A G E : 6 6 2 2 9 6 3 )、236953\_\_s\_\_a t ( R I K E N c D N A 8 0 3 0 4 5 1 K 0 1 に類似 )、240544\_\_a t ( ジンクフィンガー、A N 1 - 型ドメイン 3 )、240971\_\_x\_\_a t ( カリン ( C u l l i n ) 4 A )、244042\_\_x\_\_a t ( ( タザロテンで誘導される ) レチノイン酸受容体レスポナー 2 に類似 ) を含む核酸配列 / 生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、心筋炎の診断のためのバイオマーカー ( T B B - I )。

【請求項 8】

生体分子のうち少なくとも 10 個を検出することが、心筋炎の診断となることを特徴とする、請求項 7 に記載のバイオマーカー。

【請求項 9】

1553145\_\_a t ( 仮想タンパク質 F L J 3 9 6 5 3 )、1553575\_\_a t、1557236\_\_a t ( アポリポロタンパク質 L、6 )、1558142\_\_a t ( トリヌクレオチドリピート含有 6 B )、1560752\_\_a t ( F - ボックス及び W D - 40 ドメインタンパク質 2 )、1565614\_\_a t ( ジンクフィンガータンパク質 337 )、1567100\_\_a t ( ダックスフントホモログ 1 ( D r o s o p h i l a ) )、200068\_\_s\_\_a t ( カルネキシン / / / カルネキシン )、201031\_\_s\_\_a t ( ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 H 1 ( H ) )、202646\_\_s\_\_a t

(コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_a t (CD8 a分子//CD8 a分子)、206188\_\_a t (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_a t (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_a t、213317\_\_a t (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_a t (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_a t (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_a t (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_a t (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_a t (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_a t (CDNA:FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_a t (PRO1073タンパク質)、224321\_\_a t (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_a t (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_a t (CDNA クローン IMAGE:5278517)、226173\_\_a t (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_a t (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_a t (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_a t (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_a t (CDNA クローン IMAGE:5263455)、231735\_\_s\_\_a t (PRO1073タンパク質)、233765\_\_a t (仮想LOC197135)、235803\_\_a t (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_a t (CDNA クローン IMAGE:6622963)、236953\_\_s\_\_a t (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_a t (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_a t (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_a t ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)を含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む各遺伝子配列に特異的であることを特徴とする、抗体又はアプタマー。

10

20

## 【請求項10】

1553145\_\_a t (仮想タンパク質 FLJ39653)、1553575\_\_a t、1557236\_\_a t (アポリポロタンパク質L、6)、1558142\_\_a t (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1560752\_\_a t (F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2)、1565614\_\_a t (ジンクフィンガータンパク質337)、1567100\_\_a t (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、200068\_\_s\_\_a t (カルネキシン//カルネキシン)、201031\_\_s\_\_a t (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、202646\_\_s\_\_a t (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_a t (CD8 a分子//CD8 a分子)、206188\_\_a t (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_a t (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_a t、213317\_\_a t (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_a t (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_a t (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_a t (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_a t (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_a t (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_a t (CDNA:FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_a t (PRO1073タンパク質)、224321\_\_a t (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_a t (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_a t (CDNA クローン IMAGE:5278517)、226173\_\_a t (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_a t (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_a t (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_a t (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、

30

40

50

229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231735\_\_s\_\_at (PRO1073タンパク質)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 6622963)、236953\_\_s\_\_at (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_at (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_at ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)の核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、バイオチップ。

【請求項11】

請求項10で同定される核酸配列のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、請求項10に記載のバイオチップ。

【請求項12】

1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ-様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、1556320\_\_at (ストマチン(EPB72)-様1)、1556510\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、204581\_\_at (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))、207004\_\_at (B-細胞CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子2(顆粒球-マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー1(グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1//甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZ//カルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ-B-細胞白血病転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt-関連転写因子1(急性骨髄性白血病1;aml1癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_at (リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_at (膜貫通及びコイルド-コイルドメインファミリー2)、213121\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原))、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド-スキップド(odd-skipped)関連2(Drosophila))、213770\_\_at ras 1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、216116\_\_at (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217180\_\_at (KIAA0187遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モータイル・スパーム(motile sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、

10

20

30

40

50

221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974\_\_at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセロールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)、229191\_\_at (チュープリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KIAA1856タンパク質)、229335\_\_at (免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4C)、229358\_\_at (インディアンヘッジホッグホモログ(Drosophila))、230341\_\_x\_\_at (トロンボスポンジン1型モチーフを有するADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca<sup>+</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_at (FERM、RhoGEF及びプレクストリンドメインタンパク質2)、231510\_\_at (GLI-クルッペル(Kruppel)ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、234637\_\_at (ケラチン関連タンパク質4-5)、234881\_\_at、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_at (転写される遺伝子座)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(Drosophila))、237087\_\_at (染色体14オープンリーディングフレーム105)、237144\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3)、237398\_\_at (転写される遺伝子座)、237547\_\_at (仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_at (トリパータイト(tripartite)モチーフ-含有66)、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_at (センタウリン、ガンマ3)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、239756\_\_at (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039\_\_at (転写される遺伝子座//転写される遺伝子座)、240147\_\_at (仮想タンパク質MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン-ベータ-シターゼ)、241270\_\_at (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、241431\_\_at、242365\_\_at (コイルド-コイルドメイン含有32)、243297\_\_at (液胞タンパク質選別13ホモログD(S. cerevisiae))、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEADメインファミリーメンバー2)、43934\_\_at (Gタンパク質-共役受容体137)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、トランスクリプトームのバイオマーカー(TBB-II)。

【請求項13】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを検出することが、心筋炎及び心筋障害の診断となることを特徴とする、請求項1に記載の分子組成物。

【請求項14】

遺伝子配列のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心筋炎、特発性心筋症、心疾患及びこれらの障害の診断となることを特徴とする、請求項12に記載のトランスクリプトームのバイオマーカー。

【請求項15】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%、2%、5%、10%のレベル変調されることを特徴とする、請求項12又は13に記載のトランスクリプトームのバイオマーカー。

10

20

30

40

50

## 【請求項 16】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約50%変調されることを特徴とする、請求項12又は13に記載のトランスクリプトームのバイオマーカー。

## 【請求項 17】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約75%変調されることを特徴とする、請求項12又は13に記載のトランスクリプトームのバイオマーカー。

## 【請求項 18】

1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ - 様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、1556320\_\_at (ストマチン(EPB72) - 様1)、1556510\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質 - 様1)、204581\_\_at (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))、207004\_\_at (B-細胞 CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子2(顆粒球-マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー1(グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1//甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZ//カルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ-B-細胞白血病転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt-関連転写因子1(急性骨髄性白血病1; aml1 癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_at (リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_at (膜貫通及びコイルド-コイルドメインファミリー2)、213121\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原))、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド-スキップド(odd-skipped)関連2(Drosophila))、213770\_\_at ras 1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2))、216116\_\_at (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217180\_\_at (KIAA0187遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モータイル・スパーム(motile sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974\_\_at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセロールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)、

10

20

30

40

50

229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KIAA1856タンパク質)、229335\_\_at (免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4C)、229358\_\_at (インディアンヘッジホッグホモログ(Drosophila))、230341\_\_x\_\_at (トロンボスポンジン1型モチーフを有するADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca<sup>+</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_at (FERM、RhoGEF及びプレクストリンドメインタンパク質2)、231510\_\_at (GLI-クルッペル(Kruppel)ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、234637\_\_at (ケラチン関連タンパク質4-5)、234881\_\_at、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_at (転写される遺伝子座)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(Drosophila))、237087\_\_at (染色体14オープンリーディングフレーム105)、237144\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3)、237398\_\_at (転写される遺伝子座)、237547\_\_at (仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_at (トリパーティット(tripartite)モチーフ-含有66)、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_at (セントaurin、ガンマ3)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、239756\_\_at (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039\_\_at (転写される遺伝子座//転写される遺伝子座)、240147\_\_at (仮想タンパク質MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン-ベータ-シクターゼ)、241270\_\_at (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、241431\_\_at、242365\_\_at (コイルド-コイルドメイン含有32)、243297\_\_at (液胞タンパク質選別13ホモログD(S. cerevisiae))、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEADメインファミリーメンバー2)、43934\_\_at (Gタンパク質-共役受容体137)の核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、バイオチップ。

【請求項19】

1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ-様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、1556320\_\_at (ストマチン(EPB72)-様1)、1556510\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、204581\_\_at (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))、207004\_\_at (B-細胞CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子2(顆粒球-マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体(solut

e carrier)ファミリー1(グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1//甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZ//カルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ-B-細胞白血病転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt-関連転写因子1(急性骨髄性白血病1 ; aml1 癌遺伝子)、211710\_\_x\_\_at (リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_at (膜貫通及びコイルド-コイルドメインファミリー2)、213121\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原)、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド-スキップド(od d - s k i p p e d)関連2(Drosophila))、213770\_\_at ras 10 1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、216116\_\_at (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217180\_\_at (KIAA0187遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モタイル・スパーム(motile sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、20 221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974\_\_at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセロールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KIAA1856タンパク質)、229335\_\_at (免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4C)、229358\_\_at (インディアンヘッジホッグホモログ(Drosophila))、230341\_\_x\_\_at (トロンボスポンジン1型モチーフを有するADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca<sup>+</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_at (FERM、RhoGEF及びプレクストリンドメインタンパク質2)、231510\_\_at (GLI-クルッペル(Krup 30 pel)ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、234637\_\_at (ケラチン関連タンパク質4-5)、234881\_\_at、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_at (転写される遺伝子座)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(Drosophila))、237087\_\_at (染色体14オープンリーディングフレーム105)、237144\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3)、237398\_\_at (転写される遺伝子座)、237547\_\_at (仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_at (トリパーティット(tripartite)モチーフ-含有66)、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-) -糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_at (センタウリン、ガンマ3)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、239756\_\_at (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039\_\_at (転写される遺伝子座//転写される遺伝子座)、240147\_\_at (仮想タンパク質MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン-ベータ-シターゼ)、241270\_\_at (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、24 40 50

1431\_\_at、242365\_\_at (コイルド-コイルドメイン含有32)、243297\_\_at (液胞タンパク質選別13ホモログD (S. cerevisiae))、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2)、43934\_\_at (Gタンパク質-共役受容体137)を含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む各遺伝子配列に特異的であることを特徴とする、抗体又はアプタマー。

【請求項20】

1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリポプロテインL)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、203307\_\_at (グアニヌクレオチド結合タンパク質-様1)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1 (H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローン LNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative spermatocyte) ホモログ2、脂質デサチュラーゼ (desaturase) (Drosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2)及び244042\_\_x\_\_atを含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、バイオマーカー(TBB-III)。

【請求項21】

前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを検出することが、心筋炎及び心筋障害の診断となることを特徴とする、請求項20に記載のバイオマーカー(TBB-III)。

【請求項22】

核酸配列のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心筋炎、特発性心筋症、心疾患及びこれらの障害の診断となることを特徴とする、請求項20に記載のバイオマーカー(TBB-III)。

【請求項23】

10

20

30

40

50

前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%、2%、5%、10%のレベル過剰発現されることを特徴とする、請求項20又は22に記載のバイオマーカー(TBB-I I I)。

【請求項24】

前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約50%過剰発現されることを特徴とする、請求項20又は22に記載のバイオマーカー(TBB-I I I)。

【請求項25】

前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約75%過剰発現されることを特徴とする、請求項20又は22に記載のバイオマーカー(TBB-I I I)。

【請求項26】

1553145\_\_a t (仮想タンパク質 FLJ39653)、1553575\_\_a t、1557236\_\_a t (アポリポrotein L、6)、1558142\_\_a t (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1560752\_\_a t (F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2)、1565614\_\_a t (ジンクフィンガータンパク質337)、1567100\_\_a t (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、200068\_\_s\_\_a t (カルネキシン//カルネキシン)、201031\_\_s\_\_a t (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、202646\_\_s\_\_a t (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_a t (CD8a分子//CD8a分子)、206188\_\_a t (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_a t (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_a t、213317\_\_a t (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_a t (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_a t (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_a t (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_a t (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_a t (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_a t (CDNA: FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_a t (PRO1073タンパク質)、224321\_\_a t (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_a t (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_a t (CDNA クローン IMAGE: 5278517)、226173\_\_a t (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_a t (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_a t (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_a t (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_a t (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231735\_\_s\_\_a t (PRO1073タンパク質)、233765\_\_a t (仮想LOC197135)、235803\_\_a t (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_a t (CDNA クローン IMAGE: 6622963)、236953\_\_s\_\_a t (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_a t (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_a t (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_a t ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)を含むトランスクリプトームを利用するバイオマーカー-I(TBB-I)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む核酸配列/生体分子の分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、特発性心筋症と、心筋炎とを鑑別するステップとを含むことを特徴とする、

10

20

30

40

50

心筋炎の診断方法。

【請求項 27】

前記バイオマーカーは、生物学的試料から得られる核酸を単離することによって患者から同定されることを特徴とする、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記核酸は前記バイオチップにハイブリダイズされ、マイクロアレイのハイブリダイゼーションからの生の強度測定値が標準化され、遺伝子発現の表現型特異的な相違が同定されることを特徴とする、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記遺伝子発現の相違は、有意性が q 値で定義され、多重比較が p 値の調整を含む、マイクロアレイの有意性解析によって同定されることを特徴とする、請求項 28 に記載の方法。

10

【請求項 30】

得られるデータの約 66% を含むトレーニング用セットで分類指標を作成し、その後、得られるデータの約 33% が含まれるテスト用セットで検証し、分類のための表現型特異的最短収縮重心法で定義することで表現型の特異度が同定されることを特徴とする、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記表現型特異的最短収縮重心法は、トレーニング用セットでの 10 回の交差確認について平均化することを含むことを特徴とする、請求項 30 に記載の方法。

20

【請求項 32】

1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ - 様ファミリー、メンバー 10)、1553212\_\_at (ケラチン 78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質 MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子 1)、1556320\_\_at (ストマチン (EPB72) - 様 1)、1556510\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有 27)、1565662\_\_at (ムチン 6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質 135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1 (トリプシン 1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ 24 (STE20 ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質 - 様 1)、204581\_\_at (CD22 分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能な VGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ 1 (Drosophila))、207004\_\_at (B-細胞 CLL/リンパ腫 2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ 13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子 2 (顆粒球 - マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ 2)、210923\_\_at (電解質運搬体 (solute carrier) ファミリー 1 (グルタミン酸輸送体)、メンバー 7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子 1 // 甲状腺転写因子 1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼ Z // カルボキシペプチダーゼ Z)、211096\_\_at (プレ-B-細胞白血病転写因子 2)、211181\_\_x\_\_at (runt - 関連転写因子 1 (急性骨髄性白血病 1 ; aml1 癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_at (リボソームタンパク質 L4 // リボソームタンパク質 L4)、213096\_\_at (膜貫通及びコイルド - コイルドメインファミリー 2)、213121\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質 70 kDa ポリペプチド (RNP 抗原))、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド - スキップド (odd - skipped) 関連 2 (Drosophila))、213770\_\_at ras 1 のキナーゼ抑制因子 (214171\_\_s\_\_at (U2 低分子核内 RNA 補助因子 2))、216116\_\_at (SH3 ドメインを有する NCK 相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150

30

40

50

)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis  
 、クローン PROST2014925)、217180\_\_at (KIAA0187 遺  
 伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマ  
 ー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン  
 、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モータイル・スパーム(motile  
 sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼ  
 ファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、  
 221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974\_\_  
 at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセロ  
 ールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)、 10  
 229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KIA  
 A1856タンパク質)、229335\_\_at (免疫グロブリンスーパーファミリー、  
 メンバー4C)、229358\_\_at (インディアンヘッジホッグホモログ(Dros  
 ophila))、230341\_\_x\_\_at (トロンボスポンジン1型モチーフを有す  
 るADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca<sup>+</sup>  
<sup>+</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_at (FERM、RhoGEF及びプレクス  
 トリンドメインタンパク質2)、231510\_\_at (GLI-クルッペル(Krup  
 pel)ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関  
 連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タ  
 ンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メン  
 20  
 234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、23463  
 7\_\_at (ケラチン関連タンパク質4-5)、234881\_\_at、235568\_\_a  
 t (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_at (転写さ  
 れる遺伝子座)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative s  
 permatoocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(  
 Drosophila))、237087\_\_at (染色体14オープンリーディングフレ  
 ーム105)、237144\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結  
 合タンパク質3)、237398\_\_at (転写される遺伝子座)、237547\_\_at  
 (仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_at (トリパーティト(t  
 ripartite)モチーフ-含有66)、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_  
 30  
 x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-ア  
 セチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_a  
 t (セントaurin、ガンマ3)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、23  
 9756\_\_at (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039\_\_at  
 (転写される遺伝子座//転写される遺伝子座)、240147\_\_at (仮想タンパ  
 ク質MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン-ベータ-シクターゼ  
 )、241270\_\_at (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、24  
 1431\_\_at、242365\_\_at (コイルド-コイルドメイン含有32)、243  
 297\_\_at (液胞タンパク質選別13ホモログD(S. cerevisiae))  
 40  
 、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEAD  
 メインファミリーメンバー2)、43934\_\_at (Gタンパク質-共役受容体137  
 )を含むトランスクリプトームを利用するバイオマーカー-II(TBB-II)と、こ  
 れらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む核酸配列/生体分子  
 の分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同  
 定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患又は心  
 筋炎を診断するステップとを含むことを特徴とする、心疾患又は心筋炎を診断する方法。

【請求項33】

前記分子的特徴は、生物学的試料から得られる核酸を単離することによって患者から同  
 定されることを特徴とする、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

前記核酸は前記バイオチップにハイブリダイズされ、マイクロアレイのハイブリダイゼーションからの生の強度測定値が標準化され、遺伝子発現の表現型特異的な相違が同定されることを特徴とする、請求項32に記載の方法。

【請求項35】

前記遺伝子発現の相違は、有意性がq値で定義され、多重比較がp値の調整を含む、マイクロアレイの有意性解析によって同定されることを特徴とする、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

得られるデータの約66%を含むトレーニング用セットで分類指標を作成し、その後、得られるデータの約33%が含まれるテスト用セットで検証し、分類のための表現型特異的最短収縮重心法で定義することで表現型の特異度が同定されることを特徴とする、請求項35に記載の方法。

10

【請求項37】

前記表現型特異的最短収縮重心法は、トレーニング用セットでの10回の交差確認について平均化することを含むことを特徴とする、請求項36に記載の方法。

【請求項38】

1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリボプロテインL)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1 (H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST 2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローン LNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase) (Drosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2)及び244042\_\_x\_\_atを含むトランスクリプトームを利用するバイオマーカー-III(TBB-III)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む核酸配列/生体分子の分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同

20

30

40

50

定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患又は心筋炎を診断するステップとを含むことを特徴とする、心疾患又は心筋炎を診断する方法。

【請求項 39】

前記分子的特徴は、生物学的試料から得られる核酸を単離することによって患者から同定されることを特徴とする、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

前記核酸は前記バイオチップにハイブリダイズされ、マイクロアレイのハイブリダイゼーションからの生の強度測定値が標準化され、遺伝子発現の表現型特異的な相違が同定されることを特徴とする、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

前記遺伝子発現の相違は、有意性が q 値で定義され、多重比較が p 値の調整を含む、マイクロアレイの有意性解析によって同定されることを特徴とする、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

得られるデータの約 66% を含むトレーニング用セットで分類指標を作成し、その後、得られるデータの約 33% が含まれるテスト用セットで検証し、分類のための表現型特異的最短収縮重心法で定義することで表現型の特異度が同定されることを特徴とする、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

前記表現型特異的最短収縮重心法は、トレーニング用セットでの 10 回の交差確認について平均化することを含むことを特徴とする、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 44】

前記分子的特徴は、生物学的試料から得られる核酸を単離することによって患者から同定されることを特徴とする、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 45】

前記核酸は前記バイオチップにハイブリダイズされ、マイクロアレイのハイブリダイゼーションからの生の強度測定値が標準化され、遺伝子発現の表現型特異的な相違が同定されることを特徴とする、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

前記遺伝子発現の相違は、有意性が q 値で定義され、多重比較が p 値の調整を含む、マイクロアレイの有意性解析によって同定されることを特徴とする、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 47】

得られるデータの約 66% を含むトレーニング用セットで分類指標を作成し、その後、得られるデータの約 33% が含まれるテスト用セットで検証し、分類のための表現型特異的最短収縮重心法で定義することで表現型の特異度が同定されることを特徴とする、請求項 46 に記載の方法。

【請求項 48】

前記表現型特異的最短収縮重心法は、トレーニング用セットでの 10 回の交差確認について平均化することを含むことを特徴とする、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

1553212\_\_at (ケラチン 78)、1557236\_\_at (アポリポプロテイン L)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有 6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有 27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質 337)、1565662\_\_at (ムチン 6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ 1 (Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質 - 様 1)、205758\_\_at (CD8a 分子 / / CD8a 分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ 1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 H 1

10

20

30

40

50

(H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン K A I A 2150)、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン P R O S T 2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローン L N G 1 2 4 0 3)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229569\_\_at (CDNA クローン I M A G E : 5 2 6 3 4 5 5)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想 L O C 1 9 7 1 3 5)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体 - 様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative spermatocyte) ホモログ2、脂質デサチュラーゼ (desaturase) (Drosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル (アルファ - 1, 6 - ) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1 - 型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2) 及び244042\_\_x\_\_atのトランスクリプトームを利用するバイオマーカー - I (TBB - I)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、キット。

10

20

## 【請求項50】

バイオチップが、前記トランスクリプトームを利用するバイオマーカーと、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、請求項49に記載のキット。

## 【請求項51】

1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ - 様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、1556320\_\_at (ストマチン (EPB72) - 様1)、1556510\_\_at (CDNA クローン I M A G E : 4 7 9 6 8 6 4)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1 (トリプシン1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ24 (STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質 - 様1)、204581\_\_at (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1 (Drosophila))、207004\_\_at (B - 細胞 CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子2 (顆粒球 - マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体 (solute carrier) ファミリー1 (グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1 // 甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZ // カルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ - B - 細胞白血病転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt - 関連転写因子1 (急性骨髄性白血病1 ; am11 癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_at

30

40

50

(リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_at  
(膜貫通及びコイルド-コイルドメインファミリー2)、213121\_\_at (核内  
低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原)、213242  
\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド-スキップド(od  
d-skipped)関連2(Drosophila))、213770\_\_at ras  
1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)  
、216116\_\_at (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、216  
427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150  
)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis  
、クローン PROST2014925)、217180\_\_at (KIAA0187遺  
伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマ  
ー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン  
、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モータイル・スパーム(motil  
e sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼ  
ファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、  
221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974\_\_  
at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセロ  
ールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)、  
229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KIA  
A1856タンパク質)、229335\_\_at (免疫グロブリンスーパーファミリー、  
メンバー4C)、229358\_\_at (インディアンヘッジホッグホモログ(Dros  
ophila))、230341\_\_x\_\_at (トロンボスポンジン1型モチーフを有す  
るADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca<sup>+</sup>  
<sup>+</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_at (FERM、RhoGEF及びプレクス  
トリンドメインタンパク質2)、231510\_\_at (GLI-クルッペル(Krup  
pel)ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関  
連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タ  
ンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メン  
バーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、23463  
7\_\_at (ケラチン関連タンパク質4-5)、234881\_\_at、235568\_\_a  
t (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_at (転写さ  
れる遺伝子座)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative s  
permatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(  
Drosophila))、237087\_\_at (染色体14オープンリーディングフ  
レーム105)、237144\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結  
合タンパク質3)、237398\_\_at (転写される遺伝子座)、237547\_\_at  
(仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_at (トリパーティ(t  
ripartite)モチーフ-含有66)、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_  
x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-ア  
セチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_a  
t (センタウリン、ガンマ3)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、23  
9756\_\_at (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039\_\_at  
(転写される遺伝子座//転写される遺伝子座)、240147\_\_at (仮想タン  
パク質MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン-ベータ-シクターゼ  
)、241270\_\_at (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、24  
1431\_\_at、242365\_\_at (コイルド-コイルドメイン含有32)、243  
297\_\_at (液胞タンパク質選別13ホモログD(S. cerevisiae))  
、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEAD  
メインファミリーメンバー2)、43934\_\_at (Gタンパク質-共役受容体137  
)のトランスクリプトームを利用するバイオマーカー-II(TBB-II)と、これら

