

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5738599号
(P5738599)

(45) 発行日 平成27年6月24日 (2015. 6. 24)

(24) 登録日 平成27年5月1日 (2015. 5. 1)

(51) Int. Cl.		F I			
C 1 2 Q	1/68	(2006. 01)	C 1 2 Q	1/68	Z N A A
C 1 2 N	15/09	(2006. 01)	C 1 2 N	15/00	A
G O 1 N	33/53	(2006. 01)	G O 1 N	33/53	D
G O 1 N	33/574	(2006. 01)	G O 1 N	33/574	Z

請求項の数 8 (全 52 頁)

(21) 出願番号	特願2010-541888 (P2010-541888)	(73) 特許権者	596020691
(86) (22) 出願日	平成21年1月6日 (2009. 1. 6)		カウンスィル オブ サイエンティフィック
(65) 公表番号	特表2011-508609 (P2011-508609A)		ク アンド インダストリアル リサーチ
(43) 公表日	平成23年3月17日 (2011. 3. 17)		COUNCIL OF SCIENTIF
(86) 国際出願番号	PCT/IN2009/000017		IC & INDUSTRIAL RES
(87) 国際公開番号	W02009/087689		EARCH
(87) 国際公開日	平成21年7月16日 (2009. 7. 16)		インド国、110001-ニューデリー、
審査請求日	平成23年12月5日 (2011. 12. 5)		ラフィ マーグ、アヌサンダン バワン
(31) 優先権主張番号	0054/DEL/2008	(74) 代理人	100081318
(32) 優先日	平成20年1月7日 (2008. 1. 7)		弁理士 羽切 正治
(33) 優先権主張国	インド (IN)	(74) 代理人	100122541
(31) 優先権主張番号	0055/DEL/2008		弁理士 小野 友彰
(32) 優先日	平成20年1月7日 (2008. 1. 7)	(74) 代理人	100132458
(33) 優先権主張国	インド (IN)		弁理士 仲村 圭代

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 星状細胞腫の同定と分級を行う方法、星状細胞腫の同定と分級を行う際に使用するキット

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被験者に対し、神経膠芽腫の予後診断の補助又は星状細胞腫の同定と分級を補助する方法であって、被験者から得た脳組織細胞の検査試料中のSYT1, RAB26, DIRAS2, RAB13, IGFBP7, COL6A1, DCN, PLAT, LGALS3, FABP7, LOX, LAMB1, IGFBP3, GADD45A, FSTL1, RHOC, B2M, PBEF1, AEBP1, SOD2 を含む遺伝子の組み合わせの発現レベルを求める工程からなり、対照試料と比較して検査試料における高レベルのRAB13の発現又は検査試料中における低レベルのSYT1, RAB26, 及び/又はDIRAS2の発現は被験者における星状細胞腫の存在を示すものであり、対照試料と比較して検査試料における高レベルのIGFBP7の発現は被験者における悪性星状細胞腫の存在を示すものであり、対照試料と比較して検査試料における高レベルのCOL6A1, DCN, PLAT, LGALS3, FABP7, LOX, LAMB1, IGFBP3, GADD45A, FSTL1, RHOC, B2M, 及び/又はPBEF1の発現は被験者における神経膠芽腫の存在を示すものであり、対照試料と比較して高レベルのAEBP1及び/又はSOD2の発現は被験者における初期の神経膠芽腫の存在を示すものであり、対照試料と比較して検査試料における高レベルのPBEF1の発現は被験者の生存確率が悪いという予後診断を示すものであることを特徴とする方法。

【請求項 2】

前記遺伝子の組み合わせの発現レベルを以下のプライマーペアーを使用して求めることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

配列番号 1 : S Y T 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5 ' G G T T G G C T G T T T

CCCAGTAAAAC 3' ;
 配列番号2 : SYT1 遺伝子のリバースプライマー : 5' TTTTAAGAAGTAC
 GGACCATCGG 3' ;
 配列番号3 : RAB26 遺伝子のフォワードプライマー : 5' GTCTGCTGGTG
 CGATTCAAG 3' ;
 配列番号4 : RAB26 遺伝子のリバースプライマー : 5' GCATGGGTAAACA
 CTGCGGA 3' ;
 配列番号5 : DIRAS2 遺伝子のフォワードプライマー : 5' CTGGTGTTGA
 GGTTTGTGAAAGG 3' ;
 配列番号6 : DIRAS2 遺伝子のリバースプライマー : 5' CCGTCGTGTCG 10
 GTGATCTG 3' ;
 配列番号7 : RAB13 遺伝子のフォワードプライマー : 5' ATA ACTACTGC
 CTA CTACC GTGG 3' ;
 配列番号8 : RAB13 遺伝子のリバースプライマー : 5' CCATGTCACATT
 TGTTC C C C A G 3' ;
 配列番号9 : IGFBP7 遺伝子のフォワードプライマー : 5' GGTCCTTCCA
 TAGTGACGCC 3' ;
 配列番号10 : IGFBP7 遺伝子のリバースプライマー : 5' TCTGAATGGC
 CAGGTTGTCC 3' ;
 配列番号11 : COL6A1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' ACAGTGACG 20
 AGGTTGGAGATCA 3' ;
 配列番号12 : COL6A1 遺伝子のリバースプライマー : 5' GATAGCGCAG
 TCGGTGTAGG 3' ;
 配列番号13 : DCN 遺伝子のフォワードプライマー : 5' AGTTGGAACGAC
 TTTATCTGTCC 3' ;
 配列番号14 : DCN 遺伝子のリバースプライマー : 5' GTGCC C A G T T C T A
 TGACAATCA 3' ;
 配列番号15 : PLAT 遺伝子のフォワードプライマー : 5' ACTGCCGGAAT
 CCTGATGG 3' ;
 配列番号16 : PLAT 遺伝子のリバースプライマー : 5' TGTGCTTGGCAA 30
 AGATGGC 3' ;
 配列番号17 : LGALS3 遺伝子のフォワードプライマー : 5' TGCTGATAA
 CAATTCTGGGCAC 3' ;
 配列番号18 : LGALS3 遺伝子のリバースプライマー : 5' TGAAGCGTGG
 GTTAAAGTGG 3' ;
 配列番号19 : FABP7 遺伝子のフォワードプライマー : 5' CTCTCAGCAC
 ATTCAAGAACACG 3' ;
 配列番号20 : FABP7 遺伝子のリバースプライマー : 5' GCGAACAGCAA
 CCACATCAC 3' ;
 配列番号21 : LOX 遺伝子のフォワードプライマー : 5' CAGGGTGCTGCT 40
 CAGATTTCC 3' ;
 配列番号22 : LOX 遺伝子のリバースプライマー : 5' GGTAATGTTGATG
 ACAACTGTGC 3' ;
 配列番号23 : LAMB1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' ACAAGCCCGA
 ACCCTACTGTA 3' ;
 配列番号24 : LAMB1 遺伝子のリバースプライマー : 5' GACCACATTTT
 CAATGAGATGGC 3' ;
 配列番号25 : IGFBP3 遺伝子のフォワードプライマー : 5' AGAGCACAG
 ATACCCAGAACT 3' ;
 配列番号26 : IGFBP3 遺伝子のリバースプライマー : 5' TGAGGAACTT 50

C A G G T G A T T C A G T 3' ;
 配列番号 27 : G A D D 4 5 A 遺伝子のフォワードプライマー : 5' G A G A G C A G
 A A G A C C G A A A G G A 3' ;
 配列番号 28 : G A D D 4 5 A 遺伝子のリバースプライマー : 5' C A C A A C A C C
 A C G T T A T C G G G 3' ;
 配列番号 29 : F S T L 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' C A A C C A C T G T
 G A A C T G C A T C G 3' ;
 配列番号 30 : F S T L 1 遺伝子のリバースプライマー : 5' C C T T T A G A G A A
 C C A G C C A T C T G 3' ;
 配列番号 31 : R H O C 遺伝子のフォワードプライマー : 5' C C T G C C T C C T C 10
 A T C G T C T T C 3' ;
 配列番号 32 : R H O C 遺伝子のリバースプライマー : 5' A G C A C A T G A G G A
 T G A C A T C A G T G 3' ;
 配列番号 33 : A E B P 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A A A G G G C G A G
 G A G T T G G A G 3' ;
 配列番号 34 : A E B P 1 遺伝子のリバースプライマー : 5' G A G G C T C G G A T
 C T G G T T G T 3' ;
 配列番号 35 : B 2 M 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A G G C T A T C C A G C
 G T A C T C C A A 3' ;
 配列番号 36 : B 2 M 遺伝子のリバースプライマー : 5' A A T G C G G C A T C T T 20
 C A A A C C 3' ;
 配列番号 37 : S O D 2 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A A C C T C A G C C C
 T A A C G G T G 3' ;
 配列番号 38 : S O D 2 遺伝子のリバースプライマー : 5' A G C A G C A A T T T G
 T A A G T G T C C C 3' ;
 配列番号 39 : P B E F 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A T T G C C T T C G
 G T T C T G G T G G 3' ;
 配列番号 40 : P B E F 1 遺伝子のリバースプライマー : 5' C G G C C C T T T T T
 G G A C C T T T T G 3' ;

【請求項 3】

遺伝子の発現レベルを求める際、インサイチュ核酸ハイブリダイゼーション、又はRT-PCR法や免疫組織化学、又はウェスタンブロット法を使用することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

星状細胞腫の存在を確定するため、公知のマーカーEGFR、p53及びKi-67と組み合わせて前記遺伝子を使用することを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の方法によって被験者の神経膠芽腫の予後診断の補助を含む星状細胞腫の同定と分級を行う際に使用するキットであって、SYT1, RAB26, DIRAS2, RAB13, IGFBP7, COL6A1, DCN, PLAT, LGALS3, FABP7, LOX, LAMB1, IGFBP3, GADD45A, FSTL1, RHOC, B2 M, PBEF1, AEBP1, SOD2 を含む遺伝子の組み合わせの発現レベルを具体的に求めることができる検査試薬(a)と前記キットの使用説明書(b)とを含むキット。

【請求項 6】

以下に記載の配列番号 1 ~ 40 で表されるプライマーセットを含む請求項 5 に記載のキット。

配列番号 1 : S Y T 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' G G T T G G C T G T T T
 C C C A G T A A A A C 3' ;
 配列番号 2 : S Y T 1 遺伝子のリバースプライマー : 5' T T T T A A G A A G T A C
 G G A C C A T C G G 3' ;
 配列番号 3 : R A B 2 6 遺伝子のフォワードプライマー : 5' G T C T G C T G G T G 50

C G A T T C A A G 3' ;
 配列番号4 : R A B 2 6 遺伝子のリバースプライマー : 5' G C A T G G G T A A C A
 C T G C G G A 3' ;
 配列番号5 : D I R A S 2 遺伝子のフォワードプライマー : 5' C T G G T G T T G A
 G G T T T G T G A A A G G 3' ;
 配列番号6 : D I R A S 2 遺伝子のリバースプライマー : 5' C C G T C G T G T C G
 G T G A T C T G 3' ;
 配列番号7 : R A B 1 3 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A T A A C T A C T G C
 C T A C T A C C G T G G 3' ;
 配列番号8 : R A B 1 3 遺伝子のリバースプライマー : 5' C C A T G T C A C A T T 10
 T G T T C C C C A G 3' ;
 配列番号9 : I G F B P 7 遺伝子のフォワードプライマー : 5' G G T C C T T C C A
 T A G T G A C G C C 3' ;
 配列番号10 : I G F B P 7 遺伝子のリバースプライマー : 5' T C T G A A T G G C
 C A G G T T G T C C 3' ;
 配列番号11 : C O L 6 A 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A C A G T G A C G
 A G G T G G A G A T C A 3' ;
 配列番号12 : C O L 6 A 1 遺伝子のリバースプライマー : 5' G A T A G C G C A G
 T C G G T G T A G G 3' ;
 配列番号13 : D C N 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A G T T G G A A C G A C 20
 T T T A T C T G T C C 3' ;
 配列番号14 : D C N 遺伝子のリバースプライマー : 5' G T G C C C A G T T C T A
 T G A C A A T C A 3' ;
 配列番号15 : P L A T 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A C T G C C G G A A T
 C C T G A T G G 3' ;
 配列番号16 : P L A T 遺伝子のリバースプライマー : 5' T G T G C T T G G C A A
 A G A T G G C 3' ;
 配列番号17 : L G A L S 3 遺伝子のフォワードプライマー : 5' T G C T G A T A A
 C A A T T C T G G G C A C 3' ;
 配列番号18 : L G A L S 3 遺伝子のリバースプライマー : 5' T G A A G C G T G G 30
 G T T A A A G T G G A 3' ;
 配列番号19 : F A B P 7 遺伝子のフォワードプライマー : 5' C T C T C A G C A C
 A T T C A A G A A C A C G 3' ;
 配列番号20 : F A B P 7 遺伝子のリバースプライマー : 5' G C G A A C A G C A A
 C C A C A T C A C 3' ;
 配列番号21 : L O X 遺伝子のフォワードプライマー : 5' C A G G G T G C T G C T
 C A G A T T T C C 3' ;
 配列番号22 : L O X 遺伝子のリバースプライマー : 5' G G T A A T G T T G A T G
 A C A A C T G T G C 3' ;
 配列番号23 : L A M B 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A C A A G C C C G A 40
 A C C C T A C T G T A 3' ;
 配列番号24 : L A M B 1 遺伝子のリバースプライマー : 5' G A C C A C A T T T T
 C A A T G A G A T G G C 3' ;
 配列番号25 : I G F B P 3 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A G A G C A C A G
 A T A C C C A G A A C T 3' ;
 配列番号26 : I G F B P 3 遺伝子のリバースプライマー : 5' T G A G G A A C T T
 C A G G T G A T T C A G T 3' ;
 配列番号27 : G A D D 4 5 A 遺伝子のフォワードプライマー : 5' G A G A G C A G
 A A G A C C G A A A G G A 3' ;
 配列番号28 : G A D D 4 5 A 遺伝子のリバースプライマー : 5' C A C A A C A C C 50

A C G T T A T C G G G 3' ;
 配列番号 29 : F S T L 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' C A A C C A C T G T
 G A A C T G C A T C G 3' ;
 配列番号 30 : F S T L 1 遺伝子のリバースプライマー : 5' C C T T T A G A G A A
 C C A G C C A T C T G 3' ;
 配列番号 31 : R H O C 遺伝子のフォワードプライマー : 5' C C T G C C T C C T C
 A T C G T C T T C 3' ;
 配列番号 32 : R H O C 遺伝子のリバースプライマー : 5' A G C A C A T G A G G A
 T G A C A T C A G T G 3' ;
 配列番号 33 : A E B P 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A A A G G G C G A G 10
 G A G T T G G A G 3' ;
 配列番号 34 : A E B P 1 遺伝子のリバースプライマー : 5' G A G G C T C G G A T
 C T G G T T G T 3' ;
 配列番号 35 : B 2 M 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A G G C T A T C C A G C
 G T A C T C C A A 3' ;
 配列番号 36 : B 2 M 遺伝子のリバースプライマー : 5' A A T G C G G C A T C T T
 C A A A C C 3' ;
 配列番号 37 : S O D 2 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A A C C T C A G C C C
 T A A C G G T G 3' ;
 配列番号 38 : S O D 2 遺伝子のリバースプライマー : 5' A G C A G C A A T T T G 20
 T A A G T G T C C C 3' ;
 配列番号 39 : P B E F 1 遺伝子のフォワードプライマー : 5' A T T G C C T T C G
 G T T C T G G T G G 3' ;
 配列番号 40 : P B E F 1 遺伝子のリバースプライマー : 5' C G G C C C T T T T T
 G G A C C T T T T G 3' ;

【請求項 7】

前記試薬は、配列番号42, 44, 46, 48, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80で表されるアンプリコン又は核酸プローブの組み合わせを含むことを特徴とする請求項 6 に記載のキット。

【請求項 8】

前記試薬は、前記遺伝子によって符号化されたプロテインと特に結合する抗体を含むことを特徴とする請求項 5 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、星状細胞腫、その悪性度、及び膠芽細胞腫予後を同定する新規なプライマー（マーカー）に関する。更に本発明は、新規なプライマー（マーカー）に関すると共に被験者の星状細胞腫の存在、その悪性度、及び膠芽細胞腫の予後を診断する方法、その特徴付けを行うキットに関する。更に本発明は、悪性星状細胞腫の存在を診断する方法、その特徴付けを行うキットに関する。更に本発明は、被験者の膠芽細胞腫を診断する方法に関し、被験者の様々なタイプの膠芽細胞腫を同定しその特徴づけを行うキットに関する。

【背景技術】

【0002】

グリオーマは、最も一般的に見られる原発性脳腫瘍であり、100,000人中約12人の確立で起こる (Landis et al., 1999)。びまん性膠芽細胞腫は、悪性度の度合いの階級によって、低グレードびまん性膠芽細胞腫 (DA; グレードII)、未分化 (AA; グレードIII)、及び膠芽細胞腫 (グレードIV; GBM) のように分類される (WHO の分類) (Mischel et al., 2001)。現在この分類は、臨床で観察される腫瘍の組織病理学的特徴に基づいて行われ、しばしば主観的で整合性がとれない結果となる。GBM は悪性グリオーマの80%以上を構成し (DeAngelis et al., 2001)、GBM 患者は平均1年未満の生存率

10

20

30

40

50

であった。不運なことに、現時点での外科手術、放射線治療、及び化学療法等の治療は、これら不治の新生物の自然な成長を抑制することができなかった。そして、G B M患者の予後は過去30年間、著しく改善したとは言えない(Davis et al., 1998)。新規な診断治療技術を見出すため、膠芽細胞腫の発生を導く生物学的経路の更なる理解が望まれる。

【0003】

星状細胞腫の進行は、他の癌と同様に一連の遺伝子変化の蓄積を伴う(Nagane et al., 1997)。標準的な分子手法を用いた、星状細胞腫の進行に伴う多くの遺伝子の同定は、星状細胞腫の発生と進行のプロセスの理解に寄与した(Louis and Gusella, 1995)。表皮成長因子受容体の頻繁な増殖(EGFR)(Hill et al., 1999; Brock and Bower, 1997)、血小板由来生長因子受容体(PDGF R)(Hermanson et al., 1992; Hermanson et al., 1996; Maxwell et al., 1990; Westermarck et al., 1995; Fleming et al., 1992)、cdk4遺伝子を担持する染色体12qの増幅(Nagane et al., 1997; Hill et al., 1999)及び遺伝子変異1p、9p、10、17p、19q、22qなどはこれら腫瘍の中にしばしば発見された。又、腫瘍抑制遺伝子p53の突然変異は、低グレード進行性星状細胞腫の染色体17pの変異と関連付けられることが分かった(Maher et al., 2001; Phatak et al., 2002)。染色体9pに存在するcdk阻害物質p16INK4aの不活化は散発性星状細胞腫においてはよく見られ、高グレードグリオーマの50~70%、又G B M細胞株の90%の確率で起こる(James et al., 1991; Olopade et al., 1992)。染色体10のLOHはG B Mにおいて起こる変異の中でも頻度が高く、PTEN/MMAC遺伝子の欠損を伴う(Hill et al., 1999; Li et al., 1997)。

【0004】

G B Mには二つのタイプがある：原発性G B M(デノボ型)：これは、侵襲性、高浸潤性癌として主に老人(平均年齢55歳)に現われ、普通は事前の臨床疾患の兆候がなく、3ヶ月未満の短い病歴となる。続発性G B M(進行性のタイプ)は通常若い患者に見られ(平均年齢：40歳)、びまん性(WHOグレードII)又は未分化星状細胞腫(WHOグレードIII)からゆっくり時間をかけて悪性化する。これらG B M間の遺伝子損傷の違いは幾つか特定されているが、二つのタイプのG B Mは臨床的、遺伝子的、生物学的に類似の特徴を有するという事実を考慮すると、それらは識別マーカーとして使用するには充分とはいえない(Kleihues et al., 2002)。しかしながら、これら亜類型は、将来進行する可能性があるため、新規で特殊な治療に異なる反応を示すおそれがある(Kleihues and Ohgaki, 1999)。

【0005】

星状細胞腫に関するあらゆる情報にもかかわらず、星状細胞腫の進行に関して、G B M患者の予後を改善するのに十分な理解が得られていない。星状細胞腫の様々な遺伝子の発現パターンやその下流遺伝子産物を世界的に系統的に更に理解することにより、新しい診断治療ターゲットを提供することができ好ましい。これに向けて多くの研究がなされ、星状細胞腫の遺伝子発現プロファイルが報告されている(Liau et al., 2000; Sallinen et al., 2000; Rickman et al., 2001; Ljubimova et al., 2001; Watson et al., 2001; Tanwar et al., 2002; Fathallah-Shaykh et al., 2002; Nutt et al., 2003; Wang et al., 2003; Godard et al., 2003)。

【0006】

又、患者に対して効力を最大に、毒性を最小にしながら、特殊な治療用撮画手段を用いて病理性腫瘍のタイプを特定することが望ましい(Golub et al., 1999; Kudoh et al., 2000)。従来は、癌の分類は主に癌細胞の形態的外観に基づいて行われた。しかし、これには重大な限界がある。というのは、同様な組織病理学的発現をする腫瘍でも、かなり異なる臨床経過を辿り、治療に対しても異なる反応を示すことがありうるからである。例えば、組織病理学的発現に基づく場合、グレードIVの星状細胞腫はグレードIIIの星状細胞腫と全く見分けられない。

【0007】

又、脳腫瘍に対する免疫学的マーカー診断は、明確で改善された診断である。例えば、

星状細胞腫から乏突起星状細胞腫を見分けることができ、更に低グレードの星状細胞腫から高グレードの星状細胞腫を見分けることができる。しかしながら、異なる蛋白質の発現（GFAP、ビメンチン、シナプトフィジン、ネスチン）は、治療アプローチの改善に寄与しない。低グレードから高グレードへの星状細胞腫の移行を予測することは、現在使用されているマーカーでは難しい（De Girolami et al., 1994）。

【0008】

TewsとNissenの報告書によると、様々な癌関連マーカーによる免疫組織化学的検出は、原発性と続発性膠芽細胞腫と前駆体腫瘍との間の重要な異なる発現パターンを示すことはできなかった。グリオーマ進行中の同一固体内の一定パターンや悪性腫瘍との関連は何ら見られなかった（Tews and Nissen, 1998-99）。一方、肺炎のクラス予測は、DNAマイクロアレイを有する遺伝子発現プロファイルに基づいてなされる（Golub et al., 1999）。

【0009】

しかし、治療計画の最適化を図る高グレードグリオーマを分類するための遺伝子発現プロファイルに基づくクラス予測能を得ることはこれまででは不可能だった。Zhang et al.（US Patent 20040053277）は多数の遺伝子セットを同定した。その発現により、グリオーマを膠芽細胞腫（GBA）、未分化〔悪性〕星状細胞腫（AA）、未分化希突起グリオーマ（AO）、又は乏突起膠腫（OL）に分類することができる。しかしながら、現在使用されているこれら分子マーカーはGBMの亜類型を正確に同定することができない。p53遺伝子の突然変異はグレードII/IIIの星状細胞腫と続発性膠芽細胞腫の約50%と関係があるが、原発性膠芽細胞腫の10～20%としか関係がないと報告されている（Campomenosi et al., 1996; Watanabe et al., 1997; Schmidt et al., 2002）。同様に、GBMの分類に通常使用されるもう1つのマーカーである表皮成長因子受容体（EGFR）は、すべての原発性GBMケースの40%においてのみ増幅され、続発性GBM（Frederick et al., 2000）においては増幅がめったに報告されていないことがわかった。グリオーマのマイクロアレイ遺伝子発現プロファイリングにより、何千個もの遺伝子の同時分析が可能になり、腫瘍のグレード、進行、生存率に関係する分子マーカーを同定できると予想されている。cDNAマイクロアレイ実験により、又その後のリアルタイムでの定量的PCR及び/又は免疫組織化学的手法を用いた検証により、星状細胞腫の異なる組み合わせにおいて発現した幾つかの特異的な遺伝子カテゴリーを同定した。又、一般的にGBMと特に原発性GBMを特徴付ける遺伝子も同定した。更に、治療反応と同定された遺伝子の発現との相互関係も確立した。星状細胞腫、膠芽細胞腫及び膠芽細胞腫の亜類型の存在を予後との関連において予測できることが望ましく、これに照らし合わせて適切な治療を施すことができることが望ましい。前記同定、及び他の効果が本発明により提供された。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

[発明の目的]

本発明の第一の目的は、被験者の星状細胞腫の存在を診断する方法を提供することである。

更に本発明の他の目的は、被験者の星状細胞腫を特徴づけるキットを提供することである。

更に本発明の他の目的は、被験者の悪性星状細胞腫（AA、GBM）を特徴づける方法を提供することである。

更に本発明の他の目的は、被験者の悪性星状細胞腫（AA、GBM）を特徴づけるキットを提供することである。

更に本発明の他の目的は、被験者の膠芽細胞腫の存在を診断することである。

更に本発明の他の目的は、被験者の膠芽細胞腫（GBM）を特徴づけるキットを提供することである。

更に本発明の他の目的は、被験者の膠芽細胞腫のタイプを同定する方法を提供することである。

更に本発明の他の目的は、被験者の原発性及び続発性膠芽細胞腫を区別するキットを提供することである。

更に本発明の他の目的は、被験者の膠芽細胞腫の予後を診断する方法に関する。

更に本発明の他の目的は、被験者の膠芽細胞腫の予後を診断するキットに関する。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明は、被験者の正常なサンプルから星状細胞腫を診断する方法であって、当該被験者から得た脳組織のテストサンプルの単一遺伝子発現レベル、又既知の正常な脳組織のコントロールサンプルの単一遺伝子発現レベルに基づいて星状細胞腫を診断する方法を提供する。ここで、前記被験者の正常なサンプルと比較してテストサンプルの前記遺伝子の発現レベルが高いか低いかによって星状細胞腫を特定する。更に、本発明は被験者の星状細胞腫を同定するキットに関する。

10

【0012】

更に本発明は、被験者の悪性星状細胞腫（AA，GBM）を診断する方法であって、当該被験者から得た脳組織のテストサンプルの単一遺伝子発現レベル、又既知の正常な脳組織のコントロールサンプルの単一遺伝子発現レベルに基づいて星状細胞腫を診断する方法を提供する。ここで、前記被験者の正常なサンプルと比較してテストサンプルの前記遺伝子の発現レベルが高い場合、テストサンプルを得た被験者の悪性星状細胞腫を示す。

20

更に本発明は、被験者の星状細胞腫に関してその悪性良性を区別するキットに関する。

更に本発明は、被験者の低グレード星状細胞腫から膠芽細胞腫を診断する方法であって、当該被験者から得た脳組織のテストサンプルの単一遺伝子発現レベル、又既知の正常な脳組織のコントロールサンプルの単一遺伝子発現レベルに基づいて星状細胞腫を診断する方法を提供する。ここで、前記被験者の正常なサンプルと比較してテストサンプルの前記遺伝子の発現レベルが高い場合、テストサンプルを得た被験者の膠芽細胞腫（GBM）を示す。

更に本発明は、被験者の低グレード星状細胞腫から膠芽細胞腫を同定するキットに関する。

更に本発明は、被験者の続発性膠芽細胞腫から原発性膠芽細胞腫を区別する方法であって、当該被験者から得た脳組織のテストサンプルの単一遺伝子発現レベル、又既知の正常な脳組織のコントロールサンプルの単一遺伝子発現レベルに基づいて原発性膠芽細胞腫を診断する方法を提供する。ここで、テストサンプルにおける前記遺伝子の発現レベルが正常なサンプルに比べて高い場合は、サンプルを得た被験者に原発性膠芽細胞腫を認めるものである。又本発明は、被験者における原発性、続発性膠芽細胞腫を区別するキットに関する。