10

20

30

40

50

の相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、キット。

【請求項52】

1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリポプロテインL)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローン LNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(Drosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEADドメインファミリーメンバー2)及び244042\_\_x\_\_atのトランスクリプトームを利用するバイオマーカー-I II (TBB-I II)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、キット。

【請求項53】

1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリポプロテインL)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、2164

27\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、  
 217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST  
 2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)  
 、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリ  
 ー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、  
 クローンLNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、  
 229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、2316  
 29\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想  
 LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、23  
 3974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、2344  
 95\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体  
 19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体  
 - 様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative sp  
 ermatocyte) ホモログ2、脂質デサチュラーゼ (desaturase) (D  
 rosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノ  
 シル(アルファ - 1, 6 - ) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミ  
 ニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子  
 座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1 - 型ドメイン3)、24376  
 6\_\_s\_\_at (TEADドメインファミリーメンバー2)及び244042\_\_x\_\_atを  
 含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産  
 物とのそれぞれに特異的であることを特徴とする、抗体又はアプタマー。

【請求項54】

1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリポプロテ  
 インL)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、15584  
 84\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフ  
 ィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲ  
 ル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophil  
 a))、203307\_\_at (グアニヌクレオチド結合タンパク質 - 様1)、205  
 758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホ  
 モログ1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at  
 (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1  
 (H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_  
 at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモ  
 ン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、2164  
 27\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)  
 、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST  
 2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)  
 、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリ  
 ー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、  
 クローンLNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、  
 229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、2316  
 29\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想  
 LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、23  
 3974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、2344  
 95\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体  
 19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体  
 - 様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative sp  
 ermatocyte) ホモログ2、脂質デサチュラーゼ (desaturase) (D  
 rosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノ  
 シル(アルファ - 1, 6 - ) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミ

ニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2)及び244042\_\_x\_\_atを含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、バイオチップ。

【請求項55】

TBB-I、TBB-II又はTBB-IIIから選択される生体分子のうち、いずれか1種類又は2種類以上を発現することを特徴とする、細胞。

【請求項56】

TBB-I、TBB-II又はTBB-IIIから選択される生体分子のうち、いずれか1種類又は2種類以上をエンコードすることを特徴とする、ベクター。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、心疾患、心筋炎のバイオマーカーと、新規薬剤治療標的と、心疾患及びこれらの関連する障害の予測、診断及び治療のための組成物及び方法とに関する。より具体的には、本発明は、心臓病のさまざまな局面に関連するユニークな分子的特徴(molecular signatures)にもとづく方法及び組成物に関する。

【0002】

20

連邦政府による資金提供を受けた研究の記載

本発明は、国立衛生研究所により付与された助成金番号M400-217-2954及びRO-1HL-65455の両方の合衆国政府の支援によってなされた。前記合衆国政府は、本発明の特定の権利を有する場合がある。

【背景技術】

【0003】

心機能障害を原因とする心不全患者の治療のための現行のアプローチは、個別対応が欠如している。この問題は、心不全薬のクラスの数が増えるにつれて重要性が増大する。さらに、特異的療法をもたらすために有用となる場合があるという認識を増大させている。正確なバイオマーカーは、心不全の分野で個別化医療の適用を増大するために診断精度を改良することが必要とされる。

30

【0004】

心臓病の早期診断及び予後判断を提供するための当業者のニーズがある。心筋炎はごく一部の心機能の低下の原因となり、その後、心不全と、早期かつ予期しない心臓性突然死をもたらす。心筋炎は子供を含む一生を通じてヒトに影響を及ぼす。生検によって得られた心組織の組織学的解析を用いる現在の診断アプローチは、感度及び特異度を欠いている。心筋炎からの重篤な心臓合併症の発症の高いリスクと、疾患特異的療法の利用可能性とを考慮すると、適切かつ早期に治療を調整するためのより適したバイオマーカーのニーズがある。

【発明の概要】

40

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

発明の概要

心筋炎、これらの心臓病のための非常に高感度な診断バイオマーカーとして機能する分子的特徴が同定された。

【課題を解決するための手段】

【0006】

好ましい実施態様では、分子組成物は、1553145\_\_at (仮想タンパク質 FLJ39653)、1553575\_\_at、1557236\_\_at (アポリポプロテインL、6)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1560

50

752\_\_at (F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、200068\_\_s\_\_at (カルネキシン//カルネキシン)、201031\_\_s\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、202646\_\_s\_\_at (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206188\_\_at (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_at (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_at、213317\_\_at (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_at (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_at (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_at (CDNA:FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_at (PRO1073タンパク質)、224321\_\_at (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_at (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_at (CDNAクローン IMAGE:5278517)、226173\_\_at (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_at (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_at (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_at (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_at (CDNAクローン IMAGE:5263455)、231735\_\_s\_\_at (PRO1073タンパク質)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_at (CDNAクローン IMAGE:6622963)、236953\_\_s\_\_at (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_at (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_at ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

10

20

30

## 【0007】

別の好ましい実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを検出することが、心筋炎及び心筋障害の診断となる。

## 【0008】

別の好ましい実施態様では、遺伝子配列のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心筋炎、特発性心筋症、心疾患及びこれらの障害の診断となる。

## 【0009】

別の好ましい実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%、2%、5%、10%のレベル過剰発現される。

40

## 【0010】

心筋炎の診断のためのバイオマーカー(TBB-I)は、1553145\_\_at (仮想タンパク質 FLJ39653)、1553575\_\_at、1557236\_\_at (アポリポプロテインL、6)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1560752\_\_at (F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、200068\_\_s\_\_at (カルネキシン//カルネキシン)、201031\_\_s\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、202646\_\_s\_\_at (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、

50

206188\_\_at (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_at (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_at、213317\_\_at (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_at (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_at (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_at (CDNA:FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_at (PRO1073タンパク質)、224321\_\_at (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_at (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_at (CDNA クローン IMAGE:5278517)、226173\_\_at (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_at (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_at (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_at (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE:5263455)、231735\_\_s\_\_at (PRO1073タンパク質)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_at (CDNA クローン IMAGE:6622963)、236953\_\_s\_\_at (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_at (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_at ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)を含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

#### 【0011】

代替的な実施態様では、生体分子のうち少なくとも10個を検出することが、心筋炎の診断となる。

#### 【0012】

別の好ましい実施態様では、抗体又はアプタマーは、1553145\_\_at (仮想タンパク質 FLJ39653)、1553575\_\_at、1557236\_\_at (アポリポプロテインL、6)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1560752\_\_at (F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、200068\_\_s\_\_at (カルネキシン//カルネキシン)、201031\_\_s\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、202646\_\_s\_\_at (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206188\_\_at (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_at (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_at、213317\_\_at (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_at (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_at (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_at (CDNA:FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_at (PRO1073タンパク質)、224321\_\_at (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_at (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_at (CDNA クローン IMAGE:5278517)、226173\_\_at (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_at (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_at (

核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_at (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE:5263455)、231735\_\_s\_\_at (PRO1073タンパク質)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_at (CDNA クローン IMAGE:6622963)、236953\_\_s\_\_at (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_at (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_at ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)を含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む各遺伝子配列に特異的である。

10

## 【0013】

別の好ましい実施態様では、バイオチップは、1553145\_\_at (仮想タンパク質 FLJ39653)、1553575\_\_at、1557236\_\_at (アポリポロタンパク質L、6)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1560752\_\_at (F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、200068\_\_s\_\_at (カルネキシン///カルネキシン)、201031\_\_s\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、202646\_\_s\_\_at (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_at (CD8a分子///CD8a分子)、206188\_\_at (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_at (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_at、213317\_\_at (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_at (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_at (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_at (CDNA:FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_at (PRO1073タンパク質)、224321\_\_at (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_at (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_at (CDNA クローン IMAGE:5278517)、226173\_\_at (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_at (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_at (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_at (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE:5263455)、231735\_\_s\_\_at (PRO1073タンパク質)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_at (CDNA クローン IMAGE:6622963)、236953\_\_s\_\_at (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_at (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_at ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)の核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

20

30

40

## 【0014】

別の好ましい実施態様では、前記バイオチップは、核酸配列のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

## 【0015】

ある好ましい実施態様では、トランスクリプトームのバイオマーカー(TBB-II)は、1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ-様ファミリー、メン

50

ー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想  
 タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、15  
 56320\_\_at (ストマチン(EPB72)-様1)、1556510\_\_at (C  
 DNA クローン IMAGE:4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富口  
 イシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル  
 形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、156851  
 3\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_at  
 (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_a  
 t (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、204581\_\_at (CD22  
 分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可  
 能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))  
 10  
 、207004\_\_at (B-細胞CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at  
 (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロ  
 ニー刺激因子2(顆粒球-マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アル  
 ギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体(solu  
 te carrier)ファミリー1(グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、2110  
 24\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1//甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_a  
 t (カルボキシペプチダーゼZ//カルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_a  
 t (プレ-B-細胞白血病転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt-関連  
 20  
 転写因子1(急性骨髄性白血病1;aml1癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_a  
 t (リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_a  
 t (膜貫通及びコイルド-コイルドメインファミリー2)、213121\_\_at (核  
 内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原))、21324  
 2\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド-スキップド(od  
 dd-skipped)関連2(Drosophila))、213770\_\_at ras  
 s1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2  
 )、216116\_\_at (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、21  
 6427\_\_at (CDNA:FLJ22786fis、クローンKIAA215  
 0)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNAFLJ39484fis  
 30  
 s、クローンPROST2014925)、217180\_\_at (KIAA0187  
 遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴ  
 マー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲ  
 ン、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モータイル・スパーム(moti  
 le sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラー  
 ゼファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)  
 、221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974  
 \_\_at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセ  
 ロールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)  
 、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KI  
 40  
 AAA1856タンパク質)、229335\_\_at (免疫グロブリンスーパーファミリー  
 、メンバー4C)、229358\_\_at (インディアンヘッジホッグホモログ(Dro  
 sophila))、230341\_\_x\_\_at (トロンボスポンジン1型モチーフを有  
 するADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca  
 ++輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_at (FERM、RhoGEF及びプレク  
 ストリンドメインタンパク質2)、231510\_\_at (GLI-クルッペル(Kru  
 ppe1)ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-  
 関連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖DNA結合  
 タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メ  
 ンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、2346  
 37\_\_at (ケラチン関連タンパク質4-5)、234881\_\_at、235568\_\_

10

20

30

40

50

a t (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_a t (転写される遺伝子座)、236496\_\_a t (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(Drosophila))、237087\_\_a t (染色体14オープンリーディングフレーム105)、237144\_\_a t (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3)、237398\_\_a t (転写される遺伝子座)、237547\_\_a t (仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_a t (トリパーティト(tripartite)モチーフ-含有66)、238267\_\_s\_\_a t、238445\_\_x\_\_a t (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_a t (セントaurin、ガンマ3)、239463\_\_a t (転写される遺伝子座)、239756\_\_a t (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039\_\_a t (転写される遺伝子座//転写される遺伝子座)、240147\_\_a t (仮想タンパク質MGC11257)、240517\_\_a t (シスタチオニン-ベータ-シターゼ)、241270\_\_a t (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、241431\_\_a t、242365\_\_a t (コイルド-コイルドメイン含有32)、243297\_\_a t (液胞タンパク質選別13ホモログD(S.cerevisiae))、243497\_\_a t (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_a t (TEAドメインファミリーメンバー2)、43934\_\_a t (Gタンパク質-共役受容体137)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

#### 【0016】

別の好ましい実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを検出することが、例えば、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の心筋炎及び心筋障害と、心臓循環器疾患との診断となる。

#### 【0017】

別の代替的な実施態様では、遺伝子配列のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心筋炎、特発性心筋症、心疾患及びこれらの障害の診断となる。

#### 【0018】

別の実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも約1%、5%、10%、100%、200%又はそれ以上のレベル変調される場合がある。

#### 【0019】

別の好ましい実施態様では、バイオチップは、1552419\_\_s\_\_a t (チューブリンチロシンリガーゼ-様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_a t (ケラチン78)、1555124\_\_a t (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_a t (転移抑制因子1)、1556320\_\_a t (ストマチン(EPB72)-様1)、1556510\_\_a t (CDNA クローン IMAGE:4796864)、1558484\_\_s\_\_a t (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_a t (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_a t (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_a t (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_a t (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母))、203307\_\_a t (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、204581\_\_a t (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_a t (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_a t (ムサシホモログ1(Drosophila))、207004\_\_a t (B-細胞 CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_a t (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キ

ナーゼ13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子2 (顆粒球 - マクロファージ)  
 )、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、21  
 0923\_\_at (電解質運搬体 (solute carrier) ファミリー1 (グル  
 タミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1 / / /  
 甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZ / / / カル  
 ボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ - B - 細胞白血球転写因子2)、  
 211181\_\_x\_\_at (runt - 関連転写因子1 (急性骨髄性白血病1 ; am  
 l1 癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_at (リボソームタンパク質L4 / / / リボ  
 ソームタンパク質L4)、213096\_\_at (膜貫通及びコイルド - コイルドメイン  
 ファミリー2)、213121\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDa  
 ポリペプチド (RNP抗原))、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、21  
 3568\_\_at (オッド - スキップド (odd - skipped) 関連2 (Dros o  
 phila))、213770\_\_at ras1のキナーゼ抑制因子 (214171\_\_s  
 \_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、216116\_\_at (SH3ドメイン  
 を有するNCK相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22  
 786 fis、クローン KIAA2150)、216820\_\_at、217054\_\_  
 at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)  
 、217180\_\_at (KIAA0187遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、2  
 17182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液 / ゲル形成)、217322\_\_x\_\_  
 at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン、I型、アルファ1)、219070\_\_s  
 \_\_at (モータイル・スパーム (motile sperm) ドメイン含有3)、21  
 9425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、2216  
 63\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン  
 (Nyctalopin))、223974\_\_at (仮想タンパク質MGC11082  
 )、226640\_\_at (ジアシルグリセロールリパーゼベータ)、228074\_\_a  
 t (仮想タンパク質LOC162073)、229191\_\_at (チューブリン折畳  
 共同因子D)、229257\_\_at (KIAA1856タンパク質)、229335\_\_  
 at (免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4C)、229358\_\_at (イ  
 ンディアンヘッジホッグホモログ (Drosophila))、230341\_\_x\_\_a  
 t (トロンボスポンジン1型モチーフを有するADAMメタロペプチダーゼ、10)、  
 230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca<sup>++</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_  
 at (FERM、RhoGEF及びプレクストリンドメインタンパク質2)、2315  
 10\_\_at (GLI - クルッペル (Kruppel) ファミリーメンバーGLI2)、  
 231629\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at  
 、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at  
 (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリク  
 レイン - 関連ペプチダーゼ15)、234637\_\_at (ケラチン関連タンパク質4 -  
 5)、234881\_\_at、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフ  
 レーム59)、235600\_\_at (転写される遺伝子座)、236496\_\_at (精  
 原細胞変性 (degenerative spermatocyte) ホモログ2、脂  
 質デサチュラーゼ (desaturase) (Drosophila))、237087  
 \_\_at (染色体14オープンリーディングフレーム105)、237144\_\_at (潜  
 在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3)、237398\_\_at  
 (転写される遺伝子座)、237547\_\_at (仮想タンパク質LOC728730)  
 、237679\_\_at (トリパーティト (tripartite) モチーフ - 含有66  
 )、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル (アルファ - 1,  
 6 - ) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミニルトランスフェラー  
 ゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_at (センタウリン、ガンマ3)、239  
 463\_\_at (転写される遺伝子座)、239756\_\_at (MAD1有糸分裂停止  
 欠損 - 様1 (酵母))、240039\_\_at (転写される遺伝子座 / / / 転写される遺

10

20

30

40

50

伝子座)、240147\_\_at (仮想タンパク質MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン-ベータ-シターゼ)、241270\_\_at (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、241431\_\_at、242365\_\_at (コイルド-コイルドメイン含有32)、243297\_\_at (液胞タンパク質選別13ホモログD(S. cerevisiae))、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2)、43934\_\_at (Gタンパク質-共役受容体137)の核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

【0020】

さらに別の実施態様では、抗体又はアプタマーは、1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ-様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、1556320\_\_at (ストマチン(EPB72)-様1)、1556510\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、204581\_\_at (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))、207004\_\_at (B-細胞CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子2(顆粒球-マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー1(グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1//甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZ//カルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ-B-細胞白血病転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt-関連転写因子1(急性骨髄性白血病1;aml1癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_at (リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_at (膜貫通及びコイルド-コイルドドメインファミリー2)、213121\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原))、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド-スキップド(odd-skipped)関連2(Drosophila))、213770\_\_at ras1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、216116\_\_at (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217180\_\_at (KIAA0187遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モータイル・スパーム(motile sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974\_\_at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセロールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KIAA1856タンパク質)、22933

10

20

30

40

50

5 \_\_ a t (免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4C)、229358 \_\_ a t (インディアンヘッジホッグホモログ(Drosophila))、230341 \_\_ x \_\_ a t (トロンボスポンジン1型モチーフを有するADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693 \_\_ a t (ATPアーゼ、Ca<sup>++</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768 \_\_ a t (FERM、RhoGEF及びプレクストリンドメインタンパク質2)、231510 \_\_ a t (GLI-クルッペル(Kruppel)ファミリーメンバーGLI2)、231629 \_\_ x \_\_ a t (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、231998 \_\_ a t、233794 \_\_ a t (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974 \_\_ s \_\_ a t (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495 \_\_ a t (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、234637 \_\_ a t (ケラチン関連タンパク質4-5)、234881 \_\_ a t、235568 \_\_ a t (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600 \_\_ a t (転写される遺伝子座)、236496 \_\_ a t (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(Drosophila))、237087 \_\_ a t (染色体14オープンリーディングフレーム105)、237144 \_\_ a t (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3)、237398 \_\_ a t (転写される遺伝子座)、237547 \_\_ a t (仮想タンパク質LOC728730)、237679 \_\_ a t (トリパーティート(tripartite)モチーフ-含有66)、238267 \_\_ s \_\_ a t、238445 \_\_ x \_\_ a t (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026 \_\_ x \_\_ a t (センタウリン、ガンマ3)、239463 \_\_ a t (転写される遺伝子座)、239756 \_\_ a t (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039 \_\_ a t (転写される遺伝子座//転写される遺伝子座)、240147 \_\_ a t (仮想タンパク質MGC11257)、240517 \_\_ a t (シスタチオニン-ベータ-シターゼ)、241270 \_\_ a t (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、241431 \_\_ a t、242365 \_\_ a t (コイルド-コイルドメイン含有32)、243297 \_\_ a t (液胞タンパク質選別13ホモログD(S. cerevisiae))、243497 \_\_ a t (転写される遺伝子座)、243766 \_\_ s \_\_ a t (TEADメインファミリーメンバー2)、43934 \_\_ a t (Gタンパク質-共役受容体137)を含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む各遺伝子配列に特異的である。

#### 【0021】

別の実施態様では、バイオマーカー(TBB-III)は、1553212 \_\_ a t (ケラチン78)、1557236 \_\_ a t (アポリポプロテインL、6)、1558142 \_\_ a t (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484 \_\_ s \_\_ a t (富口イシンリピート含有27)、1565614 \_\_ a t (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662 \_\_ a t (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100 \_\_ a t (ダックスフントホモログ1(Drosophila))、203307 \_\_ a t (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、205758 \_\_ a t (CD8a分子//CD8a分子)、206333 \_\_ a t (ムサシホモログ1(Drosophila))、212920 \_\_ a t、213242 \_\_ x \_\_ a t (KIAA0284)、213619 \_\_ a t (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、213770 \_\_ a t (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171 \_\_ s \_\_ a t (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443 \_\_ a t (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198 \_\_ a t (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427 \_\_ a t (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、217054 \_\_ a t (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217182 \_\_ a t (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322 \_\_ x \_\_ a t、219425 \_\_ a t (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、

2 2 2 1 4 5 \_\_ a t ( C D N A : F L J 2 3 5 7 2 f i s、クローン L N G 1 2 4 0 3 )、2 2 9 1 9 1 \_\_ a t ( チューブリン折畳共同因子 D )、2 2 9 5 6 9 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 5 2 6 3 4 5 5 )、2 3 1 6 2 9 \_\_ x \_\_ a t ( カリクレイン - 関連ペプチダーゼ 3 )、2 3 3 7 6 5 \_\_ a t ( 仮想 L O C 1 9 7 1 3 5 )、2 3 3 7 9 4 \_\_ a t ( 一本鎖 D N A 結合タンパク質 3 )、2 3 3 9 7 4 \_\_ s \_\_ a t ( 配列類似性を有するファミリー 1 2 9、メンバー B )、2 3 4 4 9 5 \_\_ a t ( カリクレイン - 関連ペプチダーゼ 1 5 )、2 3 5 5 6 8 \_\_ a t ( 染色体 1 9 オープンリーディングフレーム 5 9 )、2 3 5 8 0 3 \_\_ a t ( サイトカイン受容体 - 様因子 3 )、2 3 6 4 9 6 \_\_ a t ( 精原細胞変性 ( d e g e n e r a t i v e s p e r m a t o c y t e ) ホモログ 2、脂質デサチュラーゼ ( d e s a t u r a s e ) ( D r o s o p h i l a ) )、2 3 6 9 5 3 \_\_ s \_\_ a t、2 3 8 4 4 5 \_\_ x \_\_ a t ( マンノシル ( アルファ - 1, 6 - ) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイム B )、2 3 9 4 6 3 \_\_ a t ( 転写される遺伝子座 )、2 4 0 5 4 4 \_\_ a t ( ジンクフィンガー、A N 1 - 型ドメイン 3 )、2 4 3 7 6 6 \_\_ s \_\_ a t ( T E A ドメインファミリーメンバー 2 ) 及び 2 4 4 0 4 2 \_\_ x \_\_ a t を含む核酸配列 / 生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

【 0 0 2 2 】

別の好ましい実施態様では、心筋炎の診断方法は、1 5 5 3 1 4 5 \_\_ a t ( 仮想タンパク質 F L J 3 9 6 5 3 )、1 5 5 3 5 7 5 \_\_ a t、1 5 5 7 2 3 6 \_\_ a t ( アポリポロタンパク質 L、6 )、1 5 5 8 1 4 2 \_\_ a t ( トリヌクレオチドリピート含有 6 B )、1 5 6 0 7 5 2 \_\_ a t ( F - ボックス及び W D - 4 0 ドメインタンパク質 2 )、1 5 6 5 6 1 4 \_\_ a t ( ジンクフィンガータンパク質 3 3 7 )、1 5 6 7 1 0 0 \_\_ a t ( ダックスフントホモログ 1 ( D r o s o p h i l a ) )、2 0 0 0 6 8 \_\_ s \_\_ a t ( カルネキシン / / / カルネキシン )、2 0 1 0 3 1 \_\_ s \_\_ a t ( ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 H 1 ( H ) )、2 0 2 6 4 6 \_\_ s \_\_ a t ( コールドショックドメイン含有 E 1、RNA 結合 )、2 0 5 7 5 8 \_\_ a t ( C D 8 a 分子 / / / C D 8 a 分子 )、2 0 6 1 8 8 \_\_ a t ( ジンクフィンガータンパク質 6 2 3 )、2 1 2 6 3 7 \_\_ s \_\_ a t ( W D ドメイン含有 E 3 ユビキチンタンパク質リガーゼ 1 )、2 1 2 9 2 0 \_\_ a t、2 1 3 3 1 7 \_\_ a t ( 塩素細胞内チャネル 5 )、2 1 3 6 1 9 \_\_ a t ( ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 H 1 ( H ) )、2 1 5 4 4 3 \_\_ a t ( 甲状腺刺激ホルモン受容体 )、2 1 6 1 9 8 \_\_ a t ( 活性化転写因子 7 相互作用タンパク質 )、2 1 7 8 7 0 \_\_ s \_\_ a t ( シチジル酸キナーゼ )、2 1 8 0 8 7 \_\_ s \_\_ a t ( ソルビン及び S H 3 ドメイン含有 1 )、2 2 2 1 4 5 \_\_ a t ( C D N A : F L J 2 3 5 7 2 f i s、クローン L N G 1 2 4 0 3 )、2 2 3 5 7 7 \_\_ x \_\_ a t ( P R O 1 0 7 3 タンパク質 )、2 2 4 3 2 1 \_\_ a t ( E G F - 様及び 2 つのフォリスタチン - 様ドメインを有する膜貫通タンパク質 2 )、2 2 4 3 7 3 \_\_ s \_\_ a t ( I Q モチーフ及び W D リピート 1 )、2 2 4 6 4 4 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 5 2 7 8 5 1 7 )、2 2 6 1 7 3 \_\_ a t ( オルニチンアミノトランスフェラーゼ - 様 1 )、2 2 6 7 7 3 \_\_ a t ( C D N A F L J 3 5 1 3 1 f i s、クローン P L A C E 6 0 0 8 8 2 4 )、2 2 6 8 8 0 \_\_ a t ( 核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質 1 )、2 2 8 9 8 0 \_\_ a t ( リングフィンガー及び F Y V E - 様ドメイン含有 1 )、2 2 9 5 6 9 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 5 2 6 3 4 5 5 )、2 3 1 7 3 5 \_\_ s \_\_ a t ( P R O 1 0 7 3 タンパク質 )、2 3 3 7 6 5 \_\_ a t ( 仮想 L O C 1 9 7 1 3 5 )、2 3 5 8 0 3 \_\_ a t ( サイトカイン受容体 - 様因子 3 )、2 3 6 1 3 1 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 6 6 2 2 9 6 3 )、2 3 6 9 5 3 \_\_ s \_\_ a t ( R I K E N c D N A 8 0 3 0 4 5 1 K 0 1 に類似 )、2 4 0 5 4 4 \_\_ a t ( ジンクフィンガー、A N 1 - 型ドメイン 3 )、2 4 0 9 7 1 \_\_ x \_\_ a t ( カリン ( C u l l i n ) 4 A )、2 4 4 0 4 2 \_\_ x \_\_ a t ( ( タザロテンで誘導される ) レチノイン酸受容体レスポナー 2 に類似 ) を含むトランスクリプトームを利用するバイオマーカー - I ( T B B - I ) と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む核酸配列 / 生体分子の分子的特

10

20

30

40

50

徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、特発性心筋症と、心筋炎とを鑑別するステップとを含む。

【0023】

別の好ましい実施態様では、心疾患又は心筋炎を診断する方法は、1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ-様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、1556320\_\_at (ストマチン(EPB72)-様1)、1556510\_\_at (CDNA クローン IM AGE: 4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、204581\_\_at (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))、207004\_\_at (B-細胞 CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子2(顆粒球-マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー1(グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1//甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZ//カルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ-B-細胞白血球転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt-関連転写因子1(急性骨髄性白血病1; aml1 癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_at (リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_at (膜貫通及びコイルド-コイルドメインファミリー2)、213121\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原))、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド-スキップド(odd-skipped)関連2(Drosophila))、213770\_\_at ras1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、216116\_\_at (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROS T2014925)、217180\_\_at (KIAA0187遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モータイル・スパーム(motile sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974\_\_at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセロールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KIAA1856タンパク質)、229335\_\_at (免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4C)、229358\_\_at (インディアンヘッジホッグホモログ(Drosophila))、230341\_\_x\_\_at (トロンボスポンジン1型モチーフを有するADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca<sup>++</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_at (FERM、RhoGEF及びプレクストリンドメインタンバ

10

20

30

40

50

ク質 2)、231510\_\_at (GLI - クルッペル (Kruppel) ファミリーメンバー GLI 2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ 3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖 DNA 結合タンパク質 3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー 129、メンバー B)、234495\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ 15)、234637\_\_at (ケラチン関連タンパク質 4 - 5)、234881\_\_at、235568\_\_at (染色体 19 オープンリーディングフレーム 59)、235600\_\_at (転写される遺伝子座)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative spermatocyte) ホモログ 2、脂質デサチュラーゼ (desaturase) (Drosophila))、237087\_\_at (染色体 14 オープンリーディングフレーム 105)、237144\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質 3)、237398\_\_at (転写される遺伝子座)、237547\_\_at (仮想タンパク質 LOC728730)、237679\_\_at (トリパーティト (tripartite) モチーフ - 含有 66)、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル (アルファ - 1, 6 -) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイム B)、239026\_\_x\_\_at (センタウリン、ガンマ 3)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、239756\_\_at (MAD1 有糸分裂停止欠損 - 様 1 (酵母))、240039\_\_at (転写される遺伝子座 / / / 転写される遺伝子座)、240147\_\_at (仮想タンパク質 MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン - ベータ - シンターゼ)、241270\_\_at (ロンボイド 5 ホモログ 2 (Drosophila))、241431\_\_at、242365\_\_at (コイルド - コイルドメイン含有 32)、243297\_\_at (液胞タンパク質選別 13 ホモログ D (S. cerevisiae))、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEAD メインファミリーメンバー 2)、43934\_\_at (G タンパク質 - 共役受容体 137) を含むトランスクリプトームを利用するバイオマーカー - II (TBB - II) と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む核酸配列 / 生体分子の分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患又は心筋炎を診断するステップとを含む。

#### 【0024】

別の好ましい実施態様では、心疾患又は心筋炎を診断する方法は、1553212\_\_at (ケラチン 78)、1557236\_\_at (アポリポプロテイン L)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有 6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有 27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質 337)、1565662\_\_at (ムチン 6、オリゴマー粘液 / ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ 1 (Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質 - 様 1)、205758\_\_at (CD8a 分子 / / / CD8a 分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ 1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 H1 (H))、213770\_\_at (ras1 のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2 低分子核内 RNA 補助因子 2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子 7 相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217182\_\_at (ムチン 5 AC、オリゴマー粘液 / ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー 4A、メンバー 1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローン LNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子 D)、229569\_\_at

(CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体 - 様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative spermatocyte) ホモログ2、脂質デサチュラーゼ (desaturase) (Drosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ - 1, 6 -) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1 - 型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2)及び244042\_\_x\_\_atを含むトランスクリプトームを利用するバイオマーカー - III (TBB - III)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む核酸配列/生体分子の分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患又は心筋炎を診断するステップとを含む。

#### 【0025】

別の好ましい実施態様では、キットは、1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリポrotein L)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質 - 様1)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローン LNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体 - 様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative spermatocyte) ホモログ2、脂質デサチュラーゼ (desaturase) (Drosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ - 1, 6 -) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1 - 型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメン

10

20

30

40

50

パー 2) 及び 2 4 4 0 4 2 \_\_ x \_\_ a t のトランスクリプトームを利用するバイオマーカー - I ( T B B - I ) と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

【 0 0 2 6 】

別の好ましい実施態様では、キットは、 1 5 5 2 4 1 9 \_\_ s \_\_ a t ( チューブリンチロシンリガーゼ - 様ファミリー、メンバー 1 0 )、 1 5 5 3 2 1 2 \_\_ a t ( ケラチン 7 8 )、 1 5 5 5 1 2 4 \_\_ a t ( 仮想タンパク質 M G C 4 0 5 7 4 )、 1 5 5 6 1 9 2 \_\_ x \_\_ a t ( 転移抑制因子 1 )、 1 5 5 6 3 2 0 \_\_ a t ( ストマチン ( E P B 7 2 ) - 様 1 )、 1 5 5 6 5 1 0 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 4 7 9 6 8 6 4 )、 1 5 5 8 4 8 4 \_\_ s \_\_ a t ( 富ロイシンリピート含有 2 7 )、 1 5 6 5 6 6 2 \_\_ a t ( ムチン 6、オリゴマー粘液 / ゲル形成)、 1 5 6 7 4 1 0 \_\_ a t ( ジンクフィンガータンパク質 1 3 5 )、 1 5 6 8 5 1 3 \_\_ x \_\_ a t ( プロテアーゼ、セリン、1 (トリプシン 1 ) )、 1 5 7 0 4 0 8 \_\_ a t ( セリン / スレオニンキナーゼ 2 4 ( S T E 2 0 ホモログ、酵母 )、 2 0 3 3 0 7 \_\_ a t ( グアニンヌクレオチド結合タンパク質 - 様 1 )、 2 0 4 5 8 1 \_\_ a t ( C D 2 2 分子、ミエリン関連糖タンパク質 )、 2 0 5 5 8 6 \_\_ x \_\_ a t ( 神経成長因子で誘導可能な V G F )、 2 0 6 3 3 3 \_\_ a t ( ムサシホモログ 1 ( D r o s o p h i l a ) )、 2 0 7 0 0 4 \_\_ a t ( B - 細胞 C L L / リンパ腫 2 )、 2 1 0 0 5 9 \_\_ s \_\_ a t ( 分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ 1 3 )、 2 1 0 2 2 8 \_\_ a t ( コロニー刺激因子 2 ( 顆粒球 - マクロファージ ) )、 2 1 0 3 8 4 \_\_ a t ( タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ 2 )、 2 1 0 9 2 3 \_\_ a t ( 電解質運搬体 ( s o l u t e c a r r i e r ) ファミリー 1 ( グルタミン酸輸送体 )、メンバー 7 )、 2 1 1 0 2 4 \_\_ s \_\_ a t ( 甲状腺転写因子 1 / / / 甲状腺転写因子 1 )、 2 1 1 0 6 2 \_\_ s \_\_ a t ( カルボキシペプチダーゼ Z / / / カルボキシペプチダーゼ Z )、 2 1 1 0 9 6 \_\_ a t ( プレ - B - 細胞白血病転写因子 2 )、 2 1 1 1 8 1 \_\_ x \_\_ a t ( r u n t - 関連転写因子 1 ( 急性骨髄性白血病 1 ; a m l 1 癌遺伝子 ) )、 2 1 1 7 1 0 \_\_ x \_\_ a t ( リボソームタンパク質 L 4 / / / リボソームタンパク質 L 4 )、 2 1 3 0 9 6 \_\_ a t ( 膜貫通及びコイルド - コイルドメインファミリー 2 )、 2 1 3 1 2 1 \_\_ a t ( 核内低分子リボヌクレオタンパク質 7 0 k D a ポリペプチド ( R N P 抗原 ) )、 2 1 3 2 4 2 \_\_ x \_\_ a t ( K I A A 0 2 8 4 )、 2 1 3 5 6 8 \_\_ a t ( オッド - スキップド ( o d d - s k i p p e d ) 関連 2 ( D r o s o p h i l a ) )、 2 1 3 7 7 0 \_\_ a t r a s 1 のキナーゼ抑制因子 ( 2 1 4 1 7 1 \_\_ s \_\_ a t ( U 2 低分子核内 R N A 補助因子 2 )、 2 1 6 1 1 6 \_\_ a t ( S H 3 ドメインを有する N C K 相互作用タンパク質 )、 2 1 6 4 2 7 \_\_ a t ( C D N A : F L J 2 2 7 8 6 f i s、クローン K A I A 2 1 5 0 )、 2 1 6 8 2 0 \_\_ a t、 2 1 7 0 5 4 \_\_ a t ( C D N A F L J 3 9 4 8 4 f i s、クローン P R O S T 2 0 1 4 9 2 5 )、 2 1 7 1 8 0 \_\_ a t ( K I A A 0 1 8 7 遺伝子産物に類似する仮想タンパク質 )、 2 1 7 1 8 2 \_\_ a t ( ムチン 5 A C、オリゴマー粘液 / ゲル形成 )、 2 1 7 3 2 2 \_\_ x \_\_ a t、 2 1 7 4 3 0 \_\_ x \_\_ a t ( コラーゲン、I 型、アルファ 1 )、 2 1 9 0 7 0 \_\_ s \_\_ a t ( モータイル・スパーム ( m o t i l e s p e r m ) ドメイン含有 3 )、 2 1 9 4 2 5 \_\_ a t ( スルホトランスフェラーゼファミリー 4 A、メンバー 1 )、 2 2 1 6 6 3 \_\_ x \_\_ a t ( ヒスタミン受容体 H 3 )、 2 2 1 6 8 4 \_\_ s \_\_ a t ( ニクタロピン ( N y c t a l o p i n ) )、 2 2 3 9 7 4 \_\_ a t ( 仮想タンパク質 M G C 1 1 0 8 2 )、 2 2 6 6 4 0 \_\_ a t ( ジアシルグリセロールリパーゼベータ )、 2 2 8 0 7 4 \_\_ a t ( 仮想タンパク質 L O C 1 6 2 0 7 3 )、 2 2 9 1 9 1 \_\_ a t ( チューブリン折畳共同因子 D )、 2 2 9 2 5 7 \_\_ a t ( K I A A 1 8 5 6 タンパク質 )、 2 2 9 3 3 5 \_\_ a t ( 免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー 4 C )、 2 2 9 3 5 8 \_\_ a t ( インディアンヘッジホッグホモログ ( D r o s o p h i l a ) )、 2 3 0 3 4 1 \_\_ x \_\_ a t ( トロンボスポンジン 1 型モチーフを有する A D A M メタロペプチダーゼ、1 0 )、 2 3 0 6 9 3 \_\_ a t ( A T P アーゼ、Ca<sup>++</sup> 輸送、心筋、速筋 1 )、 2 3 0 7 6 8 \_\_ a t ( F E R M、R h o G E F 及びプレクストリンドメインタンパク質 2 )、 2 3 1 5 1 0 \_\_

at (GLI - クルッペル (Kruppel) ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ15)、234637\_\_at (ケラチン関連タンパク質4 - 5)、234881\_\_at、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_at (転写される遺伝子座)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative spermatocyte) ホモログ2、脂質デサチウラーゼ (desaturase) (Drosophila))、237087\_\_at (染色体14オープンリーディングフレーム105)、237144\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3)、237398\_\_at (転写される遺伝子座)、237547\_\_at (仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_at (トリパートイト (tripartite) モチーフ - 含有66)、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル (アルファ - 1, 6 - ) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_at (センタウリン、ガンマ3)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、239756\_\_at (MAD1有糸分裂停止欠損 - 様1 (酵母))、240039\_\_at (転写される遺伝子座 / / 転写される遺伝子座)、240147\_\_at (仮想タンパク質MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン - ベータ - シンターゼ)、241270\_\_at (ロンボイド5ホモログ2 (Drosophila))、241431\_\_at、242365\_\_at (コイルド - コイルドメイン含有32)、243297\_\_at (液胞タンパク質選別13ホモログD (S. cerevisiae))、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEADメインファミリーメンバー2)、43934\_\_at (Gタンパク質 - 共役受容体137) のトランスクリプトームを利用するバイオマーカー - II (TBB - II) と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

【0027】

別の好ましい実施態様では、キットは、1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリポプロテインL)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液 / ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質 - 様1)、205758\_\_at (CD8a分子 / / CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1 (H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液 / ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローン LNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファ

ミリー 129、メンバー B)、234495\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ 15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体 - 様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative spermatocyte) ホモログ2、脂質デサチユラーゼ (desaturase) (Drosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル (アルファ - 1, 6 -) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイム B)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1 - 型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2) 及び244042\_\_x\_\_atのトランスクリプトームを利用するバイオマーカー - III (TBB - III) と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

10

## 【0028】

別の実施態様では、細胞が前記バイオマーカーのTBB - Iを含む生体分子のうち、1種類又は2種類以上を発現する。

## 【0029】

別の実施態様では、細胞が前記バイオマーカーのTBB - IIIを含む生体分子のうち、1種類又は2種類以上を発現する。

## 【0030】

別の実施態様では、細胞が前記バイオマーカーのTBB - IIIを含む生体分子のうち、1種類又は2種類以上を発現する。

20

## 【0031】

別の好ましい実施態様では、ベクターがTBB - Iを含む生体分子のうち、1種類又は2種類以上をエンコードする。

## 【0032】

別の好ましい実施態様では、ベクターがTBB - IIIを含む生体分子のうち、1種類又は2種類以上をエンコードする。

## 【0033】

別の好ましい実施態様では、ベクターがTBB - IIIを含む生体分子のうち、1種類又は2種類以上をエンコードする。

30

## 【0034】

本発明の他の局面は以下に説明される。

## 【0035】

本発明は添付される請求の範囲で詳細に示される。本発明の上記及びさらなる利益は附属の図に関連してもたらされた以下の説明に言及することによって、より理解される場合がある。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0036】

【図1】特発性心筋症の患者の試料と、心筋炎の患者の試料とを比較するSAMのプロット。赤色は心筋炎の患者で有意に上向き調節された遺伝子を示し、緑色は有意に下向き調節された遺伝子を示す。外側の青色は、デルタ値で選択された陽性及び陰性のカットオフポイントを示す。1.41のデルタ値が選択された際には (FDR = 0.49)、遺伝子134個は2つのグループで有意な相違があった。階層的クラスタリング及びPAM解析で用いた0%のq値の候補遺伝子122個にこの遺伝子サブセットを減じた。

40

【図2】候補遺伝子122個を用いる階層的クラスタリングによって作成したヒートマップ。心筋炎の患者の試料は「Myo - 」と標識され、特発性心筋症の患者の試料は「GP - 」又は「BP - 」のいずれかで標識された。各行は試料を示し、各線は、アフィメトリクスの識別番号 (ID) を右側に列挙する遺伝子に対応する。遺伝子の注釈についてのさらなる詳細のために、表1を参照せよ。赤色は前記遺伝子の低発現を意味する一方、青色は遺伝子の高発現レベルを示す。6つの試料は誤ってグループ化された。

50

【図3】トレーニング用セットの誤分類度を示すグラフ。分類指標は、心筋炎の患者の8検体の試料及び特発性心筋症の患者の25検体の試料でトレインされた。閾値が3.2に増大し、かつ、分類指標の遺伝子が22個未満に減少した後、前記誤分類度は著しく増大した。

【図4】心筋炎のための「遺伝子39個の分類指標」の結果を示すグラフ。このグラフは、「遺伝子39個の分子的特徴」が2.6の閾値で適用された後、各クラスのための算出された確率を視覚化する。前記確率はy軸から読み取られる場合がある。グループ1は特発性心筋症の患者の試料を示し、グループ2は心筋炎の患者の試料を示す。

【図5】「遺伝子39個の分類指標」の最短収縮重心。重心は各遺伝子のクラス内標準偏差によって配分された各クラス中での各遺伝子の発現平均からPAMで算出された。前記最短収縮重心分類法は、閾値によって、クラス重心それぞれを全てのクラスの総合重心に「収縮する」。最短重心分類法は、新規試料の前記遺伝子の発現プロファイルを取得し、これらのクラス重心それぞれと比較する。平方距離で重心が最も近接した前記クラスが、前記新規試料について重心の予測されるクラスである。グラフ中の各線は遺伝子を示す。赤色の重心はグループ1（特発性心筋症）として特徴付けられ、緑色の重心はグループ2（心筋炎）として特徴付けられる。グラフ上に、上向き調節は右側へのベクトルとして図示され、下向き調節は左側へのベクトルとして図示される。

【図6】「遺伝子39個のトランスクリプトームのバイオマーカー」のヒートマップ。このヒートマップは、図2のように同一の監督なしクラスタリング法により作成された。

【図7】心筋炎の試料と、心筋症の他のタイプとの比較での主成分分析（PCA）及びさまざまなクラスターアルゴリズム。全ての表現型に対する遺伝子122個それぞれの貢献（ $FC > 1.2$  ;  $q < 0.1\%$ ）を図示するために、PCA（ $n = 61$ ）が行なわれた。変数としての遺伝子で相関マトリクスが用いられた。重要ではない遺伝子は中心に近接するベクトルで示され、PAM解析を用いて除外された遺伝子に対応する。心筋炎の試料は「M」と標識され、他の型の心筋症の患者の試料は「O」と標識された。過剰発現された遺伝子は連番で標識され、対応するクラスでクラスタ化される。2つ以外の全ての心筋炎の試料は、明確にともグループ化された。3種類の異なる種類のクラスタリングアルゴリズム（ワード法、完全連結及び群平均）で、遺伝子39個に減じられたセットの頑健性がさらに調べられた。心筋炎の試料は赤色で強調され、誤って分類された試料は青色で囲まれる。全ての方法はPAMと同一の精度が達成された（ $n = 33$ 、97%の精度）。

【発明を実施するための形態】

【0037】

詳細な説明

本発明は、心不全、心疾患、心筋炎その他の心臓病のための非常に高感度な診断バイオマーカーとして機能する分子的特徴を含む。心筋炎は、初期に無症状の患者でさえ、30%まで拡張型心筋症を生じさせると推定される一般的な病気である。心筋炎は心臓突然死として現れる場合があり、全ての年代の個人に影響を与える。子供では、心筋炎は、大人よりもより高い百分率の心不全をもたらす。ウイルスで誘発される症状の大部分が臨床学的に不明確な経路で進行するという事実は、現在利用可能な標準的診断ツール、例えば、ECG、心筋酵素及び免疫組織化学よりもより信頼性のあるバイオマーカーを発見する重要性を指摘する。

【0038】

心筋炎のための現行の標準的診断ツール（ECG、心筋酵素、免疫組織化学）は常に十分な信頼性があるとは限らず、多くの患者は治療を受けることなく臨床学的に不明確な経路をたどる。小児では致死的な経過が多数症例観察されてきたため、特に小児科では心筋炎を早期に検出することが重要である。

【0039】

定義

本発明に応じて本明細書で用いられるところの以下の用語は、別に明示される場合を除いて以下の意味で定義される。

10

20

30

40

50

## 【0040】

本明細書で用いられるところの「1つ(a)」、「1つ(an)」及び「その(the)」は、別に明示される場合を除いて複数を指すことを含む。

## 【0041】

本明細書で用いられるところの「分子的特徴」又は「特徴」又は「バイオマーカー」又は「トランスクリプトームを利用するバイオマーカー」は本明細書で互換的に用いられ、表1、表2及び表4で同定される全ての生体分子を指す。したがって、本明細書で列挙される生体分子を含む表1は、1個のバイオマーカー又は分子的特徴を示し、本明細書で列挙される生体分子を含む表2は、別の1個のバイオマーカー又は分子的特徴を示す、等々。より多くの生体分子が発見されるにつれて、新規に同定された生体分子それぞれは、い  
10  
ずれか1種類又は2種類以上のバイオマーカー又は分子的特徴に割り当てられる場合がある。各生体分子は、分子的特徴から除去されるか、あるいは分子的特徴に再割当又は再配分される場合がある。したがって、ある実施態様では、前記分子的特徴は生体分子のうち少なくとも10個を含む。前記生体分子10個は、本明細書で同定される遺伝子か、あるいは新規に同定される生体分子から選択される。上向き調節される遺伝子38個を含む表1の前記バイオマーカーは、簡略化のためにTBB-Iと名付けられる。表2の前記生体分子を含む前記バイオマーカーは、簡略化のためにTBB-IIと名付けられる。表4の前記生体分子を含む前記バイオマーカーは、簡略化のためにTBB-IIIと名付けられる。診断の際には、少なくとも10個又は11個以上の生体分子を検出することが望ましい。TBB-I、TBB-II及びTBB-IIIのいずれか1個か、これらの組み  
20  
合わせかは、心筋炎及び特発性心筋症の診断と、2つの症状の鑑別とに用いられる場合がある。

## 【0042】

「生体分子」という用語は、DNA、(mRNA、rRNA、tRNA及びtmRNAを含む)RNA、ヌクレオチド、ヌクレオシド、類似体、ポリヌクレオチド、ペプチド及びこれらのいずれかの組み合わせを指す。

## 【0043】

本明細書で用いられるところの塩基「位置」は、核酸中の特定の塩基又はヌクレオチド残基の場所を指す。

## 【0044】

本明細書で用いられるところの「アレイ」という用語は、規則正しい空間的な配置、特に、不動化された生体分子の配置を指す。

## 【0045】

本明細書で用いられるところの「アドレス指定可能なアレイ(addressable array)」という用語は、アレイの特定の位置での特定の要素が同定できるように個々の要素が正確に定義されたXY座標を指す。

## 【0046】

本明細書で用いられるところの「プローブ」及び「生体分子プローブ」という用語は、相補的な生体分子を検出するために用いられる生体分子を指す。例は、抗体が検出する抗原と、相補的なオリゴヌクレオチドが検出するオリゴヌクレオチドと、受容体が検出する  
40  
リガンドとを含む。かかるプローブは、基質を含む微小電極で不動化されることが好ましい。

## 【0047】

本明細書で用いられるところの「バイオアレイ」、「バイオチップ」及び「バイオチップアレイ」という用語は、固体支持基質上に配列される微小電極に不動化される生体分子の規則正しい空間的な配置を指す。プローブ分子は、アダマー、核酸、オリゴヌクレオチド、ペプチド、リガンド、抗体及び抗原を含むことが好ましく、ペプチド及びタンパク質が、最も好ましいプローブ種である。当業者が用いるようなバイオチップは、アレイ又はマイクロアレイを含む基質を含み、生物学的結合対のメンバーの1種類を含む、生物学的分子の規則正しいアレイが好ましく、規則正しいアドレス指定可能なアレイが最も好ま  
50