30

【0013】

更に本発明は、被験者の膠芽細胞腫の予後を診断する方法に関する。更に本発明は、膠芽細胞腫を有する被験者の生存率という予後予測を診断する方法であって、当該被験者から得た脳組織細胞のテストサンプルの遺伝子PBEF1の発現レベル、又既知の正常な脳組織細胞のコントロールサンプルの遺伝子PBEF1の発現レベルに基づいて被験者の膠芽細胞腫の予後を診断する方法を提供する。ここで、前記被験者の正常なサンプルと比較してテストサンプルの前記遺伝子の発現レベルが高い場合、テストサンプルを得た被験者の生存率が低いこと示す。本発明は更に、膠芽細胞腫の被験者の生存率が高いか低いかを見極めるキットに関する。

40

【発明の効果】

【0014】

本発明の効果として：

- 1 星状細胞腫の存在を診断する有用な方法を提供する。
- 2 悪性星状細胞腫（AA又はGBM）の存在を診断する有用な方法を提供する。

50

- 3 膠芽細胞腫、つまり原発性及び続発性のタイプを同定する有用な方法を提供する。
- 4 膠芽細胞腫の予後を決定する有用な方法を提供する。
- 5 この方法は、臨床症状が現れる前後共に有用である。
- 6 この方法は、抗がん治療の効果をモニターすることにも応用できる。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1A】図1は、正常な脳組織と比較して特異的に調整された星状細胞腫における遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率を示したものであり、SYT1を図1Aにプロットした図である。各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均Log₂対数変換率を表す。

10

【図1B】図1は、正常な脳組織と比較して特異的に調整された星状細胞腫における遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率を示したものであり、RAB26を図1Bにプロットした図である。各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均Log₂対数変換率を表す。

【図1C】図1は、正常な脳組織と比較して特異的に調整された星状細胞腫における遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率を示したものであり、DIRAS2を図1Cにプロットした図である。各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均Log₂対数変換率を表す。

20

【図1D】図1は、正常な脳組織と比較して特異的に調整された星状細胞腫における遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率を示したものであり、RAB13を図1Dにプロットした図である。各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均Log₂対数変換率を表す。

【図2】図2は、正常な脳組織と比較して、悪性星状細胞腫(AA, GBM)において上方調整された遺伝子をプロットした図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率をIGFBP7にプロットした図である。各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均Log₂対数変換率を表す。

30

【図3A】図3は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率を示したものであり、COL6A1を図3Aにプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均Log₂対数変換率を表す。

【図3B】図3は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率を示したものであり、DCNを図3Bにプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均Log₂対数変換率を表す。

【図3C】図3は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率を示したものであり、PLATを図3Cにプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均Log₂対数変換率を表す。

40

【図3D】図3は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率を示したものであり、LGALS3を図3Dにプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均Log₂対数変換率を表す。

【図3E】図3は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的PCR分析により得た遺伝子発現のLog₂対数変換率を示したものであり、FABP7を図3Eにプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグ

50

ループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 3 F】図 3 は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的 PCR 分析により得た遺伝子発現の Log_2 対数変換率を示したものであり、 LOX を図 3 F にプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 3 G】図 3 は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的 PCR 分析により得た遺伝子発現の Log_2 対数変換率を示したものであり、 LAMB1 を図 3 G にプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 3 H】図 3 は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的 PCR 分析により得た遺伝子発現の Log_2 対数変換率を示したものであり、 IGFBP3 を図 3 H にプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 3 I】図 3 は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的 PCR 分析により得た遺伝子発現の Log_2 対数変換率を示したものであり、 GADD45A を図 3 I にプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 3 J】図 3 は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的 PCR 分析により得た遺伝子発現の Log_2 対数変換率を示したものであり、 FSTL1 を図 3 J にプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 3 K】図 3 は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的 PCR 分析により得た遺伝子発現の Log_2 対数変換率を示したものであり、 RHOC を図 3 K にプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 3 L】図 3 は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的 PCR 分析により得た遺伝子発現の Log_2 対数変換率を示したものであり、 B2M を図 3 L にプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 3 M】図 3 は、膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的 PCR 分析により得た遺伝子発現の Log_2 対数変換率を示したものであり、 PBEF1 を図 3 M にプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 4】図 4 は、原発性膠芽細胞腫の特異遺伝子の散布図であり、リアルタイムの定量的 PCR 分析により得た遺伝子発現の Log_2 対数変換率を示したものであり、 AEBP1 を図 4 A にプロットし、 SOD2 を図 4 B にプロットし、各点は、一つのサンプルから得たデータを示す。横軸は、対応するグループの平均 Log_2 対数変換率を表す。

【図 5】図 5 (Q - T) は、 IGFBP7 の免疫組織化学的妥当性を示す。びまん性浸潤星状細胞腫 (DA、AA、s/p GBM) における IGFBP7 染色を顕微鏡写真図により示す。このイソ型は悪性星状細胞腫 (AA, GBM) の染色を示す。 IGFBP7 染色はパネル Q、R、S、T に示す。数個の腫瘍細胞が DA (Q) に標識化されている。標識化された細胞の数は、AA (R)、続発性 GBM (S)、原発性 GBM (T) の順で次第に増加することが観察された。

【図 6】図 6 (E - H) は、 IGFBP3 の免疫組織化学的妥当性を示す。びまん性浸潤星状細胞腫 (DA、AA、s/p GBM) における IGFBP3 染色を顕微鏡写真図により示す。このイソ型は GBM における最大染色パターンを示す。 IGFBP3 染色はパネル E、F、G、H に示す。適度な数の腫瘍細胞は DA (E) 及び AA (F) における細胞質染色を示す一方で続発性 GBM (G) 及び原発性 GBM (H) は数個の腫瘍細胞の強い (3+) 細胞質染色を示した。

【図 7】図 7 (A - E) は、 GADD45A の免疫組織化学的妥当性を示す。つまり、膠

10

20

30

40

50

芽細胞腫におけるGADD45Aの過剰発現の組織化学的妥当性を示す。正常脳細胞の切片においてGADD45Aに対する染色実験が行われた：ネガティブ染色(A)、DA-ネガティブ染色(B)、AA-ネガティブ染色(C)、続発性GMB-ポジティブ染色(D)；原発性GMB-ポジティブ染色(E)が示された。

【図8】図8(A-E)は、FSTL1の免疫組織化学的妥当性を示す。つまり、膠芽細胞腫におけるGADD45Aの過剰発現の組織化学的妥当性を示す。正常脳細胞の切片においてFSTL1に対する染色実験が行われた：ネガティブ染色(A)、DA-ネガティブ染色(B)、AA-ネガティブ染色(C)、続発性GMB-ポジティブ染色GBM(D)；原発性GMBs-ポジティブ染色(E)が示された。

【図9】図9(A-E)は、B2Mの免疫組織化学的妥当性を示す。つまり、膠芽細胞腫におけるB2Mの過剰発現の組織化学的妥当性を示す。正常脳細胞白質障害(A)の切片においてB2Mに対する染色実験が行われた：DA(B)及びAA(C)に対してネガティブ染色、続発性GBM(D)及び原発性GMB(E、F)に対してポジティブ染色を示した。尚、正常脳細胞(A)及びDA(B)における実質(性)静脈はほとんど標識化されなかった。

【図10】図10は、PBEF1の免疫組織化学的妥当性を示す。正常な脳より採取した切片においてPBEF1に対する染色実験が行われた：ネガティブ染色(A)、DA-ネガティブ染色(B)、AA-ネガティブ染色(C)、AA-ポジティブ染色(D)、GMB-ポジティブ染色(E及びF)が示された。

【図11】図11は、PBEF1の発現及びGBM患者の生存率を示す。EGFR1及びPBEF1染色に対して、51人のGBM患者に対して Kaplan-Meier 生存率の概算をp53に示す。(A)PBEF1に対してポジティブ及びネガティブのグループの生存率のカーブを単変量解析で示した。PBEF1に対してポジティブ(赤線)の症例はネガティブ(緑線)($P = 0.16$)の症例より生存率が低い。(B)p53及びPBEF1の同時発現に対してポジティブ及びネガティブのグループに対する生存率のカーブを多変量解析で示した。両マーカー(赤線)に対してポジティブのグループはその両方又はどちらかに対してネガティブのグループに比べて生存率が低い(緑線)。

【発明を実施するための形態】

【0016】

本発明は、星状細胞腫、悪性の星状細胞腫、膠芽細胞腫の存在を診断する方法に関し、被験者の膠芽細胞腫のタイプの同定に関する。拡散して浸潤する星状細胞腫は次のタイプを含む：1.びまん性星状細胞腫(DA; WHO Gr. II)、2.未分化星状細胞腫(AA; WHO Gr. III)、及び3.膠芽細胞腫(GBM; WHO Gr. IV)。AAとGBMは、悪性星状細胞腫を形成し、最もよく見られる内因性悪性新生物である。GBMの進行は、少なくとも2本の遺伝子経路で起こると言われ、結果的に原発性及び続発性GBMを形成する。原発性GBMは、何ら悪性の兆候もないまま最も高い頻度で新たに変異株を発症する。このカテゴリーに入る患者は一般的に老齢で、表皮成長因子受容体の頻繁な増殖(EGFR)遺伝子の増幅、p16INK4Aの欠如、PTEN遺伝子の突然変異、及びMDM2の増幅などが、かなりの高い確率で起こる。一方、続発性GBMは低グレードの星状細胞腫が先行してその後起こる。p53遺伝子の突然変異、RBの変異、PDGFRの増幅や過剰発現は、続発性GBMの進行でよく見られる。このような遺伝子の違いにもかかわらず、これら亜類型が予後に関しても著しく異なるかどうか確かではない。本発明の方法は、被験者由来の核酸や蛋白質を含む被験者から得た生体物質のサンプルを採取し、単一又は組み合わせの以下の群からなる遺伝子の発現レベルを、定量的に又は半定量的に特定するステップを含む。

1. SYT1、RAB26、DIRAS2及びRAB13：星状細胞腫の存在を診断する遺伝子の特徴的な発現パターン。

2. IGFBP7：悪性星状細胞腫(AA、GBM)の存在を診断する遺伝子の特徴的な発現パターン。

3. COL6A1、DCN、PLAT、LGALS3、FABP7、LOX、LAMB

10

20

30

40

50

TGGTAAACAGACAGTATTGTAATCCCATCAAAGATGAAAGAAAAACAAAACAAAACCAACAACAATTAGCCATAGTT
 CTGAATGCACTTCAATTAAGCCAAAACAGACAGCTAGTGATCTTTTTATATGCTCTTTTTACTTAAGTTTTAATTTGTCC
 TTTAAAAAAGGTGAAACAAACCAAGAACAAGTTCTAGAAAACCTGAAAGCAACCTCTTATGTATACTAGATGCTTGATTTA
 GGAGGAGTTTTTAAACGTTTTCAATGTTATTATGTAGTAAATGACACTATTATGAAGCTACTAGTCATTCCATAAGAGTC
 TTAAGGACTGCTCTGTGTAACACTGTGACTGCCGTGTGTGCTTAGACCCGTAGTTTCCTCAGTGGATAGCACTCAATTT
 ATTCCGTAGTGATATTGTAACAATACTGCCATTCCCTTCTACTGCACTGCCCAAGGTGTGTGAGCACAACAGTTCTCA
 TTACAAAGGACCAATTCAGAAGCTGAAAAGCTATGCATAGGACAAGGAAGATACATAGAATGGGGTGAACACAGCATTTT
 GTCAGCACTGTGCAATATCCCATATTTTTCCCCTATGGTAGACAACCATTTTCGTGGAAGGGCAGCCTATTATCCCAC
 ACTGCATCTAGCCTTTTTGTCCCATTCACTTCTGTGATCCATTTTAATTTCCAGGCCACAAGACAGTAGTGATGCTCTGAA
 ATGAAAGTTTGTCTTCAAAATATCAAACAAAATGGAGGAAAACAAAGCATTGGCCTCATGTTTCAGTCTTCAGGATATC
 ACACCACGTCTTTTCAAACCTAAAGAGAATTCAAAGGGCTGATGGTAGGCTTTGAACATGGGGTTGGCTGTTTCCCA
 GTAAAACCTGGAATTCCTGTCGTTACTGTTTCCTTATCAAAGAAGGGGCAAGCTCTTTTGCCTTTTAGGCCAGACATAGCA
 AACGCTTTATAATTGGCATAGACATAAAGGATAAAGGAAAATAACCGTCTGCCGATGGTCCGTAATTTCTTAAAAACAT
 AGGTAATAGAAAATATACACAAGTCAGAATGTGAAATTAATAATGGTTTGAACAGAAAATTCAAAACAAGACTCTTTCCA
 ATTTAAAGGGCCAAACCTACCAAAGAGAGGGAGTTGACTGGCTTTTAAAAAGTATTTAAATACCACAAATGACATTTAA
 TTTCACTGTATTACAGCTTTAAGTTGTTTCACAATGAAACCACACTTTCAAACAAGCAGGTTCAAGCTGCTGAATAGACATT
 ATTTCTGCATTAATAATACCACTAATGCATTCTTGAACACTGCCAGACATGGGATTGTCACCATAGAATTAGTTGGT
 ACTATGCCATCTTTCACTCTTTCACAAGTCAGTGATGGAACCTGCTTTATGACCAAGATTCATCCTCAAATAAGCCACAT
 GTACCCTTCTGACAAAGCTGTGTAAGTATTAGAATCTGATGCTCTAGAAAGATCCTAGTTGCCCTTTGTGTATATTTACT
 GCCTGCTGAGTGTTTCTATGTGTGGGTTTTCCCTGTATCTTGTAGAAATGTTGGGGTGTTCCTCTGCCATATGGCTC
 GTGGCCTGCGAGCCAACCTATTTACAGCTGATTTTACCTTCAATTTTTGATGAGGTGATTTAAATTTTGTTCCTTTGTG
 AGTGAATCCACAGTAGTTTTCTGATTGTTGTTAAAAATGACTTAACATATTACACAGATATTCAATAAAAAATGTTTTAT
 TTCCTGTTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

10

20

Primers used:

Forward primer sequence: GGTTGGCTGTTTCCAGTAAAAC

Reverse primer sequence: TTTTAAGAAGTACGGACCATCGG

Amplicon length: 171

Amplicon sequence:

GGTTGGCTGTTTCCAGTAAAACCTGTCGTTACTGTTTCCCTTATCAAAGAAGGGGCAAGCTCTTTTGCCTTT
 TAGGCCAGACATAGCAAACGCTTTATAATTGGCATAGACATAAAGGATAAAGGAAAATAACCGTCTGCCGATGGTCCGT
 ACTTCTTAAAA

30

2.RAB26, member RAS oncogene family (RAB26)

Accession number: NM_014353.

Sequence:

GCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCAGGGGAAGGGTTCGGGTCCGGGTCGGGCTCGGCGGGCGGGGGTGGC
 GGACGGCCCAGGGCACGGCGGCTGCAGCGGGAGCACACTGAGCGCCCGCCGCCATGTCCAGGAAGAAGACCCCCAAGAG
 CAAAGGGGCCAGCACCCCGCTGCCTCCACGCTGCCACCGCCAACGGGGCCCGACCGGCGGCTCCGGGACTGCGCTTT
 CCGGCCCGACGCGCCGCCAACGGGCCCTTGACGCCGGCCGGCCCTCGCTTGGCGGCGGTGTCGACTTCTACGACGTC
 GCCTTCAAGGTCATGCTGGTGGGGACTCGGGTGTGGGGAAGACCTGTCTGCTGGTGGCATTCAAGGATGGTGTCTTCT
 GCGGGGACCTTCTCCACCGTAGGCATTGACTTCCGGAACAAAGTTCTGGACGTGGATGGTGTGAAGGTGAAGCTGC
 AGATGTGGGACACAGCTGGTCAAGGAGCGGTTCCGAGTGTACCCATGCCTACTACCGGGATGCTCATGCTCTGCTGCTG
 CTCTACGATGTCACCAACAAGGCTCCTTTGACAACATCCAGGCTGGCTGACCGAGATCCAGGATACGCCAGCACGA
 CGTGGCGCTCATGCTGCTGGGGAACAAGGTGGACTCTGCCATGAGCGTGTGGTGAAGAGGGAGGACGGGGAGAAGCTGG
 CCAAGGAGTATGGACTGCCCTTTCATGGAGACCAGCGCAAGACGGGCCTCAACGTGGACTTGGCCTTACAGCCATAGCA
 AAGGAGTTGAAGCAGCGCTCCATGAAGGCTCCAGCGAGCCGCGCTTCCGGCTGCATGATTACGTTAAGAGGGAGGGTGC
 AGGGGCTCCTGCTGCCGCCCTTGAACCTGGCTGAGCTCAGTCTCTGGAGGAAGCCGCCAGTCCCTAGAAGGCTGGAC
 AGAGGTCTCCAGGCCCTTCTGACTTTGTTGCCAGTGGCCAACGCCGAGTGTCTGTTTTTCAGGAGCCCCAGGTCAAGC
 CTTGTCCCTTCTCCTCCAGCAACAGTCCCAACAAGCAGGCTTCTGAGAGCCCGTGGCCGCACACTGGCCGCCACGGAA
 AAGCAGTCTTCTGCACGGGACGGGAGCGGCAAGTGGACAGACTTTGCCACGGTGTCTGCTGCCCCCTCCTGGGCAGT

40

50

CCAGGTGAGGGAGGGCTGGGGCTGGCACCACGCACAGTGCCTAACCTAGAAAAGCCATGTCTTCAGCCGCACATGCTCA
 GGCAGCTAAGGGAGGACGCCTGCCACGCCTGGGACAGAAGGCTTCACTGCTAATCACATCGTGCATCTGTGTGTCTGG
 GAGCTGCCTGCTCCCGGCCACCCTCTAGGAGGCTCTGGCTCAAACAGCAATAGGGTCTTCTCACTGACCTTGGAGGAT
 GCCTGTGGCCTTGTGATAAAATGTGGGAAATCACAGAAAACACCAGAAAACAACACTGCCAGCCCGCCTGGCCACAGGT
 GAGGTCTGTGATTTCCGAGCACGCTCCACCTTGCCTCAACTTGGCCTTTTATTGATGCACAAGCCTTTGTTTTAGTCCTA
 GTGAATAAAGTTGTGTTTTCTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Primers used:

Forward primer sequence: GTCTGCTGGTGGCATTCAAG

Reverse primer sequence: GCATGGGTAACACTGCGGA

Amplicon length: 163

10

Amplicon sequence:

GTCTGCTGGTGGCATTCAAGGATGGTGCCTTCTGGCGGGACCTTCATCTCCACCGTAGGCATTGACTTCCGGAACAAA
 GTTCTGGACGTGGATGGTGTGAAGGTGAAGCTGCAGATGTGGGACACAGCTGGTCAGGAGCGGTTCCGAGTGTACCCA
 TGC

3.DIRAS family, GTP-binding RAS-like 2 (DIRAS2)

Accession number: NM_017594

Sequence

ACACACCCTGCGCTGCCCTGTCCTGCGCGAGTGGAGCTCTGAAGAAGCTCTGAGCGGAGTTGTGTTCTTCCCAGGTGCG
 TCCTGGCTGAGAGTTGGAGCTCTCCAGCAACATGCCTGAGCAGAGTAACGATTACCGGTGGCGTGTGGGGCTGGCG 20
 GTGTTGGCAAGAGCTCCCTGGTGTGAGTTTTGTGAAAGGCACATTCCGGGAGAGCTACATCCCAGCGGTGGAAGACACC
 TACCGCAAGTGATCAGCTGTGACAAGAGCATATGCACATTGCAGATCACCGACACGACGGGGAGCCACCAGTCCCGGC
 CATGCAGCGGCTGTCCATCTCCAAAGGGCACGCCTTCATCCTGGTGTACTCCATTACCAGCCGACAGTCTTGGAGGAGC
 TCAAGCCATCTACGAACAAATCTGCGAGATCAAAGGGGACGTGGAGAGCATCCCATCATGCTGGTGGGGAACAAGTGT
 GATGAGAGCCCCAGCCGCGAGGTGCAGAGCAGCGAGGCGGAGGCCCTTGGCCCGCACATGGAAGTGTGCCTTCATGGAGAC
 CTCAGCCAAGCTCAACCATAACGTGAAGGAGCTTTTCCAGGAGCTGCTCAACCTGGAGAAGCGCAGGACCCTGAGTCTCC
 AGATCGACGGGAAAAGAGCAAGCAGCAGAAAAGGAAAGAGAAGCTCAAAGGCAAGTGCCTGATCATGTGAAGGCCCTTC
 CTGCGGGAGGAGCAGCTGTGTGTCCCGGCACCTCACTCCCCAAAATGACACCCACCGTCGTCAGGGTAGCATGTATAA 30
 TGCCACAGTGTAAACATTGCATTAATCGAGATGCGTCTATTGTCTTAAGAGGGCGTTTACACCACCAACAGTAAG
 CCACCCACTCTGGAGTCACAGAATCTGCCAGGCGTTCAAGTGAAAACCAACACACTCAGCATCCCTGGGAAGTGGAGG 30
 TGCCAGCAATTGCTGAAGGTGGCGATGAACACCCGAAGTGGGAGGGAGGACTGGTACCCACAAAGCAACATGTACCGAG
 AGGACTAAATGTCATCTACGTGCATGTGAGAGCGTGTAAACCTAGAGTTACCTGCACCAACCCAGACAGAAGCCAATCA
 CATCTTTGGGGGAGGGGAGGGGCAGGAAGAGGTGAGAAGATCAGATGGTCCAAAGTGGACCACACTTGGTCCATTTTACA
 CTTTTTTAAAGGGGATTAATAAACACAGCCTCTCCCCAAAGGTGTCCGTTCTTAATCCACCTGGCCTGTTAGGAGC
 CTTGCTACCCTGAGGGGATGTGTTACCTTACCTAGACCTAGTTAGGAAGTATCATTTTAAGCTATTAGAGTATTTATCT
 TCATGTGCAGGGATAAGTGCATAACAGTGTGCTGCTCTGTCGGAAGTTCTTCAAGTTTTAAGTGGAGATATCGTGACAG
 TATTAACATCGCAATAATGTTCTGTGTATACATCGAGGGTTTTAGAAATGTGATTTTCTTTTACCTGTGA
 GGAGTATAACTTCTTTCAGCCCTCAGATTTTAAATAACAAGCAAATAAACTCACTATTTTACAGCTTTTTTCTCCTCAAG
 GTGGTTTTCTTCTTAAATAACTCGATCTGTACCCAGCTGGGTAGCAGCCAGCAAAGGCCATCAGACAACCAGAAGCAC
 ATCCATTTTTGTAGTGTCAACAACATGTATATGCCACACTTTGCACCTTAATGAAATACTTTGAAACAGAAGTTATTCAC 40
 TGTGTTTTTGTATGATCTATCTGTATTGAAATATGTTCTGGAAAATGCATTTAAATAATAGTAAATCTCTTGCATGTT
 CCATTATACGTGCTTCTAAGAGCTGTTCAATACAGTATCACTCTAGAAAACAATTATCTTTTTCTTAAATGATTTTGT
 GTGCATCTTAAATCTTTCAAGCCAAATACAGCTATTTTCAAGTTTCTGTGTTAGCTTGGGGATAGGATGGTGGCTGGAG
 ACAGGCAGGCTTCTGCCCCTGGGAAGAGCCCACTCAGCTTAATTGCTCTGCCATCGTAGAGCCTGGTTGGACTTGGCTT
 CCTGAAAACCTCCACTGATAGTGCCTGTTAGATCTCCTGTTTGTTCAGTTGGCAGAACATTTACTGGCCCCAACTGTGG
 CATCATCCTCTCAGCAGTCTTCTGTACCCGCTGGCAGGCAGAAGGAGCTGCAGTCTACGTGGGCCTGCCTGGGGGG
 GTGGGGGCTGCATGGCTGTTGGGTGGCAGTGTGAGCACAGGGAGGGCTTAAGTTGGGGATGTTTTGACCAGGCCACCTCCT
 GCAACTGCTGTTTCTCCTGTCCCTCTATGCAGGGCTTGCAGCAGCAGCAGTGTGGCCATCTCCATCCCCAAAGCACAC
 TTGCTCTCTCAATATGCTCTAGTTTTCTTACAGCTTTTCTGGTTTCAAGTTCCCTTGTCTGATCTCATCCTCTCTGGTCTC
 CCAATAACTCACCTTGGGATGTGTTTAGAGCGTGGGAGGTGCCTTTGAGAACTGCTTGACTCCATGATCTCCTAGAACA 50

50

Reverse primer sequence: CCATGTCACATTTGTTCCCCAG

Amplicon length: 160

Amplicon sequence:

ATAACTACTGCCTACTACCGTGGAGCCATGGGCATTATCCTAGTATACGACATCACGGATGAGAAATCTTTCGAGAATAT
TCAGAACTGGATGAAAAGCATCAAGGAGAATGCCTCGGCTGGGGTGGAGCGCCTCTTGCTGGGAACAAATGTGACATGG

5. Insulin-like growth factor binding protein 7 (IGFBP7)

Accession number: NM_001553

Sequence:

GCCGCTGCCACCGCACCCCGCCATGGAGCGGCCGTGCTGCGCGCCCTGCTCCTCGGCGCCGCTGGGCTGCTGCTCCTGC 10
 TCCTGCCCTCTCCTCTTCTCCTCTTTCGGACACCTGCGGCCCTGCGAGCCGGCCTCCTGCCCGCCCTGCCCCCGCTG
 GGCTGCCTGCTGGGCGAGACCCGCGACGCGTGC GGCTGCTGCCCTATGTGCGCCCGCGGCGAGGGCGAGCCGTGCGGGG
 TGGCGGCGCCGGCAGGGGGTACTGCGCGCCGGGCATGGAGTGC GTGAAGAGCCGCAAGAGGCGGAAGGGTAAAGCCGGG
 CAGCAGCCGGCGGTCCGGGTGTAAGCGGCGTGTGCGTGTGCAAGAGCCGCTACCCGGTGTGCGGCAGCGACGGCACCACC
 TACCCGAGCGGCTGCCAGCTGCGCGCCGCCAGCCAGAGGGCCGAGAGCCGCGGGGAGAAGCCATCACCCAGGTCAGCAA
 GGGCACCTGCGAGCAAGTCTTCCATAGTGACGCCCCCAAGGACATCTGGAATGTCACTGGT GCCAGGTGTACTTGA
 GCTGTGAGGTCATCGGAATCCCGACACCTGTCTCATCTGGAACAAGGTAAAAAGGGTCACTATGGAGTTCAAAGGACA
 GAACTCCTGCCTGGTGACCGGGACAACCTGGCCATTCAGACCCGGGGTGGCCAGAAAAGCATGAAGTAACTGGCTGGGT
 GCTGGTATCTCCTCTAAGTAAGGAAGATGCTGGAGAATATGAGTGCCATGCATCCAATCCCAAGGACAGGCTTCAGCAT
 CAGCAAAAATTACAGTGGTTGATGCCTTACATGAAATACCAGTGA AAAAAGGTGAAGGTGCCGAGCTATAAACCTCCAGA 20
 ATATTATTAGTCTGCATGGTTAAAAGTAGTCATGGATAACTACATTACCTGTTCTTGCCTAATAAGTTTCTTTTAAATCCA
 ATCCACTAACACTTTAGTTATATTCACTGGTTTTACACAGAGAAAATACAAAATAAAGATCACACATCAAGACTATCTACA
 AAAATTTATTATATATTTACAGAAGAAAAGCATGCATATCATTAAACAAATAAAATACTTTTTATCACAAAAA
 AAAA

Primers used:

Forward primer sequence: GGTCTTCCATAGTGACGCC

Reverse primer sequence: TCTGAATGGCCAGGTTGTCC

Amplicon length: 184

Amplicon sequence:

GGTCTTCCATAGTGACGCCCCCAAGGACATCTGGAATGTCACTGGT GCCAGGTGTACTTGAGCTGTGAGGTCATCGG 30
 AATCCCGACACCTGTCTCATCTGGAACAAGGTAAAAAGGGTCACTATGGAGTTCAAAGGACAGA ACTCCTGCCTGGTG
 ACCGGGACAACCTGGCCATTCAGA

6. Collagen, type VI, alpha 1 (COL6A1)

Accession number: NM_001848

Sequence:

GCTCTACTCTGGCTGGGAGCAGAAGGCAGCCTCGGTCTCTGGGCGGCGGCGGCCACTCTGCCCTGGCCGCGCTGT
 GTGGTGACCGCAGGCCCCAGACATGAGGGCGGCCCGTGTCTGCTGCCCCTGCTGCTGCAGGCCTGCTGGACAGCCGCGC
 AGGATGAGCCGAGACCCCGAGGGCCGTGGCCTTCCAGGACTGCCCGTGGACCTGTTCTTTGTGCTGGACACCTCTGAG
 AGCGTGGCCTGAGGCTGAAGCCCTACGGGGCCCTCGTGGACAAAGTCAAGTCTTACCAAGCGCTTCATCGACAACT 40
 GAGGGACAGGTA CTACCGCTGTGACCGAAACCTGGTGTGGAACGCAGGCGCGCTGCACTACAGTGACGAGGTGGAGATCA
 TCCAAGGCTCACGCGCATGCCTGGCGGCCGCGACGCACTCAAAGCAGCGTGGACGCGGTCAAGTACTTTGGGAAGGGC
 ACCTACACCGACTGCGCTATCAAGAAGGGGCTGGAGCAGCTCCTCGTGGGGGGCTCCACCTGAAGGAGAATAAGTACCT
 GATTGTGGTGACCGACGGGCACCCCTGGAGGGCTACAAGGAACCTGTGGGGGGCTGGAGGATGCTGTGAACGAGGCCA
 AGCACCTGGGCGTCAAAGTCTTCTCGGTGGCCATCACACCCGACCACCTGGAGCCGCGTCTGAGCATCATGCCACGGAC
 CACACGTACCGGCGCAACTTCACGGCGGCTGACTGGGGCCAGACCGCGACGCAGAGGAGGCCATCAGCCAGACCATCGA
 CACCATCGTGGACATGATCAAAAATAACGTGGAGCAAGTGTGCTGCTCCTTGAATGCCAGCCTGCAAGAGGACCTCCGG
 GGCTCCGGGGCGACCCCGGCTTTGAGGGAGAACGAGGCAAGCCGGGGCTCCAGGAGAGAAGGGAGAAGCCGGAGATCCT
 GGAAGACCCGGGGACCTCGGACCTGTTGGGTACCAGGGAATGAAGGGAGAAAAGGGAGCCGTGGGGAGAAGGGCTCCAG
 GGGACCAAGGGCTACAAGGGAGAGAAGGGCAAGCGTGGCATCGACGGGGTGGACGGCGTGAAGGGGGAGATGGGGTACC 50

CAGGCCTGCCAGGCTGCAAGGGCTCGCCCGGTTTGACGGCATTCAAGGACCCCTGGCCCCAAGGGAGACCCCGGTGCC
 TTTGGACTGAAAGGAGAAAAGGGCGAGCCTGGAGCTGACGGGGAGCGGGGAGACCAGGGAGCTCGGGACCATCTGGAGA
 CGAGGGCCAGCCGGGAGAGCCTGGGCCCGGAGAGAAAGGAGAGGCGGGGACGAGGGGAACCCAGGACCTGACGGTG
 CCCCCGGGAGCGGGGTGGCCCTGGAGAGAGAGGACCACGGGGGACCCAGGCACGCGGGGACCAAGAGGAGACCCTGGT
 GAAGCTGGCCCGCAGGGTGATCAGGAAGAGAAGGCCCGTTGGTGTCCCTGGAGACCCGGGCGAGGCTGGCCCTATCGG
 ACCTAAAGGCTACCGAGGCGATGAGGGTCCCCAGGGTCCGAGGGTGCCAGAGGAGCCCCAGGACCTGCCGGACCCCTG
 GAGACCCGGGGCTGATGGGTGAAAGGGGAGAAGACGGCCCCGCTGAAATGGCACCGAGGGCTTCCCCGGCTTCCCCGGG
 TATCCGGGAACAGGGGCGTCCCCGGATAAACGGCACGAAGGGCTACCCCGGCCTCAAGGGGACGAGGGAGAAGCCGG
 GGACCCCGGAGACGATAACAACGACATTGCACCCGAGGAGTCAAAGGAGCAAAGGGGTACCGGGGTCCCGAGGGCCCC
 AGGGACCCAGGACACCAAGGACCGCTGGGCCGGACGAATGCGAGATTTTGGACATCATGAAAATGTGCTCTTGC 10
 TGTGAATGCAAGTGCGGCCCATCGACCTCCTGTTCTGCTGGACAGCTCAGAGAGCATTGGCCTGCAGAACTTCGAGAT
 TGCCAAGGACTTCGTCTCAAGTTCATCGACCGGCTGAGCCGGGACGAGCTGGTCAAGTTCGAGCCAGGGCAGTCGTACG
 CGGGTGTGGTGAGTACAGCCACAGCCAGATGCAGGAGCACGTGAGCCTGCGCAGCCCCAGCATCCGGAACGTGCAGGAG
 CTAAGGAAGCCATCAAGAGCCTGCAGTGGATGGCGGGCGCACCTTCACGGGGGAGGCCCTGCAGTACACGGGGACCA
 GCTGTGCCGCCAGCCGAACAACCGCATCGCCCTGGTCACTGACGGGCGCTCAGACTCAGAGGGACACCACAC
 CGCTCAACGTGCTCTGCAGCCCCGGCATCCAGGTGGTCTCCGTGGGCATCAAAGACGTGTTTGACTTCATCCAGGCTCA
 GACCAGCTCAATGTCAATTTCTTGCCAAGGCCTGGCACCATCCCAGGGCCGGCCCGCCTCTCGCTGGTCAAGGAGAACTA
 TGCAGAGCTGCTGGAGGATGCCTTCTGAAGAATGTCACCGCCAGATCTGCATAGACAAGAAGTGTCCAGATTACACCT
 GCCCATCACGTTCTCCTCCCCGGCTGACATCACCATCCTGCTGGACGGCTCCGCCAGCGTGGGCAGCCACAACCTTTGAC
 ACCACCAAGCGCTTCGCAAGCGCCTGGCCGAGCGCTTCTCACAGCGGGCAGGACGGACCCCGCCACGACGTGCGGGT 20
 GCGGTGGTGCAGTACAGCGGCACGGGCCAGCAGCGCCAGAGCGGGCGTGCCTGCAGTTCTGCAGAACTACACGGCCC
 TGCCAGTGCCGTCGATGCCATGGACTTTATCAACGACGCCACCGACGTCAACGATGCCCTGGGCTATGTGACCCGCTTC
 TACCGGAGGCCTCGTCCGGCGCTGCCAAGAAGAGGCTGCTGCTTCTCAGATGGCAACTCGCAGGGCGCCACGCCCCG
 TGCCATCGAGAAGGCCGTGCAGGAAGCCAGCGGGCAGGCATCGAGATCTTCTGTTGGTGGTGGTGGGCCGCCAGGTGAATG
 AGCCCCACATCCGCGTCTGGTACCAGGCAAGACGGCCGAGTACGACGTGGCCTACGGCGAGAGCCACCTGTTCCGTGTC
 CCCAGCTACCAGGCCCTGCTCCGCGGTGCTTCCACCAGACAGTCTCCAGGAAGGTGGCCTGGGCTAGCCACCCTGCA
 CGCCGGCACAAACCCTGTCTCCACCCCTCCCCACTCATCTAAACAGAGTAAAATGTGATGCGAATTTTCCCGACC
 AACCTGATTCGCTAGATTTTTTTTTAAGGAAAAGCTTGGAAAAGCCAGGACACAACGCTGCTGCCTGCTTTGTGCAGGGTCC
 TCCGGGGCTCAGCCCTGAGTTGGCATCACCTGCGCAGGGCCCTCTGGGGCTCAGCCCTGAGCTAGTGTACCTGCACAGG
 GCCCTCTGAGGCTCAGCCCTGAGCTGGCGTACCTGTGCAGGGCCCTCTGGGGCTCAGCCCTGAGCTGGCCTCACCTGGG 30
 TTCCCCACCCGGGCTCTCCTGCCCTGCCCTCCTGCCGCCCTCCCTCCTGCCTGCGCAGCTCCTTCCCTAGGCACCTCT
 GTGCTGCATCCCACAGCCTGAGCAAGACGCCCTCTCGGGCCTGTGCCGCACTAGCCTCCCTCCTCTGTCCCCATAG
 CTGGTTTTTCCACCAATCCTCACCTAACAGTTACTTTACAATTAAACTCAAAGCAAGCTCTTCTCCTCAGCTTGGGGCA
 GCCATTGGCCTCTGTCTCGTTTTTGGGAAACCAAGGTGAGGAGCCGTTGACAGATAAAATCTCGGCGACTCGGCCCGTC
 TCCTGAGGGTCTGCTGGTACCGGCCTGGACCTTGCCCTACAGCCCTGGAGGCCGCTGCTGACCAGCACTGACCCCGA
 CCTCAGAGAGTACTCGCAGGGGCGCTGGCTGCACTCAAGACCCTCGAGATTAACGGTGCTAACCCCGTCTGCTCCTCCCT
 CCCGCAGAGACTGGGGCCTGGACTGGACATGAGAGCCCCTTGGTGCCACAGAGGGCTGTGCTTACTAGAAACAACGCAA
 ACCTCTCCTTCTCAGAATAGTGTGTTGACGTTTTATCAAAGGCCCCCTTTCTATGTTTATGTTAGTTTTGCTCCT
 TCTGTGTTTTTTTTCTGAACCATATCCATGTTGCTGACTTTTCAAATAAAGTTTTTCACTCCTCTAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAA 40

Primers used:

Forward primer sequence: ACAGTGACGAGGTGGAGATCA

Reverse primer sequence: GATAGCGCAGTCGGTGTAGG

Amplicon length:122

Amplicon sequence:

ACAGTGACGAGGTGGAGATCATCCAAGGCCTCACGCGCATGCCTGGCGGCCGCGACGCACTCAAAGCAGCGTGGACGCG
 GTCAAGTACTTTGGGAAGGGCACCTACACCGACTGCGCTATC

Accession number: NM_001920

Sequence:

>gi|47419925|ref|NM_001920.3| Homo sapiens decorin (DCN) , transcript variant A1 , mRNA

GAATCTACAATAAGACAAATTTCAAATCAAGTTGCTCCACTATACTGCATAAGCAGTTTAGAATCTTAAGCAGATGCAAA
AAGAATAAAGCAAATGGGAGGAAAAAAGGCCGATAAAGTTTCTGGCTACAATACAAGAGACATATCATTACCATATGA
TCTAATGTGGGTGTCAGCCGGATTGTGTTTCATTGAGGGAAACCTTATTTTTAACTGTGCTATGGAGTAGAAGCAGGAGG
TTTTCAACCTAGTCACAGAGCAGCACCTACCCCTCCTCTTTCCACACCTGCAAACCTTTTTACTTGGGCTGAATATTT
AGTGTAAATTACATCTCAGCTTTGAGGGCTCCTGTGGCAAATTTCCCGATTAAAAGGTTCCCTGGTTGTGAAAATACATGA
GATAAATCATGAAGGCCACTATCATCCTCCTTCTGCTTGCACAAGTTTCTGGGCTGGACCGTTTCAACAGAGAGGCTTA
TTTGACTTTATGCTAGAAGATGAGGCTTCTGGGATAGGCCCAGAAGTTCTGATGACCGCGACTTCGAGCCCTCCCTAGG
CCCAGTGTGCCCTTCCGCTGTCAATGCCATCTTCGAGTGGTCCAGTGTCTGATTTGGGTCTGGACAAAGTGCCAAAGG
ATCTTCCCCTGACACAACCTCTGCTAGACCTGCAAAACAACAAAATAACCGAAATCAAAGATGGAGACTTTAAGAACCTG
AAGAACCTTCACGCATTGATTCTTGTCAACAATAAAATTAGCAAAGTTAGTCTGGAGCATTTACACCTTTGGTGAAGTT
GGAACGACTTTATCTGTCCAAGAATCAGCTGAAGGAATTGCCAGAAAAAATGCCAAAACTCTTCAGGAGCTGCGTGCCC
ATGAGAATGAGATCACCAAAGTGCGAAAAGTTACTTTCAATGGACTGAACCAGATGATTGTGATAGAAGTGGGCACCAAT
CCGCTGAAGAGCTCAGGAATTGAAAATGGGGCTTTCCAGGGAATGAAGAAGCTCTCCTACATCCGCATTGCTGATACCAA
TATCACCAGCATTCTCAAGGTCTTCTCCTTCCCTTACGGAATTACATCTTGATGGCAACAAAATCAGCAGAGTTGATG
CAGCTAGCCTGAAAGGACTGAATAATTTGGCTAAGTTGGGATTGAGTTTCAACAGCATCTCTGCTGTTGACAATGGCTCT
CTGGCCAACACGCCTCATCTGAGGGAGCTTCACTTGGACAACAACAAGCTTACCAGAGTACCTGGTGGGCTGGCAGAGCA
TAAGTACATCCAGTTGTCTACCTTCATAACAACAATATCTCTGTAGTTGGATCAAGTACTTCTGCCACCTGGACACA
ACACCAAAAAGGCTTCTTATTCGGGTGTGAGTCTTTTTCAGCAACCCGGTCCAGTACTGGGAGATACAGCCATCCACCTTC
AGATGTGTCTACGTGCGCTCTGCCATTCAACTCGGAACTATAAGTAATTCTCAAGAAAGCCCTCATTTTTATAACCTGG
CAAAATCTGTTAATGTCAATTGCTAAAAATAAATAAAAGCTAGATACTGGAAACCTAACTGCAATGTGGATGTTTTACC
CACATGACTTATTATGCATAAAGCCAAATTTCCAGTTTAAAGTAATTGCCTACAATAAAAAAGAAATTTTGCCTGCCATTTT
CAGAATCATCTTTTGAAGCTTTCTGTTGATGTTAACTGAGCTACTAGAGATATTCTTATTTCACTAAATGTAATAATTTGG
AGTAAATATATATGTCAATATTTAGTAAAGCTTTTCTTTTTTAAATTTCCAGGAAAAATAAAAAAGAGTATGAGTCTTCTG
TAATTCATTGAGCAGTTAGCTCATTGAGATAAAGTCAAATGCCAAACACTAGCTCTGTATTAATCCCATCATTACTGG
TAAAGCCTCATTTGAATGTGTGAATTCAATACAGGCTATGTAATAATTTTACTAATGTCATTATTTGAAAAATAAATT
TAAAAATACATTCAAAATTACTATTGTATACAAGCTTAATTGTTAATATTCCTAAACACAATTTTATGAAGGGAGAAGA
CATTGGTTTGTGACAATAACAGTACATCTTTTCAAGTTCTCAGCTATTTCTTCTACCTCTCCCTATCTTACATTTGAGT
ATGGTAACTTATGTATCTATGTTGAATGTAAGCTTATAAAGCACAAAGCATACATTTCTGACTGGTCTAGAGAAGTGA
TGTTTCAATTTACCCCTCTGCTAAATAAATATTAATAACTATCATGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAA

10

20

30

Primers used:

Forward primer sequence: AGTTGGAACGACTTTATCTGTCC

Reverse primer sequence: GTGCCAGTTCTATGACAATCA

Amplicon length:160

Amplicon sequence:

AGTTGGAACGACTTTATCTGTCCAAGAATCAGCTGAAGGAATTGCCAGAAAAAATGCCAAAACTCTTCAGGAGCTGCGT
GCCATGAGAATGAGATCACCAAAGTGCGAAAAGTTACTTTCAATGGACTGAACCAGATGATTGTGATAGAAGTGGGCAC

40

8. Plasminogen activator, tissue (PLAT)

Accession number: NM_000930

Sequence:

ATGGCCCTGTCCACTGAGCATCCTCCCGCCACACAGAAACCCGCCAGCCGGGGCCACCGACCCACCCCTGCCTGGAA
ACTTAAAGGAGGCCGGAGCTGTGGGAGCTCAGAGCTGAGATCCTACAGGAGTCCAGGGCTGGAGAGAAAACCTCTGCCA
GGAAAGGGAAGGAGCAAGCCGTGAATTTAAGGGACGCTGTGAAGCAATCATGGATGCAATGAAGAGAGGGCTCTGCTGTG
TGCTGCTGCTGTGTGGAGCAGTCTTCGTTTCCGCCAGCCAGGAAATCCATGCCCGATTGAGAAGAGGAGCCAGATCTTAC
CAAGTGATCTGCAGAGATGAAAAACGCAGATGATATACCAGCAACATCAGTCATGGCTGCGCCCTGTGCTCAGAAGCAA

50

CCGGGTGGAATATTGCTGGTGAACAGTGGCAGGGCACAGTGCCACTCAGTGCCTGTCAAAAAGTTGCAGCGAGCCAAGGT
 GTTTC AACGGGGGCACCTGCCAGCAGGCCCTGTACTTCTCAGATTTTCGTGTGCCAGTGCCCCGAAGGATTTGCTGGGAAG
 TGCTGTGAAATAGATAACCAGGGCCACGTGCTACGAGGACCAGGGCATCAGCTACAGGGGCACGTGGAGCACAGCGGAGAG
 TGGCGCCGAGTGCACCAACTGGAACAGCAGCGCTTGGCCAGAAGCCCTACAGCGGGCGGAGGCCAGACGCCATCAGGC
 TGGCCCTGGGGAACCACA ACTACTGCAGAAACCCAGATCGAGACTCAAAGCCCTGGTGTACGTCTTTAAGGCGGGGAAG
 TACAGCTCAGAGTTCTGCAGCACCCCTGCCTGCTCTGAGGGAAACAGTGACTGCTACTTTGGGAATGGGTACGCCTACCG
 TGGCACGCACAGCCTCACCGAGTCGGGTGCCTCCTGCCTCCCGTGAATTCCATGATCCTGATAGGCAAGTTTTACACAG
 CACAGAACCCCACTGCCAGGCACTGGGCCTGGGCAAACATAATTACTGCCGGAATCCTGATGGGGATGCCAAGCCCTGG
 TGCCACGTGCTGAAGAACCGCAGGCTGACGTGGGAGTACTGTGATGTGCCCTCCTGCTCCACCTGCGGCCTGAGACAGTA
 CAGCCAGCCTCAGTTTCGCATCAAAGGAGGGCTCTTCGCCGACATCGCCTCCCACCCCTGGCAGGCTGCCATCTTTGCCA
 AGCACAGGAGGTGCGCCGAGAGCGGTTCTGTGCGGGGCATACTCATCAGCTCCTGCTGGATTCTCTGCGGCCAC
 TGCTTCCAGGAGAGGTTTTCCGCCACCACCTGACGGTGTACTTTGGGCAGAACATACCGGGTGGTCCCTGGCGAGGAGGA
 GCAGAAATTTGAAGTCGAAAAATACATTGTCCATAAGGAATTCGATGATGACACTTACGACAATGACATTGCGCTGCTGC
 AGCTGAAATCGGATTCGTCCCGCTGTGCCAGGAGAGCAGCGTGGTCCGCACTGTGTGCCTTCCCCCGGGACCTGCAG
 CTGCCGACTGGACGGAGTGTGAGCTCTCCGGCTACGGCAAGCATGAGGCCTTGTCTCCTTTCTATTCCGAGCGGCTGAA
 GGAGGCTCATGTGACTGTACCCATCCAGCCGCTGCACATCACAACATTTACTTAACAGAACAGTCACCGACAACATGC
 TGTGTGCTGGAGACTCGGAGCGGGGGCCCCAGGCAAACCTGCACGACGCTGCCAGGGCGATTCCGGAGGCCCTG
 GTGTGCTGAACGATGGCCGATGACTTTGGTGGGCATCATCAGCTGGGGCCTGGGCTGTGGACAGAAGGATGTCCCGGG
 TGTGTACACCAAGTTACCAACTACCTAGACTGGATTCTGTACAACATGCGACCGTGACCAGGAACACCCGACTCCTCAA
 AAGCAAATGAGATCCCGCTCTTCTTCTCAGAAGACTGCAAAGGCGCAGTGTCTCTACAGACTTCTCCAGACCCA
 CCACACCGCAGAAGCGGGACGAGACCCTACAGGAGAGGGAAGAGTGCAATTTCCAGATACTTCCATTTTGGAAAGTTTT
 CAGGACTTGGTCTGATTTCCAGGATACTCTGTGAGATGGGAAGACATGAATGCACACTAGCCTCTCCAGGAATGCCCTCCT
 CCTGGGCAGAAAGTGGCCATGCCACCCTGTTTTAGCTAAAGCCCAACCTCCTGACCTGTCACCGTGAGCAGCTTTGGAA
 ACAGGACCACAAAAATGAAAGCATGTCTCAATAGTAAAAGATAACAAGATCTTTCAGGAAAGACGGATTGCATTAGAAAT
 AGACAGTATATTTATAGTCACAAGAGCCAGCAGGGCCTCAAAGTTGGGGCAGGCTGGCTGGCCGTCATGTTCTCAAA
 AGCACCTTGACGTCAAGTCTCCTTCCCCTTTCCCCTCCCTGGCTCTCAGAAGGTATTCCTTTTGTGTACAGTGTGTA
 AAGTGTAATCCTTTTCTTTATAAACTTTAGAGTAGCATGAGAGAATTGTATCATTGAACTAGGCTTCAGCATAT
 TTATAGCAATCCATGTTAGTTTTACTTTCTGTTGCCACAACCCTGTTTTATACTGTACTTAATAAATTCAGATATATTT
 TTCACAGTTTTTCCAAAATCAGAGTGAATGGTTTTGTTATAGATGCTGTATCCCCTCTTTATTTCATGTTCCACATTTTA
 AAATCATTGGAATCTGCTTCACTCGCTTAACATATACACAACACCTGTAACATACAAGGAATGGGCTAGGTGCTCCA
 GACCGGAAAAGGAGGGACAGGAATGCTTGGTCTGATGGGCTAATATGGCATTAGAGAAAGTACCAAGGTACAGTGGAGC
 CGGTCACAAAAGGGCAGACTTGTAGTAGAATTCAGTTGCAAGAGGGATTGGGGAATCTTAAGGAAAAAATAGAATCTTAA
 GGAAAAAATAACTGGGTGAGACGTGGACTGTGGACAGGTGTGGAAAAGGCACTCTCCATGGAGGTATGAATATGTAGAGG
 GCCAAGAGAGGGGAGTACAGGGAGAAATGAGTTGAGCTTGTCTGAAGTGAACCTCAGGAAGAGGAACATAGGCTGGAATT
 TAGATTATGGGGCTCTGAACACCAAACCTGAGTTGGACTTAATTGACTTCTG

Primers used:

Forward primer sequence: ACTGCCGGAATCCTGATGG

Reverse primer sequence: TGTGCTTGGCAAAGATGGC

Amplicon length:201

Amplicon sequence:

ACTGCCGGAATCCTGATGGGGATGCCAAGCCCTGGTGCCACGTGCTGAAGAACCGCAGGCTGACGTGGGAGTACTGTGAT
 GTGCCCTCCTGCTCCACCTGCGGCCTGAGACAGTACAGCCAGCCTCAGTTTCGCATCAAAGGAGGGCTCTTCGCCGACAT
 CGCCTCCCACCCCTGGCAGGCTGCCATCTTTGCCAAGCACA

9.Lectin, galactoside-binding, soluble, 3 (LGALS3)

Accession number: NM_002306.

Sequence:

GGAGAGGACTGGCTGGGCAGGGGCGCCGCCCTCGGGAGAGGCGGGCCGGGCGGGCTGGGAGTATTTGAGGCTCGG
 AGCCACCGCCCCGCGGGCGCCGACACCTCCTCGCCAGCAGCCGTCCGGAGCCAGCCAACGAGCGGAAAATGGCAGAC

AATTTTTGCTCCATGATGCGTTATCTGGGTCTGGAAACCCAAACCCTCAAGGATGGCCTGGCGCATGGGGGAACCAGCC
 TGCTGGGGCAGGGGGCTACCCAGGGGCTTCTATCCTGGGGCTACCCCGGGCAGGCACCCCGAGGGGCTTATCCTGGAC
 AGGCACCTCCAGGCGCCTACCCTGGAGCACCTGGAGCTTATCCCGGAGCACCTGCACCTGGAGTCTACCCAGGGCCACCC
 AGCGGCCCTGGGGCTACCCATCTTCTGGACAGCCAAGTGCCACCCGGAGCCTACCCTGCCACTGGCCCCCTATGGCGCCCC
 TGCTGGGCCACTGATTGTGCCTTATAACCTGCCTTTGCCTGGGGGAGTGGTGCCTCGCATGCTGATAACAATTCTGGGCA
 CGGTGAAGCCCAATGCAAACAGAATTGCTTTAGATTTCCAAAGAGGGAATGATGTTGCCTTCCACTTTAACCCACGCTTC
 AATGAGAACAACAGGAGAGTCATTGTTTTGCAATACAAAGCTGGATAATAACTGGGGAAGGGAAGAAAGACAGTCGGTTTT
 CCCATTTGAAAGTGGGAAACCATTCAAAATACAAGTACTGGTTGAACTGACCCTTCAAGGTTGCAGTGAATGATGCTC
 ACTTGTTCAGTACAATCATCGGGTTAAAAAATCAATGAAATCAGCAAACCTGGGAATTTCTGGTGACATAGACCTCACC
 AGTGCTTCATATACCATGATATAAATCTGAAAGGGCAGATTAAGGGAAGGGAATCTAAACCTTACATGTGTAAGG
 TTTCATGTTCACTGTGAGTAAAAATTTTACATTCATCAATATCCCTCTTGTAAGTCATCTACTTAATAAATATTACAGT
 GAATTACCTG

10

TCTCAATATGTCAAAAAAAAAAAAAAAAAA

Primers used:

Forward primer sequence: TGCTGATAACAATTCTGGGCAC

Reverse primer sequence: TGAAGCGTGGGTTAAAGTGA

Amplicon length:102

Amplicon sequence:

TGCTGATAACAATTCTGGGCACGGTGAAGCCCAATGCAAACAGAATTGCTTTAGATTTCCAAAGAGGGAATGATGTTGCC
 TTCCACTTTAACCCACGCTTCA

20

10.Fatty acid binding protein 7, brain (FABP7)

Accession number:. NM_001446.