しい。かかるアレイは、生物学的試料に存在する場合があるか、あるいは期待される、少なくとも1種類の配列に相補的であるヌクレオチド配列を含む、オリゴヌクレオチドアレイであることが典型的である。代替的には、タンパク質、ペプチドその他の低分子は、とりわけ、(配置される分子が抗原である)免疫学的解析の実施か、(配置される分子が、受容体のリガンド、作動薬又は拮抗薬である)生物学的受容体アッセイかのためのかかるバイオチップに配置されることが好ましい。

【0048】

第1の試料での遺伝子又はバイオマーカーの発現レベル/量が、第2の試料又は正常な試料での遺伝子又はバイオマーカーの発現レベル/量の少なくとも1倍、1.2倍、1.5倍、1.75倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍の場合に、前記第1の試料での遺伝子、生体分子又はバイオマーカーの前記発現/量は、前記第2の試料でのレベルよりも「より大きな」前記レベルである。発現レベル/量は、mRNA、cDNA、タンパク質、タンパク質断片及び/又は遺伝子複製物を含むが、これらに限られない、当業者に知られるいずれか適切な基準にもとづいて決定される場合がある。発現レベル/量は、定性的及び/又は定量的に決定される場合がある。

10

【0049】

「変調する」という用語は、言及される活性のいずれかが、例えば、増加されるか、増大されるか、増加されるか、刺激されるか(作動薬としての作用)、促進されるか、低下されるか、減少されるか、抑制されるか、阻害されるか、拮抗されるか(拮抗薬としての作用)ことを意味する。変調は、基線値を超えて、1倍、2倍、3倍、5倍、10倍、100倍などよりも高く活性を増加する場合がある。変調は、基線値未満にその活性を低下させる場合もある。

20

【0050】

「対立遺伝子」及び「変異体」は、遺伝子の代替的な形状である。変異体は、核酸配列の少なくとも1個の変異から生じる場合があり、構造又は機能が改変されるか、あるいは改変されない場合がある、改変されたmRNA又はヌクレオチドを生じる場合がある。いずれかの特定の天然又は組換え遺伝子は、対立遺伝子形状を全く有しないか、あるいは1個又は多数を有する場合がある。変異体を生じる共通の突然変異の変化は、ヌクレオチドの天然の欠失、付加又は置換にもとづくことが一般的である。これらのタイプの変化それぞれは、単独か、他のタイプの変化との組み合わせかで1回又は2回以上特定の配列で起こる場合がある。

30

【0051】

「相補的」という用語は、3'末端の各配列が5'末端の他の配列に結合し、その際に、1つの配列のA、T(U)、G及びCそれぞれが、他の配列のT(U)、A、C及びGそれぞれとアライメントされる、アンチ-パラレルな向き(anti-parallel sense)で1個の配列が他の配列に結合する場合があるときに、2個の配列が相補的であることを意味する。オリゴヌクレオチドの相補配列は、特定された配列に対して少なくとも80%又は90%の相同性を有することが通常であり、95%となることが好ましく、100%となることがより好ましい。これらの対立遺伝子又は変異体は同定されることが好ましい。BLASTプログラムは、かかる配列の同一性を評価するために用いられる場合がある。

40

【0052】

あるポリヌクレオチド配列を指す「相補配列」は、塩基対合の規則によって別の核酸分子中の塩基配列に関係付けられる。とりわけ、前記用語又は類似の用語は、例えば、2本鎖DNA分子の2本鎖の間か、シーケンス又は増幅するためのオリゴヌクレオチドプライマーと、1本鎖核酸のプライマー結合部位との間かのようなヌクレオチド又は核酸の間でのハイブリダイゼーション又は塩基対合を指す。相補ヌクレオチドは、AとTと(あるいはAとUと)か、CとGとかが一般的である。1本鎖のヌクレオチドが、適切なヌクレオチドの挿入又は欠失を有する他鎖のヌクレオチドと、最適にアライメント及び比較され、少なくとも約95%、通常は少なくとも98%、より好ましくは約99%から約100

50

%までで対合する際に、2本の1本鎖RNA又はDNA分子は実質的に相補的であるといわれる。相補ポリヌクレオチド配列は、周知のコンピューターのアルゴリズム及びソフトウェア、例えば、BLASTプログラムの使用を含む、さまざまなアプローチによって同定される場合がある。

#### 【0053】

本明細書で用いられるところの「アプタマー」又は「選択された核酸結合分子種 (selected nucleic acid binding species)」という用語は、非修飾又は化学的に修飾されたRNA又はDNAを含む場合がある。選択方法は親和性クロマトグラフィーによって行なわれる場合があるが、これらに限られず、増幅方法は、逆転写 (RT) 又はポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって行なわれる場合がある。

10

#### 【0054】

本明細書で用いられるところの「シグナリングアプタマー」という用語は、リポーター分子を有するアプタマーを含む場合があり、前記リポーター分子は、リガンドとのアプタマーの相互作用から生じる立体構造変化に依存する方法でヌクレオチドに付加される蛍光色素が好ましく、前記リポーター分子は異なるシグナルをもたらす、蛍光強度が変化することが好ましい。

#### 【0055】

本明細書で用いられるところの「断片又はセグメント」という用語は、核酸配列、遺伝子又はポリペプチドに適用される際には、長さが、少なくとも約5個の連続的な (核酸配列又は遺伝子の) 核酸塩基か、(ポリペプチドの) アミノ酸かとなることが通常であり、少なくとも約10個の連続的な核酸塩基又はアミノ酸となることが典型的であり、少なくとも約20個の連続的な核酸塩基又はアミノ酸となることがより典型的であり、少なくとも約30個の連続的な核酸塩基又はアミノ酸となることが通常であり、少なくとも約40個の連続的な核酸塩基又はアミノ酸となることが好ましく、少なくとも約50個の連続的な核酸塩基又はアミノ酸となることがより好ましく、少なくとも約60個ないし80個か、あるいはそれ以上の連続的な核酸塩基又はアミノ酸となることがさらに好ましい。本明細書で用いられるところの「重なっている断片」は、核酸又はタンパク質のアミノ末端で開始し、核酸又はタンパク質のカルボキシ末端で終了する、連続的な核酸又はペプチドの断片を指す。核酸又はペプチドの断片それぞれは、次の核酸又はペプチドの断片と共通の少なくとも1個の連続的な核酸又はアミノ酸を有し、少なくとも約3個の連続する核酸塩基又はアミノ酸の部位が共通であることがより好ましく、少なくとも約10個の連続的な核酸塩基又はアミノ酸の部位が共通であることが最も好ましい。

20

30

#### 【0056】

「生物学的試料」は、固体及び体液の試料を含む。前記試料は心臓から得られることが好ましい。しかし、本発明で用いられる前記生物学的試料は、細胞、タンパク質又は細胞の膜抽出物、血液又は腹水か、あるいは脳液 (例えば、脳脊髄液) のような生物学的液体を含む場合がある。生物学的固体試料の例は、中枢神経系、骨、胸部、腎臓、子宮頸部、子宮内膜、頭部/頸部、胆嚢、耳下腺、前立腺、下垂体、筋肉、食道、胃、小腸、大腸、肝臓、脾臓、膵臓、甲状腺、心臓、肺、膀胱、脂肪、リンパ節、子宮、卵巣、副腎、精巣、扁桃腺及び胸腺の組織からもたらされる試料を含むが、これらに限られない。「体液試料」の例は、血液、血清、精液、前立腺液、精液、尿、唾液、痰、粘液、骨髄、リンパ液及び涙を含むが、これらに限られない。

40

#### 【0057】

「試料」は、その最も広範な意味で本明細書で用いられる。ポリヌクレオチド、ポリペプチド、ペプチド、抗体等を含む試料は、体液と、細胞調製物の可溶性画分又は細胞が増殖された培地と、細胞から単離されるか、あるいは抽出される、染色体、細胞小器官又は膜と、溶液中又は基質に結合される、ゲノムDNA、RNA又はcDNAか、あるいはポリペプチド又はペプチドと、細胞と、組織と、組織付着痕 (tissue print) と、指紋、皮膚又は毛髪と、同様のものを含む場合がある。

50

## 【0058】

「診断」は、病的症状の存在又は性質を同定することを意味する。診断方法は、それらの感度及び特異度が異なる。診断アッセイの前記「感度」とは、テスト結果が陽性の患者の百分率である（「真の陽性」の百分率）。前記アッセイによって検出されない患者は「偽陰性」である。病気ではなく、かつ、前記アッセイでのテスト結果が陰性の被験者は「真の陰性」と称される。診断アッセイの前記「特異度」は、1引く偽陽性度であり、前記「偽陽性」度は、テスト結果が陽性であるが、その症状を有しない被験者の割合として定義される。特別な診断方法は、症状の決定的な診断を提供しない場合があるが、前記方法は診断の目的とする陽性指標を提供すれば十分である。

## 【0059】

トランスクリプトームのバイオマーカー／分子的特徴

好ましい実施態様では、バイオマーカー（TBB-I）は、1553145\_\_at（仮想タンパク質 FLJ39653）、1553575\_\_at、1557236\_\_at（アポリポプロテインL、6）、1558142\_\_at（トリヌクレオチドリピート含有6B）、1560752\_\_at（F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2）、1565614\_\_at（ジンクフィンガータンパク質337）、1567100\_\_at（ダックスフントホモログ1（Drosophila））、200068\_\_sat（カルネキシン／／カルネキシン）、201031\_\_sat（ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1（H））、202646\_\_sat（コールドショックドメイン含有E1、RNA結合）、205758\_\_at（CD8a分子／／CD8a分子）、206188\_\_at（ジンクフィンガータンパク質623）、212637\_\_sat（WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1）、212920\_\_at、213317\_\_at（塩素細胞内チャネル5）、213619\_\_at（ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1（H））、215443\_\_at（甲状腺刺激ホルモン受容体）、216198\_\_at（活性化転写因子7相互作用タンパク質）、217870\_\_sat（シチジル酸キナーゼ）、218087\_\_sat（ソルビン及びSH3ドメイン含有1）、222145\_\_at（CDNA：FLJ23572 fis、クローンLNG12403）、223577\_\_x\_\_at（PRO1073タンパク質）、224321\_\_at（EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2）、224373\_\_sat（IQモチーフ及びWDリピート1）、224644\_\_at（CDNA クローン IMAGE：5278517）、226173\_\_at（オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1）、226773\_\_at（CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824）、226880\_\_at（核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1）、228980\_\_at（リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1）、229569\_\_at（CDNA クローン IMAGE：5263455）、231735\_\_sat（PRO1073タンパク質）、233765\_\_at（仮想LOC197135）、235803\_\_at（サイトカイン受容体-様因子3）、236131\_\_at（CDNA クローン IMAGE：6622963）、236953\_\_sat（RIKEN cDNA 8030451K01に類似）、240544\_\_at（ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3）、240971\_\_x\_\_at（カリン（Cullin）4A）、244042\_\_x\_\_at（（タザロテンで誘導される）レチノイン酸受容体レスポナー2に類似）の核酸配列／生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

## 【0060】

別の好ましい実施態様では、1553145\_\_at（仮想タンパク質 FLJ39653）、1553575\_\_at、1557236\_\_at（アポリポプロテインL、6）、1558142\_\_at（トリヌクレオチドリピート含有6B）、1560752\_\_at（F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2）、1565614\_\_at（ジンクフィンガータンパク質337）、1567100\_\_at（ダックスフントホモロ

10

20

30

40

50

グ1 ( *Drosophila* ) )、200068\_\_s\_\_at (カルネキシンノノカルネキシン)、201031\_\_s\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1 (H))、202646\_\_s\_\_at (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_at (CD8a分子ノノCD8a分子)、206188\_\_at (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_at (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_at、213317\_\_at (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1 (H))、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_at (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_at (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_at (PRO1073タンパク質)、224321\_\_at (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_at (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5278517)、226173\_\_at (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_at (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_at (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_at (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231735\_\_s\_\_at (PRO1073タンパク質)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 6622963)、236953\_\_s\_\_at (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_at (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_at ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)を含む前記生体分子は、正常な被験者と比較して、心筋炎の患者で上向き調節される。ある実施態様では、生体分子のうち少なくとも10個が上向き調節される。

#### 【0061】

別の好ましい実施態様では、トランスクリプトームのバイオマーカー(TBB-III)は、1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ-様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、1556320\_\_at (ストマチン(EPB72)-様1)、1556510\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、204581\_\_at (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1 (*Drosophila*))、207004\_\_at (B-細胞 CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロン-刺激因子2(顆粒球-マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー1(グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1ノノ甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZノノカルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ-B-細胞白血病転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt-関連

転写因子1(急性骨髄性白血病1 ; am11 癌遺伝子)、211710\_\_x\_\_a  
 t (リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_a  
 t (膜貫通及びコイルド-コイルドメインファミリー2)、213121\_\_a t (核  
 内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原)、21324  
 2\_\_x\_\_a t (KIAA0284)、213568\_\_a t (オッド-スキップド(o  
 dd-skipped)関連2(Drosophila))、213770\_\_a t r a  
 s 1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_a t (U2低分子核内RNA補助因子2  
 )、216116\_\_a t (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、21  
 6427\_\_a t (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA215  
 0)、216820\_\_a t、217054\_\_a t (CDNA FLJ39484 fi 10  
 s、クローン PROST2014925)、217180\_\_a t (KIAA0187  
 遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_a t (ムチン5AC、オリゴ  
 マー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_a t、217430\_\_x\_\_a t (コラーゲ  
 ン、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_a t (モータイル・スパーム(moti  
 le sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_a t (スルホトランスフェラー  
 ゼファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_a t (ヒスタミン受容体H3)  
 、221684\_\_s\_\_a t (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974  
 \_\_a t (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_a t (ジアシルグリセ  
 ロールリパーゼベータ)、228074\_\_a t (仮想タンパク質LOC162073)  
 、229191\_\_a t (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_a t (KI 20  
 AA1856タンパク質)、229335\_\_a t (免疫グロブリンスーパーファミリー  
 、メンバー4C)、229358\_\_a t (インディアンヘッジホッグホモログ(Dro  
 sophila))、230341\_\_x\_\_a t (トロンボスポンジン1型モチーフを有  
 するADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_a t (ATPアーゼ、Ca  
 ++輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_a t (FERM、RhoGEF及びプレク  
 ストリンドメインタンパク質2)、231510\_\_a t (GLI-クルッペル(Kru  
 ppel)ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_a t (カリクレイン-  
 関連ペプチダーゼ3)、231998\_\_a t、233794\_\_a t (一本鎖DNA結合  
 タンパク質3)、233974\_\_s\_\_a t (配列類似性を有するファミリー129、メ  
 ンバーB)、234495\_\_a t (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、2346 30  
 37\_\_a t (ケラチン関連タンパク質4-5)、234881\_\_a t、235568\_\_  
 a t (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_a t (転写  
 される遺伝子座)、236496\_\_a t (精原細胞変性(degenerative  
 spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)  
 (Drosophila))、237087\_\_a t (染色体14オープンリーディング  
 フレーム105)、237144\_\_a t (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ  
 結合タンパク質3)、237398\_\_a t (転写される遺伝子座)、237547\_\_a  
 t (仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_a t (トリパーティト(tri  
 partite)モチーフ-含有66)、238267\_\_s\_\_a t、238445  
 \_\_x\_\_a t (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N- 40  
 アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_  
 a t (センタウリン、ガンマ3)、239463\_\_a t (転写される遺伝子座)、2  
 39756\_\_a t (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039\_\_a t  
 (転写される遺伝子座//転写される遺伝子座)、240147\_\_a t (仮想タン  
 パク質MGC11257)、240517\_\_a t (シスタチオニン-ベータ-シクター  
 ゼ)、241270\_\_a t (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、2  
 41431\_\_a t、242365\_\_a t (コイルド-コイルドメイン含有32)、24  
 3297\_\_a t (液胞タンパク質選別13ホモログD(S. cerevisiae)  
 )、243497\_\_a t (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_a t (TEA  
 ドメインファミリーメンバー2)、43934\_\_a t (Gタンパク質-共役受容体13 50

7)を含む生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

【0062】

別の好ましい実施態様では、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物の前記トランスクリプトームのバイオマーカー(TBB-II)を含む前記生体分子は、正常な被験者と比較して、心筋炎の患者で下向き調節される。

【0063】

別の好ましい実施態様では、バイオマーカー(TBB-II)は、1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリポrotein L)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484\_\_s\_\_at (富口イシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ1 (Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローン LNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5263455)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(Drosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2)及び244042\_\_x\_\_atを含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

【0064】

別の好ましい実施態様では、TBB-I、TBB-II及びTBB-IIIか、あるいはこれらの組み合わせの前記バイオマーカーのうちいずれか1個を検出することは、心筋炎、特発性心筋症、これらの心疾患の診断となる。

【0065】

別の好ましい実施態様では、TBB-Iの生体分子のうち少なくとも10個を検出することは、心筋炎、特発性心筋症、これらの心疾患の診断となる。

【0066】

別の好ましい実施態様では、TBB-IIの生体分子のうち少なくとも10個を検出することは、心筋炎、特発性心筋症、これらの心疾患の診断となる。TBB-IIの前記生

10

20

30

40

50

体分子は心筋炎で下向き調節されるため、「検出」という用語が T B B - I I の前記生体分子に関して用いられる際には、正常又は健常な細胞又は被験者での発現と比較して、前記生体分子の下向き調節を指すであろう。

【 0 0 6 7 】

別の好ましい実施態様では、T B B - I I I の生体分子のうち少なくとも 1 0 個を検出することは、心筋炎、特発性心筋症、これらの心疾患の診断となる。

【 0 0 6 8 】

別の好ましい実施態様では、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物の前記生体分子を細胞又は患者で検出することは、心筋炎、特発性心筋症、これらの心疾患の診断となる。前記生体分子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも 1 %、2 %、5 %、1 0 % の間でレベル変調されることが好ましく、遺伝子バイオマーカー配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約 5 0 % 変調されることがより好ましく、前記遺伝子バイオマーカー配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約 7 5 % 変調されることがより好ましい。「変調する」という用語は、正常な細胞又は健常な被験者と比較して、レベル、濃度、量等の増加又は減少を指す。

10

【 0 0 6 9 】

別の好ましい実施態様では、バイオチップは、T B B - I、T B B - I I 又は T B B - I I I と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む分子的特徴を含む。

20

【 0 0 7 0 】

別の好ましい実施態様では、バイオチップは、T B B - I、T B B - I I 又は T B B - I I I と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む生体分子から選択される該生体分子のうち少なくとも 1 0 個を含む。1 0 個又は 1 1 個以上のうちいずれかは、T B B - I バイオマーカー、T B B - I I バイオマーカー又は T B B - I I I バイオマーカーのうち 1 個から選択されるか、あるいはこれらの組み合わせから選択される場合がある。いずれかの新規に同定されるバイオマーカーその他の既知のバイオマーカーか、これらの生体分子かの追加を排除するものではない。

30

【 0 0 7 1 】

別の好ましい実施態様では、特発性心筋症と、心筋炎とを鑑別する方法は、トランスクリプトームを利用する、T B B - I バイオマーカー、T B B - I I バイオマーカー及び T B B - I I I バイオマーカーを含む分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定することを含む。

【 0 0 7 2 】

別の好ましい実施態様では、特発性心筋症と、心筋炎とを鑑別する方法は、トランスクリプトームを利用するバイオマーカー ( T B B ) と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物との生体分子を含む分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップとを含む。

40

【 0 0 7 3 】

別の好ましい実施態様では、前記生体分子は、T B B - I、T B B - I I 及び T B B - I I I か、あるいはこれらの組み合わせから選択される。

【 0 0 7 4 】

別の好ましい実施態様では、得られるデータの約 6 6 % を含むトレーニング用セットで分類指標を作成し、その後、得られるデータの約 3 3 % が含まれるテスト用セットで検証し、分類のための表現型特異的最短収縮重心法 ( n e a r e s t s h r u n k e n c e n t r o i d ) で定義することで表現型の特異度が同定される。

50

## 【 0 0 7 5 】

別の好ましい実施態様では、心疾患又は心筋炎を診断する方法は、トランスクリプトームを利用する、TBB-Iバイオマーカ- (TBB)、TBB-IIバイオマーカ- (TBB)及びTBB-IIIバイオマーカ- (TBB)を含む分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定することを含む。

## 【 0 0 7 6 】

別の好ましい実施態様では、心疾患又は心筋炎を診断する方法は、生体分子のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患又は心筋炎を診断するステップとを含む。

10

## 【 0 0 7 7 】

分子的特徴又はトランスクリプトームのバイオマーカ-を同定するための代替的な方法及び材料

マーカ-としての核酸及びタンパク質の検出

好ましい実施態様では、各バイオマーカ-は、以下の実施例で詳細に説明される方法のようなチップを利用する方法で検出される。心疾患、例えば、心不全、心筋炎、特発性心筋症等の正確な診断を提供するために。別の方法は当業者に知られ、1種類又は2種類以上が利用される場合がある。

## 【 0 0 7 8 】

本明細書で開示される前記方法及びアッセイは、哺乳類の組織又は細胞の試料中でのトランスクリプトームのバイオマーカ-の発現の試験に関し、1種類又は2種類以上のかかるトランスクリプトームのバイオマーカ-の発現の決定は、例えば、心筋炎、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の心臓循環器疾患の予後の結果の予測又は診断となる。分子的特徴又はトランスクリプトームのバイオマーカ-は、表1、2及び4で同定された生体分子を含む。診断する際には、生体分子のうち少なくとも10個又は11個以上を検出することが望ましい。TBB-I (表1)、TBB-II (表2)、TBB-III (表4)のうちいずれか1つか、あるいはこれらの組み合わせは心筋炎の診断に用いられる場合がある。TBB-I、TBB-II及びTBB-IIIのうちいずれか1つか、あるいはこれらの組み合わせは、心筋炎及び特発性心筋症の診断と、その2種類の症状の鑑別とで用いられる場合がある。

20

30

## 【 0 0 7 9 】

生体分子の同定、解析方法等の好ましい実施態様は以下の実施例で詳細に説明される。

## 【 0 0 8 0 】

マイクロアレイ

一般的に、核酸マイクロアレイに用いられる際に、テスト用及び対照用の組織試料からのテスト用及び対照用のmRNA試料は、cDNAプローブを生成するために、逆転写され、標識される。その後、前記プローブは、固体支持体上に不動化される核酸のアレイにハイブリダイズされる。前記アレイは、該アレイの各メンバーの配列及び位置が知られるように形成される。例えば、ある疾患状態で発現される可能性がある選択遺伝子が、固体支持体上に配列される場合がある。標識化プローブが特定のアレイのメンバーとのハイブリダイズすることは、前記プローブが由来した前記試料はその遺伝子を発現することを示す。疾患組織での差次的遺伝子発現解析は、有用な情報を提供する場合がある。マイクロアレイ技術は、1回の実験で数百個の遺伝子のmRNA発現プロファイルを評価するための核酸ハイブリダイゼーション手法及びコンピューター技術を利用する。例えば、2001年10月11日に開示された国際公開第WO 01/75166号明細書を参照せよ。(アレイ作製の議論のために、例えば、米国特許第5,700,637号明細書、米国特許第5,445,934号明細書及び米国特許第5,807,522号明細書と、Lockart, Nature Biotechnology, 14:1675-1680 (1996)及びCheung, V. Gら、Nature Genetics 21

40

50

(Suppl) : 15 - 19 (1999)とを参照せよ。)。DNAマイクロアレイは、ガラスその他の基質上に直接的に合成されるか、配置されるかのいずれかの遺伝子断片を含む、小型のアレイである。数百個の遺伝子は、1つのアレイにしばしば示される。典型的なマイクロアレイの実験は、1) 試料から単離されるRNAに由来する蛍光標識化標的を準備するステップと、2) 前記マイクロアレイに前記標識化標的をハイブリダイゼーションするステップと、3) 前記アレイを、洗浄、染色及び走査するステップと、4) 走査画像を解析するステップと、5) 遺伝子発現プロファイルを作成するステップとを含む。現在のDNAマイクロアレイの主要な2種類のタイプは、(通常、25ないし70塩基長の)オリゴヌクレオチドアレイと、cDNAから調製されるPCR産物を含む遺伝子発現アレイとが用いられている。アレイの製造において、オリゴヌクレオチドは、前もって作製され、表面上に配置されるか、表面上に直接的に合成させるか(in situ)のいずれかの場合がある。アフィメトリクスジーンチップ(商標)システムは、ガラス表面上にオリゴヌクレオチドを直接的に合成することによって作製されるアレイを含む、商業的に入手可能なマイクロアレイシステムである。