Sequence:

GAGGATTGGGAGGAACTCGACCTACTCCGCTAACCCAGTGGCCTGAGCCAATCACAAAGAGGATTGGAGCCTCACTCGAG
 CGCTCCTTCCCTTCTCCTCTCTGTGACAGCCTCTTGAAAGAGGGACACTGGAGGGGTGTGTTTGAATTTAAATCAC
 TGGATTTTTGCCACCCTCTTTCCAAATAAGAAGGCAGGAGCTGCTTGCTGAGGTGTAAGGGTCTTCTGAGCTGCAGTG
 GCAATTAGACCAGAAGATCCCCGCTCCTGTCTCTAAAGAGGGGAAAGGGCAAGGATGGTGGAGGCTTTCTGTGCTACCTG
 GAAGCTGACCAACAGTCAGAACTTTGATGAGTACATGAAGGCTCTAGGCGTGGGCTTTGCCACTAGGCAGGTGGGAAATG
 TGACCAAACCAACGGTAATTATCAGTCAAGAAGGAGACAAAGTGGTCATCAGGACTCTCAGCACATTCAAGAACCGGAG
 ATTAGTTTCCAGCTGGGAGAAGAGTTTGTGAAACCACTGCAGATGATAGAACTGTAAGTCTGTTGTTAGCCTGGATGG
 AGACAAACTTGTTCACATACAGAAATGGGATGGCAAAGAAACAAATTTTGTAAAGAGAAATTAAGGATGGCAAATGGTTA
 TGACCCTTACTTTTGGTGTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTG
 GCTCTCAGTTTTTCTGTTTCTCAAGTCTCAGTGTATCCTATTACAACATGGCTGATCATTAAATTAGAAGTTATCCT
 TGGTGTGGAGGTGAAAATGGTGAATTTAAAAAATTGTTACTCCAAGCAACTTGCCCAATTTTAATCTGAAAATTTATCAT
 GTTTTATAATTTGAATTAAGTTTTGTCCCCCCCCCTTTTTTTTATAACAAGTGAATACATTTTATAATTTCTTTTG
 GAATGTAATCAAATTTGAATAAAAAATCTTACACGTGAAAAAAAAA

30

Primers used:

Forward primer sequence: CTCTCAGCACATTCAAGAACACG

40

Reverse primer sequence: GCGAACAGCAACCACATCAC

Amplicon length:221

Amplicon sequence

CTCTCAGCACATTCAAGAACACGGAGATTAGTTTTCCAGCTGGGAGAAGAGTTTGTGAAACCACTGCAGATGATAGAAAC
 TGTAAGTCTGTTGTTAGCCTGGATGGAGACAACTTGTTCACATACAGAAATGGGATGGCAAAGAAACAAATTTTGTAAAG
 AGAAATTAAGGATGGCAAATGGTTATGACCCTTACTTTTGGTGTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTGTTGCTG

11.Lysyl oxidase (LOX)

Accession number: NM_002317

Sequence:

50

ATTACGTGAACAAATAGCTGAGGGGCGGCCGGCCAGAACGGCTTGTGTAACCTTTGCAAACGTGCCAGAAAGTTTAAAT
CTCTCCTCCTTCTTCACTCCAGACACTGCCCGCTCTCCGGGACTGCCGCGCCGCTCCCCGTTGCCCTCCAGGACTGAGA
AAGGGGAAAGGGGAGGGTGCCACGTCCGAGCAGCCGCTTGACTGGGGAAGGGTCTGAATCCCACCTTGGCATTGCTTG
GTGGAGACTGAGATACCCGTGCTCCGCTCGCCTCCTTGGTTGAAGATTTCTCTTCCCTCACGTGATTTGAGCCCGTTT
TTATTTTCTGTGAGCCACGTCTCTCGAGCGGGTCAATCTGGCAAAGGAGTGATGCGCTTGCCTGGACCGTGCTCC
TGCTCGGGCCTTTGCAGCTCTGCGCCTAGTGCACTGCGCCCTCCGCGCCGGCCAACAGCAGCCCCGCGGAGCCG
CCGGCGGCTCCGGGCGCCTGGCGCCAGCAGATCCAATGGGAGAACAACGGGCAGGTGTTTCAGCTTGGTGGCCTGGGCTC
ACAGTACCAGCCTCAGCGCCCGGGACCCGGGCGCCGCTCCCTGGTGCAGCCAACGCCTCCGCCAGCAGCCCCGCA
CTCCGATCCTGCTGATCCGCGACAACCGCACCCGCGCGCGGAACGCGGACGGCCGGCTCATCTGGAGTCACCGCTGGC
CGCCCCAGGCCACCGCCCGTCACTGGTTCCAAGCTGGCTACTCGACATCTAGAGCCCGGAAGCTGGCGCTCGCGCGC
GGAGAACCAGACAGCGCCGGGAGAAGTTCTGCGCTCAGTAACCTGCGGCCGCCAGCCGCTGGACGGCATGGTGGGCG
ACGACCCTTACAACCCCTACAAGTACTCTGACGACAACCCTTATTACAACACTACGATACTTATGAAAGGCCAGACCT
GGGGGACAGTACCGGCCCGGATACGGCACTGGCTACTTCCAGTACGGTCTCCAGACCTGGTGGCCGACCCCTACTACAT
CCAGGCTCCACGTACGTGCAGAAGATGTCCATGTACAACCTGAGATGCGCGCGGAGGAAAACCTGTCTGGCCAGTACAG
CATAAGGGCAGATGTCAGAGATTATGATCACAGGGTGTGCTCAGATTTCCCAAAGAGTGAAAAACCAAGGGACATCA
GATTTCTTACCAGCCGACCAAGATATTCTGGGAATGGCACAGTTGTCATCAACATTACCACAGTATGGATGAGTTTAG
CCACTATGACCTGCTTGTGCCAACCCAGAGGAGAGTGGCTGAAGGCCACAAAGCAAGTTTCTGTCTTGAAGACACAT
CCTGTGACTATGGCTACCACAGGCGATTTGCATGTACTGCACACACAGGGATTGAGTCCCTGGCTGTTATGATACCTAT
GGTGCAGACATAGACTGCCAGTGGATTGATATTACAGATGTAAAACCTGGAACTATATCCTAAAGGTCAGTGTAAACCC
CAGCTACCTGGTTCTGAATCTGACTATAACCAACAATGTTGTGCGCTGTGACATTCGCTACACAGGACATCATGCGTATG
CCTCAGGCTGCACAATTTACCGTATTAGAAGGCAAAGCAAACCTCCAATGGATAAATCAGTGCCTGGTGTCTGAAGT
GGGAAAAATAGACTAACTTCCAGTAGGATTTATGTATTTGAAAAAGAGAACAGAAAAACAAGAAATTTTGTGGTGG
ACTGTTTTCAATAACAAAGCACATAACTGGATTTGAACGCTTAAGTCATCATTACTTGGGAAATTTTTAATGTTTATTA
TTTACATCACTTTGTGAATTAACACAGTGTTCATTCTGTAATTACATATTTGACTCTTTCAAAGAAATCCAAATTTCT
CATGTTCTTTTGAATTTGTAGTGCAAAATGGTCAGTATTATCTAAATGAATGAGCCAAAATGACTTTGAACTGAAACTT
TTCTAAAGTGTGGAACCTTAGTGAAACATAATAATAATGGGTTTATATATGTCATAGCATAGATGAATTTAGAAACAAT
GCTCCTACTGTTTAAATACATATGGACACATCTGGTGTGAGAAAGAAACAAACACATTACCATTGGTGTCAAGAAATAT
TACTATATAGCAGAGAAATGGCAATACATGTACTCAGATAGTTACATCCCTATATAAAAAGTATGTTTACATTTAAAAAA
TTAGTAGATAACTTCTTTCTTTCAAGTGCACAATTTCAATTTGACTTGAGTCAACTTTTGTGTTTGAACAAATTAAGTA
AGGGAGCTGCCAATCCTGTCTGATATTTCTTGAGGCTGCCCTCTATCATTTTATCTTTCCCATGGGCAGAGATGTTGTA
AGTGGGATTCTTAATATCACCATTCTTGGGACTGGTATACATAAGGCAGCCGTGAAACTGGAAGTCATTTTGTGACTG
ATGTGATACATCCAGAGGTAATGCATTTAAACATATTAAGTATTTGCCAAAGATACAATTTTCTTGCTGACATAAAA
ATCACACAAACAAGTCCCCCAAACCAACTGTCTCTCAATAGCTTAAAAAATGAAAAACATTTTAGGATTTTTC
AAGTTTTCTAGATTTTAAAGATGTTTCAGCTATTAGAGGAATGTTAAAAATTTTATATTATCTAGAACACAGGAACATC
ATCCTGGGTTATTAGGAATCAGTCACACATGTGTGTGTCTGAGATATAGTCTAAATTAGCAAAGCACATAGTATTAC
ATACTTGAGGGGTTGGTGAACAAAGGAAAAATATACTTTCTGCAAAACCAAGACTGTGCTGCGTAATGAGACAGCTGTG
ATTTCAATTTGAAACTGTGAAACCATGTGCCATAATAGAATTTTGAAGATTTTGCTTTTACCTAAATTCAAGAAAAATGAAA
TTACACTTTTAAGTTAGTGGTGTAAAGCATAATTTTCTATATTAACCAGTATTAATACTCAAGTAAGATTTTCCAG
TGCCAGAACATGTTAGGTGGAATTTTAAAGTGCCTCGGCATCCTGTATTACATGTCATAGAATTGTAAGTCAACATCA
ATTACTAGTAATCATTCTGCACTCACTGGGTGCATAGCATGGTTAGAGGGGCTAGAGATGGACAGTCATCAACTGGCGGA
TATAGCGGTACATATGATCCTTAGCCACCAGGGCACAAGCTTACCAGTAGACAATACAGACAGAGCTTTTGTGAGCTGT
AACTGAGCTATGGAATAGCTTCTTTGATGTACCTCTTTGCCTTAAATTGCTTTTTAGTTCTAAGATTGTAGAATGATCCT
TTCAAATGTAATCTTTTCTAACAGAGATATTTTAAATATACTTGTCTTTTAAAAACAAAAAACTACTGTGAGTATTA
ATACTGAGCCAGACTGGCATCTACAGATTTAGATCTATCATTTTATTGATTCTTAAGCTTGTATTAAAAACCTAGGCAAT
ATCATCATGGATACATAGGAGAAGACACATTTACAATCATTGCGCCTTTTATCTGTCTATCCATCCATCATCATTTT
GAAGGCTAATATATGCCAAGTACTCACATGGTATGCATTGAGACATAAAAAAGACTGTCTATAACCTCAATAAGTATTA
AAAATCCATTATTACCATAAGGTTTCATCTTATTTTCAATTTTAGGGAATAAAATTACATGTCTATGAAATTTCAATTTT
AAGCACTATTGTTTTTTCATGACCATAATTTATTTTAAAAATAAATTAAGGTTAATTATATGCATGTATGTATTTCTAA
TAATTAATAATGTGTTCAATCCCTGAAATGTCTGCCTTTTAAATATAACACCTACTATTTGGTTAAAAAATAAAAAA
AAAAA

10

20

30

40

50

Primers used:

Forward primer sequence: CAGGGTGCTGCTCAGATTTCC

Reverse primer sequence: GGTAATGTTGATGACAACCTGTGC

Amplicon length:110

Amplicon sequence:

CAGGGTGCTGCTCAGATTTCCCCAAAGAGTGAAAAACCAAGGGACATCAGATTTCTTACCCAGCCGACCAAGATATTCTCTGGAAATGGCACAGTTGTCATCAACATTACC

12.Laminin, beta 1 (LAMB1)

10

Accession number: NM_002291

Sequence:

GGGACCTGGAAGCGCCCCAGCCCCGAGCGATCGCAGATTCGGCTTTCAAACAAAAGAGGGCGCCCCGGGGGTGGGACCG
GGACCTACCCGGTCTCGCAGAGTTGCGGCCGCCGCCCTTCAGCCCCGGCTCTCCGTATGCGCATGAGCAGAGGCCG
CTCCCTCTGTTCTCCCAAGGCTAAACTTTCTAATTCCTTCTTTGGGCTCGGGGGCTCCCGGAGCAGGGCGAGAGCTCG
CGTCGCCGAAAGGAAGACGGGAAGAAAGGCGAGGCGGCTCGGCGGGCGTCTTCTCCACTCCTCTGCCCGTCCCGTGG
CTGCAGGGAGCCGGCATGGGGCTTCTCCAGTTGCTAGCTTTAGTTTCTTAGCCCTGTGCAGAGCCCGAGTGCAGCTCA
GGAACCCGAGTTCAGCTACGGCTGCGCAGAAGGCAGCTGCTATCCCGCCACGGGCGACCTTCTCATCGGCCGAGCACAGA
AGCTTTCCGGTGACCTCGACGTGCGGGCTGCACAAGCCCCAACCCCTACTGTATCGTCAGCCACTTGCAGGAGGACAAAAA
TGCTTCATATGCAATTCCTAAGATCCTTATCATGAGACCCTGAATCCTGACAGCCATCTCATTGAAAATGTGGTCACTAC
ATTTGCTCCAAACCGCTTAAGATTTGGTGCAATCTGAAAATGGTGTGAAAATGTAATATCCAACCTGGATTTGGAAG
CAGAATTCATTTTACTCATCTCATAATGACTTTCAAGACATTCGGTCCAGCTGCTATGCTGATAGAACGATCGTCCGAC
TTTGGGAAAACCTGGGGTGTGTATAGATACTTCGCCTATGACTGTGAGGCCTCGTTTTCCAGGCATTTCACTGGCCCCAT
GAAAAAAGTCGATGACATAATTTGTGATTCTCGATATTCTGACATTGAACCCTCAACTGAAGGAGAGGTGATATTTCTGTG
CTTTAGATCCTGCTTTCAAATAGAAGATCCTTATAGCCCAAGGATACAGAATTTATTAATAAATTACCAACTTGAGAATC
AAGTTTGTGAAACTGCATACTTTGGGAGATAACCTTCTGGATTCCAGGATGGAAATCAGAGAAAAGTATTATTATGCAGT
TTATGATATGGTGGTTCGAGGAAATGCTTCTGCTATGGTCATGCCAGCGAATGTGCCCTGTGGATGGATTCATGAAG
AAGTGAAGGAATGGTTCACGGACTGCATGTGCAGGCATAACACCAAGGGCTTAAACTGTGAACTCTGCATGGATTTTC
TACCATGATTTACCTTGAGACCTGCTGAAGGCCGAACAGCAACGCCTGTAAAAATGTAAGTGAATGAACATTCAT
CTCTTGCTCACTTTGACATGGCTGTTTACCTGGCCACGGGAACGTCAGCGGAGGCGTGTGTGATGACTGTCAGCACAA
CCATGGGGCGCAACTGTGAGCAGTCAAGCCGTTTTACTACCAGCACCCAGAGAGGGACATCCGAGATCCTAATTTCTGT
GAACGATGTACGTGTGACCCAGCTGGCTCTCAAATGAGGGAAATTTGTGACAGCTATACTGATTTTTCTACTGGTCTCAT
TGCTGGCCAGTGTGCGGTGTAATTAATGTGGAAGGAGAACATTGTGATGTTTGCAAAGAAGGCTTCTATGATTTAAGCA
GTGAAGATCCATTTGGTTGAAATCTTGTGCTTGCAATCCTCTGGGAACAATCCTGGAGGGAATCCTTGTGATTCGAG
ACAGGTCAGTCTACTGCAAGCGTCTGGTGACAGGACAGCATTGTGACCAGTGCCTGCCAGAGCACTGGGGCTTAAGCAA
TGATTTGGATGGATGTGACCATGTGACTGTGACCTTGGGGAGCCTTAAACAACAGTTGCTTTGCGGAGTCAGGCCAGT
GCTCATGCCGGCTCACATGATTTGACGTCAGTGAACGAAGTGAACCTGGTTACTACTTTGCCACCCTGGATCACTAC
CTCTATGAAGCGGAGGAAGCCAACCTTGGGGCTGGGGTTAGCATAGTGGAGCGGCAATATATCCAGGACCGGATTCCTC
CTGGACTGGAGCCGGCTTCGTCGAGTGCCTGAAGGGGCTTATTTGGAGTTTTTTCATTGACAACATAACCATATTCATGG
AGTACGACATCCTAATTCGCTACGAGCCACAGCTACCCGACCACTGGGAAAAGCTGTATCACAGTGCAGCGACCTGGA
AGGATTTCAACCAGCAGCCGATGTGGTAATACCATCCCCGATGATGACAACCAGGTGGTGTGATTATCACCAGGCTCAAG
ATATGTCGTCTTCTCGGCCGGTGTGCTTTGAGAAGGGAACAACTACACGGTGAGGTTGGAGCTGCCTCAGTACACCT
CCTCTGATAGCGACGTGGAGAGCCCTACACGCTGATCGATTCTTGTCTCATGCCATACTGTAAATCACTGGACATC
TTCACCGTGGGAGGTTGAGGAGATGGGGTGGTCAACACAGTGCCTGGGAAACCTTTCAGAGATAACCGATGTCTAGAGAA
CAGCAGAAGCGTTGTGAAAACACCGATGACAGATGTTTGCAGAAACATCATCTTTAGCATTTCTGCCCTGTTACACCAGA
CAGGCCTGGCTTGTGAATGCGACCCTCAGGGTTGTTAAGTTCCGTGTGTGATCCCAACGGAGGCCAGTGCAGTGCCTGG
CCCAACGTGGTTGGAAGAACCTGCAACAGATGTGCACCTGGAACCTTTTGGCTTTGGCCCCAGTGGATGCAACCTTGTGA
GTGCCATCTGCAAGGATCTGTCAATGCCTTCTGCAATCCCCTCACTGGCCAGTGCCTGTTCCAGGGAGTGTATGCTC
GGCAGTGTGATCGGTGCTTACCTGGGCACTGGGGCTTTCCAAGTTGCCAGCCCTGCCAGTGAATGGCCACGCCGATGAC
TGCGACCCAGTACTGGGGAGTGTGAACTGCCAGGACTACACCATGGGTGATAACTGTGAAAGGTGCTTGGCTGGTTA

20

30

40

50

CTATGGCGACCCCATCATTGGGTCAGGAGATCACTGCCGCCCTTGCCCTTGCCCAGATGGTCCCGACAGTGGACGCCAGT
 TTGCCAGGAGCTGCTACCAAGATCCTGTTACTTTACAGCTTGCCCTGTGTTTTGTGATCCTGGATACATTGGTTCCAGATGT
 GACGACTGTGCCTCAGGATACTTTGGCAATCCATCAGAAGTTGGGGGGTCGTGTCAGCCTTGCCAGTGTACAACAACAT
 TGACACGACAGACCCAGAAGCCTGTGACAAGGAGACTGGGAGGTGTCTCAAGTGCCTGTACCACACGGAAGGGGAACACT
 GTCAGTTCTGCCGGTTTTGGATACTATGGTGATGCCCTCCAGCAGGACTGTGCGAAAGTGTGTCTGTAATTACCTGGGCACC
 GTGCAAGAGCACTGTAACGGCTCTGACTGCCAGTGCACAAAGCCACTGGTCAGTGCCTTGTGTCTTCTAATGTGATCGG
 GCAGAACTGTGACCGCTGTGCGCCCAATACCTGGCAGCTGGCCAGTGGCACTGGCTGTGACCCATGCAACTGCAATGCTG
 CTCATTCCCTTCGGGCCATCTTGCAATGAGTTCACGGGGCAGTGCCAGTGCATGCCTGGGTTTTGGAGGCCGCACCTGCAGC
 GAGTGCCAGGAACTCTTCTGGGGAGACCCCGACGTGGAGTGCCGAGCCTGTGACTGTGACCCAGGGGCATTGAGACGCC
 ACAGTGTGACCAGTCCACGGGCCAGTGTGTCTGCGTTGAGGGTGTGAGGGTCCACGCTGTGACAAGTGCACGCGAGGGT 10
 ACTCGGGGGTCTTCCCTGACTGCACACCCTGCCACCAGTGCTTTGCTCTCTGGGATGTGATCATTGCCGAGCTGACCAAC
 AGGACACACAGATTCCTGGAGAAAGCCAAGGCCTTGAAGATCAGTGGTGTGATCGGGCCTTACCGTGAGACTGTGGACTC
 GGTGGAGAGGAAAGTCAGCGAGATAAAAAGACATCCTGGCGCAGAGCCCGCAGCAGAGCCACTGAAAAACATTGGGAATC
 TCTTTGAGGAAGCAGAGAAACTGATTAAGATGTTACAGAAATGATGGCTCAAGTAGAAGTGAATTTATCTGACACAAC
 TCCCAAAGCAACAGCACAGCCAAAGAACTGGATTCTCTACAGACAGAAGCCGAAAGCCTAGACAACACTGTGAAAGAACT
 TGCTGAACAACCTGGAATTTATCAAAAACCTCAGATATTCGGGGTGCCTTGATAGCATTACCAAGTATTTCCAGATGTCTC
 TTGAGGCAGAGGAGAGGGTGAATGCCTCCACCACAGAACCCAACAGCACTGTGGAGCAGTCAGCCCTCATGAGAGACAGA
 GTAGAAGACGTGATGATGGAGCGAGAATCCAGTTCAAGGAAAAACAAGAGGAGCAGGCTCGCCTCCTTGATGAACTGGC
 AGGCAAGCTACAAAGCCTAGACCTTTCAGCCGCTGCCGAAATGACCTGTGGAACACCCCGAGGGCCTCCTGTTCCGAGA
 CTGAATGTGGCGGGCCAACTGCAGAACTGACGAAGGAGAGAGGAAGTGTGGGGGGCCTGGCTGTGGTGGTCTGGTTACT 20
 GTTGACACAACGCCTGGCAGAAAGCCATGGACTTGACCAAGATGTCTGAGTGCCTGGCTGAAGTGAACAGCTCTC
 CAAGATGGTCTCTGAAGCAAACTGAGGGCAGATGAGGCAAAAACAAGTGTGAAGACATTCTGTTGAAGACAAATGCTA
 CCAAAGAAAAAATGGACAAGAGCAATGAGGAGCTGAGAAATCTAATCAAGCAAATCAGAAACTTTTTGACCCAGGATAGT
 GCTGATTTGGACAGCATTGAAGCAGTTGCTAATGAAGTATTGAAAATGGAGATGCCTAGCACCCACAGCAGTTACAGAA
 CTTGACAGAAGATATACGTGAACGAGTTGAAAGCCTTCTCAAGTAGAGTTATTCTTCAGCATAGTGCTGCTGACATTG
 CCAGAGCTGAGATGTTGTTAGAAGAGCTAAAAGAGCAAGCAAAAGTGAACAGATGTTAAAGTCACTGCAGATATGGTA
 AAGGAAGCTCTGGAAGAAGCAGAAAAGGCCAGGTGCGCAGCAGAGAAGGCAATTAACAAGCAGATGAAGACATTTCAAGG
 AACCCAGAACCTGTAACTTCGATTGAGTCTGAAACAGCAGCTTCTGAGGAAACCTTGTTCAACGCGTCCCAGCGCATCA
 GCGAGTTAGAGAGGAATGTGGAAGAACTTAAGCGGAAAGCTGCCCAAACTCCGGGGAGGCAGAATATATTGAAAAAGTA
 GTATATACTGTGAAGCAAAGTGCAGAAGATGTTAAGAAGACTTTAGATGGTGAACCTTGATGAAAAGTATAAAAAAGTAGA 30
 AAATTTAATTGCCAAAAAACTGAAGAGTCAGCTGATGCCAGAAGGAAAGCCGAAATGCTACAAAATGAAGCAAAAACCTC
 TTTTAGCTCAAGCAAATAGCAAGCTGCAACTGCTCAAAGATTTAGAAAAGAAAATATGAAGACAATCAAAGATACTTAGAA
 GATAAAGCTCAAGAATTAGCAAGACTGGAAGGAGAAGTCCGTTCACTCCTAAAGGATATAAGCCAGAAAGTTGCTGTGTA
 TAGCACATGCTTGTAACAGAGGAGAATAAAAAATGGCTGAGGTGAACAAGGTAAAACAACACTACATTTTAAAAACTGACTT
 AATGCTCTTCAAAAATAAACATCACCTATTTAATGTTTTAATCACATTTTGTATGGAGTTAAATAAAGTACAGTGCTTT
 TGTATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

10

20

30

Primers used:

Forward primer sequence: ACAAGCCCGAACCCCTACTGTA

Reverse primer sequence: GACCACATTTTCAATGAGATGGC

40

Amplicon length:125

Amplicon sequence:

ACAAGCCCGAACCCCTACTGTATCGTCAGCCACTTGCCAGGAGGACAAAAAATGCTTCATATGCAATTTCCAAGATCCTTAT
 CATGAGACCCTGAATCCTGACAGCCATCTCATTGAAAATG
 TGGTC

13. Insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP3)

Accession number: NM_000598.

Sequence:

AGATGCGAGCACTGCGGCTGGGCGCTGAGGATCAGCCGCTTCTGCCTGGATTCCACAGCTTCGCGCCGTGTACTGTCCG

50

CCCATCCCTGCGCGCCAGCCTGCCAAGCAGCGTGCCCCGGTTGCAGGCGTCATGCAGCGGGCGCGACCCACGCTCTGGG
 CCGCTGCGCTGACTCTGCTGGTGTCTCCGCGGGCCGCGCGTGGCGCGGGCTGGCGGAGCTCGGCGGGCTTGGGTCCC
 GTGGTGCCTGCGAGCCGTGCGACGCGCGTGCCTGGCCAGTGCAGCGCCTCCGCCGCCGTGTGCGCGGAGCTGGTGGC
 CGAGCCGGGCTGCGGCTGCTGCGCTGACGTGCGCACTGAGCGAGGGCCAGCCGTGCGGCATCTACACCGAGCGCTGTGGCT
 CCGGCCCTTCGCTGCCAGCCGTGCGCCGACGAGGCGCGACCGCTGCAGGCGCTGCTGGACGGCCGCGGGCTCTGCGTCAAC
 GCTAGTGCCGTGAGCCGCTGCGCGCCTACCTGCTGCCAGCGCCGAGCTCCAGGAAATGCTAGTGAGTCGGAGGAAGA
 CCGCAGCGCCGCGAGTGTGGAGAGCCCGTCCGTCTCCAGCACGCACCGGGTGTCTGATCCCAAGTTCCACCCCTCCATT
 CAAAGATAATCATCATCAAGAAAGGGCATGCTAAAGACAGCCAGCGCTACAAAGTTGACTACGAGTCTCAGAGCACAGAT
 ACCCAGAACTTCTCCTCCGAGTCCAAGCGGGAGACAGAATATGGTCCCTGCCGTAGAGAAATGGAAGACACACTGAATCA
 CCTGAAGTTCTCAATGTGCTGAGTCCCAGGGGTGTACACATTCCTCAACTGTGACAAGAAGGGATTTTATAAGAAAAAGC 10
 AGTGTGCCCTTCCAAAGGCAGGAAGCGGGCTTCTGCTGGTGTGTGGATAAGTATGGGCAGCCTCTCCAGGCTACACC
 ACCAAGGGGAAGGAGGACGTGCACTGCTACAGCATGCAGAGCAAGTAGACGCTGCCGCAAGGTTAATGTGGAGCTCAAA
 TATGCCCTATTTTGCACAAAAGACTGCCAAGGACATGACCAGCAGCTGGCTACAGCCTCGATTTATATTTCTGTTTGTGG
 TGAAGTATTTTTTTTTAAACCAAAGTTTAGAAAGAGGTTTTGAAATGCCTATGGTTTTCTTTGAATGGTAACTTGAGCA
 TCTTTTCACTTTCCAGTAGTCAGCAAAGAGCAGTTTTGAATTTTCTGTGCTTCTATCAAAATATTCAGAGACTCGAGC
 ACAGCACCCAGACTTCATGCGCCCGTGAATGCTCACCACATGTTGGTGAAGCGGCCGACCACTGACTTTGTGACTTAG
 GCGGCTGTGTTGCCTATGTAGAGAACAGCTTACCCCCACTCCCCGTACAGTGCACAGGCTTTATCGAGAATAGGAA
 AACCTTTAAACCCCGTCCATCCGGACATCCCAACGCATGCTCCTGGAGCTCACAGCCTTCTGTGGTGTCAATTTCTGAAAC
 AAGGGCGTGGATCCCTCAACCAAGAAGAATGTTTATGTCTTCAAGTGACCTGTACTGCTTGGGGACTATTGGAGAAAATA 20
 AGGTGGAGTCTACTTGTTTAAAAAATATGTATCTAAGAATGTTCTAGGGCACTCTGGGAACCTATAAAGGCAGGTATTT
 CGGGCCCTCCTTTCAGGAATCTTCTGAAGACATGGCCAGTCAAGGCCAGGATGGCTTTTGTGCGGCCCGTGGG
 GTAGGAGGGACAGAGAGACAGGGAGATCAGCCTCCACATTCAGAGGCATCACAAGTAATGGCACAATTCTTCGGATGAC
 TGCAGAAAATAGTGTGTTGTAGTTCAACAACCTCAAGACGAAGCTTATTTCTGAGGATAAGCTCTTTAAAGGCAAAGCTTT
 ATTTTCACTCTCATCTTTTGTCTCCTTAGCACAATGTAAAAAGAATAGTAATATCAGAACAGGAAGGAGGAATGGCT
 TGCTGGGAGCCCATCCAGGACACTGGGAGCACATAGAGATTACCCATGTTTGTGAACTTAGAGTCAATTCATGCTT
 TTCTTTATAATTCACACATATATGCAGAGAAGATATGTTCTTGTAAACATTGTATACAACATAGCCCCAAATATAGTAAG
 ATCTATACTAGATAATCCTAGATGAAATGTTAGAGATGCTATATGATACAACCTGTGGCCATGACTGAGGAAAGGAGCTCA
 CGCCAGAGACTGGGCTGCTCTCCCGGAGGCCAAACCAAGAAGGTCTGGCAAAGTCAGGCTCAGGGAGACTCTGCCCTG
 CTGCAGACCTCGGTGTGGACACACGCTGCATAGAGCTCTCCTTAAAACAGAGGGGTCTCAAGACATTCTGCCTACCTAT 30
 TAGCTTTTCTTTATTTTTTAACTTTTTGGGGGAAAAGTATTTTTGAGAAGTTTGTCTTGAATGATTTATAAATAGT
 AAATAAAGTTTTTACCATTAATAAATAATCTTTCCCTTTGTTATTGACCATCTCTGGGCTTTGTATCACTAATTATTTTA
 TTTTATTATATAATAATTATTTTATTATAATAAATCCTGAAAGGGGAAAATAAAAAAAAA

Primers used:

Forward primer sequence: AGAGCACAGATACCCAGAACT

Reverse primer sequence: TGAGGAACTTCAGGTGATTCAGT

Amplicon length:105

Amplicon sequence:

AGAGCACAGATACCCAGAACTTCTCCTCCGAGTCCAAGCGGGAGACAGAATATGGTCCCTGCCGTAGAGAAATGGAAGAC
 ACACTGAATCACCTGAAGTTCCTCA

40

14.Growth arrest and DNA-damage- inducible, alpha (GADD45A)

Accession number: NM_001924

Sequence:

CAGTGGCTGGTAGGCAGTGGCTGGGAGGCAGCGGCCAATTAGTGTGCTGCGGCCCGTGGCGAGGCGAGGTCCGGGGAGC
 GAGCGAGCAAGCAAGGCGGGAGGGGTGGCCGAGCTGCGGCGGCTGGCACAGGAGGAGGACCCGGGCGGGCGAGGGGCG
 GCCGGAGAGCGCCAGGGCTGAGCTGCCGGAGCGGCGCCTGTGAGTGAGTGCAGAAAGCAGGCGCCCGCGCTAGCCGT
 GGCAGGAGCAGCCGACGCGCCTCTCCTGGGCGACCTGCAGTTTGAATATGACTTTGGAGGAATTCTCGGCTG
 GAGAGCAGAAGACCGAAAGGATGGATAAGGTGGGGGATGCCCTGGAGGAAGTGTCTAGCAAAGCCCTGAGTCAGCGCACG
 ATCACTGTGGGGTGTACGAAGCGCCAAGCTGCTCAACGTGACCCCGATAACGTGGTGTGTGCCTGCTGGCGGCGGA 50

CGAGGACGACGACAGAGATGTGGCTCTGCAGATCCACTTCACCCTGATCCAGGCGTTTTGCTGCGAGAACGACATCAACA
 TCCTGCGCGTCAGCAACCCGGCCGGCTGGCGGAGCTCCTGCTCTTGAGACCGACGCTGGCCCCGCGGCGAGCGAGGGC
 GCCGAGCAGCCCCGGACCTGCACTGCGTGCTGGTGACGAATCCACATTCATCTCAATGGAAGGATCCTGCCTTAAGTCA
 ACTTATTTGTTTTGCCGGAAAGTCGCTACATGGATCAATGGGTTCCAGTGATTAATCTCCCTGAACGGTGATGGCATC
 TGAATGAAAATAACTGAACCAAATGCACTGAAGTTTTGAAAACCTTTGTAGTTACTCAAGCAGTTACTCCCTACACT
 GATGCAAGGATTACAGAACTGATGCCAAGGGGCTGAGTGAGTTCAACTACATGTTCTGGGGGCCGGAGATAGATGACT
 TTGCAGATGAAAAGAGGTGAAAATGAAGAAGGAAGCTGTGTTGAAACAGAAAATAAGTCAAAGGAACAAAAATTACAA
 AGAACATGCAGGAAGGAAAATATGATTAATTTAGAATGGTTGAGTTACATTAATAAAACCAAATATGTTAAAGTTT
 AAGTGTGCAGCCATAGTTTGGGTATTTTTGGTTTATATGCCCTCAAGTAAAAGAAAAGCCGAAAGGGTTAATCATATTTG
 AAAACCATATTTTTATTGATTTTTGATGAGATATTAATTTCTCAAAGTTTTATTATAAATTTCTACTAAGTTATTTTATGAC
 ATGAAAAGTTATTTATGCTATAAATTTTTGAAACACAATACCTACAATAAACTGGTATGAATAATTGCATCATT

10

Primers used:

Forward primer sequence: GAGAGCAGAAGACCGAAAGGA

Reverse primer sequence: CACAACACCACGTTATCGGG

Amplicon length:145

Amplicon sequence:

GAGAGCAGAAGACCGAAAGGATGGATAAGGTGGGGGATGCCCTGGAGGAAGTGCTCAGCAAAGCCCTGAGTCAGCGCACG
 ATCACTGTCGGGGTGTACGAAGCGCCAAGCTGCTCAACGTCGACCCCGATAACGTGGTGTGTG

15.follistatin-like 1 (FSTL1)

20

Accession number: BX647421

Sequence:

ATTTCTCCGAGGCTGGCGATCGGCGGAGCTCCACCTCCGCTTACAGCTCGCTGCCGCCGCTCTGCCCCGCGCCCCAG
 GAGACCTGGACCAGACCACGATGTGAAACGCTGGCTCGCGCTCGCGCTCGCGCTGGTGGCGGTGCGCTGGTCCGCGCC
 GAGGAAGAGCTAAGGAGCAAATCCAAGATCTGTGCCAATGTGTTTTGTGGAGCCGGCCGGGAATGTGCAGTCACAGAGAA
 AGGGAAACCCACCTGTCTCTGCATTGAGCAATGCAAACCTCACAAGAGGCCTGTGTGTGGCAGTAATGGCAAGACCTACC
 TCAACCACTGTGAACTGCATCGAGATGCCTGCCTCACTGGATCCAAAATCCAGGTTGATTACGATGGACACTGCAAAAGAG
 AAGAAATCCGTAAGTCCATCTGCCAGCCAGTTGTTTGCTATCAGTCCAACCGTGATGAGCTCCGACGTGCGATCATCCA
 GTGGCTGGAAGCTGAGATCATTCCAGATGGCTGGTTCTCTAAAGGCAGCAACTACAGTGAAATCCTAGACAAGTATTTTA
 AGAATTTGATAATGGTATTCTCGCCTGGACTCCAGTGAATTCCTGAAGTTTGTGGAACAGAATGAACTGCCATCAAT
 ATTACAACGTATCCAGACCAGGAGAACACGAGTTGCTTAGGGGACTCTGTGTTGATGCTCTCATTGAACTGTCTGATGA
 AAATGCTGATTGGAACCTCAGTTCCAAGAGTTTCTCAAGTGCCTCAACCCATCTTTCAACCCCTCTGAGAAGAAGTGTG
 CCCTGGAGGATGAAACGTATGCAGATGGAGCTGAGACCGAGGTGGACTGTAACCGCTGTGTCTGTGCCTGTGGAAATTGG
 GTCTGTACAGCCATGACCTGTGACGGAAAGAATCAGAAGGGGGCCAGACCCAGACAGAGGAGGAGATGACCAGATATGT
 CCAGGAGCTCCAAAAGCATCAGGAAACAGCTGAAAAGACCAAGAGAGTGAGCACCAAAGAGATCTAATGAGGAGGCACAG
 ACCAGTGTCTGGATCCCAGCATCTTCTCCACTTCAGCGCTGAGTTCAGTATACACAAGTGTCTGCTACAGTCGCCAAATC
 ACCAGTATTTGCTTATATAGCAATGAGTTTTATTTGTTTTATTTGTTTTGCAATAAAGGATATGAAGGTGGCTGGCTAGG
 AAGGGAAGGGCCACAGCCTTCATTTCTAGGAGTGCTTTAAGAGAACTGTAAATGGTGTCTCTGGGGCTGGAGGCTAGTAA
 GGAAACTGCATCACGATTGAAAGAGGAACAGACCCAAATCTGAACCTCTTTTGTAGTTTACTGCATCTGTCAGCAGGCTGC
 AGGGAGTGCACACGATGCCAGAGAGAACTTAGCAGGGTGTCCCGGAGGAGAGGTTTGGGAAGCTCCACGGAGAGGAACG
 CTCTCTGCTTCCAGCCTCTTTCCATTGCCGTGACGATGACAGACCTCCAGCATCCACGCATCTTTGGTCCCAATAAAGT
 CCTCTAGATACATAGCCATACTGCTAGTTAACCAGTGTCCTCAGACTTGGATGGAGTTTCTGGGAGGGTACACCCAAA
 TGATGCAGATACTTGTATACTTTGAGCCCTTAGCGACCTAACCAAATTTTAAAAATACTTTTTACCAAAGGTGCTATTT
 CTCTGTAAAAACTTTTTTTGGCAGGTTGACTTTATTCTTCAATTATTATCATTATATTATTGTTTTTAAATATTTTAT
 TTTCTTGACTAGGTATTAAGCTTTTGTAAATTTTTTTCAGTAGTCCCACCACTTCATAGGTGGAAGGAGTTTGGGTTCT
 TCCTGGTGCAGGGGCTGAAATAACCCAGATGCCCCACCCTGCCACATACTAGATGCAGCCCATAGTTGGCCCCCTAGC
 TTCCAGCAGTCCACTATCTGCCAGAGGAGCAAGGGTGCCTTAGACCGAAGCCAGGGGAAGAAGCATCTTCATAAAAAACT
 TTCAAGATCCAAACATTAATTTGTTTTTATTTATTCTGAGAAGTTGAGGCAAATCAGTATTTCCAAAGGATGGCGACAAGG
 GCAGCCAAGCAGGGCTTAGGATATCCAGCCTACCAATATGCTCATTGACTAACTAGGAGGGTGAAGTTGGCCCTGTCTC
 TTCTTTTTTCTGGACCTCAGTTTCTCAGTGAGCTGGTAAGAATGCACTAACCTTTTGATTTGATAAGTTATAAATTTCTG

30

40

50

TGGTTCTGATCATTGGTCCAGAGGGGAGATAGGTTCCCTGTGATTTTTCTTCTTCTCTATAGAATAAATGAAATCTTGTT
 ACTAGAACAAGAAATGTCAGATGGCCAAAAACAAGATGACCAGATTTGATCTCAGCCTGATGACCCTACAGGTCGTGCTA
 TGATATGGAGTCCCTCATGGGTAAAGCAGGAAGAGAGTGGGAAAAGAGAACCACCCCACTCTGTCTTCATATTTGCAATTTCA
 TGTTTAACTCCGGCTGGAAATAGAAAGCATTCCCTTAGAGATGAGGATAAAAGAAAGTTTCAGATTCAACAGGGGGAAG
 AAAATGGAGATTTAATCCTAAAACGTGACTTGGGGAGGTCAGTCATTTACAGTTAGTCTGTGTCTTTGACTTCTGTG
 ATTATTAACCCCACTCACTACCCTGTTTCAGATGCATTTGGAATACCAAAGATTAATCCTTGACATAAGATCTCATTTG
 CAGAAAGCAGATTAAGACCATCAGAAGGAAATTATTTAGTTGTAATGCACAGGCAACTGTGAGAACTGTTGTGCCAA
 AATAGAATTCCTTCTAGTTTTCTTGTCTCATTGAAAGGAGAAAATTCCACTTTGTTTAGCATTTCAGCTTTTATG
 TATCCATCCCATCTAAAACTCTTCAAACCTCCACTTGTTGAGTCTGAAATGCAGCTCCCTGTCCAAGTGCCTTGGAGAAC
 TCACAGCAGCAGCCTTAATCAAAGGTTTTACCAGCCCTTGGACACTATGGGAGGAGGCAAGAGTACACCAATTTGTTA
 AAAGCAAGAAACCACAGTGTCTCTTCACTAGTCATTTAGAACATGGTTATCATCCAAGACTACTCTACCCTGCAACATTG
 AACTCCCAAGAGCAAATCCACATTCCCTTGTGAGTTCTGCAGCTTCTGTGTAATAGGGCAGCTGTGCTCTATGCCGTAGA
 ATCACATGATCTGAGGACCATTGGAAGCTGCTAAATAGCCTAGTCTGGGGAGTCTTCATAAAGTTTTGCATGGAGC
 AAACAAACAGGATTAACACTAGTTTTGGTTCCCTCAGCCCTCTAAAAGCATAGGGCTTAGCCTGCAGGCTTCCCTGGGCTT
 TCTCTGTGTGTAGTTTTGTAACACTATAGCATCTGTTAAGATCCAGTGTCCATGGAAACATTCCCACATGCCGTGAC
 TCTGGACTATATCAGTTTTTGGAAAGCAGGGTTCCCTCTGCCTGCTAACAAGCCACGTGGACCAGTCTGAATGTCTTTCC
 TTTACACCTATGTTTTTAAGTAGTCAAACCTTCAAGAAACAATCTAAACAAGTTTCTGTTGCATATGTGTTTGTGAACCTG
 TATTTGTATTTAGTAGGCTTCTATATTGCATTTAACTGTTTTTGTAACTCCTGATTCTTCTTTTCGGATACTATTGAT
 GAATAAAGAAATTAAGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

10

20

Primers used:

Forward primer sequence: CAACCACTGTGAACTGCATCG

Reverse primer sequence: CCTTTAGAGAACCAGCCATCTG

Amplicon length:204

Amplicon sequence:

CAACCACTGTGAACTGCATCGAGATGCCTGCCTCACTGGATCCAAAATCCAGGTTGATTACGATGGACACTGCAAAGAGA
 AGAAATCCGTAAGTCCATCTGCCAGCCAGTTGTTTGCTATCAGTCCAACCGTGATGAGCTCCGACGTGCGATCATCCAG
 TGGCTGGAAGCTGAGATCATTCCAGATGGCTGGTTCTCTAAAGG

16.Ras homolog gene family, member C (RHOC)

30

Accession number: AK094474

Sequence:

GGAGCCTGTAGCCTTTATTCATGCCCCCTGACCAAATGCAGTGAGAGACAAGGCCCTGCCGAAAACAACCTCCAGGGGC
 CTGGGACTCTGGGTCCCCTACTGCAGACACTTTCTGTGAGCCAGAAGTGTATAAAGTGCTGGTGTGTGACCATCCTTTG
 GGAAGGTCAAAGGGGGCAAGATCCCCAGGGGCCCTGAGGAAGGGCAGGGCATAGGCGTGGCTCCAGAGCGCTGGGAGG
 GAGGGCCCGTGCCACCACCTCGGGCTAGAAAACAATGCAGTCCCTGGGCAGGAGGGAACCTGAAAATGGGAGCCTTCAGCA
 TGGAGCCCTCAGGAGGCTGGGGTTGTAGGGGGATAATTTCTGTACCCCTGTGAAGGGAGGGGGCATGTAGGAAAGCCCTT
 GGGGATCTCAGAGAATGGGACAGCCCTCCGACGCTTGTCTTCTGCGGACCTGGAGGCCAGCCGAGTGGCCATCTCAAAC
 ACCTCCCGCACTCCCTCCTTGGTCTTGGCTGAGCACTCAAGGTAGCCAAAGGCACTGATCCGGTTCCGCATGTCCCGGCC
 TTCTCAGACCGAACGGCTCCTGCTTCATCTTGGCCAGCTCTCTCCTGGTGTGCTCGTCTTGCCTCAGGTCCTTCTTAT
 TCCCCACCAGGATGATGGGCACGTTGGGGCAGAAGTGTTCACCTCTGGGGTCCACTTCTCAGGAATGTTTTCCAGGCTG
 TCAGGGCTGTGATGGAGAAGCACATGAGGATGACATCAGTGTCCGGGTAGGAGAGAGGCCGAGTCGATCATAGTCTTC
 CTGCCCTGTGTGCCACAGAGCCAGCTCCACCTGCTTGGCTCCACCTCAATGTCCGCAATATAGTTCTCAAAGACAG
 TAGGGACGTAGACCTCCGAAACTGATCCTTGGCTGAAGACGATGAGGAGGCAGGTCTTCCACAGGCACCATCCCCAACG
 ATCACCAGCTTCTTTTCGGATTGCAGCCATGGTGGGGCTCCAGCCGGCTGAAGTTCCAGGCTGCAGGAAGAGAGGGCGGG
 CTCTGGAGCTGAGATGAAGTCAAGGCTGTTGGGAAGGGGGAGGGGGCTAGAGTCTGGGCTGGGAGGAGCCCCAAAAGAAG
 AGACAAATGAGGGCCAGTCCCAGCACCAACCAGGCAGGGAGCAGTTAAGAAAGCGACGGTAACCTGATCTCAGCCTCAA
 CCTAGCTTTTTCTCTCAGTCCCACATCCTGTCAAACCTGGGCTGACTGAACGCTCTACTCCCACACCCCACCACCCT
 CACTGCCCCTTTAGGAAGCGAATACTCCAGCCCCAGGCCTTCCCTTCAACATAGATCCTGAGTGGCCCTTCCCTTGC
 CTCCAGACACATTCACAAAACCTGTTGGTTTTGTGGACATGAGTCAGAGAATTTACAGGAGTTCAAAGTACACAGCCACAC

40

50

TCTTCCCACCACAAAACGGACTCTCTCTGATTCCCCAGAAGACAAGCAAGAAGGCATTACCCTGTCCGCAGATCGCCTC
 CAGAAATGGAAACCATCCTCCAAAAAGAGGGTTCTTGGGAATTCTATCCCGGTGACTGACGCTGGGATTTCTTCCAAC
 CCTCCACCCACTCCATTAGTTACCTTGCCTGTTTTGTAAAGATGGGCTGGGGTAGCCCCAACCTGGGGTGGGCAGTGT
 TGATGGAGGGCAATCACTACTGGGGTGAAAGCCAGTCACCTAGGCATGAGTATGCCACTGCTGTCCCCCAGCAGGGTAA
 TTCAGACGGCACAGAGTGGTGGGAGGCAGAGGACAGAAACCCGGGGTTGAGGCATGCGTTAAGGGACCTGGAGCTCCA
 GCCCAATTAGAAGACTTTCCCTCCAGGCTATGATTGGGCCAGAACAGCAGGCAGCCAGGCCAGGACACTAGGCCAAAGG
 CCAAGATGGCATGGACAACCTCCCTGTGAGAGGCAGCCCCAGAGGGACTGTCCCACTGACCCCTTAAGAGGGGCAACTGAG
 CCCCACACAGGGCCTGGAATGGAGCCTGGAACCTTCTGGGGCCTTCCCCAAGACAAGACAGTGTGGATACATCAGACCTCT
 CTCCAATCGCTCTCTTGAATCCCAGATGATCCAGAGCGGCCGGTTGACTTTGCCGGCCACCCTACACCTTCGGCTCCG
 CCGCCTCCAGCTGCGCGGCCGGTGCCGGAGGCTCAGACT

10

Primers used:

Forward primer sequence: CCTGCCTCCTCATCGTCTTC

Reverse primer sequence: AGCACATGAGGATGACATCAGTG

Amplicon length:195

Amplicon sequence:

CCTGCCTCCTCATCGTCTTCAGCAAGGATCAGTTTCCGGAGGTCTACGTCCCTACTGTCTTTGAGAACTATATTGCGGAC
 ATTGAGTGGACGGCAAGCAGGTGGAGCTGGCTCTGTGGGACACAGCAGGGCAGGAAGACTATGATCGACTGCGGCCCTCT
 CTCCTACCCGGACACTGATGTCATCCTCATGTGCT

20

17.AE binding protein 1 (AEBP1)

Accession number: NM_001129

Sequence:

CGGCTATCCGCGGGGAGTGCGCCACGCGGGGCGGAGCGCCTATTAGCCGCCAGGACCTCGGAGCGCCCCGACCACCCC
 TGAGCCCCTCTGGCTTCGGAGCCCCCAGCACCCCTTCCGGGTCCCCTCGCCACCCCTAATCCACTCTCCCTCCCTTTT
 CCGGATTCCCTCGCTCACCCATCCTCTCTCCCGCCCTTCTGGATTCCCTCACCCGTCTCGATCCCCTCTCCGCCCTT
 TCCCAGAGACCCAGAGCCCCTGACCCCCGCGCCTCCCGGAGCCCCCGCGCGTGCCGCGGCCATGGCGGCCGTGCGC
 GGGGCGCCCTGCTCAGCTGCCTCCTGGCGTTGCTGGCCCTGTGCCCTGGAGGGCGCCCGCAGACGGTGTGACCGACGA
 CGAGATCGAGGAGTTCTCGAGGGCTTCTGTGAGAGCTAGAACCAGAGCCCCGGGAGGACGACGTGGAGGCCCGCCGC
 CTCCCGAGCCACCCCGGGTCCGAAAAGCCAGGCGGGGGCAAGCCAGGAAGCGCCAGGACGCGCCGAGAAGTG
 CCTCCGAAAAGACCAAAGACAAAGGGAAGAAAGGCAAGAAAGACAAAGGCCCAAGGTGCCAAGGAGTCTTGGAGGG
 GTCCCCCAGGCCGCCAAGAAGGGGAAGGAGAAGCCACCCAAGGCCACCAAGAAGCCCAAGGAGAAGCCACCTAAGGCCA
 CCAAGAAGCCCAAGGAGAAGCCACCCAAGGCCACCAAGAAGCCCAAGAGAAGCCACCCAAGGCCACCAAGAAGCCCCG
 TCAGGGAAGAGGCCCCCAATTCTGGCTCCCTCAGAAACCCTGGAGTGGCCACTGCCCCACCCCCAGCCCTGGCCCCGA
 GGAGCTACCCAGGAGGGAGGGGCGCCCTCTCAAATAACTGGCAGAATCCAGGAGAGGAGACCCATGTGGAGGCACGGG
 AGCACCAGCCTGAGCCGGAGGAGAGACCGAGCAACCCACACTGGACTACAATGACCAGATCGAGAGGGAGGACTATGAG
 GACTTTGAGTACATTCGGCGCCAGAAGCAACCCAGGCCACCCCAAGCAGAAGGAGGAGGCCGAGCGGGTCTGGCCAGA
 GCCCCTGAGGAGAAGGCCCGCCCGCCAGCCCCGAGGAGGATTGAGCCTCCTGTGAAGCCTCTGCTGCCCCCGTGC
 CCCCTGACTATGGTGATGGTTACGTGATCCCCAACTACGATGACATGGACTATTACTTTGGGCTCCTCCGCCCCAGAAG
 CCCGATGCTGAGCGCCAGACGGACGAAGAGAAGGAGGAGCTGAAGAAACCCAAAAGGAGGACAGCAGCCCAAGGAGGA
 GACCGACAAGTGGGACGTGGAGAAGGGCAAGGACCACAAAGAGCCCCGAAAGGGCGAGGAGTTGGAGGAGGAGTGGACGC
 CTACGGAGAAAAGTCAAGTGTCCCCCATTGGGATGGAGTACACCGTATTGAGGACAACCAGATCCGAGCCTCCTCCATG
 CTGCGCCACGGCCTGGGGGCACAGCGCGCCGGCTCAACATGCAGACCGGTGCCACTGAGGACGACTACTATGATGGTGC
 GTGGTGTGCCGAGGACGATGCCAGGACCCAGTGGATAGAGGTGGACACCAGGAGGACTACCCGGTTCACAGGCATCA
 CCCAGGGCAGAGACTCCAGCATCCATGACGATTTTGTGACCACCTTCTTCTGTTGGGCTTCAGCAATGACAGCCAGACATGG
 GTGATGTACACCAACGGCTATGAGGAAATGACCTTTCATGGGAACGTGGACAAGGACACACCCGTGCTGAGTGAGCTCCC
 AGAGCCGGTGGTGGCTGTTTTATCCGCATCTACCCACTCACCTGGAATGGCAGCCTGTGCATGCGCCTGGAGGTGCTGG
 GGTGCTCTGTGGCCCTGTCTACAGTACTACGCACAGAATGAGGTGGTGGCCACCGATGACCTGGATTTCCGGCACCAC
 AGCTACAAGGACATGCGCCAGCTCATGAAGGTGGTGAACGAGGAGTGCCCCACCATCACCCGCACTTACAGCCTGGGCAA
 GAGCTCACGAGGCCTCAAGATCTATGCCATGGAGATCTCAGACAACCCTGGGGAGCATGAACTGGGGGAGCCCCGAGTTCC

30

40

50

GCTACACTGCTGGGATCCATGGCAACGAGGTGCTGGGCCGAGAGCTGTTGCTGCTGCTCATGCAGTACCTGTGCCGAGAG
TACCGCGATGGGAACCCACGTGTGCGCAGCCTGGTGCAGGACACACGCATCCACCTGGTGCCCTCACTGAACCCTGATGG
CTACGAGGTGGCAGCGCAGATGGGCTCAGAGTTTGGAACTGGGCGCTGGGACTGTGGACTGAGGAGGGCTTTGACATCT
TTGAAGATTTCCCGATCTCAACTCTGTGCTCTGGGGAGCTGAGGAGAGGAAATGGGTCCCTACCGGGTCCCAACAAT
AACTTGCCCATCCCTGAACGCTACCTTTGCGCAGATGCCACGGTATCCACGGAGGTCCGGGCCATCATTGCCCTGGATGGA
GAAGAACCCTTCGTGCTGGGAGCAAATCTGAACGGCGGCGAGCGGCTAGTATCCTACCCCTACGATATGGCCCCGACGC
CTACCCAGGAGCAGCTGCTGGCCGACCCATGGCAGCAGCCCGGGGGGAGGATGAGGACGAGGTCTCCGAGGCCAGGAG
ACTCCAGACCACGCCATCTTCCGGTGGCTTGCCATCTCCTTCGCTCCGCACACCTCACCTTGACCGAGCCCTACCGCGG
AGGCTGCCAAGCCAGGACTACACGGCGGCATGGGCATCGTCAACGGGGCCAAGTGAACCCCCGGACCGGGACTATCA
ATGACTTCAGTTACCTGCATACCAACTGCCTGGAGCTCTCCTTCTACCTGGGCTGTGACAAGTTCCCTCATGAGAGTGAG 10
CTGCCCCGCGAGTGGGAGAACAACAAGGAGGCGCTGCTCACCTTCATGGAGCAGGTGCACCGCGCATTAAAGGGGTGGT
GACGGACGAGCAAGGCATCCCCATTGCCAACGCCACCATCTCTGTGAGTGGCATTAAATCACGGCGTGAAGACAGCCAGTG
GTGGTGATTACTGGCGAATCTTGAACCCGGGTGAGTACCBCGTGACAGCCCACGCGGAGGGCTACACCCCGAGCGCCAAG
ACCTGCAATGTTGACTATGACATCGGGGCCACTCAGTGAACCTTCATCCTGGCTCGCTCCAACCTGGAAGCGCATCCGGGA
GATCATGGCCATGAACGGGAACCGGCCTATCCACACATAGACCCATCGCGCCCTATGACCCCCAACAGCGACGCCTGC
AGCAGCGACGCCTACAACACCGCCTGCGGCTTCGGGCACAGATGCGGCTGCGGGCGCCTCAACGCCACCACCACCCTAGGC
CCCCACACTGTGCCTCCCACGCTGCCCCCTGCCCTGCCACCACCCTGAGCACTACCATAGAGCCCTGGGGCCTCATACC
GCCAACCACCGCTGGCTGGGAGGAGTCCGAGACTGAGACCTACACAGAGGTGGTGACAGAGTTTGGGACCGAGGTGGAGC
CCGAGTTTGGGACCAAGGTGGAGCCGAGTTTGGAGCCAGTTGGAGCCTGAGTTTGGAGCCAGCTGGAACCCGAGTTT 20
GAGGAAGAGGAGGAGGAGGAGAAAGAGGAGGAGATAGCCACTGGCCAGGCATTCCCTTCACAACAGTAGAGACCTACAC
AGTGAACCTTTGGGACTTCTGAGATCAGCGTCTACCAAGACCCAGCCCAACTCAAGCTACAGCAGCAGCACTTCCCAA
GCCTGCTGACCACAGTCACATCACCCATCAGCACATGGAAGGCCCTGGTATGGACTGAAAGGAAGGGCTGGTCCCTGC
CCCTTTGAGGGGTGCAAACATGACTGGGACCTAAGAGCCAGAGGCTGTGTAGAGGCTCCTGCTCCACCTGCCAGTCTCG
TAAGAGATGGGGTTGCTGCAGTGTGGAGTAGGGGACAGGGAGGGAGCCAAGGTCACTCCAATAAAAACAAGCTCATGGC
AA