10

#### 【0081】

##### アレイのプロープ/遺伝子

通常25塩基長のオリゴヌクレオチドは、半導体を利用するフォトリソグラフィと、固相化学合成技術との組み合わせによってガラス基板上に直接的に合成される。各アレイは400,000個までの異なるオリゴヌクレオチドを含み、各オリゴヌクレオチドは数百万の複製物で存在する。オリゴヌクレオチドのプロープはアレイ上の既知の位置で合成されるため、ハイブリダイゼーションのパターン及びシグナル強度は、アフィメトリクスのマイクロアレイスイートソフトウェアによって、遺伝子の同定及び相対的発現レベルの面から解釈される。各遺伝子は、一連の異なるオリゴヌクレオチドのプロープによって前記アレイ上に示される。各プロープの対合は、完全な適正塩基対合のオリゴヌクレオチドと、不適正塩基対合のオリゴヌクレオチドとからなる。前記完全な適正塩基対合のプロープは特定の遺伝子に正確に相補的な配列を有し、その後、遺伝子の発現を測定する。前記不適正塩基対合のプロープは、標的遺伝子転写産物の結合を妨げる、中心の塩基位置での1塩基置換によって、前記完全な適正塩基対合のプロープと異なる。バックグラウンド及び非特異的ハイブリダイゼーションを決定するためのこの手助けは、前記オリゴヌクレオチドの完全な適正塩基対合に関するシグナルを測定するのに貢献する。前記マイクロアレイスイートソフトウェアは、各プロープセットの絶対的又は特異的な強度値を測定するために、前記完全な適正塩基対合のプロープのハイブリダイゼーション強度から不適正塩基対合のプロープのハイブリダイゼーション強度を減算する。プロープは、GenBankその他のヌクレオチドのレポジトリ(repository)からの現在の情報にもとづいて選択される。配列は遺伝子の3'末端のユニークな領域を認識すると思われる。ジーンチップハイブリダイゼーションオープン(「回転式肉焼き用(rotisserie)オープン」オープン)が、1度に64個までのアレイのハイブリダイゼーションを実施するために用いられる。自動洗浄染色装置(fluidics station)は、プロープアレイの洗浄及び染色を実施する。それは完全に自動化され、4個のモジュールを含み、各モジュールは1個のプロープアレイを保持する。各モジュールは、プログラム化された洗浄プロトコルを用いる、マイクロアレイスイートソフトウェアを通じて独立的に制御される。走査装置は、前記プロープアレイに結合する標識化cRNAによって放出される蛍光強度を測定する共焦点レーザー蛍光走査装置である。マイクロアレイスイートソフトウェアを有するコンピューターワークステーションは、前記自動洗浄染色装置及び前記走査装置を制御する。マイクロアレイスイートソフトウェアは、前記プロープアレイのためにプログラム化された、ハイブリダイゼーション、洗浄及び染色のプロトコルを用いる自動洗浄染色装置を8台まで制御する場合がある。前記ソフトウェアはハイブリダイゼーション強度のデータを習得し、適切なアルゴリズムを用いて前記データを各遺伝子の有/無の呼び掛け(call)に換算する。最終的に、前記ソフトウェアは比較解析による実験間の遺伝子発現の変化を検出し、さらなるデータ解析のために他のソフトウェアプログラムで用

20

30

40

50

いることができる、テキスト形式 (.txt) のファイルで出力する。

【0082】

選択されたバイオマーカーの発現は、遺伝子欠損又は遺伝子増幅を調査することによって評価される場合がある。遺伝子の欠損又は増幅は、当業者に知られる広範なプロトコルのうちいずれか1種類、例えば、従来のサザンブロッティング法、mRNAの転写を定量するためのノーザンブロッティング法(Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980))、ドットブロッティング法(DNA解析)か、適切な標識化プローブを用いるin situハイブリダイゼーション法(例えば、FISH)、細胞遺伝学的方法又は適切な標識化プローブを用いる比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)法かで測定される場合がある。

10

【0083】

ポリペプチドの検出

本発明の別の実施態様では、マーカーに対応するポリペプチドが同定される。本発明のポリペプチドを検出するための好ましい薬剤は、本発明のマーカーに対応するポリペプチドに結合可能な抗体又はアプタマーであり、検出可能な標識を有する抗体が好ましい。抗体はポリクローナルか、より好ましくはモノクローナルかの場合がある。未消化の抗体又はこれらの断片、例えば、Fab又はF(ab')<sub>2</sub>が用いられる場合がある。前記プローブ又は抗体に関する「標識化」という用語は、例えば、前記プローブ又は抗体に検出可能な物質を物理的に連結する、カップリングによる前記プローブ又は抗体の直接-標識と、直接-標識される別の試薬との反応性による前記プローブ又は抗体の間接-標識とを含むことが意図される。間接標識化の例は、蛍光標識化第2抗体を用いる第1抗体の検出と、蛍光標識化ストレプトアビジンで検出されるビオチンでの末端標識化DNAプローブの検出とを含む。

20

【0084】

個人に由来するタンパク質は、当業者に周知の技術を用いて単離される場合がある。用いられるタンパク質単離の方法は、例えば、Harlow及びLane(1988)と、以上とで説明される方法となる場合がある。さまざまなフォーマットは、試料が特定の抗体に結合するタンパク質を含むかどうかを決定するために用いられる場合がある。試料でのさまざまなバイオマーカーの発現は多くの手法で解析される場合があり、多くの手法は当業者に知られ、かつ、理解され、免疫組織化学的及び/又はウェスタン解析と、(例えば、タンパク質の発現レベルを調査するための)(例えば、血清ELISAのような)アッセイを利用する血液の定量と、生化学的酵素活性のアッセイと、in situハイブリダイゼーションと、mRNAのノーザン解析及び/又はPCR解析と、遺伝子及び/又は組織アレイ解析によって実施される場合がある広範なアッセイのうち、いずれか1種類とを含むが、これらに限られない。遺伝子及び遺伝子産物の状態を調べるための典型的なプロトコルは、Ausubelら、編集、1995、Current Protocols In Molecular Biology、編成2(ノーザンブロッティング法)、4(サザンブロッティング法)、15(イムノブロッティング法)及び18(PCR解析)の例として理解される。当業者は、細胞が本発明のマーカーを発現しているかどうかと、血液その他の身体組織での特異的ポチペプチド発現産物の相対的濃度とを決定することでの使用のために既知のタンパク質/抗体検出方法を容易に適用できる。

30

40

【0085】

かかる代替的な方法では、試料は、抗体-バイオマーカー複合体を形成するのに十分な条件で、前記バイオマーカーに特異的な抗体と接触される場合があり、その後、前記複合体は検出される。前記バイオマーカーの存在は、広範な組織と、血漿及び血清を含む試料とをアッセイするためのウェスタンブロッティング及びELISAの手順のような多くの方法で検出される場合がある。かかるアッセイのフォーマットを用いる広範なイムノアッセイ手法が利用でき、例えば、米国特許第4,016,043号明細書、米国特許第4,424,279号明細書及び米国特許第4,018,653号明細書を参照せよ。これらは、従来の競合結合アッセイとともに、非競合型として、単一部位アッセイ及び2部位ア

50

ッセイの両方が、「サンドウィッチ」アッセイかを含む。これらのアッセイは、標的バイオマーカーに対する標識化抗体の直接結合を含む。

【0086】

サンドウィッチアッセイは、最も有用で、一般的に用いられるアッセイである。サンドウィッチアッセイ法には多くの変更が存在し、全てが本発明によって含まれることが意図される。簡潔には、典型的なフォワードアッセイ (forward assay) では、非標識化抗体が固体基質上に不動化され、テストするための試料は結合分子との接触がもたらされる。抗体-抗原複合体の形成を可能にするのに十分な期間の適切な期間のインキュベーション後、検出可能なシグナルを生成することができるリポーター分子で標識化される、前記抗原に特異的な第2抗体が添加され、抗体-抗原-標識化抗体の別の複合体の形成に十分な時間インキュベーションされる。いずれかの未反応物質は洗い流され、抗原の存在はリポーター分子によって生成されるシグナルの観察によって決定される。結果は、可視化シグナルの単純な観察によって定性的となるか、バイオマーカーの既知の量を含む対照試料との比較によって定性的となるかのいずれかの場合がある。

10

【0087】

前記フォワードアッセイの変更は、試料及び標識化抗体の両方が結合抗体に同時に添加される同時アッセイを含む。これらの手法は、すぐに明らかでない細部の変更を含めて、当業者に周知である。典型的なフォワードサンドウィッチアッセイでは、前記バイオマーカーに特異性を有する第1抗体は、固体表面に共有的又は受動的にいずれかで結合される。前記固体表面は、ガラス又はポリマーが典型的であり、最も一般的に用いられるポリマーは、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル又はポリプロピレンである。固体支持体は、チューブ、ビーズ玉、マイクロプレートのディスクその他のイムノアッセイを実施するのに適切ないずれかの表面の形状となる場合がある。結合処理は当業者に周知であり、クロス-リンク共有結合又は物理的吸収からなることが一般的であり、ポリマー-抗体複合体はテスト試料の調製中に洗浄される。テストされる前記試料の分注物は固相複合体に添加され、前記抗体中に存在するいずれかのサブユニットが結合可能な十分な期間 (例えば、2-40分、より都合のよい場合は終夜)、適切な条件下 (例えば、25°Cから32°Cまでを含む、室温から40°Cまで) でインキュベーションされる。前記インキュベーション後、前記抗体サブユニットの固相は洗浄され、乾燥され、バイオマーカーの一部に特異的な第2抗体とインキュベーションされる。前記第2抗体は、分子マーカーに該第2抗体の結合を示すために用いられるリポーター分子に連結される。

20

30

【0088】

代替的な方法は、試料中で標的バイオマーカーを不動化するステップと、その後、リポーター分子で標識されるか、あるいは標識されない場合がある、特異的抗体に不動化標的を曝露するステップとを含む。標的の量及び前記リポーター分子シグナルの強度に依存する場合に、結合された標的は、前記抗体で直接標識することによって検出可能となる場合がある。代替的に、第1抗体に特異的な第2標識化抗体は、標的-第1抗体-第2抗体の第3複合体を形成するための標的-第1抗体複合体に曝露される。前記複合体は、リポーター分子によって放出されるシグナルによって検出される。本明細書で用いられるところの「リポーター分子」は、その化学的な性質によって、抗原-結合抗体の検出を可能にする、解析的に同定可能なシグナルを提供する分子を意味する。このタイプのアッセイで最も一般的に用いられるリポーター分子は、酵素か、フルオロフォアか、分子 (例えば、放射性同位体) 及び化学発光分子を含む放射性核種かのいずれかである。

40

【0089】

酵素イムノアッセイの場合において、酵素は、一般的にグルタルアルデヒド又は過ヨウ素酸塩を用いて第2抗体にコンジュゲート化される。しかし、容易に認識されるとおり、当業者が容易に入手可能な広範な異なるコンジュゲート化手法が存在する。一般的に用いられる酵素は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、ガラクトシダーゼ及びアルカリホスファターゼを含む。特異的な酵素とともに用いられる基質は、対応す

50

る酵素による加水分解で検出可能な色素変化を生じさせるために選択されることが一般的である。適切な酵素の例は、アルカリホスファターゼ及びペルオキシダーゼを含む。上記の発色性基質よりもむしろ蛍光生産物を生じる蛍光性基質を用いることが可能である。全ての場合において、酵素 - 標識化抗体は第 1 抗体 - 分子マーカー複合体に添加され、結合され、その後、過剰な試薬は洗い流される。その後、適切な基質を含む溶液は、抗体 - 抗原 - 抗体の複合体に添加される。前記基質は定性的な可視化シグナルを生じる前記第 2 抗体に連結される酵素と反応し、前記シグナルは、試料中に存在するバイオマーカーの量を示すために、通常、分光光度的にさらに定量される場合がある。代替的に、フルオレセイン及びローダミンのような蛍光化合物は、抗体の結合能が変化することなく抗体に化学的に結合される場合がある。特定の波長の光を有する照明によって活性化される際に、蛍光色素 - 標識化抗体は、分子の励起状態を誘導する光エネルギーを吸収し、その後、光学顕微鏡で視覚的に検出可能な特徴的な色彩の光を放出する。酵素免疫測定法 (EIA) において、フルオレセイン標識化抗体は第 1 抗体 - 分子マーカー複合体に結合できる。未結合試薬を洗浄した後、残る第 3 複合体は適切な波長の光に曝露され、観察される蛍光は興味ある分子マーカーの存在を示す。免疫蛍光法及び酵素免疫測定法の手法は従来技術である。しかし、放射性同位体、化学発光又は生物発光の分子のような他のリポーター分子が用いられる場合がある。

10

20

30

40

50

#### 【0090】

本発明の方法は、組織又は細胞の試料中で mRNA の存在及び又は発現を調べるプロトコルをさらに含む。細胞中で mRNA を評価する方法は周知であり、例えば、(標識化リボプローブを用いる *in situ* ハイブリダイゼーション、ノーザンプロット及び関連手法のような) 相補 DNA プローブを用いるハイブリダイゼーションアッセイと、(RT-PCR と、例えば、分岐 DNA 法、SISBA、TMA 等の他の増幅型同定方法とのような) さまざまな核酸増幅アッセイとを含む。

#### 【0091】

ある実施態様では、マーカーに対応する mRNA のレベルは、当業者に知られる方法を用いて、生物学的試料で *in situ* 及び *in vitro* のフォーマットの両方で決定される。多くの発現同定方法は、単離される RNA を用いる。 *in vitro* 法のために、mRNA の単離に対して選択しない RNA 単離技術いずれも細胞からの RNA 精製に利用可能である。例えば、Ausubelら、編集、Curr. Prot. Mol. Biol., John Wiley 及び Sons、ニューヨーク州 (1987 - 1999) を参照せよ。さらに、多数の組織の試料は、例えば、米国特許第 4,843,155 号明細書の 1 回の RNA 単離処理のような当業者に周知の手法を用いて、容易に処理される場合がある。単離される mRNA は、サザン解析又はノーザン解析、PCR 解析及びプローブアッセイを含むが、これらに限られない、ハイブリダイゼーション及び増幅のアッセイで用いられる場合がある。mRNA レベルの検出のためのある好ましい診断方法は、検出される遺伝子によってエンコードされる mRNA にハイブリダイズできる核酸分子 (プローブ) に単離される mRNA を接触させるステップを含む。核酸プローブは、例えば、完全長 cDNA が、少なくともヌクレオチド 7 個、15 個、30 個、50 個、100 個、250 個又は 500 個の長さのオリゴヌクレオチドのようなこれらの一部分かとなり、本発明のマーカーをエンコードしている、mRNA 又はゲノム DNA にストリンジェントな条件下で特異的にハイブリダイズするのに十分な場合がある。本発明の診断アッセイでの使用のための他の適切なプローブは、本明細書で説明される。前記プローブとの mRNA のハイブリダイゼーションは、問題となっているマーカーが発現されていることを示す。

#### 【0092】

あるフォーマットでは、前記 mRNA は、例えば、アガロースゲルに単離される mRNA を流がし、ゲルからニトロセルロースのような膜に前記 mRNA を移すことによって、固体表面上に不動化され、プローブに接触される。代替的なフォーマットでは、例えば、アフィメトリクスジーンチップアレイ中で、プローブは固体表面上に不動化され、前記 mRNA

NAは前記プローブと接触される。当業者は、本発明のマーカがエンコードされるmRNAのレベルの検出での使用に既知のmRNA検出方法を容易に適応できる。

【0093】

実施例の段落で議論するように、分子の増幅は本発明中で必要とされないが、当業者は増幅方法を使用できる。本発明のマーカに対応するmRNAのレベルを試料中で決定するためのある代替的な方法は、例えば、RT-PCR（実験的实施態様は、Mullis、米国特許第4,683,202号明細書(1987)に列挙される)による核酸増幅か、リガーゼ連鎖反応及び自家持続配列増幅、Guatelliら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、87巻、1874頁-1878頁(1990)か、トランスクリプトームの増幅システム、Kwohら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、86巻、1173頁-1177頁(1989)か、Q-ベータ複製酵素、Lizardiら、Biotechnol. J.、6巻、1197頁(1988)か、ローリングサークル型複製、米国特許第5,854,033(1988)か、あるいはその他の核酸増幅方法のいずれかによる核酸増幅の工程と、その後の当業者に周知の手法を用いる増幅された分子の検出とを含む。これらの検出機構は、核酸分子が非常に少数で存在する場合に、かかる分子の検出に特に有用である。本明細書で用いられるところの増幅プライマーは、(プラス鎖及びマイナス鎖それぞれか、あるいは逆も同様の)遺伝子の5'又は3'領域にアニールでき、中間の短い領域を含む、一对の核酸分子となるように定義される。一般的に、増幅プライマーは、ヌクレオチド約10-30個の長さであり、ヌクレオチド約50-200個の長さの領域に隣接する。適切な条件下で、かつ、適切な試薬を用いて、かかるプライマーは、プライマーによって隣接される核酸配列を含む核酸分子の増幅ができる。

10

20

【0094】

in situ法のために、mRNAは検出前に細胞から単離される必要がない。かかる方法では、細胞又は組織の試料は既知の組織学的方法を用いて調製/処理される。その後、前記試料は支持体、典型的にはガラススライドに不動化され、その後、マーカをエンコードするmRNAにハイブリダイズできるプローブに接触される。

【0095】

前記マーカの絶対的な発現レベルにもとづいて代替的に決定する場合には、決定は前記マーカの標準化された発現レベルにもとづかれる場合がある。発現レベルは、マーカの前記絶対的な発現レベルを補正するステップと、その発現と、恒常的に発現する、例えば、ハウスキーピング遺伝子のようなマーカではない遺伝子の発現とを比較するステップとによって標準化される。標準化のための適切な遺伝子は、アクチン遺伝子又は上皮細胞-特異的遺伝子のようなハウスキーピング遺伝子を含む。この標準化は、ある試料、例えば、患者の試料と、別の試料との前記発現レベルか、異なる供給源からの試料間での前記発現レベルかを比較することができる。

30

【0096】

代替的には、前記発現レベルは、相対的な発現レベルとして提供される場合がある。マーカの相対的な発現レベルを決定するために、前記マーカの発現レベルは、問題の試料についての発現レベルの決定の前に、正常な生物学的試料と、疾患の生物学的試料とを比較する、10検体又は11検体以上の試料について決定され、50検体又は51検体以上の試料が好ましい。多数の試料中でアッセイされる各遺伝子の平均発現レベルが決定され、その後、これは前記マーカの基線発現レベルとして用いられる。その後、テスト試料(の発現の絶対的なレベル)について決定される前記マーカの発現レベルは、そのマーカについて得られた平均発現値によって割られる。これは相対的な発現レベルを提供する。

40

【0097】

基線決定で用いられる前記試料は、多型を有さない患者由来であることが好ましい。細胞の供給源の選択は、使用する相対的な発現レベルに依存する。平均発現スコアとして正常な組織で見出される発現を使用することは、アッセイされる前記マーカが(正常な細

50

胞と比較して)特異的であるかの検証を助ける。さらに、より多くのデータが蓄積される  
ときに、前記平均発現値は修正され、蓄積データにもとづく改善された相対的な発現値を  
提供する。

【0098】

抗体及びアプタマー

好ましい実施態様では、抗体及びアプタマーは本明細書で説明されるバイオマーカの  
各成分に特異的に結合する。前記成分は、核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺  
伝子、変異体及び遺伝子産物との各バイオマーカの各成分を含む。

【0099】

アプタマーのポリヌクレオチドは、1本鎖標準ホスホジエステルDNA(ssDNA) 10  
が典型的である。クローンDNA類似体は、以下に説明されるようにアプタマーに取り込  
まれる場合がある。

【0100】

典型的なアプタマーの発見手順が以下に説明される。一定の配列を有する「アーム」間  
のランダム化された配列を含むポリペプチドが合成される。前記アームはクローニングに  
都合がよい制限酵素部位を含む場合があり、PCRプライマーのプライマー結合部位とし  
て作用する場合がある。合成は市販の装置で容易に実施される。

【0101】

標的タンパク質はランダム化されたポリヌクレオチドで処理される。前記標的タンパク  
質は溶液中に存在する場合があり、その後、複合体は抗体親和性カラムの使用によって、 20  
不動化され、抗体の非結合核酸から分離される。代替的には、前記標的タンパク質は、前  
記ランダム化されたポリヌクレオチドでの処理前に不動化される場合がある。

【0102】

標的タンパク質 - ポリヌクレオチド複合体は、複合体を形成していない物質から分離さ  
れ、その後、結合したポリヌクレオチドは前記標的タンパク質から分離される。その後、  
前記結合した核酸は特徴付けされる場合があるが、例えば、PCR法によって増幅される  
ことがより一般的であり、前記結合、分離及び増幅のステップが繰り返される。多くの場  
合に、漸次的に促進する条件を利用すること、例えば、以下の手順におけるステップ2)  
に用いられる結合緩衝液の濃度を徐々に高くすることは、前記標的タンパク質への親和性  
が、漸次的に高いポリヌクレオチドを同定することにつながる。 30

【0103】

前記標的タンパク質に高親和性を示す核酸は単離され、特徴付けられる。これは、前記  
アームに含まれる制限酵素部位を用いる前記核酸のクローニングと、その後のクローニ  
ングされた核酸のシーケンスとによって典型的に達成される。

【0104】

これらの標的タンパク質のアプタマーの親和性は、典型的にナノモル濃度の範囲である  
が、ピコモル濃度の範囲と同じくらい低くなる場合がある。つまり、 $K_D$ は1pMないし  
500nMとなることが典型的であり、1pMから100nMまでがより好ましい。1p  
Mないし10nMの範囲で $K_D$ の親和性を有するアプタマーは有用である。

【0105】

アプタマーのポリヌクレオチドは、当業者に知られる方法によって商業的に入手可能な  
核酸合成装置で合成される場合がある。生産物は、サイズ選択法又はクロマトグラフィー  
法によって精製される場合がある。

【0106】

アプタマーのポリヌクレオチドは、ヌクレオチド約10個から200個までの長さが典  
型的であり、ヌクレオチド約10個から100個までの長さがより典型的であり、ヌクレ  
オチド約10個から50個までの長さがさらにより典型的であり、ヌクレオチド約10個  
から25個までの長さがさらにより典型的である。長さの好ましい範囲は、ヌクレオチド  
約10個から50個までである。

【0107】

10

20

30

40

50

アプタマーの配列は所望の配列として選択されるか、あるいはランダム又は部分的にランダムの集団の配列が作製された後、*in vitro*アッセイによって所望の標的タンパク質に特異的に結合するように選択される。当業者に知られる典型的な核酸-タンパク質結合アッセイのいずれかは、例えば、プローブとして標識化オリゴヌクレオチド又は標識化タンパク質のいずれかを用いる「サウスウエスタン」プロットングが用いられる場合がある。タンパク質-核酸相互作用の蛍光偏光アッセイについての米国特許第5,445,935号明細書を参照せよ。

【0108】

アプタマーの合成のための適切なヌクレオチド及びこれらの使用と、タンパク質と核酸との共有結合のための試薬及びこれらの使用とは、当業者に既知であると考えられる。

【0109】

所望のアプタマー-タンパク質の複合体、例えば、本発明のアプタマー-トロンビンの複合体は、いずれかのタンパク質-結合試薬、例えば、モノクローナル抗体と同一の多くのやり方で、標識され、*in vitro*の診断薬として用いられる。したがって、本発明のアプタマー-タンパク質の複合体は、試料中のタンパク質の量と相関する疾患状態の診断を提供するために、試料、例えば、血液試料中でその標的タンパク質を検出し、その量を定量するのに用いられる場合がある。