10
20

Primers used:

Forward primer sequence: AAAGGGCGAGGAGTTGGAG

Reverse primer sequence: GAGGCTCGGATCTGGTTGT Amplicon length:105

Amplicon sequence:

AAAGGGC GAGGAGTTGG AGGAGGAGTG GACGCCTACG GAGAAAGTCA AGTGTCCCC CATTGGGATG GAGTCA
CACC GTATTGAGGA CAACCGATC CGAGCCTC

30

18. Beta 2 microglobulin (B2M)

Accession number: NM_004048

Sequence:

AATATAAGTGGAGGCGTCGCGCTGGCGGGCATTCTGAAGCTGACAGCATTCCGGGCCGAGATGTCTCGCTCCGTGGCCTT
AGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCTATCCAGCGTACTCCAAAGATTGAGTTTACTCACGTCATC
CAGCAGAGAATGGAAAGTCAAATTTCTGAATTGCTATGTGTCTGGGTTTCATCCATCCGACATTGAAGTTGACTTACTG
AAGAATGGAGAGAGAATTGAAAAAGTGGAGCATTGACTTGTCTTTTCAGCAAGGACTGGTCTTTCTATCTCTTGTACTA 40
CACTGAATTCACCCCACTGAAAAAGATGAGTATGCCTGCCGTGTGAACCATGTGACTTTGTACAGCCCAAGATAGTTA
AGTGGGATCGAGACATGTAAGCAGCATCATGGAGTTTGAAGATGCCGCATTTGGATTGGATGAATTCAAATTTGCTT
GCTTGTCTTTTAAATATTGATATGCTTATACACTTACACTTTATGCACAAAATGTAGGGTTATAATAATGTTAACATGGAC
ATGATCTTCTTTATAATTCTACTTTGAGTGCTGTCTCCATGTTTGTATCTGAGCAGGTTGCTCCACAGGTAGCTCTA
GGAGGGCTGGCAACTTAGAGGTGGGAGCAGAGAATTCTTATCCAACATCAACATCTTGGTCAGATTTGAACTCTTCA
ATCTCTTGCACTCAAAGCTTGTTAAGATAGTTAAGCGTGCATAAGTTAACTTCCAATTTACATACTCTGCTTAGAATTTG
GGGAAAATTTAGAAATATAATTGACAGGATTATTGAAATTTGTTATAATGAATGAAACATTTTGTATATAAGATTCA
TATTTACTTCTTATACATTTGATAAAGTAAGGCATGGTTGTGGTTAATCTGGTTTATTTTTGTTCCACAAGTTAAATAAA
TCATAAACTTGATGTGTTATCTCTTA

40

50

Primers used:

Forward primer sequence: AGGCTATCCAGCGTACTCCAA

Reverse primer sequence: AATGCGGCATCTTCAAACC

Amplicon length: 337

Amplicon sequence:

AGGCTATCCAGCGTACTCCAAAGATTGAGTTTACTCACGTCCAGCAGAGAATGGAAAAGTCAAATTTCTGAATTGC
TATGTGTCTGGGTTTCATCCATCCGACATTGAAGTTGACTTACTGAAGAATGGAGAGAGAATTGAAAAAGTGGAGCATT
AGACTTGTCTTTCAGCAAGGACTGGTCTTTCTATCTCTTGTACTACACTGAATTCACCCCACTGAAAAAGATGAGTATG
CCTGCCGTGTGAACCATGTGACTTTGTACAGCCCAAGATAGTTAAGTGGGATCGAGACATGTAAGCAGCATCATGGAGG
TTTGAAGATGCCGCATT

10

19.Superoxide dismutase 2, mitochondrial (SOD2)

Accession number: NM_001024465.

Sequence:

GCGGTGCCCTTGCGGCGCAGCTGGGGTCGCGGCCCTGCTCCCCGCGCTTTCTTAAGGCCCGGGCGGCGCAGGAGCGGC
ACTCGTGGCTGTGGTGGCTTCGGCAGCGGCTTCAGCAGATCGGCGGCATCAGCGGTAGCACCAGCACTAGCAGCATGTTG
AGCCGGGAGTGTGCGGCACCAGCAGGAGCTGGCTCCGGTTTTGGGGTATCTGGGCTCCAGGCAGAAGCACAGCCTCCC
CGACCTGCCCTACGACTACGGCGCCCTGGAACCTCACATCAACGCGCAGATCATGCAGCTGCACCACAGCAAGCACCAGC
CGGCCTACGTGAACAACCTGAACGTCACCGAGGAGAAGTACCAGGAGGCGTTGGCCAAGGAGATGTTACAGCCCAGATA
GCTCTTCAGCCTGCACTGAAGTTCAATGGTGGTGCATATCAATCATAGCATTTTCTGGACAAACCTCAGCCCTAACGG
TGGTGGAGAACCCAAAGGGGAGTTGCTGGAAGCCATCAAACGTGACTTTGGTTCCCTTTGACAAGTTTAAGGAGAAGCTGA
CGGCTGCATCTGTTGGTGTCCAAGGCTCAGGTTGGGGTTGGCTTGGTTTCAATAAGGAACGGGGACACTTACAAATTGCT
GCTTGTCCAAATCAGGATCCACTGCAAGGAACAACAGGCCTTATTCCACTGCTGGGGATTGATGTGTGGGAGCAGCCTTA
CTACCTCAGTATAAAAATGTCAGGCCTGATTATCTAAAAGCTATTTGGAATGTAATCAACTGGGAGAATGTAACGAAA
GATACATGGCTTGCAAAAAGTAAACCAGATCGTTATGCTGATCATACCCTAATGATCCCAGCAAGATAATGTCCTGTCT
TCTAAGATGTGCATCAAGCCTGGTACATACTGAAAACCCTATAAGGTCCTGGATAATTTTTGTTTGATTATTCATTGAAG
AACATTTATTTTCCAATTGTGTGAAGTTTTTACTGTTAATAAAAAGAATCTGTCAACCATCAAAAAAAAAAAAAA

20

Primers used:

Forward primer sequence: AACCTCAGCCCTAACGGTG

Reverse primer sequence: AGCAGCAATTTGTAAGTGTC

Amplicon length: 180

Amplicon sequence:

AACCTCAGCCCTAACGGTGGTGGAGAACCCAAAGGGGAGTTGCTGGAAGCCATCAAACGTGACTTTGGTTCCCTTTGACAA
GTTTAAGGAGAAGCTGACGGCTGCATCTGTTGGTGTCCAAGGCTCAGGTTGGGGTTGGCTTGGTTTCAATAAGGAACGGG
GACACTTACAAATTGCTGCT

30

20.Nicotinamide phosphoribosyltransferase (PBEF1)

Accession number: NM_005746

Sequence:

GCTGCCGCGCCCGCCCTTTCTCGGCCCGGAGGGTGACGGGTGAAGGCGGGGAACCGAGGTGGGGAGTCCGCCAGA
GCTCCCAGACTGCGAGCACGCGAGCCGCGCAGCCGTCACCCGCGCCGCGTCACGGCTCCCGGGCCCGCCCTCCTCTGAC
CCCTCCCCTCTCTCCGTTTCCCCCTCTCCCCCTCCTCCGCCAGCCGAGCAGTGACTTAAGCAACGGAGCGCGGTGAAGCT
CATTTTTCTCCTTCTCGCAGCCGCGCCAGGGAGCTCGCGGCGCGGCCCTGTCTCCGGCCGAGATGAATCCTGCG
GCAGAAGCCGAGTTCAACATCCTCCTGGCCACCGACTCCTACAAGTTACTCACTATAAAACAATATCCACCCAACACAAG
CAAAGTTTATTCTACTTTGAATGCCGTGAAAAGAAGACAGAAAACCTCAAATTAAGGAAGGTGAAATATGAGGAAACAG
TATTTTATGGGTTGCAGTACATTTTAATAAGTACTTAAAAGGTAAAGTAGTAACCAAAGAGAAAATCCAGGAAGCCAAA
GATGTCTACAAAGAACATTTCCAAGATGATGTCTTTAATGAAAAGGGATGGAACACTATTCTTGAGAAGTATGATGGGCA
TCTTCCAATAGAAATAAAGCTGTTCTGAGGGCTTTGTCAATCCAGAGGAAATGTTCTTTCACGGTGGAAAACACAG
ATCCAGAGTGTTACTGGCTTACAAATTGGATTGAGACTATTCTTGTTCAGTCTGGTATCCAATCACAGTGGCCACAAAT
TCTAGAGAGCAGAAGAAAATATTGGCCAAATATTTGTTAGAAAACCTTCTGGTAACTTAGATGGTCTGGAATACAAGTTACA

40

50

TGATTTTGGCTACAGAGGAGTCTCTTCCCAAGAGACTGCTGGCATAGGAGCATCTGCTCACTTGGTTAACTTCAAAGGAA
CAGATACAGTAGCAGGACTTGCTCTAATTAATAAATATTATGGAACGAAAGATCCTGTTCCAGGCTATTCTGTTCCAGCA
GCAGAACACAGTACCATAACAGCTTGGGGGAAAGACCATGAAAAAGATGCTTTTGAACATATTGTAACACAGTTTTTCATC
AGTGCCTGTATCTGTGGTCAGCGATAGCTATGACATTTATAATGCGTGTGAGAAAATATGGGGTGAAGATCTAAGACATT
TAATAGTATCAAGAAGTACACAGGCCACTAATAATCAGACCTGATTCTGGAAACCCCTTTGACACTGTGTTAAAGGTT
TTGGAGATTTTAGGTAAGAAGTTTCTGTTACTGAGAACTCAAAGGGTTACAAGTTGCTGCCACCTTATCTTAGAGTTAT
TCAAGGGGATGGAGTAGATATTAATACCTTACAAGAGATTGTAGAAGGCATGAAACAAAAATGTGGAGTATTGAAAATA
TTGCCTTCGGTTCTGGTGGAGTTTGCTACAGAAGTTGACAAGAGATCTCTTGAATTGTTCTTCAAGTGTAGCTATGTT
GTAECTAATGGCCTTGGGATTAACGTCTTCAAGGACCCAGTTGCTGATCCCAACAAAAGGTCCAAAAAGGGCCGATTATC
TTTACATAGGACGCCAGCAGGGAATTTGTTACACTGGAGGAAGGAAAAGGAGACCTTGAGGAATATGGTCAGGATCTTC
TCCATACTGTCTTCAAGAATGGCAAGGTGACAAAAGCTATTCAATTTGATGAAATAAGAAAAATGCACAGCTGAATATT
GAACTGGAAGCAGCACATCATTAGGCTTTATGACTGGGTGTGTGTTGTGTGTATGTAATACATAATGTTTATTGTACAGA
TGTGTGGGGTTTGTGTTTTATGATACATTACAGCCAAATTTATTTGTTGGTTTATGGACATACTGCCCTTTCATTTTTTTT
CTTTTCCAGTGTTTAGGTGATCTCAAATTAGGAAATGCATTTAACCATGTAAAAGATGAGTGCTAAAGTAAGCTTTTTAG
GGCCTTTGCCAATAGGTAGTCATTCAATCTGGTATTGATCTTTTACAAAATAACAGAACTGAGAACTTTTATATATAA
CTGATGATCACATAAAACAGATTTGCATAAAATTACCATGATTGCTTTATGTTTATATTTAACTTGTATTTTTGTACAAA
CAAGATTGTGTAAGATATATTTGAAGTTTCAAGTATTTAACAGTCTTCCAACCTTTCATGATTTTTATGAGCACAGACT
TTCAAGAAAATACTTGAATAAAATTACATTGCCTTTTGTCCATTAATCAGCAAATAAACATGGCCTTAACAAAGTTGT
TTGTGTTATTGTACAATTTGAAAATTTATGTCGGGACATACCCTATAGAATTACTAACCTTACTGCCCTTGTAGAATATG
TATTAATCATTCTACATTAAGAAAATAATGGTCTTACTGGAATGTCTAGGCACTGTACAGTTATTATATATCTTGGTT
GTTGTATTGTACCAGTGAATGCCAAATTTGAAAGGCCTGTACTGCAATTTTATATGTCAGAGATTGCCTGTGGCTCTAA
TATGCACCTCAAGATTTTAAAGGAGATAATGTTTTTAGAGAGAAATTTCTGCTTCCACTATAGAATATATACATAAAATGTAA
AATACTTACAAAAGTGAAGTAGTGTATTTAAAGTAATTACACTTCTGAATTTATTTTTCATATTCTATAGTTGGTATG
ACTTAAATGAATTACTGGAGTGGGTAGTGAAGTACTTAAATGTTTCAATTTCTGTTATATTTTTTATTAAGTTTTTAAAA
AATTAATTTGGATATTAATTTGTATGGACATCATTTATTAATTTTAAACTGAATGCCCTCAATAAGTAATACTGAAGCAC
ATTCTTAAATGAAGATAAATTATCTCCAATGAAAAGCATGACATGTGTTTCAATAGAAGAATCTTAAGTTGGCTAAATTC
AAAGTGCCTTACATCAAAATGTTCTAGAGTGAATGCTACTAGATTCTGAATCATAACATCACATCTGACTAGAGACCAGT
TTCTTTGCAATGATTCTTTTATGTATGTAGATCTGTTCTTCTGAGGCAGCGTTGGCCAACTATAGCCCAAAGGCCAAAT
TTGGACTTCTTTTTATAATGCAGATTGTCTATGGCTGCTTCCCACTACTCCAGCCTAAGGTAAACAGCTGCAATAGAA
GCCAAATGAGAATCGCAAAGCCCAAATGTTTATTAACCTGCCCTTTACACAAAATTACACAAAAAGTTTCTGTATCTCT
GTTCTAAGAAAAGGAGTGTGCCTTGCAATTTAAAAGGAAATGTTGGTTTCTAGGGAAGGAGGAGGCTAAATAATTGATAC
GGAATTTTCTCTTTTGTCTTCTTTTTCTCACTTAAAGAATCCGATACTGGAAGACTGATTTAGAAAAGTTTTAACATG
ACATTAATGTGAAATTTTAAAAATTTGAAAAGCCATAAATCATCTGTTTTAAATAGTTACATGAGAAAATGATCACTAGA
ATAACCTAATTAGAAGTGTATCTTCAATTAATGTTTTTGAAGTGGTATTAGAAAAGAAATGTTTTTTCAGATGGTTCT
TTAAACATGTAGTGAGAACAATAAGCATTATTCACCTTTAGTAAGTCTTCTGTAATCCATGATATAAAATAATTTTTAAAA
TGATTTTTTAAATGATTTTGAAGTAAAGATGAGTAGTATTAAGAAAAACACACATTTCTTACAAAATGTGCTAAGGGCGT
GTAAAGAATCAAAAGAACTATTACCAATAATAGTTTGTATAATCACCCATAATTTTGTGTTTAAACATTGAAATTTATAG
TACAGACAGTATTCTCTGTGTTCTGTGAATTTGAGCAGCTTCAGAATAGAGTTTAAATTTGAAAATTTGCAGTAAAAAAG
CTATCTCTTTGTTTACAACCATAAATCAGGAGATGGAGATTAATTCTATTGGCTCTTAGTCACTTGGAACTGATTAATTC
TGACTTTCTGTCACTAAGCACTTGGTATTTGGCCATCTCCATTCTGAGCACCAACGTTAACACGAATGTCCACTAGAA
CTCTGCTGTGTGCACCCCTTAAATCAGTCTAAATCTCCAGACAAAAGCAAATGGCATTATGGATTTAAGTCATTAGAT
TTTCAACTGACATTAATTAATCCCTCTTGATTGATTATATCATCAAGTATTTATATCTTAAATAGGAGGTAGGATTTCTG
TGTTAAGACTCTTATTTGTACCCTATAATTAAGTAAAATGTTTTTATGAGTATCCCTGTTTTCCCTTCTTAAATTTGT
TATCAACAATTTTTATAATGAAATCTATCTTGGAAAATTAGAAAAGAAAATGGCAAGGTATTTATTGTTCTGTTTGCCA
TAATTTAGAACTCACACTTAAGTATTTGTAGTTTTACATTCCTTTTTAACCATTCAAGTGGAGAATGTCAGCTTTTCTC
CCAAGTTGTATGTTAAGTCTATTCTAATATGACTCAACATCAAGTTATAAACATGTAATAAACATGGAATAAAGTTTA
GCTCTATTAGTGAAGTGTAAAAA

10

20

30

40

Primers used:

Forward primer sequence: ATTCCTTCGGTTCTGGTGG

Reverse primer sequence: CGGCCCTTTTGGACCTTTTG Amplicon length: 155

50

Amplicon sequence:

ATTGCCTTCGGTTCTGGTGGAGGTTTGTACAGAAGTTGACAAGAGATCTCTTGAATTGTTCTTCAAGTGTAGCTATGT
TGTAACATAATGGCCTTGGGATTAACGTCTTCAAGGACCCAGTTGCTGATCCCAACAAAAGGTCCAAAAGGGCCG

【 0 0 2 0 】

前記記載の配列は本発明において使用される SEQ ID No. 1 ~ 80 に表記されると共に、 Patent In の最新バージョン 3.5 に表記されている。この配列表は、CD-ROM などの電子フォーマットと共にハードコピーでも提供されている。本明細書に提供される相補的 DNA 配列 (cDNA) は各遺伝子配列に対し相補的であり、cDNA 配列は SEQ ID Nos 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77 及び 79 によって表される。尚、cDNA のチミン (T) 塩基が mRNA のウラシル (U) 塩基に置き換えられることを除いて、cDNA 配列は mRNA 配列に相当する。更に、星状細胞腫の検出に有用な遺伝子のプローブ配列、そのグレードと膠芽細胞腫の予後は SEQ ID No. 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78 及び 80 によって表される。

10

【 0 0 2 1 】

本発明において使用される遺伝子配列を参考までに以下に記載する。

1. SEQ ID No. 1 は遺伝子 SYT 1 の順方向プライマーを示す。
2. SEQ ID No. 2 は遺伝子 SYT 1 の逆方向プライマーを示す。
3. SEQ ID No. 3 は遺伝子 RAB 26 の順方向プライマーを示す。
4. SEQ ID No. 4 は遺伝子 RAB 26 の逆方向プライマーを示す。
5. SEQ ID No. 5 は遺伝子 DIRAS 2 の順方向プライマーを示す。
6. SEQ ID No. 6 は遺伝子 DIRAS 2 の逆方向プライマーを示す。
7. SEQ ID No. 7 は遺伝子 RAB 13 の順方向プライマーを示す。
8. SEQ ID No. 8 は遺伝子 RAB 13 の逆方向プライマーを示す。
9. SEQ ID No. 9 は遺伝子 IGFBP 7 の順方向プライマーを示す。
10. SEQ ID No 10 は遺伝子 IGFBP 7 の逆方向プライマーを示す。
11. SEQ ID No. 11 は遺伝子 COL 6 A 1 の順方向プライマーを示す。
12. SEQ ID No. 12 は遺伝子 COL 6 A 1 の逆方向プライマーを示す。
13. SEQ ID No. 13 は遺伝子 DCN の順方向プライマーを示す。
14. SEQ ID No. 14 は遺伝子 DCN の逆方向プライマーを示す。
15. SEQ ID No. 15 は遺伝子 PLAT の順方向プライマーを示す。
16. SEQ ID No. 16 は遺伝子 PALT の逆方向プライマーを示す。
17. SEQ ID No. 17 は遺伝子 LGALS 3 の順方向プライマーを示す。
18. SEQ ID No. 18 は遺伝子 LGALS 3 の逆方向プライマーを示す。
19. SEQ ID No. 19 は遺伝子 FAFP 7 の順方向プライマーを示す。
20. SEQ ID No. 20 は遺伝子 FAFP 7 の逆方向プライマーを示す。
21. SEQ ID No. 21 は遺伝子 LOX の順方向プライマーを示す。
22. SEQ ID No. 22 は遺伝子 LOX の逆方向プライマーを示す。
23. SEQ ID No. 23 は遺伝子 LAMB 1 の順方向プライマーを示す。
24. SEQ ID No. 24 は遺伝子 LAMB 1 の逆方向プライマーを示す。
25. SEQ ID No. 25 は遺伝子 IGFBP 3 の順方向プライマーを示す。
26. SEQ ID No. 26 は遺伝子 IGFBP 3 の逆方向プライマーを示す。
27. SEQ ID No. 27 は遺伝子 GADD 45 A の順方向プライマーを示す。
28. SEQ ID No. 28 は遺伝子 GADD 45 A の逆方向プライマーを示す。
29. SEQ ID No. 29 は遺伝子 FSTL 1 の順方向プライマーを示す。
30. SEQ ID No. 30 は遺伝子 FSTL 1 の逆方向プライマーを示す。
31. SEQ ID No. 31 は遺伝子 RHOC の順方向プライマーを示す。
32. SEQ ID No. 32 は遺伝子 RHOC の逆方向プライマーを示す。
33. SEQ ID No. 33 は遺伝子 AEBP 1 の順方向プライマーを示す。

20

30

40

50

- 34 . SEQ ID No . 34 は遺伝子 A E B P 1 の逆方向プライマーを示す。
- 35 . SEQ ID No . 35 は遺伝子 B 2 M の順方向プライマーを示す。
- 36 . SEQ ID No . 36 は遺伝子 B 2 M の逆方向プライマーを示す。
- 37 . SEQ ID No . 37 は遺伝子 S O D 2 の順方向プライマーを示す。
- 38 . SEQ ID No . 38 は遺伝子 S O D 2 の逆方向プライマーを示す。
- 39 . SEQ ID No . 39 は遺伝子 P B E F 1 の順方向プライマーを示す。
- 40 . SEQ ID No . 40 は遺伝子 P B E F 1 の逆方向プライマーを示す。
- 41 . SEQ ID No . 41 は遺伝子 S Y T 1 の c D N A を示す。
- 42 . SEQ ID No . 42 は遺伝子 S Y T 1 に対して行われる単位複製配列や核酸
プローブを示す。 10
- 43 . SEQ ID No . 43 は遺伝子 R A B 2 6 の c D N A を示す。
- 44 . SEQ ID No . 44 は遺伝子 R A B 2 6 に対して行われる単位複製配列や核
酸プローブを示す。
- 45 . SEQ ID No . 45 は遺伝子 D I R A S 2 の c D N A を示す。
- 46 . SEQ ID No . 46 は遺伝子 D I R A S 2 に対して行われる単位複製配列や
核酸プローブを示す。
- 47 . SEQ ID No . 47 は遺伝子 R A B 1 3 の c D N A を示す。
- 48 . SEQ ID No . 48 は遺伝子 R A B 1 3 に対して行われる単位複製配列や核
酸プローブを示す。
- 49 . SEQ ID No . 49 は遺伝子 I G F B P 7 の c D N A を示す。 20
- 50 . SEQ ID No . 50 は遺伝子 I G F B P 7 に対して行われる単位複製配列や
核酸プローブを示す。
- 51 . SEQ ID No . 51 は遺伝子 C O L 6 A 1 の c D N A を示す。
- 52 . SEQ ID No . 52 は遺伝子 C O L 6 A 1 に対して行われる単位複製配列や
核酸プローブを示す。
- 53 . SEQ ID No . 53 は遺伝子 D C N の c D N A を示す。
- 54 . SEQ ID No . 54 は遺伝子 D C N に対して行われる単位複製配列や核酸
プローブを示す。
- 55 . SEQ ID No . 55 は遺伝子 P L A T の c D N A を示す。
- 56 . SEQ ID No . 56 は遺伝子 P A L T に対して行われる単位複製配列や核酸
プローブを示す。 30
- 57 . SEQ ID No . 57 は遺伝子 L G A L S 3 の c D N A を示す。
- 58 . SEQ ID No . 58 は遺伝子 L G A L S 3 に対して行われる単位複製配列や
核酸プローブを示す。
- 59 . SEQ ID No . 59 は遺伝子 F A B P 7 の c D N A を示す。
- 60 . SEQ ID No . 60 は遺伝子 F A B P 7 に対して行われる単位複製配列や核
酸プローブを示す。
- 61 . SEQ ID No . 61 は遺伝子 L O X の c D N A を示す。
- 62 . SEQ ID No . 62 は遺伝子 L O X に対して行われる単位複製配列や核酸
プローブを示す。 40
- 63 . SEQ ID No . 63 は遺伝子 L A M B 1 の c D N A を示す。
- 64 . SEQ ID No . 64 は遺伝子 L A M B 1 に対して行われる単位複製配列や核
酸プローブを示す。
- 65 . SEQ ID No . 65 は遺伝子 I G F B P 3 の c D N A を示す。
- 66 . SEQ ID No . 66 は遺伝子 I G F B P 3 に対して行われる単位複製配列や
核酸プローブを示す。
- 67 . SEQ ID No . 67 は遺伝子 G A D D 4 5 A の c D N A を示す。
- 68 . SEQ ID No . 68 は遺伝子 G A D D 4 5 A に対して行われる単位複製配列
や核酸プローブを示す。
- 69 . SEQ ID No . 69 は遺伝子 F S T L 1 の c D N A を示す。 50

70. SEQ ID No. 70 は遺伝子 FSTL1 に対して行われる単位複製配列や核酸プローブを示す。

71. SEQ ID No. 71 は遺伝子 RHOC の cDNA を示す。

72. SEQ ID No. 72 は遺伝子 RHOC に対して行われる単位複製配列や核酸プローブを示す。

73. SEQ ID No. 73 は遺伝子 AEBP1 の cDNA を示す。

74. SEQ ID No. 74 は遺伝子 AEBP1 に対して行われる単位複製配列や核酸プローブを示す。

75. SEQ ID No. 75 は遺伝子 B2M の cDNA を示す。

76. SEQ ID No. 76 は遺伝子 B2M に対して行われる単位複製配列や核酸プローブを示す。

77. SEQ ID No. 77 は遺伝子 SOD2 の cDNA を示す。

78. SEQ ID No. 78 は遺伝子 SOD2 に対して行われる単位複製配列や核酸プローブを示す。

79. SEQ ID No. 79 は遺伝子 PBEF1 の cDNA を示す。

80. SEQ ID No. 80 は遺伝子 PBEF1 に対して行われる単位複製配列や核酸プローブを示す。

【0022】

サンプルは、被験者の体内から直接採取するのが好ましい。サンプリングに使用する好ましい適切な物質は、脳組織より採取した血液、リンパ液や血漿、脳脊髄液、その他細胞物質の生検サンプルを含む。組織の物質は、組織のサンプル、組織液（リンパ液や血漿）又は細胞溶解液などを含むヒトの組織のいかなるサンプルをも含む。採取できる組織のサンプルは、脳から採取する細胞内物質も含むがこれに限らない。正常な脳細胞、腫瘍細胞、腫瘍近辺の細胞、及び/又は脳内の腫瘍部位から採取した血漿なども含まれる。

【0023】

本発明の方法によると、組織サンプルは多数の蛋白質種や mRNA 種を発現し、それぞれ異質の蛋白質及び/又は mRNA 種であるため、検出可能となる。ここで、サンプルを「得る」「採取する」はほとんど同じ意味で用いられ、組織のサンプルをサンプリングする、切除する、そのまま取り除く、吸引する、受け取る、集める、及び/又は輸送する等の意味を含む。更に、濃縮する、堆積する、沈殿する、上澄みをとる、ろ過する、吸引する、及び他のいかなる留出するという意味をも含む。例えば、従来の生検法は組織のサンプルを得る上で有用であり、経皮生検、腹腔鏡生検、外科的切除、組織をかき集め綿球等で採取する生検、ステント、カテーテル、針によるサンプリング、及びその他公知の手段を含む。例えば、被験者の頭蓋骨内からサンプルを得るため、磁気共鳴映像法 (MRI) - 誘導定位固定技術が採用されたが、方法はこれに限らない。サンプルは、被験者の体内から直接取り出した物質から得るか、又は培養したヒトの細胞、無細胞系抽出物やその他検査サンプルなど被験者の体内から間接的に得る。又、検出方法（例えば、核酸増幅分析及び/又は免疫化学的検出）を適用する前に、ジメチル・スルホキシド (DMSO)、トレハロース、グリセロール、又はプロパンジオール - スクロースなどの抗凍結剤の存在下で急速凍結又は制御された凍結養生法などの、検出可能、及び/又は分析可能に核酸や蛋白質を保存する公知の手段によりサンプルを保存してもよい。又、前記分析及び検出に供する遺伝子に特異な核酸を増幅する目的で、又は各タンパク質を検出する目的で、サンプルを保存前か後に貯蔵してもよい。

【0024】

サンプルは、即座に使用してもよいし、一晚冷蔵又は冷凍したり、希薄化したり、フェノール-クロロホルムを抽出したり、その他の手段により任意に前処理して使用し、様々な増幅反応を妨げる要素を取り除く。それから、前記蛋白質やそのメッセンジャー、リボ核酸 (mRNA) のサンプル内の発現レベルを定量的に又は半定量的に検出する。

mRNA 種を含むこれら遺伝子に特異なポリヌクレオチドは公知のヌクレオチドの配列と類似又は同族の塩基配列によって求められる。同属塩基配列は米国立生物工学情報セン

10

20

30

40

50

ター (NCBI; www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) GenBank データベース等のゲノムデータベース上で、PowerBLAST、QBLAST、PSI-BLAST、PHI-BLAST、ギャップ又は無ギャップ BLAST等のコンピュータアルゴリズムを使用して、又はペイラーカレッジの医薬のサーバー (www.hgsc.bcm.tmc.edu/seq_data) に提供される「配列比較」に基づいて、同族塩基配列を検索することによって求められる (Altschul, et al., 1997; Zhang and Madden, 1997; Madden et al., 1996; Altschul et al., 1990)。

【0025】

mRNA 配列を含むこれら遺伝子に特異なポリヌクレオチドは、好ましくは少なくとも連続5～30のヌクレオチドの長さであり、より好ましくは少なくとも連続6～15のヌクレオチドの長さであり、更に好ましくは少なくとも連続7～10のヌクレオチドの長さである。これら各遺伝子に特異な mRNA は、必ずしもというわけではないが、これら遺伝子の機能的なヴァージョン又はその断片を符号化するヌクレオチドを含む mRNA 種となることができる。更にこれら遺伝子に特異な mRNA に含まれるものとして、スプライス変異がある。

【0026】

本発明の対象とするこれら遺伝子に特異な mRNA 又は蛋白質のレベルは、定量的又は半定量的に発現を求める公知のいかなる方法を使用しても、定量的に検出することができる。定量的方法とは、絶対的でも相対的でもよい。絶対的定量法は、標準レベルと比較して発現レベルの絶対値を提供する。その量又はレベルとして、規定の蛋白質の質量、核酸の質量、細胞の数又は質量、体重等に正規化したモル、質量、又は活性値などが主に挙げられる。更に、定量値又は絶対値は規定の時間、すなわちスピードとしての発現のレベルに任意に正規化することができる。相対的検出方法は、正常な細胞や選択された「ハウスキーピング」遺伝子の発現等を、コントロールサンプルに対する所定のサンプルにおける発現の割合に換算した遺伝子の量やその発現レベルの単位なしの相対値を求める方法である。その他、当業者に公知の定量的及び半定量的検出方法もある。本発明に係る方法によると、遺伝子により符号化された蛋白質の発現レベルは、酵素結合の免疫吸着法 (ELISA)、免疫蛍光分析 (IFA)、免疫電気泳動法、クロマトグラフィー分析、免疫組織化学的染色等の免疫化学的手段により (これらに限らないが)、これら遺伝子産物に対する多クローン性又は単クローン性抗体や抗体フラグメントを使用して、任意に検出される。蛋白質を攻撃目標とする抗体や抗体フラグメントは市販されているか又は従来手段により生産される。

【0027】

同様に、本発明が対象とする他の蛋白質の発現レベルも前記従来手段により検出することが出来る。mRNA 種の発現レベルは、RNA や cDNA の形で核酸の増幅 (例えば、特定の核酸セグメントの増幅) を行う非常に多くのいかなる方法によっても定量的又は半定量的に検出することができ、又これが最も好ましい。これら RNA や cDNA 増幅産物は最終的に増幅後に測定される。最終的な RNA や cDNA の増幅産物は、濃度測定、蛍光検出 (これに限らないが)、又はその他いかなる適切な生化学的、物理学的分析システム等の従来手段によっても測定できる。増幅前のサンプルにおいて、DNA ゲノムから mRNA を抽出又は分離して DNA から分離したサンプルのそのフラクションに残留する核酸を増幅して、オリジナルの検査サンプル中の汚染された DNA ゲノムの増幅に起因する誤 (ポジティブ) 検出を防ぐことが好ましい。

【0028】

星状細胞腫を含む様々な悪性腫瘍をグレードに分類する組織病理学的手段が知られている (Daumas-Duport et al., 1988)。

【0029】

本発明に係る方法は星状細胞腫の診断に使用することができ、ここで、高レベルで発現する RAB13 や低レベルで発現する SYT1、RAB26、及び DIRAS2 (これらに限らないが) からなる群より選ばれるいかなる遺伝子又はその組み合わせも、星状細胞

10

20

30

40

50

腫の存在を示唆するものである（図1参照）。

【0030】

本発明に係る方法は悪性星状細胞腫（AA、GBM）の診断に使用することができ、ここで、高レベルで発現するIGFBP7は悪性星状細胞腫の存在を示唆するものである（図2参照）。

【0031】

本発明に係る方法は膠芽細胞腫の診断に使用することができる。というのは、GBMは一般的にCOL6A1、DCN、PLAT、LGALS3、FABP7、LOX、LAMB1、IGFBP3、GADD45A、FSTL1、RHOC、B2M、及びPBEF1（これらに限らないが）からなる群より選ばれるいかなる遺伝子又はその組み合わせを過剰発現するからである（図3参照）。原発性及び続発性GBMは、組織病理学的方法では見分けが付きにくいことが多いが、本発明の方法を使用すると、これらのタイプもすぐに見分けがつく。一般的に原発性GBMはAEBP1及びSOD2（これらに限らないが）からなる群より選ばれるいかなる遺伝子又はその組み合わせも過剰発現するからである（図4参照）。

10

【0032】

本発明の好ましい実施形態によると、前記遺伝子はEGFR、p53、及びKi-67等の公知のマーカーと組み合わせて使用され、星状細胞腫の存在を決定する。

【0033】

更に、本発明に係る方法は被験者の膠芽細胞腫の予後に使用することができ、ここで高レベルのPBEF1の発現はテストサンプルを得た被験者の生存率が低いことを示唆するものである（図11参照）。

20

【0034】

前記本発明の方法の記載は例示的なものにすぎず、決して包括的なものではない。本発明のこれら特徴が採用された場合、星状細胞腫や膠芽細胞腫の患者に対する診断治療の決定がより適切に最適化され、その患者の生存率の見通しが高まる。

【0035】

星状細胞腫のトランスクリプトーム解析

4例のびまん性星状細胞腫（DA;GrII）、5例のAA（Gr.III）、及び16例のGBM（GrIV；続発性が6例、原発性は10例）を含むびまん性浸潤型星状細胞腫25サンプルに対して、19k cDNAを使用した18981本のヒト遺伝子の発現プロファイルを分析した。各グレードにおける50%以上のサンプルに使用可能な14,929本の遺伝子は引き続き分析する必要があると思われる。イメージ分析から得たデータは、さらに検討する前にフィルター解析され、正規化され、log₂変換された。星状細胞腫の異なるグレード間、又は正常なサンプルと星状細胞腫のサンプル間の、調整遺伝子の特異的発現を同定するため、必要に応じて1-クラス及び2-クラスオプションを使用して、データに対してマイクロアレイ有意性解析を行った。

30

【0036】

SAM分析によりグレード特定遺伝子を同定する

SAM分析により、25例の星状細胞腫のサンプルから得た14,929本の遺伝子データを調べたところ、正常脳サンプルに比べて、すべての星状細胞腫において385本が上方調整され、911本が下方調整された。DAs（Gr.II）は、びまん性浸潤型低グレード星状細胞腫であり、これは5～10年（4、5、12）の間を経ると、グレードIIIの悪性未分化星状細胞腫やグレードIVの悪性GBMに進行する。AAs（Gr.III）はGBMより悪性度が低く、平均生存率が（3、5、13、14）未満のGBM患者と比べて、AA患者の平均生存率は2～3年である。GBMと低グレード星状細胞腫（LGA）間、すなわち、DAとAA間で調整遺伝子の特異発現を同定するため、DA4例とAA5例の9例、及びGBM16例（原発性10例と続発性6例）から得たデータをSAM分析した結果、GBMに比べてLGA（DA&AA）では41本の遺伝子が上方調整され、LGAに比べてGBMでは37本の遺伝子が上方調整されていることがわかった。続発性

40

50

G B Mは低グレード、すなわちD A又はA Aから進行するため、G B Mに比べて、これら腫瘍はD A又はA Aと発現プロファイルを共有しているように思われる。このように、G B M (デノボG B M) に比べて進行性星状細胞腫 (D A、A A、続発性G B M) に特異な発現プロファイルを得るため、進行性星状細胞腫 (D A 4例、A A 5例、及び続発性G B M 6例) に属する15サンプルから得たデータと、原発性G B Mに属する10サンプルとが、S A M分析により比較された。結果、原発性G B Mに比較して20本の遺伝子が進行性星状細胞腫内で上方調整され、進行性星状細胞腫に比較して45本の遺伝子が上方調整されていることがわかった。

【0037】

リアルタイムS A M同定遺伝子のR T - 定量的P C R評価

10

その特異な発現が星状細胞腫、悪性星状細胞腫 (A A、G B M) 又は原発性膠芽細胞腫を特徴づける遺伝子を同定するため、S A M分析より得たデータを綿密に分析し、興味深い遺伝子を選び更に評価した。異なるグレードの星状細胞腫と膠芽細胞腫の100サンプルセットそれぞれに対して行ったリアルタイムR T - 定量的P C R評価により、選ばれた遺伝子の発現パターンを確認した。サンプルセットは、D A 5例、A A 31例、続発性G B M 20例、原発性G B M 35例、及び正常な脳サンプル9例を含む。発現パターンの統計的有意性を、マン・ホイットニーの検定により調べた。0.05以下のP値が統計的に有意であると思われる。

【0038】

星状細胞腫における下方又は上方調整された遺伝子の同定

20

S A M分析とその後のR T - q P C R分析の結果、すべてのグレードの星状細胞腫においてR A B 13が上方調整されているのに対して、遺伝子S Y T 1, R A B 26, D I R A S 2が星状細胞腫すべてのグレードにおいて下方調整されていることがわかった。

【0039】

シナプトタグミンI (S Y T 1) は、D A s (5 / 5 ; 100%)、A A s (25 / 31 ; 80%)、続発性G B M s (17 / 20、85%)、及び原発性G B M s (31 / 35 ; 88.5%) において4倍以上下方調整されているが、正常な脳サンプル (0 / 9 ; 0%) ではその限りではないことがわかった。P値は、正常 (Normal) な脳細胞とあらゆるグレードの星状細胞腫との間、すなわち、Normal v s . D A (0.001)、Normal v s . A A (< 0.001)、Normal v s . 続発性G B M (< 0.001)、Normal v s . 原発性G B M (< 0.001) との間で統計的有意性を示すことがわかった (図1A)。

30

【0040】

又、腫瘍遺伝子のファミリー (R A B 26) のメンバーR A SがD A s (5 / 5 ; 100%)、A A s (21 / 30 ; 70%)、続発性G B M (19 / 20 ; 95%) 及び原発性G B M (31 / 35 ; 88.5%) において4倍以上下方調整されるが、正常な脳サンプル (0 / 9 ; 0%) においてはその限りではないことがわかった。P値は、正常 (Normal) な脳細胞とあらゆるグレードの星状細胞腫との間、すなわち、Normal v s . D A (0.001)、Normal v s . A A (< 0.001)、Normal v s . 続発性G B M (< 0.001)、Normal v s . 原発性G B M (< 0.001) との間で統計的有意性を示すことがわかった (図1B)。

40

【0041】

D I R A Sファミリー、G T P - 結合、R A S - 類 2 (D I R A S 2) などが、D A s (4 / 5 ; 80%)、A A s (19 / 31 ; 61.2%)、続発性G B M (20 / 20 ; 100%) 及び原発性G B M (29 / 35 ; 82.8%) において4倍以上下方調整されるが、正常な脳サンプル (0 / 9 ; 0%) においてはその限りではないことがわかった。P値は、正常 (Normal) な脳細胞とあらゆるグレードの星状細胞腫との間、すなわち、Normal v s . D A (0.001)、Normal v s . A A (< 0.001)、Normal v s . 続発性G B M (< 0.001)、Normal v s . 原発性G B M (< 0.001) との間で統計的有意性を示すことがわかった (図1C)。

50

【0042】

RAB13, 腫瘍遺伝子のファミリー (RAB13) のメンバーRASがDAs (4/5; 80%), AAs (24/30; 80%), 続発性GBM (17/20; 85%) 及び原発性GBM (34/35; 97.1%) の大部分で4倍以上下方調整されるが、正常な脳サンプル (1/9; 11.1%) においてはその限りではないことがわかった。P値は、正常 (Normal) な脳細胞とあらゆるグレードの星状細胞腫との間、すなわち、Normal vs. DA (0.059)、Normal vs. AA (<0.001)、Normal vs. 続発性GBM (<0.001)、Normal vs. 原発性GBM (<0.001) との間で統計的有意性を示すことがわかった (図1D)。

【0043】

悪性星状細胞腫 (AA & GBM) における上方調整された遺伝子の同定

インシュリン様成長因子結合蛋白質7 (IGFBP7) は主に悪性星状細胞腫 (AA、GBM) において上方調整されることがわかった。コントロールサンプルと比べて悪性星状細胞腫における過剰発現は、Normal vs. AA (P=0.002)、Normal vs. 続発性GBM (P=0.01)、Normal vs. 原発性GBM (<0.001) との間で統計的有意性を示すことがわかったが、良性星状細胞腫 (Normal vs. DA (P=0.297) においてはその限りでないことがわかった。IGFBP7は、AAs (25/31; 80%), 続発性GBM (14/20; 70%)、及び原発性GBM (32/35; 91%) の大部分で4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル (2/9; 22%) 及びDA (3/5; 60%) においてはその限りでないことがわかった (図2)。

【0044】

更に、IGFBP7の蛋白質発現パターンを免疫組織化学的に分析した。正常な脳においては、ニューロンやグリア細胞はIGFBP7に関してネガティブだった。わずかな染色が柔組織や軟髄膜の血管 (図示せず) に見られた。腫瘍細胞質のポジティブ染色はDAsの1/9、AAの40% (4/10) 例にしか見られなかった。GBMの中で、続発性GBMの80% (12/15) 及び原発性GBMの100% (19/19) が、腫瘍細胞におけるIGFBP7に対してポジティブ染色を示した (図5)。

【0045】

GBM特異遺伝子の同定

SAM分析とその後のRT-qPCR分析の結果、遺伝子COL6A1、DCN、PLAT、LGALS3、FABP7、LOX、LAMB1、IGFBP3、GADD45A、FSTL1、RHOC、B2Mは、主にGBMにおいて過剰発現であることがわかった。コントロールサンプルに比べてこれらの遺伝子のGBMにおける過剰発現は、DAやAAのような低グレードサンプル (LGA) と同様に、統計的に有意であることがわかった。

【0046】

Collagen, type VI, alpha 1 (COL6A1) は、GBMの大部分 (31/55; 54.5%) において3倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル (1/9; 11%) やLGAs (11/36; 30.5%) ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、<0.001であり、GBM vs. LGAの比較では0.009であった (図3A)。

【0047】

デコリン (DCN) は、GBMの大部分 (43/54、79.6%) において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル (4/9; 44%) やLGAs (14/36; 38.9%) ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、<0.003であり、GBM vs. LGAの比較では<0.001であった (図3B)。

【0048】

組織（型）プラスミノゲン活性化因子は、GBMの約半分（28/54；51.8%）において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプルにおいては全く上方調整されず（0/9；0%）、LGAs（4/36；11.1%）においても少ししか上方調整されない。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、0.001であり、GBM vs. LGAの比較では<0.001であった（図3C）。

【0049】

水溶性ガラクトシド結合レクチン3（LGALS3）は、GBMの大部分（37/55、67.2%）において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル（1/9；11%）やLGAs（6/36；16.7%）ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、0.001であり、GBM vs. LGAの比較では<0.001であった（図3D）。

10

【0050】

脳細胞型脂肪酸結合タンパク質（FABP7）は、GBMの大部分（35/55；63.6%）において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル（1/9；11%）においては少なく、LGAs（0/36；0%）においては全く上方調整されないことがわかった。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、0.04であり、GBM vs. LGAの比較では<0.001であった（図3E）。

【0051】

リシロキシダーゼ（LOX）は、GBMの大部分（34/55、61.8%）において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル（2/9；22%）やLGAs（10/36；27.8%）ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、0.03であり、GBM vs. LGAの比較では<0.001であった（図3F）。

20

【0052】

ラミニン（）1（LAMB1）は、GBMの大部分（46/55、83.6%）において2倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル（1/9；11%）やLGAs（5/36；13.9%）ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、<0.001であり、GBM vs. LGAの比較では<0.001であった（図3G）。

30

【0053】

インシュリン様成長因子結合蛋白質3（IGFBP3）は、GBMの大部分（34/55、61.8%）において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル（0/9；0%）やLGAs（8/36；22.2%）ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、<0.001であり、GBM vs. LGAの比較では<0.001であった（図3H）。これに加えて、IGFBP-3の蛋白質発現パターンが免疫組織化学により分析された。正常な脳細胞においては、IGFBP-3において、ニューロン細胞が淡く標識化（1+）された。星状細胞腫、乏突起膠細胞、及び血管は標識化されなかった（データを示さず）。星状細胞腫の中で、DAsの33.33%（3/9）及びAAsの80.0%（8/10）がポジティブ染色を示した。GBMの中で続発性GBMの86.66%（13/15）及び原発性GBMの100%（19/19）がIGFBP-3に対してポジティブ染色を示した（図6）。

40

【0054】

増殖停止とDNA損傷誘導、（GADD45A）は、GBMの大部分（32/55、58.2%）において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル（0/9；0%）やLGAs（8/36；22.2%）ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、<0.001であり、GBM vs. LGAの比較では<0.001であった（図3I）。又、免疫組織化学

50

的染色によりGADD45Aの発現パターンを分析した(図7)。テストした原発性及び続発性GBMサンプルのうち、58.0%(7/12)及び50.0%(3/6)がGADD45Aに対する細胞染色においてそれぞれ強いポジティブ染色を示した。AA(Gr.III)及びDA(Gr.II)におけるGADD45Aのポジティブ染色の割合は、それぞれ14.0%(1/7)及び0.0%(0/3)であることがわかった。ポジティブ腫瘍細胞の平均パーセンテージは原発性GBMサンプルでは高く(30.0%)、GBM及びAAではそれぞれ25.0%及び20.0%であることがわかった。正常な脳細胞のサンプル5個を分析したところ、グリア細胞はネガティブのGADD45A染色を示すことがわかった。

【0055】

ホリスタチン様1(FSTL1)は、GBMの大部分(39/55、70.9%)において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル(0/9;0%)やLGAs(4/36;11.1%)ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、 < 0.001 であり、GBM vs. LGAの比較では < 0.001 であった(図3J)。免疫組織化学分析により、原発性及び続発性GBMの85.0%(18/21)及び86.0%(9/15)はそれぞれポジティブのFSTL1蛋白質染色を示すことがわかった(図8)。予想通り、AA(30.0%;3/10)及びDA(0.0%;0/10)においてポジティブの割合が少ないことがわかった。正常な脳細胞において、グリア細胞はネガティブのFSTL1染色を示すことがわかった。ポジティブ腫瘍細胞の平均パーセンテージは、AAの13.0%に対して原発性GBMと続発性GBMで高く(それぞれ31.0と24%)、これはGBMにおいてFSTL1が非常に高レベルの発現を示す事実を示唆するものである。

【0056】

ラスホモログ遺伝子ファミリーのメンバーC(RHOC)は、GBMの大部分(37/55、67.3%)において2倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル(1/9;11.1%)やLGAs(16/36;44.4%)ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、 < 0.001 であり、GBM vs. LGAの比較では 0.021 であった(図3K)。

【0057】

ミクログロブリン(B2M)は、GBMの大部分(34/55、61.8%)において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル(1/9;11.1%)やLGAs(17/36;47.2%)ではそれより少ない調整である。マン・ホイットニーU検定より得たP値はGBM vs. Normalの比較では、 0.004 であり、GBM vs. LGAの比較では 0.022 であった(図3L)。B2Mの発現に対する免疫組織化学的染色により、mRNA発現パターンが確認された(図9)。テストしたほとんどのGBMサンプルが強力なポジティブの細胞膜染色(82.3%;14/17)を示したが、未分化星状細胞腫の28.57%(2/7)しかポジティブ染色を示さず、及びまん性星細胞主のサンプルのいずれも(0/3)ポジティブ染色を示さなかった。

【0058】

PBEF1転写レベルは、AAs(9.60%;3/31発現比を対数変換した平均指標 $\log_2\text{ratio}$: 0.44)、DAs(0.00%;0/5発現比を対数変換した平均指標 $\log_2\text{ratio}$: 0.50)、及びGBMの大部分において、P値 < 0.001 を満たす正常な脳サンプル(0.00%;0/9)に比べて3倍以上上方調整されていることがわかった($\log_2\text{ratio}=1.585$)(図3M)。統計的有意性はグラフパッド プリズム ソフトを使用してマン・ホイットニーU検定より評価した。PBEF1の染色パターンは、一般的に粒状びまん性細胞質であることがわかった。更にGBMの広範にわたり(72.2%;26/36)ポジティブのPBER1染色であることがわかった(図10E、F)。予想通り、AAs(40.00%;4/10)及びDAs(20.00%;2/10)サンプルにおいてPBEF1ポジティブ染色を示す割合が少ないことがわかった(図10B、C)。更に、ポジティブ腫瘍細胞の平均パーセンテージは、AAsとDAs22.00

10

20

30

40

50

%と8.50%に対してGBMで高く(37.50%)、これはGBMにおいてPBEF1が非常に高レベルの発現を示す事実を示唆するものである。正常な脳細胞のグリア細胞はネガティブのPBEF1染色を示すことがわかった(図10A)。

【0059】

原発性GBMの特定遺伝子

SAM分析及び続発性RT-qPCR分析を使用して、2本の遺伝子、すなわち、過剰発現が原発性GBMに特徴的であるAEBP1及びSOD2を発見した。

【0060】

AEBP1結合蛋白質1(AEBP1)は、原発性GBMの大部分(29/35、82.8%)において2倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル(1/9; 11.1%)、DAs(2/5; 40%)、AAs(9/31; 29%)及び続発性GBM(9/20; 45%)ではそれより少ない調整である。原発性GBMと他のすべてのグループとの間の転写レベルの違いは統計的に有意性がある: 原発性GBM vs コントロールサンプル($P = 0.002$); 原発性GBM vs DAs($P = 0.043$); 原発性GBM vs AAs($P < 0.001$)及び原発性GBM vs 続発性GBM($P = 0.027$)(図4A)。

【0061】

スーパーオキシドディスムターゼ2、ミトコンドリア(SOD2)は、原発性GBMの大部分(25/35、71.4%)において4倍以上上方調整されるが、コントロールサンプル(0/9; 0%)、DAs(0/5; 40%)、AAs(5/31; 16.1%)及び続発性GBM(4/20; 20%)ではそれより少ない調整である。原発性GBMと他のすべてのグループとの間の転写レベルの違いは統計的に有意性がある: 原発性GBM vs コントロールサンプル($P = 0.001$); 原発性GBM vs DAs($P = 0.012$); 原発性GBM vs AAs($P < 0.001$)及び原発性GBM vs 続発性GBM($P = 0.001$)(図4B)。

【0062】

PBEF1の生存率

PBEF1の生存率を分析するため、追跡調査が可能なGBMの過去に遡った51例に対し、PBEF1の発現を調べた。GBM患者において、生存率を予測するにあたって臨床的変数の予後有意性は明確に定義されている一方、p53の過剰発現やEGFR発現のような腫瘍内に見られる公知の遺伝子変異等の蛋白質発現の変化は、個々に明確な予後有意性を示すことができず、それぞれの研究において交絡因子を抱える。よって、多変数分析をするために、p53とEGFRの発現を調べる免疫染色の区分解析を行って、患者の生存率に関してPBEF1との同時発現の有意性を分析した。

【0063】

PBEF1の発現をGBM患者の生存率と相互に関連付けて単変量解析を行った結果、統計的有意性がないにもかかわらず、PBEF1がポジティブであるグループの平均生存率はPBEF1がネガティブであるグループのそれより低いことがわかった(それぞれ12ヶ月 vs 16ヶ月 $p = 0.16$; 図11A)。多変量解析の場合、PBEF1発現自体は生存率と関連がなかったが、p53との同時発現は更に低い生存率を示唆する傾向がある。両マーカー共又はどちらかがネガティブのグループの平均生存率は14ヶ月(緑線)であるのに対し、両マーカー共ポジティブであるグループの平均生存率は8ヶ月(赤線)であった($P = 0.08$ 、図11B)。又、放射線治療、KPSの診察、及びp53の発現などが多変量解析(データを示さず)におけるあらゆるステップの生存率の有意な独立予測因子であることがわかった。データをまとめると、PBEF1は、特にp53の異常発現を併発したGBM患者における潜在的予後マーカーであることを示唆する。

【0064】

従って本発明は、被験者から得た脳組織のテストサンプルや正常な脳細胞のコントロールサンプルにおけるSYT1、RAB26、DIRAS2、及びRAB13からなるグループより選ばれた単一又は組み合わせ遺伝子の発現レベルの同定であって、コントロールサンプルと比べてテストサンプルにおいてRAB13の高い発現レベル、又はテストサン

10

20

30

40

50

プルにおいてSYT1、RAB26、DIRAD2の低い発現レベルは、テストサンプルを得た被験者において星状細胞腫が存在することを示唆するものである。

【0065】

又、本発明の実施の形態によると、in situ ハイブリダイゼーションやRT-PCR分析等の核酸ベースの検出方法におけるオリゴヌクレオチドを採用することによって遺伝子のRNA転写のレベルをチェックしてこれら遺伝子の発現レベルを同定する。もしくは、免疫組織化学やウエスタンブロッティング、ELISAなどの蛋白質ベースの検出方法における抗体を採用してこれら遺伝子がつくる蛋白質レベルをそれぞれチェックすることによって適宜同定する。

【0066】

従って、本発明は被験者の星状細胞腫を特徴づけるキットを提供するものであって、該キットは、

- a) SYT1、RAB26、DIRAS2、及びRAB13等の単一又は組み合わせ遺伝子の有無を具体的に検出することができる試薬
- b) 前記被験者における星状細胞腫の存在を検出するための前記キットを使用するための指示書を備えることを特徴とする。