【0110】

所望のアプタマー-標的/バインド分子複合体は、診断の画像化のために用いられる場合がある。画像化の使用では、前記複合体はそれらが体外で検出できるように標識される。典型的な標識は放射性同位体であり、通常、短い半減期を有するものである。 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 又は $^{32}\text{P}$ のような通常の画像化放射性同位体が用いられる場合がある。ガドリニウム-153のような核磁気共鳴(NMR)画像エンハンサーは、NMRによる検出のための前記複合体を標識するために用いられる場合がある。ポリヌクレオチド又はタンパク質中の原子団のいずれかの標識を実施するための方法及び試薬は、当業者に既知であると考えられる。

【0111】

好ましい実施態様では、抗体又はアプタマーは、1553145\_\_at (仮想タンパク質 FLJ39653)、1553575\_\_at、1557236\_\_at (アポリポタンパク質L、6)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1560752\_\_at (F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1 (Drosophila))、200068\_\_s\_\_at (カルネキシン//カルネキシン)、201031\_\_s\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、202646\_\_s\_\_at (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206188\_\_at (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_at (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_at、213317\_\_at (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_at (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_at (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_at (PRO1073タンパク質)、224321\_\_at (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_at (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5278517)、226173\_\_at (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_at (CDNA FLJ35

10

20

30

40

50

131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_at (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_at (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_at (CDNA クローン IMAGE:5263455)、231735\_\_s\_\_at (PRO1073タンパク質)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236131\_\_at (CDNA クローン IMAGE:6622963)、236953\_\_s\_\_at (RIKEN cDNA 8030451K01に類似)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、240971\_\_x\_\_at (カリン(Cullin)4A)、244042\_\_x\_\_at ((タザロテンで誘導される)レチノイン酸受容体レスポナー2に類似)を含むバイオマーカー(TBB-I)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物との各生体分子に特異的である。

【0112】

好ましい実施態様では、抗体又はアプタマーは、1552419\_\_s\_\_at (チューブリンチロシンリガーゼ-様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、1556320\_\_at (ストマチン(EPB72)-様1)、1556510\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、204581\_\_at (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))、207004\_\_at (B-細胞CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子2(顆粒球-マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー1(グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1//甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZ//カルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ-B-細胞白血病転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt-関連転写因子1(急性骨髄性白血病1;aml1癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_at (リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_at (膜貫通及びコイルド-コイルドメインファミリー2)、213121\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原))、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド-スキップド(odd-skipped)関連2(Drosophila))、213770\_\_at ras1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、216116\_\_at (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA:FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217180\_\_at (KIAA0187遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モータイル・スパーム(motile sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、221684\_\_s\_\_at (ニクタロピ

ン(Nyctalopin))、223974\_\_at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセロールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KIAA1856タンパク質)、229335\_\_at (免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4C)、229358\_\_at (インディアンヘッジホッグホモログ(Drosophila))、230341\_\_x\_\_at (トロンボスポンジン1型モチーフを有するADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca<sup>++</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_at (FERM、RhoGEF及びプレクストリンドメインタンパク質2)、231510\_\_at (GLI-クルッペル(Kruppel)ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、234637\_\_at (ケラチン関連タンパク質4-5)、234881\_\_at、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_at (転写される遺伝子座)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(Drosophila))、237087\_\_at (染色体14オープンリーディングフレーム105)、237144\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3)、237398\_\_at (転写される遺伝子座)、237547\_\_at (仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_at (トリパートイト(tripartite)モチーフ-含有66)、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_at (センタウリン、ガンマ3)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、239756\_\_at (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039\_\_at (転写される遺伝子座///転写される遺伝子座)、240147\_\_at (仮想タンパク質MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン-ベータ-シターゼ)、241270\_\_at (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、241431\_\_at、242365\_\_at (コイルド-コイルドメイン含有32)、243297\_\_at (液胞タンパク質選別13ホモログD(S. cerevisiae))、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEADメインファミリーメンバー2)、43934\_\_at (Gタンパク質-共役受容体137)を含むバイオマーカー(TBB-II)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物との各生体分子に特異的である。

### 【0113】

好ましい実施態様では、抗体又はアプタマーは、1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリポプロテインL)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1(Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、205758\_\_at (CD8a分子///CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22

786 fis、クローン K A I A 2 1 5 0)、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローン LNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229569\_\_at (CDNA クローン I M A G E : 5 2 6 3 4 5 5)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体 - 様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性 (degenerative spermatocyte) ホモログ2、脂質デサチュラーゼ (desaturase) (Drosophila))、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ - 1, 6 - ) - 糖タンパク質ベータ - 1, 6 - N - アセチル - グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1 - 型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEADドメインファミリーメンバー2)及び244042\_\_x\_\_atを含むバイオマーカー(TBB - III)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物との各生体分子に特異的である。

#### 【0114】

##### 創薬

別の好ましい実施態様では、分子的特徴は、心臓循環器疾患の治療の新規薬剤の同定に役立つ。

#### 【0115】

##### 低分子

低分子テスト化合物又は候補治療化合物は、最初は有機又は無機の化学ライブラリーのメンバーの場合がある。本明細書で用いられるところの「低分子」は、約3,000ダルトン未満の分子量の有機又は無機の低分子を指す。前記低分子は、天然物又はコンビナトリアル化学ライブラリーのメンバーとなる。多様な分子のセットは、電荷、芳香族性、水素結合、可動性、サイズ、側鎖の長さ、疎水性及び剛性のようなさまざまな作用を網羅するために用いられるべきである。低分子を合成するのに適切なコンビナトリアル法は、Obrecht及びVillalgorido、Solid-Supported Combinatorial and Parallel Synthesis of Small-Molecular-Weight Compound Libraries、Pergamon-Elsevier Science 有限会社(1998)に示されるように当業者に知られ、「スプリット・アンド・プール(split and pool)」合成法又は「パラレル(parallel)」合成法と、固相及び液相法と、エンコード法(例えば、Czarnik、Curr. Opin. Chem. Bio., 1:60 (1997)を参照せよ。)とのようなものを含む。さらに、低分子ライブラリーの多くは商業的に入手可能である。

#### 【0116】

本発明の特定のスクリーニングの用途は、薬剤研究での医薬品化合物の試験に関する。一般的に、標準的な教科書「In vitro Methods in Pharmaceutical Research」、Academic Press、1997と、米国特許第5,030,015号明細書とを参照せよ。候補の医薬品化合物の活性の評価は、候補化合物を投与するステップと、(未処理の細胞又は不活性化化合物で処理された細胞と比較して)前記化合物に起因する、形態か、マーカーの表現型及び発現か、細胞の代謝活性及び細胞の作用かのいずれかの変化を決定するステップと、その後、化合物の効果を

観察された変化とを相関させるステップとを一般的に含む。

【0117】

前記スクリーニングは、例えば、前記化合物は特定の細胞タイプで薬効を有するように設計されるためか、その他の効果を有するように設計された化合物が意図されない副作用を有するためかのいずれかのために行なわれる場合がある。2種類又は3種類以上の薬剤は、想定される薬剤-薬剤の相互作用効果を検出するために、(同時か、あるいは連続のいずれかで細胞と組み合わせることによる)組み合わせでテストされる場合がある。ある用途では、化合物は、潜在的な毒性について初めにスクリーニングされる(Castellら、「In vitro Methods in Pharmaceutical Research」の375頁-410頁、Academic Press、1997)。

細胞毒性は、細胞の生存率と、生存と、形態と、特定のマーカー、受容体又は酵素の発現又は放出との影響によって、最初に決定される場合がある。染色体DNAへの薬剤の影響は、DNA合成又は修復を測定することによって決定される場合がある。特に細胞周期の予定外の時間か、あるいは細胞複製で必要とされるレベル以上の $[^3\text{H}]$ チミジン又はBrdUの取込は薬効と一致する。期待しない効果は、分裂中期展開法によって決定される姉妹染色分体交換の異常な割合を含む場合がある。さらに詳細な説明は、A. Vickers(「In vitro Methods in Pharmaceutical Research」の375頁-410頁、Academic Press、1997)を参照せよ。

10

【0118】

本発明のある実施態様では、候補薬剤の同定方法は、(a)患者の生物学的試料を候補薬剤に接触させるステップ、かつ、本明細書で説明される1種類又は2種類以上のバイオマーカーの発現のレベルを決定するステップと、(b)候補薬剤と接触されない生物学試料の分注物中で対応する1種類又は2種類以上のバイオマーカーの発現のレベルを決定するステップと、(c)候補薬剤と接触された生物学的試料の分注物でのバイオマーカーの発現のレベルと、候補薬剤と接触されない生物学試料の分注物中での対応するバイオマーカーの発現のレベルとを比較することによって前記候補薬剤の影響を観察するステップと、(d)前記観察された効果から前記薬剤を同定するステップとを含む前記方法を提供し、該方法において、候補薬剤と接触された生物学的試料の分注物でのバイオマーカー遺伝子又はバイオマーカー遺伝子の組み合わせの発現のレベルと、前記候補薬剤と接触されない生物学試料の分注物中での対応するバイオマーカー遺伝子又はバイオマーカー遺伝子の組み合わせの発現のレベルとの間での少なくとも1%、2%、5%、10%の相違は、候補薬剤の効果を示すものである。

20

30

【0119】

好ましい実施態様では、前記薬剤の効果は、以下の実施例で詳細に説明される良好な予後に関連する分子的特徴の発現と相関する。

【0120】

本発明の別の実施態様では、本発明による方法によって得られる候補薬剤が提供される。

【0121】

本発明の別の実施態様では、本発明による薬剤を含む医薬品調製物が提供される。

40

【0122】

本発明の別の好ましい実施態様では、被験者に対して治療学的な有効量で前記薬剤を提供するための十分な量で、上記のステップ(c)で同定された候補薬剤か、これらの類似体又は誘導体かを合成するステップ(i)、及び/又は、上記のステップ(c)で同定された薬剤候補、候補薬剤か、これらの類似体又は誘導体かと、薬学的に許容可能な担体とを組み合わせるステップ(ii)の本発明による方法のステップを含む薬剤を生産する方法が提供される。

【0123】

ベクター及び細胞

50

ある実施態様では、ベクター及び細胞中のバイオマーカーを含む生体分子が発現することが望ましい。かかる組み合わせの用途は限定されない。1種類又は2種類以上の生体分子を発現する前記ベクター及び細胞は、アッセイ、キット、創薬、診断、予後判断等で用いられる場合がある。前記細胞は、前駆細胞のような骨髄から単離される幹細胞か、例えば、ATCCのような別の供給源のいずれかから得られる細胞かの場合がある。

#### 【0124】

「骨髄由来前駆細胞」(BMDC)又は「骨髄由来幹細胞」は、恒常的に活性な自己複製機構を有する原始幹細胞を指す。この定義に含まれるものは、全能性、多能性である幹細胞と、前駆細胞とである。「前駆細胞」は、より成熟な細胞へ分化できる細胞分化経路の細胞のいずれかの場合がある。そういうものとして、「前駆細胞集団」という用語は、より成熟な細胞になることが可能な細胞グループを指す。前駆細胞集団は、全能性である細胞と、多能性である細胞と、(例えば、全ての造血系列より少ない系列か、例えば、赤血球系列の細胞のみになることが可能な細胞に)制限された幹細胞系列である細胞とを含む場合がある。本明細書で用いられるところの「全能性細胞」という用語は、全ての系列の細胞になることが可能な細胞を指す。同様に、「細胞の全能性集団」という用語は、全ての系列の細胞になることが可能な細胞の組成物を指す。本明細書で用いられるところの「多能性細胞」は、さまざまな(全てではない)系列になることが可能な細胞を指し、少なくとも全ての造血系列(例えば、リンパ球、赤血球及び血小板の系列)になることができる。骨髄由来幹細胞は、2種類の良く特徴付けられるタイプの幹細胞を含む。間葉幹細胞(MSC)は、軟骨細胞及び骨芽細胞を正常に形成する。造血幹細胞(HSC)は、正常に血液及び免疫系の細胞(例えば、赤血球、顆粒球/マクロファージ、巨核球及びリンパ系系列)を生じる中胚葉起源の細胞である。さらに、造血幹細胞は、(肝細胞、胆管細胞を含む)肝臓、肺、腎臓(例えば、尿細管上皮細胞及び腎実質)、消化管、骨格筋線維、CNSの星状細胞、ブルキニエ神経細胞、心筋(例えば、心筋細胞)、内皮及び皮膚の細胞に分化するための潜在能力を有することが示された。

#### 【0125】

好ましい実施態様では、候補治療化合物の同定方法は、1553145\_\_at (仮想タンパク質 FLJ39653)、1553575\_\_at、1557236\_\_at (アポリポプロテインL、6)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1560752\_\_at (F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1567100\_\_at (ダックスフォントホモログ1 (Drosophila))、200068\_\_s\_\_at (カルネキシン//カルネキシン)、201031\_\_s\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、202646\_\_s\_\_at (コールドショックドメイン含有E1、RNA結合)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206188\_\_at (ジンクフィンガータンパク質623)、212637\_\_s\_\_at (WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1)、212920\_\_at、213317\_\_at (塩素細胞内チャネル5)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、217870\_\_s\_\_at (シチジル酸キナーゼ)、218087\_\_s\_\_at (ソルビン及びSH3ドメイン含有1)、222145\_\_at (CDNA: FLJ23572 fis、クローンLNG12403)、223577\_\_x\_\_at (PRO1073タンパク質)、224321\_\_at (EGF-様及び2つのフォリスタチン-様ドメインを有する膜貫通タンパク質2)、224373\_\_s\_\_at (IQモチーフ及びWDリピート1)、224644\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 5278517)、226173\_\_at (オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1)、226773\_\_at (CDNA FLJ35131 fis、クローン PLACE6008824)、226880\_\_at (核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1)、228980\_\_at (リングフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1)、229569\_\_at (CDNA

10

20

30

40

50

クローン IMAGE : 5 2 6 3 4 5 5 )、2 3 1 7 3 5 \_\_ s \_\_ a t ( P R O 1 0 7 3 タンパク質)、2 3 3 7 6 5 \_\_ a t ( 仮想 L O C 1 9 7 1 3 5 )、2 3 5 8 0 3 \_\_ a t ( サイトカイン受容体 - 様因子 3 )、2 3 6 1 3 1 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 6 6 2 2 9 6 3 )、2 3 6 9 5 3 \_\_ s \_\_ a t ( R I K E N c D N A 8 0 3 0 4 5 1 K 0 1 に類似)、2 4 0 5 4 4 \_\_ a t ( ジンクフィンガー、A N 1 - 型ドメイン 3 )、2 4 0 9 7 1 \_\_ x \_\_ a t ( カリン ( C u l l i n ) 4 A )、2 4 4 0 4 2 \_\_ x \_\_ a t ( ( タザロテンで誘導される ) レチノイン酸受容体レスポナー 2 に類似) を含む核酸配列 / 生体分子を有するバイオマーカー ( T B B - I ) から選択される生体分子のうち少なくとも1つと、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを発現している細胞を候補治療薬剤とともに培養するステップと、前記生体分子の発現を変調する候補治療薬剤を同定するステップと、候補治療薬剤を同定するステップとを含む。候補治療薬剤は、有機分子、無機分子、ワクチン、抗体、核酸分子、タンパク質、ペプチド及び核酸分子を発現するベクターを含むことが、好ましい。

10

## 【 0 1 2 6 】

好ましい実施態様では、候補治療化合物を同定する方法は、1 5 5 3 1 4 5 \_\_ a t ( 仮想タンパク質 F L J 3 9 6 5 3 )、1 5 5 3 5 7 5 \_\_ a t、1 5 5 7 2 3 6 \_\_ a t ( アポリポrotein L、6 )、1 5 5 8 1 4 2 \_\_ a t ( トリヌクレオチドリピート含有 6 B )、1 5 6 0 7 5 2 \_\_ a t ( F - ボックス及び W D - 4 0 ドメインタンパク質 2 )、1 5 6 5 6 1 4 \_\_ a t ( ジンクフィンガータンパク質 3 3 7 )、1 5 6 7 1 0 0 \_\_ a t ( ダックスフントホモログ 1 ( D r o s o p h i l a ) )、2 0 0 0 6 8 \_\_ s \_\_ a t ( カルネキシン / / / カルネキシン)、2 0 1 0 3 1 \_\_ s \_\_ a t ( ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 H 1 ( H ) )、2 0 2 6 4 6 \_\_ s \_\_ a t ( コールドショックドメイン含有 E 1、RNA 結合)、2 0 5 7 5 8 \_\_ a t ( C D 8 a 分子 / / / C D 8 a 分子)、2 0 6 1 8 8 \_\_ a t ( ジンクフィンガータンパク質 6 2 3 )、2 1 2 6 3 7 \_\_ s \_\_ a t ( W W ドメイン含有 E 3 ユビキチンタンパク質リガーゼ 1 )、2 1 2 9 2 0 \_\_ a t、2 1 3 3 1 7 \_\_ a t ( 塩素細胞内チャネル 5 )、2 1 3 6 1 9 \_\_ a t ( ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 H 1 ( H ) )、2 1 5 4 4 3 \_\_ a t ( 甲状腺刺激ホルモン受容体)、2 1 6 1 9 8 \_\_ a t ( 活性化転写因子 7 相互作用タンパク質)、2 1 7 8 7 0 \_\_ s \_\_ a t ( シチジル酸キナーゼ)、2 1 8 0 8 7 \_\_ s \_\_ a t ( ソルビン及び S H 3 ドメイン含有 1 )、2 2 2 1 4 5 \_\_ a t ( C D N A : F L J 2 3 5 7 2 f i s、クローン L N G 1 2 4 0 3 )、2 2 3 5 7 7 \_\_ x \_\_ a t ( P R O 1 0 7 3 タンパク質)、2 2 4 3 2 1 \_\_ a t ( E G F - 様及び 2 つのフォリスタチン - 様ドメインを有する膜貫通タンパク質 2 )、2 2 4 3 7 3 \_\_ s \_\_ a t ( I Q モチーフ及び W D リピート 1 )、2 2 4 6 4 4 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 5 2 7 8 5 1 7 )、2 2 6 1 7 3 \_\_ a t ( オルニチンアミノトランスフェラーゼ - 様 1 )、2 2 6 7 7 3 \_\_ a t ( C D N A F L J 3 5 1 3 1 f i s、クローン P L A C E 6 0 0 8 8 2 4 )、2 2 6 8 8 0 \_\_ a t ( 核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質 1 )、2 2 8 9 8 0 \_\_ a t ( リングフィンガー及び F Y V E - 様ドメイン含有 1 )、2 2 9 5 6 9 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 5 2 6 3 4 5 5 )、2 3 1 7 3 5 \_\_ s \_\_ a t ( P R O 1 0 7 3 タンパク質)、2 3 3 7 6 5 \_\_ a t ( 仮想 L O C 1 9 7 1 3 5 )、2 3 5 8 0 3 \_\_ a t ( サイトカイン受容体 - 様因子 3 )、2 3 6 1 3 1 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 6 6 2 2 9 6 3 )、2 3 6 9 5 3 \_\_ s \_\_ a t ( R I K E N c D N A 8 0 3 0 4 5 1 K 0 1 に類似)、2 4 0 5 4 4 \_\_ a t ( ジンクフィンガー、A N 1 - 型ドメイン 3 )、2 4 0 9 7 1 \_\_ x \_\_ a t ( カリン ( C u l l i n ) 4 A )、2 4 4 0 4 2 \_\_ x \_\_ a t ( ( タザロテンで誘導される ) レチノイン酸受容体レスポナー 2 に類似) を含む核酸配列 / 生体分子を有するバイオマーカー ( T B B - I ) から選択される生体分子のうち少なくとも1つと、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを発現している細胞を培養することを含む。

20

30

40

## 【 0 1 2 7 】

好ましい実施態様では、候補治療化合物を同定する方法は、1 5 5 2 4 1 9 \_\_ s \_\_ a t

50

(チューブリンチロシンリガーゼ - 様ファミリー、メンバー10)、1553212\_\_at (ケラチン78)、1555124\_\_at (仮想タンパク質MGC40574)、1556192\_\_x\_\_at (転移抑制因子1)、1556320\_\_at (ストマチン(EPB72) - 様1)、1556510\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4796864)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567410\_\_at (ジンクフィンガータンパク質135)、1568513\_\_x\_\_at (プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン1))、1570408\_\_at (セリン/スレオニンキナーゼ24(STE20ホモログ、酵母)、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質 - 様1)、204581\_\_at (CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質)、205586\_\_x\_\_at (神経成長因子で誘導可能なVGF)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))、207004\_\_at (B-細胞 CLL/リンパ腫2)、210059\_\_s\_\_at (分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13)、210228\_\_at (コロニー刺激因子2(顆粒球 - マクロファージ))、210384\_\_at (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2)、210923\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー1(グルタミン酸輸送体)、メンバー7)、211024\_\_s\_\_at (甲状腺転写因子1//甲状腺転写因子1)、211062\_\_s\_\_at (カルボキシペプチダーゼZ//カルボキシペプチダーゼZ)、211096\_\_at (プレ-B-細胞白血病転写因子2)、211181\_\_x\_\_at (runt - 関連転写因子1(急性骨髄性白血病1; am11 癌遺伝子))、211710\_\_x\_\_at (リボソームタンパク質L4//リボソームタンパク質L4)、213096\_\_at (膜貫通及びコイルド - コイルドメインファミリー2)、213121\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド(RNP抗原))、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213568\_\_at (オッド - スキップド(odd - skipped)関連2(Drosophila))、213770\_\_at ras1のキナーゼ抑制因子(214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、216116\_\_at (SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA: FLJ22786 fis、クローン KIAA2150)、216820\_\_at、217054\_\_at (CDNA FLJ39484 fis、クローン PROST2014925)、217180\_\_at (KIAA0187遺伝子産物に類似する仮想タンパク質)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、217430\_\_x\_\_at (コラーゲン、I型、アルファ1)、219070\_\_s\_\_at (モータイル・スパーム(motile sperm)ドメイン含有3)、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、221663\_\_x\_\_at (ヒスタミン受容体H3)、221684\_\_s\_\_at (ニクタロピン(Nyctalopin))、223974\_\_at (仮想タンパク質MGC11082)、226640\_\_at (ジアシルグリセロールリパーゼベータ)、228074\_\_at (仮想タンパク質LOC162073)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229257\_\_at (KIAA1856タンパク質)、229335\_\_at (免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4C)、229358\_\_at (インディアンヘッジホッグホモログ(Drosophila))、230341\_\_x\_\_at (トロンボスポンジン1型モチーフを有するADAMメタロペプチダーゼ、10)、230693\_\_at (ATPアーゼ、Ca<sup>++</sup>輸送、心筋、速筋1)、230768\_\_at (FERM、RhoGEF及びプレクストリンドメインタンパク質2)、231510\_\_at (GLI - クルッペル(Kruppel)ファミリーメンバーGLI2)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ3)、231998\_\_at、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン - 関連ペプチダーゼ15)、234637\_\_at (ケラチン関連タ

10

20

30

40

50

ンパク質4-5)、234881\_\_at、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235600\_\_at (転写される遺伝子座)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモログ2、脂質デサチュラーゼ(desaturase)(Drosophila))、237087\_\_at (染色体14オープンリーディングフレーム105)、237144\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3)、237398\_\_at (転写される遺伝子座)、237547\_\_at (仮想タンパク質LOC728730)、237679\_\_at (トリパートイト(tripartite)モチーフ-含有66)、238267\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6-)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB)、239026\_\_x\_\_at (セントaurin、ガンマ3)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、239756\_\_at (MAD1有糸分裂停止欠損-様1(酵母))、240039\_\_at (転写される遺伝子座//転写される遺伝子座)、240147\_\_at (仮想タンパク質MGC11257)、240517\_\_at (シスタチオニン-ベータ-シターゼ)、241270\_\_at (ロンボイド5ホモログ2(Drosophila))、241431\_\_at、242365\_\_at (コイルド-コイルドメイン含有32)、243297\_\_at (液胞タンパク質選別13ホモログD(S.cerevisiae))、243497\_\_at (転写される遺伝子座)、243766\_\_s\_\_at (TEADメインファミリーメンバー2)、43934\_\_at (Gタンパク質-共役受容体137)を含む核酸配列/生体分子を有するバイオマーカー(TBB-III)から選択される生体分子のうち少なくとも1つと、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを発現している細胞を培養することを含む。

10

20

## 【0128】

好ましい実施態様では、候補治療化合物を同定する方法は、1553212\_\_at (ケラチン78)、1557236\_\_at (アポリポプロテインL)、1558142\_\_at (トリヌクレオチドリピート含有6B)、1558484\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有27)、1565614\_\_at (ジンクフィンガータンパク質337)、1565662\_\_at (ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成)、1567100\_\_at (ダックスフントホモログ1(Drosophila))、203307\_\_at (グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1)、205758\_\_at (CD8a分子//CD8a分子)、206333\_\_at (ムサシホモログ1(Drosophila))、212920\_\_at、213242\_\_x\_\_at (KIAA0284)、213619\_\_at (ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1(H))、213770\_\_at (ras1のキナーゼ抑制因子)、214171\_\_s\_\_at (U2低分子核内RNA補助因子2)、215443\_\_at (甲状腺刺激ホルモン受容体)、216198\_\_at (活性化転写因子7相互作用タンパク質)、216427\_\_at (CDNA:FLJ22786fis、クローンKIAA2150)、217054\_\_at (CDNAFLJ39484fis、クローンPROST2014925)、217182\_\_at (ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成)、217322\_\_x\_\_at、219425\_\_at (スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1)、222145\_\_at (CDNA:FLJ23572fis、クローンLNG12403)、229191\_\_at (チューブリン折畳共同因子D)、229569\_\_at (CDNAクローンIMAGE:5263455)、231629\_\_x\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ3)、233765\_\_at (仮想LOC197135)、233794\_\_at (一本鎖DNA結合タンパク質3)、233974\_\_s\_\_at (配列類似性を有するファミリー129、メンバーB)、234495\_\_at (カリクレイン-関連ペプチダーゼ15)、235568\_\_at (染色体19オープンリーディングフレーム59)、235803\_\_at (サイトカイン受容体-様因子3)、236496\_\_at (精原細胞変性(degenerative spermatocyte)ホモ

30

40

50

ログ 2、脂質デサチュラーゼ (desaturase) (Drosophila)、236953\_\_s\_\_at、238445\_\_x\_\_at (マンノシル(アルファ-1,6)-糖タンパク質ベータ-1,6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイム B)、239463\_\_at (転写される遺伝子座)、240544\_\_at (ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3)、243766\_\_s\_\_at (TEAドメインファミリーメンバー2)及び244042\_\_x\_\_atを含む核酸配列/生体分子を有するバイオマーカー(TBB-III)から選択される生体分子のうち少なくとも1つと、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを発現している細胞を培養することを含む。

#### 【0129】

かかる化合物は、例えば、心臓病及びこれらの症状の治療のための候補治療化合物として有用である。したがって、本明細書に含まれるものは、例えば、心筋炎、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の治療のための候補治療化合物のスクリーニング方法である。前記方法は、前記症状のモデルに前記化合物を投与するステップ、例えば、細胞(in vitro)モデルに前記化合物を接触するステップか、前記症状の動物モデル、例えば、心疾患に関連する症状の動物モデルに前記化合物を投与するステップかを含む。その後、前記モデルは、該モデルの臨床結果での候補化合物の効果が評価され、前記症状の治療のための候補治療化合物とみなされる場合がある。かかる効果は、苦痛の低下、寿命の増大など臨床的に関連のある効果を含む場合がある。かかる効果は、巨視的又は微視的なスケールで決定される場合がある。これらの方法によって同定される候補治療化合物は、例えば、臨床試験での被験者への投与によって、さらに検証される場合がある。

#### 【0130】

生体分子は、1種類又は2種類以上のベクターから発現される場合がある。(遺伝子送達又は遺伝子伝達の「運搬体」として時折言及される)「ベクター」は、in vitro又はin vivoのいずれかの宿主細胞に送達されるポリヌクレオチドを含む、高分子又は分子複合体を指す。送達される前記ポリヌクレオチドは、遺伝子治療に興味のあるコード配列を含む場合がある。ベクターは、例えば、(アデノウイルス(「Ad」)、アデノ-随伴ウイルス(AAV)及びレトロウイルスのような)ウイルスベクター、リポソームその他の脂質-含有複合体と、宿主細胞へのポリヌクレオチドの送達を仲介することが可能な他の高分子複合体とを含む。ベクターは、遺伝子送達及び/又は遺伝子発現をさらに変調するか、あるいは標的とされた細胞に有用な性質を提供する、他の成分又は機能を含む。以下により詳細に説明され、例示されるように、かかる他の成分は、例えば、(細胞-タイプ又は組織-特異的な結合を仲介する成分を含む)細胞への結合か、あるいは標的化に影響を及ぼす成分と、前記細胞によるベクターの核酸の取込に影響を及ぼす成分と、取込後の前記細胞内でのポリヌクレオチドの局在に影響を及ぼす(核移行を仲介する薬剤のような)成分と、ポリヌクレオチドの発現に影響を及ぼす成分とを含む。かかる成分は、検出可能及び/又は選択可能なマーカーのようなマーカーを含む場合があり、該マーカーは、前記ベクターによって送達される核酸を、取り込み、かつ、発現している細胞を検出又は選択するのに用いられる。かかる成分が、(結合及び取込を仲介する、成分又は機能を有する一定のウイルスベクターの使用のような)ベクターの天然の特徴として提供される場合があり、ベクターはかかる機能を提供するために改変される場合がある。別のベクターは、Chenら、BioTechniques, 34: 167-171 (2003)によって説明されるベクターを含む。広範なかかるベクターは、当業者に知られ、一般的に利用可能である。

#### 【0131】

別の好ましい実施態様では、ベクターは、TBB-Iを含むか、あるいは構成する生体分子のうち1種類又は2種類以上を発現する。

#### 【0132】

10

20

30

40

50

別の好ましい実施態様では、ベクターは、T B B - I I を含むか、あるいは構成する生体分子のうち 1 種類又は 2 種類以上を発現する。

【 0 1 3 3 】

別の好ましい実施態様では、ベクターは、T B B - I I I を含むか、あるいは構成する生体分子のうち 1 種類又は 2 種類以上を発現する。

【 0 1 3 4 】

キット

別の好ましい実施態様では、表 1、2 及び 4 を含む、生体分子又は分子的特徴のうち、いずれか 1 種類又は 2 種類以上を含むキットが提供される。

【 0 1 3 5 】

以上で説明されたか、あるいは示唆された用途での使用のために、キットすなわち製造物も本発明によって提供される。かかるキットは、バイアル、チューブ等の 1 種類又は 2 種類以上の収容手段をぎっしりと受け入れるために区分化されている運搬手段を含む場合があり、前記収容手段それぞれは、本発明の方法で使用される別々の要素の 1 種類を含む。例えば、運搬手段の 1 種類は、検出可能に標識化されるか、あるいは標識化可能なプローブを含む場合がある。前記キットが標的核酸を検出するために核酸のハイブリダイゼーションを利用する場合に、前記キットは、前記標的核酸配列の増幅用ヌクレオチドを含む収容物、及び/又は、(蛍光又は放射性同位体の標識のような)リポーター分子酵素に結合される(アビジン又はストレプトアビジンのような)ビオチン-結合タンパク質のようなリポーター-手段を含む収容物を有する場合がある。

【 0 1 3 6 】

本発明のキットは、以上に説明される前記収容物と、商業的かつ使用者の観点から所望の物質を含む、1 種類又は 2 種類以上の別の収容物とを典型的に含み、前記物質は、緩衝剤、希釈剤、濾剤、針、注射器及び取扱い説明書を含む。標識は、組成物が特定の治療又は非治療の用途として用いられることを示すために、収容物上に存在する場合があり、以上で説明されたもののような *in vivo* 又は *in vitro* のいずれかの使用に関することを示す場合がある。

【 0 1 3 7 】

本発明の前記キットは、多くの実施態様を有する。典型的な実施態様は、収容物と、該収容物の標識と、該収容物中に含まれる組成物とを含むキットであって、前記組成物は、各分子的特徴の生体分子に結合する第 1 抗体と、少なくとも 1 種類のタイプの哺乳類細胞での生体分子の存在を評価するための前記抗体の取扱説明書とを含む。前記キットは、組織試料を調製し、組織試料の同一の切片に抗体及びプローブを適用するための説明書及び材料のセットをさらに含む場合がある。前記キットは、第 1 及び第 2 の抗体両方を含む場合があり、前記第 2 抗体は、標識、例えば、酵素標識にコンジュゲート化される。

【 0 1 3 8 】

別の実施態様は、収容物と、該収容物の標識と、該収容物中に含まれる組成物とを含むキットであり、前記組成物は、ストリンジেন্টな条件下でポリヌクレオチドの相補鎖にハイブリダイズするポリヌクレオチドと、前記組成物が少なくとも 1 種類のタイプの哺乳類細胞での分子的特徴の存在を評価するために用いられる場合があることを示す前記収容物の標識と、少なくとも 1 種類のタイプの哺乳類細胞での RNA 又は DNA の生体分子の存在を評価するための前記ポリヌクレオチドの取扱説明書とを含む。

【 0 1 3 9 】

前記キットの別の任意の成分は、マイクロアレイ、1 種類又は 2 種類以上の緩衝剤(阻害緩衝剤、洗浄緩衝剤、基質緩衝剤等)、酵素標識によって化学的に変化される基質(例えば、発色剤)のような他の試薬、エピトープ回収溶液、対照試料(陽性及び/又は陰性の対照)、対照スライド等を含む。

【 0 1 4 0 】

本発明の組成物及び方法の実施態様は、以下の実施例で例示される。これらの実施例は例示目的で提供され、本発明の技術的範囲を限定するものではない。

10

20

30

40

50

## 【実施例 1】

## 【0141】

## 材料及び方法

## 患者

EMBは、心筋症の評価のために1997年から2006年までにジョンズ・ホプキンス病院に紹介された患者から採取された(n=350)。患者の結果の臨床データベースは、1997年の開始と同時に10年間維持された。全ての患者は、試料の採取及び医療記録の抽出について同意書を提出した。右心室中隔からの経静脈EMBは、その後のマイクロアレイ解析について以前に説明された(Felker GMら、N Engl J Med 2000; 342: 1077-8)ように得られた。想定される疾患特異的な交絡因子を回避するために、心筋症(IDC M)の患者の試料のみが選択された。IDCMは、検出可能な病理学的徴候を全く示すことない、詳細な組織学的精密検査の後の除外診断であった。180検体のIDCMのレポジトリー内において、生検は予後が良好のコホートの表現型の極値を利用する症例-対照様式で選択された。予後が良好なグループ(GP、n=25)は、心不全の徴候の初検後少なくとも5年間発症無しとして定義され、予後が不良なグループ(BP、n=18)は、最初の2年以内に発症を経験した。発症は、死亡(n=14)と、左室補助装置(n=2)又は心臓移植(n=2)の必要性とを含んだ。

10

## 【0142】

## 生検の処理

EMBsは、バイオレポジトリー中で保存するために液体窒素中でただちに瞬間凍結された。RNAの単離及び処理の全てのステップは、MIAME(マイクロアレイ実験についての最低限の情報)の指針に従って実施された。組織試料(平均直径~2mm)は、MM 301 ミキサール(レッツェ(Retsch)、カタログ番号第85120番)でホモジナイズされた。マイクロ-トゥ-ミディ全RNA精製システム(インビトロジェン、カタログ番号第12183-018番)とともにトリゾール試薬が、全RNAの抽出のために用いられた(成功率:試料の97%)。全RNAの濃度及びインテグリティは、アジレント2100バイオアナライザーで測定された。全てのRNA試料は、変性アガロースゲル電気泳動で未消化の28S及び18SのリボソームRNAを示し、260/280nmの吸光度計測値は、1.8-2.1の許容可能な範囲に収まった。平均量568±92ng(SEM)の全RNAは、オペションバイオチンRNA増幅及び標識化システム(ニューゲン(Nugen)、カタログ番号第2300-12番)で単離され、前処理された。

20

30

## 【0143】

## マイクロアレイのハイブリダイゼーション

試料は、追加の増幅ステップなしに、アフィメトリクスからのヒトゲノムU133プラス2.0アレイにハイブリダイズされた。RNA単離及びマイクロアレイのハイブリダイゼーションが、試料及びアレイの品質を評価するためのアフィメトリクスの指針(Willard H.Fら編、Handbook of Genomic Medicine、第1版、Elsevier; 2008のKittleson MMら、Transcriptomics: Translation of Global Expression Analysis to Genomic Medicine.)で詳しく記されたような品質対照の全ての指数を充足したときに、マイクロアレイの実験は成功と判断された。全てのチップの平均バックグラウンド及びノイズは許容可能な範囲内で登録され、ハイブリダイゼーション効率は全ての試料で類似した。

40

## 【0144】

## 統計解析

マイクロアレイのハイブリダイゼーションからの低い強度値は、(www.R-project.orgで入手可能な)統計計算用Rパッケージで実施される頑健なマイクロアレイ平均(Robust Multiarray Average)(RMA)で標準化

50

された。次のステップでは、マイクロアレイの有意性解析 (SAM) (Tusher V  
Gら、Proc Natl Acad Sci USA 2001 4月 24; 98 (9): 5116-21) は、遺伝子発現の表現型特異的な相違を同定するために用いられた。SAMは多重比較のためのq-値、p-値の調整の有意性を定義する。TBBの開発のために、マイクロアレイの予測解析 (PAM) (Tibshirani Rら、Proc Natl Acad Sci USA 2002 5月14; 99(10): 6567-72) が、(データの3分の2、n=29を含む) トレーニング用セットの分類指標を作成するために用いられ、その後の検証は、(データの3分の1、n=14を含む) テスト用セットで行なわれた (Kittleson MMら、Circulation 2004 11月 30; 110(22): 3444-51)。PAMは、分類のための表現型特異的な「最短収縮重心法」を作成するのに必要な最小限の数の遺伝子を発見することができるソフトウェアである (Tibshirani Rら、2002、上述)。これは、誤分類を最小限にする閾値を選択することを可能にするトレーニング用セットで平均化された10回の交差確認によって行なわれた。開発されたトランスクリプトームのバイオマーカーの全ての精度は、50回のランダムな配分後に評価された。予後良好と予後不良とを比較するコホートの平均化された基線条件をテストするために、数値化のためのステューデントt-検定と、カテゴリ変数 (categorical variables) のためのフィッシャーの直接確率 (Fisher's exact test) とが用いられた。

10

20

【0145】

#### 実施例1 トランスクリプトームのバイオマーカー

このバイオマーカー (遺伝子特徴) を同定するために、心臓の試料は、心筋炎又は特発性心筋症のいずれかに由来する心不全の初期に心臓の生検を受けている患者から採取され、10年以上バイオレポジトリに保存された。心筋炎又は特発性心筋症の患者の心筋生検の試料は、1997年から2004年までジョンズ・ホプキンス病院で採取され、液体窒素中で保存された。前記バイオレポジトリは再調査され、心筋炎の患者19人と、特発性心筋症の患者42人ととの生検の試料が選択された。心筋炎は、免疫組織化学的検査によって心筋生検の試料から診断された。MIAME (マイクロアレイ実験についての最低限の情報) の指針は、全ての実験で従われた。組織はレッチェのMM301装置でホモジナイズされ、全RNAはインピトロジェンのマイクロ-トゥ-ミディ全RNA精製システムで単離された。全RNAのマイクロアレイ解析は、アフィメトリクスのヒトゲノムU133プラス2.0アレイで行なわれた。全ての試料で、RNAの単離及びマイクロアレイのハイブリダイゼーションの両方は、試料及びアレイの品質を評価するためのアフィメトリクスの指針で詳しく記されたような品質対照の全ての指数を充足した。全てのマイクロアレイチップの生の発現値は、Rの頑健なマイクロアレイ平均 (RMA) で前処理された。差次的に発現する遺伝子122個のサブセットを選択するために、28検体の試料 (心筋炎からの11検体の試料、特発性心筋症からの17検体の試料) のトレーニング用セットでマイクロアレイの有意性解析 (SAM) が行なわれた ( $FC > 1.2$ 、 $q = 0\%$ )。これらの122個は、心筋炎の患者で、過剰発現された遺伝子38個と、下向き調節された遺伝子84個とを含んだ (図1)。遺伝子122個のこの前定義されたサブセットで、研究の全ての試料を含む作成されたヒートマップは、平均発現レベルによって標準化される (図2、表1、表2)。ヒートマップは、監督なしの機械学習の分類法である。各列は前記遺伝子122個の1個を示し、各行は患者の試料を示す。赤色の区分は全ての患者での平均遺伝子発現と比較して、特定の患者での低発現の遺伝子を示す一方、青色の区分は過剰発現した遺伝子を示す。上部の樹状図は、類似の遺伝子発現プロファイルにもとづかれたグループに試料を分配する、監督なしの階層的クラスタリングアルゴリズムである。このアルゴリズムは、77%の感度及び97%の特異度で行なわれた。予知力を増大するために、Rで実施されるマイクロアレイの予測解析 (PAM) を用いる「最短収縮重心法」の分類アプローチのための遺伝子122個の同一のサブセットが用いられた。心筋炎の患者の試料11検体と、特発性心筋症の試料17検体のサブセットの (監督なしのクラス

30

40

50

タリング)分類指標のトレーニング後、90%の感度及び88%の特異度で心筋炎を同定した遺伝子39個のクラスターが発見された(図3、図4、図5、表3、表4)。開発されたトランスクリプトームのバイオマーカーの前記予知力が増大されたかをテストするために、候補遺伝子39個の新規サブセットを用いるヒートマップが作成された(図6)。遺伝子122個の最初のヒートマップは誤分類された6検体の試料を作成する一方、4検体の試料のみがこのアルゴリズムによって誤って分類された(感度:89%、特異度:95%)。遺伝子発現プロファイルの非常に強力な診断方法で、心筋炎の特徴的な臨床学的徴候が存在しない患者でさえ、疾患の非常に初期段階で検出され、適切に治療されるであろう。より高感度のこのバイオマーカーの適用は、将来に心筋炎の致死的な経過をたどる多数症例を有意に減少させるであろう。さらに、このバイオマーカーは心筋炎に特異的な治療で適切に使用できるであろう。

10

【0146】

表1は、心筋炎と、特発性心筋症との比較において患者で顕著に上向き調節された遺伝子38個を示す。第1行は各転写産物についてのアフィメトリクスの識別番号(ID)を含む。

【0147】

【表 1 - 1】

心筋炎の患者で顕著に上向き調節された遺伝子38個 (q = 0. 1%, FC > 1. 2)

GOの生物学的過程の説明

遺伝子名

プローブセットの識別番号

1553145_at	仮想タンパク質 FLJ39653	---
1553575_at	---	---
1557236_at	アポリポпротеインL、6	転写の制御、DNA-依存性///脂質の輸送
1558142_at	トリヌクレオチドリピート含有6B	---
1560752_at	F-ボックス及びWD-40ドメインタンパク質2	ユビキチンの周期///タンパク質の修飾///タンパク質分解
1565614_at	ジンクフィンガータンパク質337	転写///転写の制御、DNA-依存性
1567100_at	ダックスフントホモログ1 (Drosophila)	転写///転写の制御、DNA-依存性
200068_s_at	カルネキシン//カルネキシン	血管形成///タンパク質の折量///タンパク質の分泌
201031_s_at	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1 (H)	mRNAのプロセッシング/// RNAのスプライシング///RNAのプロセッシング
202646_s_at	コールドショックドメイン含有E1、RNA結合	転写の制御、DNA-依存性///男性生殖腺の発生
205758_at	CD8a分子//CD8a分子	免疫応答///抗原のプロセッシング及び提示///T細胞の活性化/// 細胞傷害性T細胞の分化///免疫応答
206188_at	ジンクフィンガータンパク質623	転写///転写の制御、DNA-依存性
212637_s_at	WWドメイン含有E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1	シグナル伝達///T細胞の分化///宿主細胞へのウイルスの侵入
212920_at	---	---
213317_at	塩素細胞内チャネル5	イオンの輸送///塩素の輸送///塩素の輸送///妊娠///輸送///輸送
213619_at	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1 (H)	RNAのスプライシング
215443_at	甲状腺刺激ホルモン受容体	シグナル伝達///G-タンパク質シグナリング
216198_at	活性化転写因子7相互作用タンパク質	DNAのメチル化
217870_s_at	シチジル酸キナーゼ	ピリミジンリボヌクレオチドの生合成
218087_s_at	ソルビン及びSH3ドメイン含有1	輸送///インスリン受容体シグナリング経路
222145_at	CDNA: FLJ23572 fis、クロームLNG1 2403	---

【0 1 4 8】

10

20

30

40

【表 1 - 2】

プローブセットの識別番号	遺伝子名	GOの生物学的過程の説明
223577_x_at	PRO1073タンパク質	---
224321_at	EGF-様及び2つのフォリスタチン様ドメインを有する膜貫通タンパク質2	---
224373_s_at	IQモチーフ及びWDリピート1	アポトーシス///シグナル伝達///発生///ATP合成と共役した電子伝達
224644_at	CDNA クローン IMAGE: 5278517	---
226173_at	オルニチンアミノトランスフェラーゼ-様1	---
226773_at	CDNA FLJ35131 fis、クローン PLA CE6008824	---
226880_at	核カゼインキナーゼ及びサイクリン依存性キナーゼ基質1	---
228980_at	リンゴフィンガー及びFYVE-様ドメイン含有1	ユビキチンの周期///アポトーシス
229569_at	CDNA クローン IMAGE: 5263455	---
231735_s_at	PRO1073タンパク質	---
233765_at	仮想LOC197135	---
235803_at	サイトカイン受容体-様因子3	---
236131_at	CDNA クローン IMAGE: 6622963	---
236953_s_at	RICKEN cDNA 8030451K01に類似	---
240544_at	ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3	---
240971_x_at	カリン4A	有糸細胞分裂周期のG1/S期移行///DNAの修復///ユビキチンの周期///細胞周期///細胞周期の停止
244042_x_at	(タザロテンで誘導される) レチノイン酸受容体レスポナー2に類似	---

【0149】

表2は、心筋炎と、特発性心筋症との比較において患者で顕著に下向き調節された遺伝子84個を示す(FC > 1.2、q = 0%)。

【 0 1 5 0 】  
【 表 2 - 1 】

心筋炎で顕著に下向き調節された遺伝子84個 (FC > 1. 2、q = 0. 1%)

プローブセットの識別番号	遺伝子名	GOの生物学的過程の説明
1552419_s_at	チューブリンチロシンリガーゼ様ファミリー、メンバー10	タンパク質の修飾
1553212_at	ケラチン78	---
1555124_at	仮想タンパク質MGC40574	---
1556192_x_at	転移抑制因子1	細胞運動性
1556320_at	ストマチン (EPB72) 一様1	生物学的過程
1556510_at	CDNA クローン IMAGE : 4796864	---
1558484_s_at	富ロイシンリピート含有27	---
1565662_at	ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成	消化管上皮の維持
1567410_at	ジンクフィンガータンパク質135	転写の制御、DNA-依存性
1568513_x_at	プロテアーゼ、セリン、1 (トリプシン1)	コラーゲンの異化反応、タンパク質分解、コラーゲンの異化反応、免疫応答
1570408_at	セリン/スレオニンキナーゼ24 (STE20ホモログ、酵母)	タンパク質アミノ酸のリン酸化、シグナル伝達
203307_at	グアニンヌクレオチド結合タンパク質一様1	シグナル伝達
204581_at	CD22分子、ミエリン関連糖タンパク質	免疫応答、細胞接着、抗菌液性応答(脊椎動物の意味で)
205586_x_at	神経成長因子で誘導可能なVGF	生物学的過程
206333_at	ムサシホモログ1 (Drosophila)	神経系の発生
207004_at	B-細胞 CLL/リンパ腫2	細胞周期進行の制御、液性免疫応答
210059_s_at	分裂促進因子で活性化されるタンパク質キナーゼ13	翻訳の制御、タンパク質アミノ酸のリン酸化
210228_at	コロニー刺激因子2 (顆粒球-マクロファージ)	細胞性防御応答
210384_at	タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ2	タンパク質アミノ酸のメチル化
210923_at	電解質運搬体ファミリー1 (グルタミン酸輸送体)、メンバー7	ジカルボン酸の輸送
211024_s_at	甲状腺転写因子1 // 甲状腺転写因子1	神経細胞の移動

【 0 1 5 1 】

10

20

30

40

【 2 - 2 】

プロトタイプセットの識別番号	遺伝子名	GOの生物学的過程の説明
211062_s_at	カルボキシペプチダーゼZ // カルボキシペプチダーゼZ	タンパク質分解、Wnt受容体シグナリング経路
211096_at	プレ-B-細胞白血病転写因子2	転写の制御、DNA-依存性
211181_x_at	Runx1関連転写因子1 (急性骨髄性白血病1 ; aml1 癌遺伝子)	骨格形成、造血
211710_x_at	リボソームタンパク質L4 // リボソームタンパク質L4	タンパク質の合成、代謝
213096_at	膜貫通及びコイルドドメインファミリー2	---
213121_at	核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド (RNP抗原)	mRNAのプロセッシング
213242_x_at	KIAA0284	---
213568_at	オッドスナップド関連2 (Drosophila)	---
213770_at	ras1のキナーゼ抑制因子	タンパク質アミノ酸のリン酸化
214171_s_at	U2低分子核内RNA補助因子2	mRNAのプロセッシング
216116_at	SH3ドメインを有するNCK相互作用タンパク質	NSL-関連基質の核内への移入
216427_at	CDNA: FLJ22786 fis、クローンIA2150	---
216820_at	---	---
217054_at	CDNA FLJ39484 fis、クローンPROST2014925	---
217180_at	KIAA0187遺伝子産物に類似する仮想タンパク質	免疫応答
217182_at	ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成	細胞接着
217322_x_at	---	---
217430_x_at	コラーゲン、I型、アルファ1	骨格形成
219070_s_at	モーターイル・スパームドメイン含有3	心臓形成
219425_at	スルホトランスフラーゼファミリー4A、メンバー1	脂質代謝
221663_x_at	ヒスタミン受容体H3	G-タンパク質共役受容体タンパク質シグナリング経路

【 0 1 5 2 】

10

20

30

40

【 2 - 3 】

【 0 1 5 3 】

プローブセットの識別番号	遺伝子名	G Oの生物学的過程の説明
221684_s_at	ニクタロピン	刺激に対する応答
223974_at	仮想タンパク質MGC11082	---
226640_at	ジアシルグリセロールリパーゼベータ	脂質の異化反応、脂質の代謝
228074_at	仮想タンパク質LOC162073	---
229191_at	チューブリン折畳共同因子D	ベーターチューブリンの折畳
229257_at	KIAA1856タンパク質	---
229335_at	免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4C	---
229358_at	インディアンヘッジホッグホモログ (Drosophila)	骨格形成、血管のパターニング
230341_x_at	トロンボスポンジン1型モチーフを有するADAMメタロ ペプチダーゼ、10	タンパク質分解、インテグリン-介在型シグナルリング 経路
230693_at	ATPアーゼ、Ca++輸送、心筋、速筋1	カルシウムイオンの輸送、黄紋筋収縮の制御
230768_at	FERM、RhoGEF及びプレクストリンドメインタン パク質2	神経細胞のリモデリング
231510_at	GLI-グルツペルファミリーメンバーGLI2	RNAポリメラーゼIIプロモーターからの転写
231629_x_at	カリクレイン-関連ペプチダーゼ3	タンパク質分解、血管形成の負の制御
231998_at	---	---
233794_at	一本鎖DNA結合タンパク質3	転写の制御、DNA-依存性
233974_s_at	配列類似性を有するファミリー129、メンバーB	---
234495_at	カリクレイン-関連ペプチダーゼ15	タンパク質分解
234637_at	ケラチン関連タンパク質4-5	---
234881_at	---	---
235568_at	染色体19オーブリンリデーディングフレーム59	---
235600_at	転写される遺伝子座	---

10

20

30

40

## 【 表 2 - 4 】

ブロープセットの識別番号	遺伝子名	GOの生物学的過程の説明
236496_at	精原細胞変性ホモログ2、脂質デサチュラーゼ (Drosophila)	脂質の代謝
237087_at	染色体14オーブンリーディングフレーム105	骨格形成、トランスフォーミング増殖因子ベータ受容体シグナル経路
237144_at	潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質3	
237398_at	転写される遺伝子座	
237547_at	仮想タンパク質LOC728730	
237679_at	トリパータイトモチーフ-含有66	転写の負の制御、DNA-依存性
238267_s_at		
238445_x_at	マンノシル (アルファ-1, 6-) -糖タンパク質ベータ-1, 6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェラーゼ、アイソザイムB	
239026_x_at	センタウリン、ガンマ3	転写の制御、DNA-依存性
239463_at	転写される遺伝子座	
239756_at	MAD1有糸分裂停止欠損-様1 (酵母)	有糸分裂のチェックポイント
240039_at	転写される遺伝子座//転写される遺伝子座	
240147_at	仮想タンパク質MGC11257	
240517_at	シスタチオニン-ベーター-シエンターゼ	セリンからのシステインの生成
241270_at	ロンボイド5ホモログ2 (Drosophila)	
241431_at		
242365_at	コイルド-コイルドメイン含有32	
243297_at	液胞タンパク質選別13ホモログD (S. cerevisiae)	タンパク質の局在、細胞周期、有糸分裂
243497_at	転写される遺伝子座	
243766_s_at	TEADメインフレームンバー2	転写、転写の制御、DNA-依存性
43934_at	Gタンパク質-共役受容体137	生物学的過程

## 【 0 1 5 4 】

表3はテスト用セット(n=28)予測結果を示し、遺伝子39個の特徴が用いられた。群のラベルは赤色で強調された列の上に列挙され、その次に予測されたクラスが列挙さ

れる。心筋炎 ( Myo ) の試料はクラス 2 に割り当てられ、特発性心筋症 ( GP、BP ) の試料はクラス 1 に割り当てられた。25 検体の試料は、( 75 % から 99 % までの確率で ) 正確に分類された。3 検体の試料のみが ( 48 % から 99 % までの確率で ) 誤分類された。予測された確率は、最後の 2 線に各分類について列挙される。

【 0 1 5 5 】

【表 3】

予測閾値 = 2.6											
設定名: 設定4											
オフセット値 0.257958											
両方 RNGシード 420473											
事前分布 (事前分布からのサンプル)											
クラス 1 2											
Prob. 0.757576 0.242424242											
実際のクラス、予測されたクラス及び予測された事後確率											
サンプル標識	Myo-5	Myo-8	Myo-10	Myo-1	Myo-4a	Myo-6	Myo-12	Myo-14	Myo-2	Myo-7	
クラス標識											
予測されたクラス標識	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2
1	0.044735755	0.00317	0.000372279	0.173628	0.00064	0.000536	0.51331	0.000157	0.00408	0.021898	
2	0.955264245	0.99683	0.999627721	0.826372	0.99936	0.999464	0.48669	0.999843	0.99592	0.978102	
サンプル標識	Myo-9	GP-13	BP-14	GP-25	BP-12	BP-13	BP-18	BP-16	BP-19	BP-20	
クラス標識											
予測されたクラス標識	2	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1
1	0.002194	0.999853	0.961375	0.96379	0.753742	0.06179	0.980899	0.017053	0.990345	0.998768	
2	0.997806	0.000147	0.038625	0.03621	0.246258	0.93821	0.019101	0.982947	0.009655	0.001232	
サンプル標識	GP-8	BP-3	BP-8	BP-15	GP-5	GP-10	GP-12	GP-26			
クラス標識											
予測されたクラス標識	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	0.996078	0.999488	0.821228	0.850691	0.867616	0.998565	0.797331	0.814156			
2	0.003922	0.000512	0.178772	0.149309	0.132384	0.001435	0.202669	0.185844			

10

20

30

40

【 0 1 5 6 】

表 4 心筋炎の患者を検出するための遺伝子 39 個のトランスクリプトームのバイオマーカー

50

第1行は各遺伝子についてのアフィメトリクスの識別番号 (ID) を含む。生物学的機能のための注釈は、遺伝子オントロジーデータベースから得られた。

【0157】

【表4-1】

心筋炎を検出するための遺伝子39個のバイオマーカー

プローブセットの識別番号	遺伝子名	GOの生物学的過程の説明
1553212_at	ケラチン78	---
1557236_at	アポリポプロテインL、6	転写の制御、DNA-依存性///脂質の輸送///リポタンパク質の代謝
1558142_at	トリヌクレオチドリピート含有6B	---
1558484_s_at	富ロインリピート含有27	---
1565614_at	ジンクフィンガータンパク質337	転写の制御、DNA-依存性
1565662_at	ムチン6、オリゴマー粘液/ゲル形成	消化管上皮の維持
1567100_at	ダックスフントホモログ1 (Drosophila)	転写の制御、DNA-依存性
203307_at	グアニンヌクレオチド結合タンパク質-様1	シグナル伝達
205758_at	CD8a分子//CD8a分子	抗原のプロセッシング及び提示、細胞傷害性T細胞の分化、免疫応答
206333_at	ムサシホモログ1 (Drosophila)	神経系の発生
212920_at	---	---
213242_x_at	KIAA0284	---
213619_at	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H1 (H)	mRNAのプロセッシング
213770_at	ras1のキナーゼ抑制因子	タンパク質アミノ酸のリン酸化
214171_s_at	U2低分子核内RNA補助因子2	スプライソソームを介する核内mRNAsプライミング
215443_at	甲状腺刺激ホルモン受容体	シグナル伝達、環状ヌクレオチド二次メッセンジャーに共役したG-タンパク質シグナリング
216198_at	活性化転写因子7相互作用タンパク質	DNAのメチル化
216427_at	CDNA: FLJ22786 fis、クローン KA IA2150	---
217054_at	CDNA FLJ39484 fis、クローン PRO ST2014925	---

10

20

30

40

50

【 0 1 5 8 】  
【 表 4 - 2 】

G Oの生物学的過程の説明

遺伝子名

プローブセットの識別番号

識別番号	遺伝子名	説明
217182_at	ムチン5AC、オリゴマー粘液/ゲル形成	細胞接着
217322_x_at	---	---
219425_at	スルホトランスフェラーゼファミリー4A、メンバー1	脂質の代謝
222145_at	CDNA : FLJ23572 f i s、クロニンLNG1 2403	---
229191_at	チューブリン折畳共同因子D	タンパク質の折畳
229569_at	CDNA クロニン IMAGE : 5263455	---
231629_x_at	カリクレイン-関連ペプチダーゼ3	タンパク質分解、血管形成の負の制御
233765_at	仮想LOC197135	---
233794_at	一本鎖DNA結合タンパク質3	転写の制御、DNA-依存性
233974_s_at	配列類似性を有するファミリー129、メンバーB	---
234495_at	カリクレイン-関連ペプチダーゼ15	---
235568_at	染色体19オープンリーディングフレーム59	タンパク質分解、タンパク質分解
235803_at	サイトカイン受容体-様因子3	---
236496_at	精原細胞変性ホモログ2、脂質デサチュラーゼ (D r o s o p h i l a)	脂質の代謝
236953_s_at	R I K E N c D N A 8 0 3 0 4 5 1 K 0 1に類似	---
238445_x_at	マンノシル (アルファ-1, 6-) -糖タンパク質ペー ター1, 6-N-アセチル-グルコサミニルトランスフェ ラーゼ、アイソザイムB	---
239463_at	転写される遺伝子座	---
240544_at	ジンクフィンガー、AN1-型ドメイン3	---
243766_s_at	T E Aドメインファミリーメンバー2	転写の制御、DNA-依存性
244042_x_at	(タザロテンで誘導される) レチノイン酸受容体レスポン ダー2に類似	---

【 0 1 5 9 】  
他の実施態様

10

20

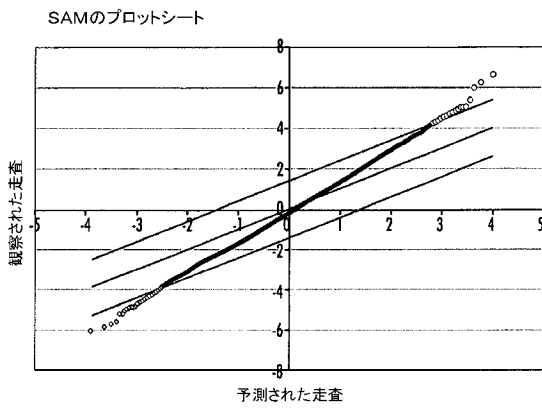
30

40

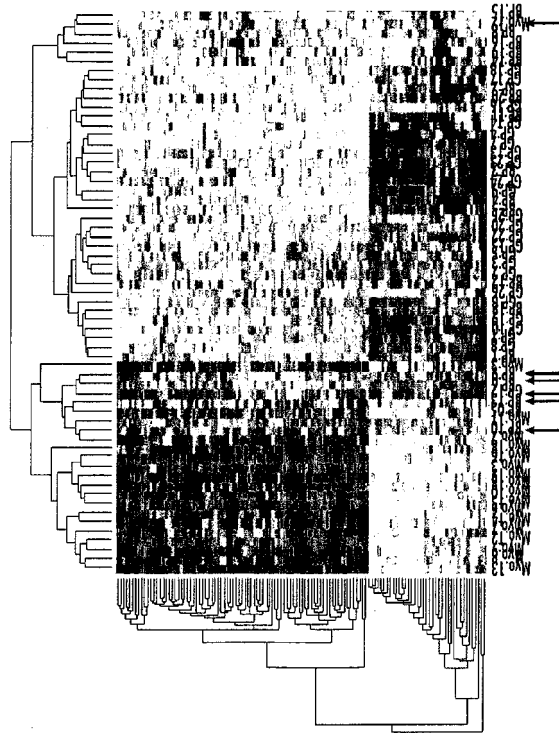
50

発明は本明細書の詳細な説明とともに関連して説明されたが、前述の説明は例示することを意図するものであって、本発明の範囲を限定するものではないことが理解されるべきである。他の局面、利点及び変更は以下の請求項の範囲に記載の範囲内である。

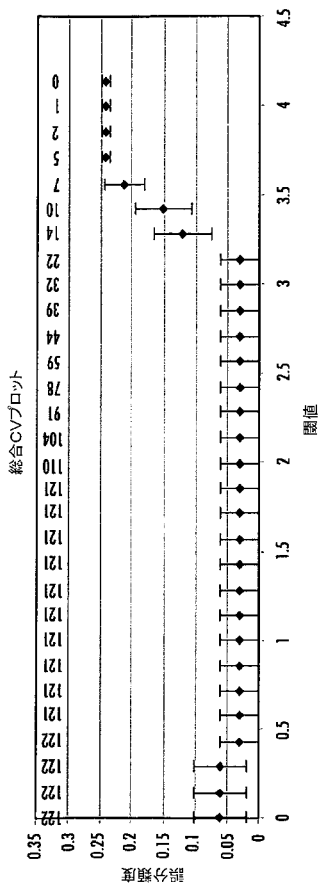
【 図 1 】



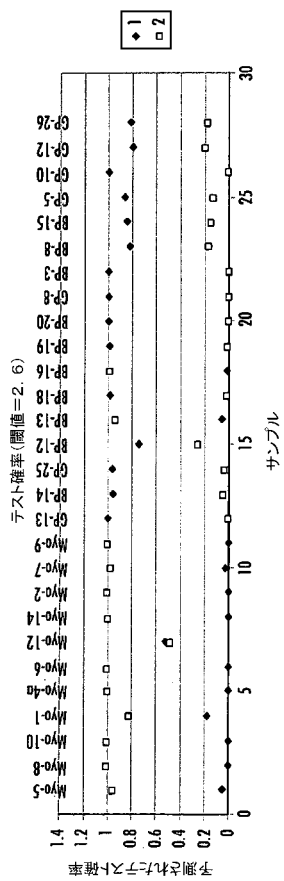
【 図 2 】



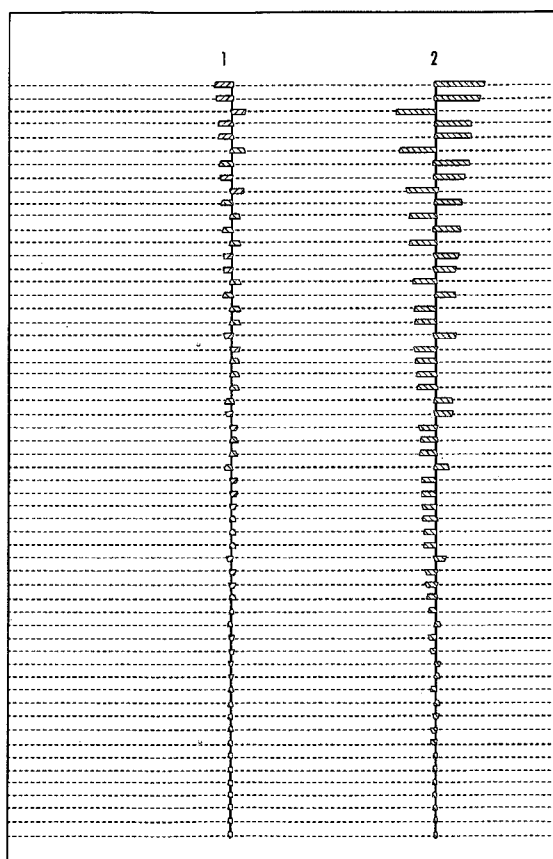
【 図 3 】



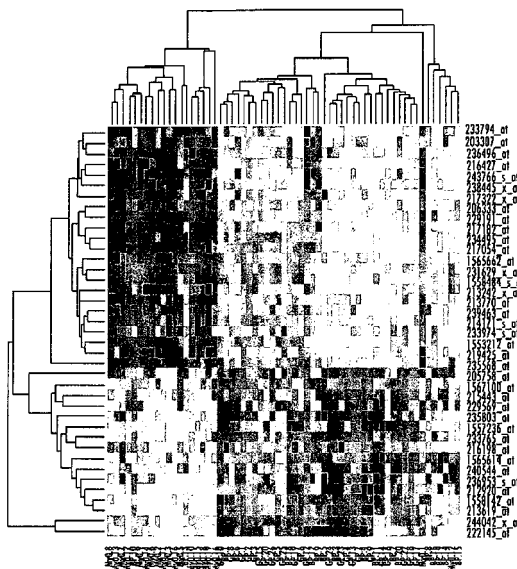
【 図 4 】



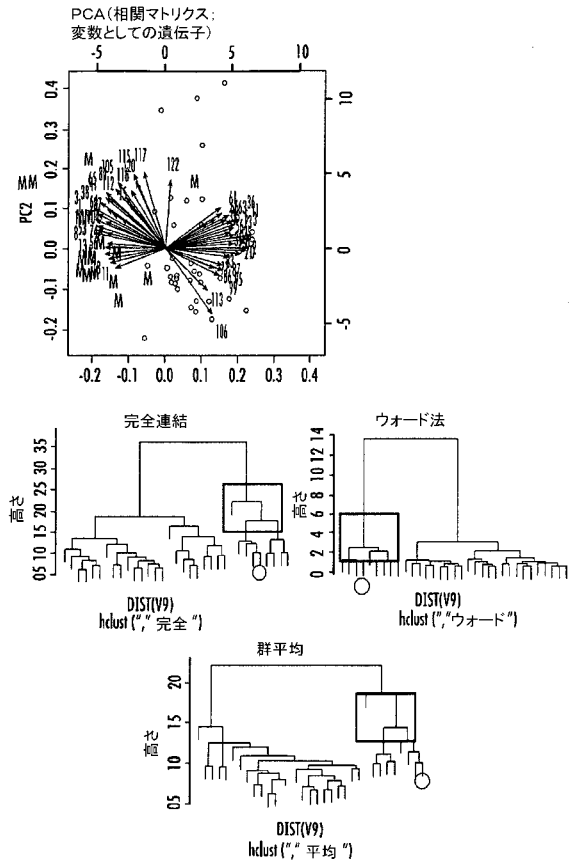
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 08/62290
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - C12Q 1/68; C40B 40/08 (2008.04) USPC - 435/6, 506/17 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) USPC: 435/6, 506/17 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWest; PGPB, USPT, USOC, EPAB, JPAB; Google Scholar; Google Patents; Text; Gene; sequence; microarray; kit; biomarker; myocarditis; transcriptome; calnexin III calnexin; protein FLJ39653; apolipoprotein-L, 6; F-box and WD-40 domain protein 2; Zinc finger protein 337; Dachshund homolog; heterogeneous nuclear ribonucleoprote		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2005/0143628 A1 (DAI et al.) 30 June 2005 (30.06.2005), pg. 50, Reporter ID 158; para [0087]	55, 56
A	US US 2006/0172311 A1 (Cohen et al.) 3 August 2006 (03.08.2006), entire document, esp: abstarct, paras [0020], [0227].	1-54
A	HEIDECKER et al. The use of transcriptomic biomarkers for personalized medicine. Heart Fail Rev, 28 March 2007, Vol 12, pg. 1-11.	1-54
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 16 July 2008 (16.07.2008)		Date of mailing of the international search report <div style="text-align: center; font-size: 1.2em; font-weight: bold;">30 JUL 2008</div>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT QSP: 571-272-7774

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/15		
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/19		
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	1/21		
G 0 1 N	37/00	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	1 0 1	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	37/00	1 0 2	
			G 0 1 N	33/53		M

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ヘア, ジョシュア, エム.  
アメリカ合衆国, フロリダ 3 3 1 4 1, マイアミ, 5 0 4 番 アクア アベニュー 6 1 0 3

(72)発明者 ハイデッカー, ベティーナ  
アメリカ合衆国, フロリダ 3 3 1 3 7, マイアミ, アパートメント 6 0 2, ウェスト アベニュー 9 1 0

Fターム(参考) 4B024 AA11 CA02 HA14  
4B029 AA08 BB20 CC03 FA15  
4B063 QA01 QA19 QQ42 QQ52 QR32 QR55 QR82 QS34  
4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AB01 AC15 BA02 CA24  
4H045 AA11 DA75 EA50

专利名称(译)	心肌炎转录组的生物标志物		
公开(公告)号	<a href="#">JP2010525823A</a>	公开(公告)日	2010-07-29
申请号	JP2010506653	申请日	2008-05-01
[标]申请(专利权)人(译)	迈阿密大学		
申请(专利权)人(译)	迈阿密大学		
[标]发明人	ヘアジョシユアエム ハイデッカーベティーナ		
发明人	ヘア,ジョシユア,エム. ハイデッカー,ベティーナ		
IPC分类号	C12Q1/68 C12N15/09 C07K16/18 C12M1/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 G01N37/00 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/6893 C12Q1/6883 C12Q2600/136 C12Q2600/158		
FI分类号	C12Q1/68.A C12N15/00.A C12N15/00.F C07K16/18 C12M1/00.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 G01N37/00.102 G01N33/53.M		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/CA02 4B024/HA14 4B029/AA08 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/FA15 4B063 /QA01 4B063/QA19 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR82 4B063/QS34 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA87X 4B065/AB01 4B065/AC15 4B065/BA02 4B065/CA24 4H045/AA11 4H045/DA75 4H045/EA50		
代理人(译)	吉田 正义 清水 栄松 高桥智之		
优先权	60/915215 2007-05-01 US		
其他公开文献	JP5714327B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)  
 鉴定了作为心肌炎，心脏病及其病症的非常敏感的诊断生物标志物的分子标记。

19) 日本国特許庁(JP)	12) 公表特許公報(A)	11) 特許出願公表番号 特表2010-525823 (2010-525823A)
	(43) 公表日	平成22年7月29日(2010.7.29)
5) Int. Cl.	FI	テーマコード(参考)
<b>C12Q</b> 1/68 (2006.01)	C12Q 1/68 A	4B024
<b>C12N</b> 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 A	4B029
<b>C07K</b> 16/18 (2006.01)	C12N 15/00 F	4B063
<b>C12M</b> 1/00 (2006.01)	C07K 16/18	4B065
<b>C12N</b> 1/15 (2006.01)	C12M 1/00 A	4H045
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 80 頁) 最終頁に続く
21) 出願番号	特願2010-506653 (P2010-506653)	(71) 出願人
36) (22) 出願日	平成20年5月1日(2008.5.1)	ユニバーシティ オブ マイアミ
35) 翻訳文提出日	平成21年12月24日(2009.12.24)	アメリカ合衆国 フロリダ 33136,
36) 国際出願番号	PCT/US2008/062290	マイアミ, エヌ. ダブリュー. 12
37) 国際公開番号	W02008/137595	ティーエイチ アベニュー 1475
37) 国際公開日	平成20年11月13日(2008.11.13)	(74) 代理人
31) 優先権主張番号	60/915, 215	弁理士 牛木 護
32) 優先日	平成19年5月1日(2007.5.1)	(74) 代理人
33) 優先権主張国	米国 (US)	弁理士 吉田 正義
		(74) 代理人
		弁理士 清水 栄松
		(74) 代理人
		弁理士 小台 宗一
		(74) 代理人
		弁理士 高橋 知之
		最終頁に続く

54) 【発明の名称】 心筋炎のトランスクリプトームのバイオマーカー