【0067】

他の実施の形態によると、被験者における星状細胞腫の存在を検出するためのキットであって、該キットは、

- [a] SYT1、RAB26、DIRAS2、及びRAB13からなるグループより選択された遺伝子の単一又は組み合わせの発現レベルを具体的に検出することができる試薬
- [b] 前記被験者における星状細胞腫の存在を検出するための前記キットを使用するための指示書であり、これらキットに使用される試薬は、好ましくはSEQ ID No. 42、44、46、48で表される単位複製配列や核酸のプロープを含むとを備えることを特徴とする。

【0068】

他の実施の形態によると、本発明は被験者の悪性星状細胞腫(AA, GBM)を同定するキットを提供し、前記キットは

- a) IGFBP7遺伝子の発現レベルを具体的に検出することができる試薬と、
 - b) 被験者の悪性星状細胞腫(AA, GBM)を同定する前記キットを使用するための指示書、
- とを備えることを特徴とする。これらキットに使用される試薬は、好ましくはSEQ ID No. 50で表される単位複製配列や核酸のプロープを含む。

【0069】

更に本発明は被験者の悪性星状細胞腫を同定するキットを提供し、前記キットは

- a) 前記遺伝子により符号化される蛋白質と特に結合する抗体を含む試薬、と
 - b) 当該被験者の星状細胞腫を特徴づける前記キットを使用するための指示書、
- とを備えることを特徴とする。

【0070】

更に他の実施の形態によると、本発明は被験者の膠芽細胞腫(GBM)の存在を検出するキットを提供し、前記キットは、

- a) COL6A1、DCN、PLAT、LGALS3、FABP7、LOX、LAMB1、IGFBP3、GADD45A、FSTL1、RHOC、B2M、及びPBEF1等の単一又は組み合わせ遺伝子の発現レベルを具体的に検出することができる試薬、と
 - b) 被験者の膠芽細胞腫の存在を検出するための前記キットを使用するための指示書、
- とを備えることを特徴とする。これらキットに使用される試薬は、好ましくはSEQ ID No. 52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、76、及び80で表される単位複製配列や核酸のプロープを含む。

【0071】

10

20

30

40

50

更に本発明は被験者の膠芽細胞腫の存在を検出するキットを提供し、前記キットは、
 a) 前記遺伝子により符号化される蛋白質と特に結合する抗体を含む試薬、と
 b) 当該被験者の星状細胞腫を特徴づける前記キットを使用するための指示書、
 とを備えることを特徴とする。

【0072】

更に他の実施の形態によると、本発明は被験者の膠芽細胞腫のタイプを同定するキットを提供し、前記キットは、

- a) A E B P 1、S O D 2等の単一又は組み合わせ遺伝子の発現レベルを具体的に検出することができる試薬、と
 b) 被験者の膠芽細胞腫の存在を検出するための前記キットを使用するための指示書、
 とを備えることを特徴とする。これらキットに使用される試薬は、好ましくはS E Q I
 D N o . 7 4 及び7 8で表される単位複製配列や核酸のプロープを含む。

10

【0073】

更に本発明は被験者の膠芽細胞腫の存在を検出するキットを提供し、前記キットは、
 a) 前記遺伝子により符号化される蛋白質と特に結合する抗体を含む試薬、と
 b) 当該被験者の星状細胞腫を特徴づける前記キットを使用するための指示書、
 とを備えることを特徴とする。

【0074】

本発明は被験者の膠芽細胞腫の予後を決定するキットを提供し、前記キットは、
 a) P B E F 1の有無を具体的に検出することができる試薬、と
 b) 前記被験者の膠芽細胞腫の予後を決定する前期キットを使用するための指示書、
 とを備えることを特徴とする。

20

【0075】

更に、本発明は被験者の膠芽細胞腫の予後を決定するためのキットを提供し、前記キッ
 トは、

- a) P B E F 1遺伝子の発現レベルを具体的に検出することができる試薬、と
 b) 被験者の膠芽細胞腫の予後を決定するための前記キットを使用するための指示書、
 とを備えることを特徴とする。これらキットに使用される試薬は、好ましくはS E Q I
 D N o . 8 0で表される単位複製配列や核酸のプロープを含む。

30

【実施例】

【0076】

以下に示す実施例は例示であって、よって本発明がこれによって制限されると解釈して
 はならない。

【0077】

実施例1：細胞採取

星状細胞腫のサンプルが、Sri Satya Sai Institute of Higher Medical Sciences and
 Manipal Hospital, Bangalore, Indiaにて外科手術を受けた患者より採取された。コン
 トロールサンプルには、難知性のてんかん手術を受けた患者から採取した非腫瘍脳組織（
 側頭葉）が含まれる。グレードの違う合計37個の星状細胞腫のサンプルが検討に供され
 た。細胞は2等分され、その一方は液化窒素中で急凍凍結され、RNAが分離されるまで
 -80°Cで保存された。もう一方は、ホルマリン中に固定されパラフィン切片に加工され、
 組織病理学的グレード及び星状細胞腫のタイプを同定するために使用された。

40

【0078】

実施例2：RNA分離

RNAのトータルがT R I z o l m e t h o d (Invitrogen, USA)とR N e a s y
 M i d i k i t (Qiagen)の組み合わせにより、製造者の指示の下、凍結細胞から抽
 出された。RNAのサンプルは分光光度計を使用して吸収度を測定することにより定量化
 され、ゲル化したM O P S - ホルムアルデヒド上で視覚化し、量と質を確認した。

【0079】

実施例3：定量的RT-PCR

50

選ばれた遺伝子の発現レベルの相対定量を、2段階戦略を使用して実施した：一段階において、高容量のcDNAアーカイブキット（ABI PRISM）を使用して、cDNAが異なる細胞サンプルから抽出したRNAより発生したことがわかった。続いて、cDNAを以下に示す遺伝子特異的なプライマーセット及びDyNAmo HS SYBR Green qPCR kit（Finnzymes, Finland）を使用したテンプレートとして、定量的PCRをリアルタイムで実施した：使用したプライマーはすべて、アプライドバイオシステム株式会社製Primer Express software Version 2.0.0を使用して設計された。

【0080】

配列リスト

Sl. No.	遺伝子	順方向プライマー (5' to 3')	逆方向プライマー (5' to 3')
1	SYT1	GGTTGGCTGTTTCCCAGTAAAAC	TTTAAAGAAGTACGGACCATCG G
2	RAB26	GTCTGCTGGTGCATTCAAG	GCATGGGTAACACTGCGGA
3	DIRAS2	CTGGTGTGAGGTTTGTGAAAGG	CCGTCGTGTCGGTGATCTG
4	RAB13	ATAACTACTGCCTACTACCGTGG	CCATGTCACATTTGTTCCCCAG
5	IGFBP7	GGTCCTTCCATAGTGACGCC	TCTGAATGGCCAGGTTGTCC
6	COL6A1	ACAGTGACGAGGTGGAGATCA	GATAGCGCAGTCGGTGATAGG
7	DCN	AGTTGGAACGACTTTATCTGTCC	GTGCCAGTTCTATGACAATCA
8	PLAT	ACTGCCGGAATCCTGATGG	TGTGCTTGGCAAAGATGGC
9	LGALS3	TGCTGATAACAATTCTGGGCAC	TGAAGCGTGGGTTAAAGTGGAA
10	FABP7	CTCTCAGCACATTCAGAACACG	GCGAACAGCAACCACATCAC
11	LOX	CAGGGTGCTGCTCAGATTTCC	GGTAATGTTGATGACAACCTGTG C
12	LAMB1	ACAAGCCCGAACCCCTACTGTA	GACCACATTTTCAATGAGATGG C
13	IGFBP3	AGAGCACAGATACCCAGAACT	TGAGGAACTTCAGGTGATTGAG T
14	GADD45A	GAGAGCAGAAGACCGAAAGGA	CACAACACCACGTTATCGGG
15	FSTL1	CAACCACTGTGAACTGCATCG	CCTTTAGAGAACCAGCCATCTG
16	RHOC	CCTGCCTCCTCATCGTCTTC	AGCACATGAGGATGACATCAG TG
17	AEBP1	AAAGGGCGAGGAGTTGGAG	GAGGCTCGGATCTGGTTGT
18	B2M	AGGCTATCCAGCGTACTCAA	AATGCGGCATCTTCAAACC
19	SOD2	AACCTCAGCCCTAACGGTG	AGCAGCAATTTGTAAGTGTC
20	PBEF1	ATTGCCTTCGGTTCTGGTGG	CGGCCCTTTTGGACCTTTG

【0081】

ABI PRISM 7900（アプライドバイオシステム社製）配列検索システムにおいて、cDNAを以下に示す遺伝子特異的なプライマーセット及びDyNAmo kit containing SYBR green dye（Finnzyme, Finland）を使用したテンプレートとして、定量的PCRをリアルタイムで実施した。測定はすべて3回行われた。遺伝子、RPL35A（リボソームタンパク質 L35a）、AGPAT1（1-アシルグリセロール-リン酸塩 O-アシルトランスフェラーゼ1）、ATP5G1（ATPシンターゼ、H⁺輸送、ミトコンドリア F0 錯体、亜粒子C1（亜粒子9））及びGARS（グリシル-tRNAシンターゼ）等がその発現レベルにマイクロアレイ実験において変化がないためインターナルコントロールサンプルとして使用された。9例の異なるてんかん患者から採取した正常な脳組織のサンプルが基準として使用された。そして遺伝子発現における倍率変化が、正常な脳サンプルにおける平均発現率に対して計算された。そして統計的有意性がマン・ホイットニーのGraphPad PRISM（登録商標）ソフトを使用してテストされた。各遺伝子に対して、その発現レベルに応じた適切な倍率変化の閾値を使用して規制サンプルの比率を計算した。

【0082】

実施例 4 : 病理組織学的及び免疫組織学的 (I H C)

正常な脳細胞と腫瘍細胞の組織学的切片を、ヘマトキシリン及びエオシン (H & E) 製剤を使用して光学顕微鏡検査により調べた。びまん性浸潤型星状細胞腫の腫瘍切片に対し、WHOのグレーディングシステム (1 1) を使用してランク付けした。IHC染色用に、腫瘍細胞より採取したパラフィン切片 (4 μ m) とコントロールサンプルをシラン被覆のスライド上に採取した。使用した一次抗体は次の通りである。1 . I G F B P 7 (H-102, SC-3095, 1:25に希釈) ; 2 . I G F B P 3 (H-98, SC-9028, 1:50に希釈) ; 3 . G A D D 4 5 A (Santa cruz, clone C-20, ウサギ多クローン抗体-1:50 に希釈) ; 4 . F S T L 1 (精製GST-FSTL1に対するウサギ多クローン抗体, 1:100 に希釈) ; 5 . B 2 M (Santa cruz, マウス単クローン抗体, 1:50 に希釈) ; 6 . P B E F 1 (精製GST-PBEF1に対するウサギ多クローン抗体; 1:1000 に希釈) 。マイクロ波抗原回復が 1 0 m M クエン酸塩緩衝剤中、p H 6 . 0、1 8 分間 4 0 0 w a t t で行われた。主に G B M 症例を分類する目的で使用された抗体は、p 5 3 (単クローン抗体 : D O - 7 , B i o g e n i x - U S A , 1 : 2 0 0 に希釈) 及び E G F R (単クローン抗体 : Biogenix-USA, 1:50に希釈) であった。p 5 3 に対しては、マイクロ波オーブンで 2 5 ~ 3 5 分間、7 0 0 W でクエン酸塩緩衝剤中 (1 0 m M、P h 6 . 0) において、脱パラフィン化切片の熱処理を行うことにより抗原回復がなされた。E G F R 染色に対しては、切片に T r i s - E D T A で、p H 9 . 0、6 0 0 W にて 3 0 分間前処理を施した。すべての切片は更にメタノール及び 5 % の過酸化水素で処理して内因性のペルオキシダーゼを阻止し、続いて P B S バッファ (p H 7 . 6) で洗浄した。脱脂粉乳 (5 %) を使用してバックグラウンド染色を 4 5 分間阻止した。そして切片を一次抗体で一晩 4 ° C にて培養した。続いて、高感度のビオチン化していない H R P 検出システム (QD440-XAK, Biogenex) で培養した。" 3,3'-ジアミノベンジジン (Sigma) " が発色物質として使用された。

【 0 0 8 3 】

p 5 3 及び E G F R の過剰発現を特徴づけられた脳腫瘍細胞をポジティブコントロールサンプルとして使用した。p 5 3 及び E G F R の免疫反応性はポジティブに染色した 2 0 % の腫瘍細胞よりポジティブであると考えられた (核及び膜それぞれの細胞質の標識化) 。G B M は、患者の臨床プロフィールや E G F R、p 5 3 (5) の発現等を考慮して、原発性と続発性とに分類される。原発性 G B M の患者の平均年齢は、5 0 . 6 歳であり、症状の平均持続期間は 2 . 7 ヶ月であった。E G F R の均一な染色はすべての症例で明らかであり、5 例において更なる p 5 3 の発現が明らかになった。続発性 G B M の中で、患者の平均年齢は 3 3 . 8 歳であり、症状の平均持続期間は 5 . 3 ヶ月であった。p 5 3 の免疫反応性はすべての症例で均一に明らかであり、2 例において更なる E G F R の発現が明らかになった。

【 0 0 8 4 】

[引用文献]

Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. Nucl eic Acids Res. (1997) 25 (17) , 3389-402.

Brock CS and Bower M. (1997) . Medical Oncology, 14, 103-120.

Campomenosi P, Ottaggio L, Moro F, Urbini S, Bogliolo M, Zunino A, Camoriano A, Inga A, Gentile SL, Pellegata NS, Bonassi S, Bruzzone E, Iannone R, Pisani R, Menichini P, Ranzani GN, Bonatti S, Abbondandolo A and Fronza G. (1996) . Cancer Genet. Cytogenet., 8, 95-102.

Daumas-Duport C, Scheithauer B, O'Fallon J, Kelly P. (1988) Cancer 62, 2152-2165

Davis F, Freels S, Grutsch J, Barlas S and Brem S. (1998) . J. Neurosurg., 88, 1

10

20

30

40

50

-10.

De Girolami U, Cotran RC, Kumar V, Robbins S L. (1994) Pathologic basis of disease, 5th ed., W. B. Saunders Co., 1295-1357.

DeAngelis LM. (2001). N. Engl. J. Med., 344, 114-123.

Fathallah-Shaykh HM, Rigen M, Zhao LJ, Bansal K, He B, Engelhard HH, Cerullo L, Von Roenn K, Byrne R, Munoz L, Rosseau GL, Glick R, Lichtor T and DiSavino E. (2002). Oncogene, 21, 7164-7174.

10

Fleming TP, Saxena A, Clark WC, Robertson JT, Oldfield EH, Aaronson SA and Ali U.

(1992). Cancer Res., 52, 4550-4553.

Frederick L, Wang XY, Eley G and James CD. (2000). Ann. of Intern. Med., 138, 659-658. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. (1990) J. Mol. Biol. 215 (3), 403-10.

Godard S, Getz G, Delorenzi M, Farmer P, Kobayashi H, Desbaillets I, Michimasa N, Diserens AC, Hamou MF, Dietrich PY, Regli L, Janzer RC, Bucher P, Stupp R, de Tribolet N, Domany E and Hegi ME. (2003). Cancer Res., 63, 6613-6625.

20

Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, Huard C, Gaasenbeek M, Mesirov JP, Coller H, Loh ML, Downing JR, Caligiuri MA, Bloomfield CD, Lander ES. (1999) Science 286, 531-37.

Hermanson M, Funa K, Koopman J, Maintz D, Waha A, Westermark, B., Heldin, CH, Wiestler, OD, Louis DN, von Deimling A and Nister M. (1996). Cancer Res., 56, 164-171.

30

Hermanson MK, Funa M, Hartman L, Claesson-Welsh CH, Heldin B, Westermark and Nister M. (1992). Cancer Res., 52, 3213-3219.

Hill JR, Kuriyama N, Kuriyama H and Israel MA. (1999). Arch. Neurol., 56, 439-441.

James CD, He J, Carlbom E, Nordenskjold M, Cavenee WK and Collins VP. (1991). Cancer Res., 51, 1684-1688.

Kleihues P and Ohgaki H. (1999). Neurooncol., 1, 44-51.

Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorke LB, Reifenberger G, Burger PC and Cavenee WK. (2002). J. Neuropathol. Exp. Neurol., 61, 215-225.

40

Kudoh K, Ramanna M, Ravatn R, Elkahloun AG, Bittner ML, Meltzer PS, Trent JM, Daiton WS, Chin KV. (2000) Cancer Res. 60 (15), 4161-66.

Landis SH, Murray T, Bolden S and Wingo PA. (1999). Cancer J. Clin., 49, 8-31.

Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang S, Puc J, Miliarensis C, Rodgers L,

McCombie R, Bigner S, Giovanella B, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler M and

50

- d Parsons R. (1997) . Science, 275, 1943-1947.
- Liau LM, Lallone RL, Seitz RS, Buznikov A, Gregg JP, Kornblum HI, Nelson SF and Bronstein JM. (2000) . Cancer Res., 60, 1353-1360.
- Ljubimova JY, Lakhter AJ, Loksh A, Yong WH, Riedinger MS, Miner JH, Sorokin LM, Ljubimova AV and Black KL. (2001) . Cancer Res., 61, 5601-5610.
- Louis DN and Gusella JF. (1995) . Trends in Genetics, 11, 412-415. 10
- Madden TL, Tatusov RL, Zhang J. (1996) Methods Enzymol. 266, 131-41.
- Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM, Rowitch DH, Louis DN, Cavenee WK and DePinho RA. (2001) . Genes Dev., 15, 1311-1333.
- Maxwell M, Naber SP, Wolfe HJ, Galanopoulos T, Hedley-Whyte ET, Black P and Antoniadis N. (1990) . J. Clin. Invest., 85, 131-40.
- Mischel PS and Vinters HV. (2001) . (Ed. Liau, L.M.e.a.) Humana Press; Totowa, N J, pp. 3-45. 20
- Nagane M, Su Huang HJ and Cavenee WK. (1997) . Curr. Opin. Oncol., 9, 215-222.
- Nutt CL, Mani DR, Betensky RA, Tamayo P, Cairncross JG, Ladd C, Pohl U, Hartmann C, McLaughlin ME, Batchelor TT, Black PM, von Deimling A, Pomeroy SL, Golub TR and Louis DN. (2003) . Cancer Res., 63, 1602-1607.
- Olopade OI, Jenkins RB, Ransom DT, Malik K, Pomykala H, Nobori T, Cowan JM, Rowley JD and Diaz MO. (1992) . Cancer Res., 52, 2523-2529. 30
- Phatak P, Kalai Selvi S, Divya T, Hegde AS, Hegde S and Somasundaram K. (2002) . J. Bioscience, 27, 673-686.
- Rickman DS, Bobek MP, Misek DE, Kuick R, Blaivas M, Kurnit DM, Taylor J and Hanash SM. (2001) . Cancer Res., 61, 6885-6891.
- Sallinen SL, Sallinen PK, Haapasalo HK, Helin HJ, Helen PT, Schraml P, Kallionie mi OP and Kononen J. (2000) . Cancer Res., 60, 6617-6622. 40
- Schmidt MC, Antweiler S, Urban N, Mueller W, Kuklik A, Meyer-Puttlitz B, Wiestler OD, Louis DN, Fimmers R and von Deimling A. (2002) J. Neuropathol. Exp. Neurol., 61, 321-328.
- Tanwar MK, Gilbert MR and Holland EC. (2002) . Cancer Res., 62, 4364-4368.
- Tews DS, Nissen A. (1998-99) Invasion Metastasis 18 (5-6) , 271-84.
- Wang H, Wang H, Shen W, Huang H, Hu L, Ramdas L, Zhou Y, Liao WSL, Fuller GN and Zhang W. (2003) . Cancer Res., 63, 4315-4321. 50

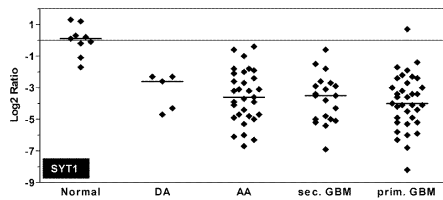
Watanabe K, Sato K, Biernat W, Tachibana O, von Ammon K, Ogata N, Yonekawa Y, Kleihues P and Ohgaki H. (1997). *Clin. Cancer Res.*, 3, 523-530.

Watson MA, Perry A, Budhjara V, Hicks C, Shannon WD and Rich KM. (2001). *Cancer Res.*, 61, 1825-1829.

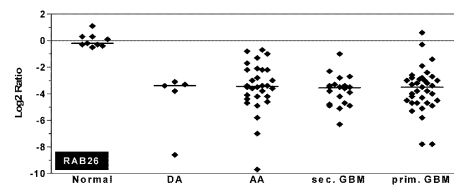
Westermarck B, Heldin CH, and Nister M. (1995). *Glia*, 15, 257-263.

Zhang, J., Madden, T. L., (1997) *Genome Res.* 7 (6), 649-56.

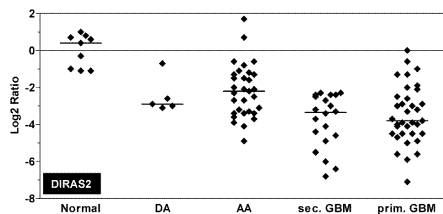
【 1 A 】



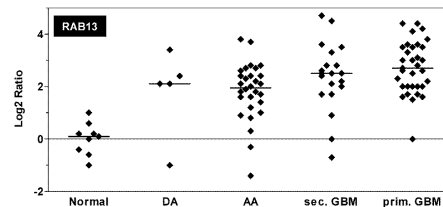
【 1 C 】



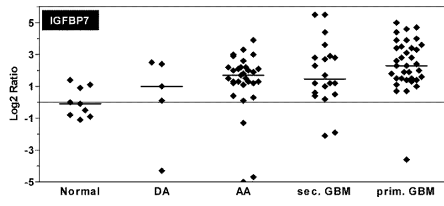
【 1 B 】



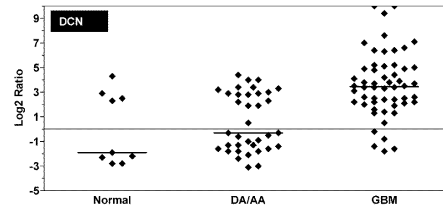
【 1 D 】



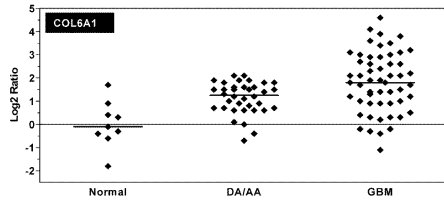
【 2 】



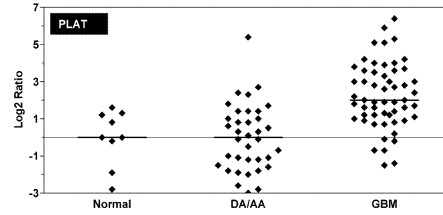
【 3 B 】



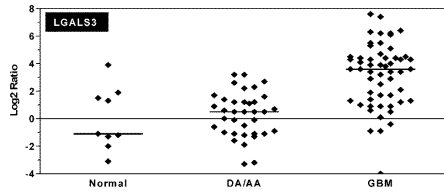
【 3 A 】



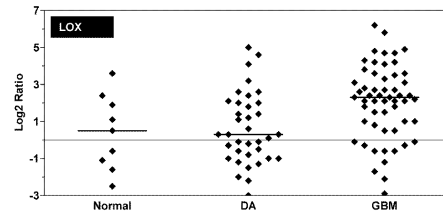
【 3 C 】



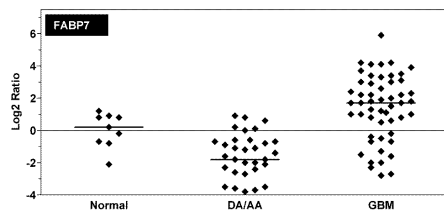
【 3 D 】



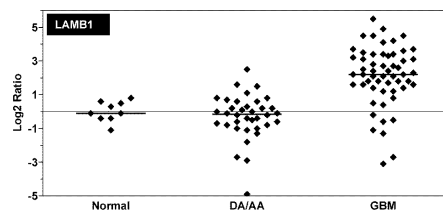
【 3 F 】



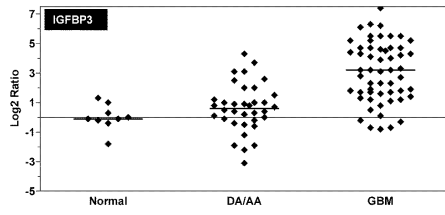
【 3 E 】



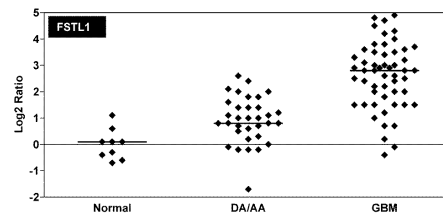
【 3 G 】



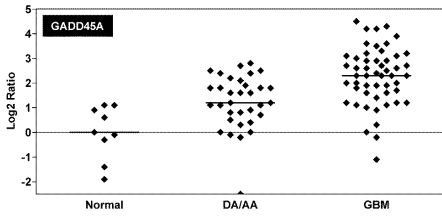
【 3 H 】



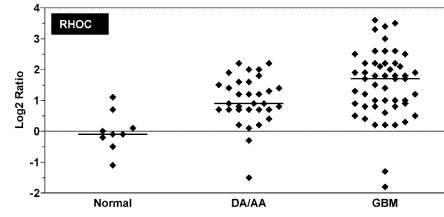
【 3 J 】



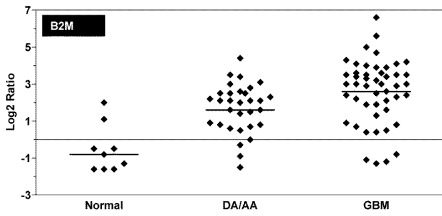
【 3 I 】



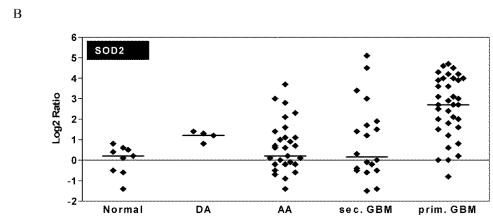
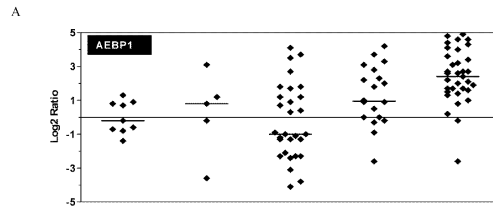
【 3 K 】



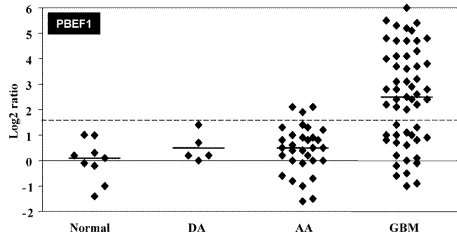
【 3 L 】



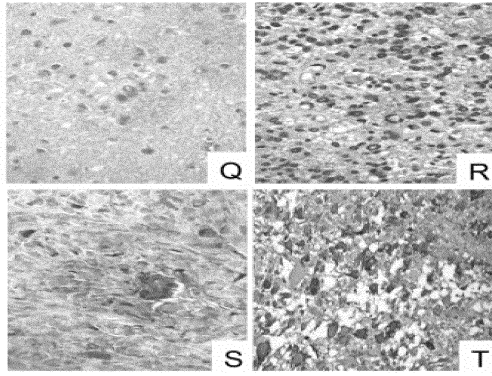
【 4 】



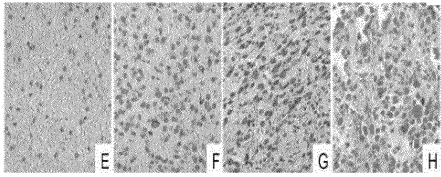
【 3 M 】



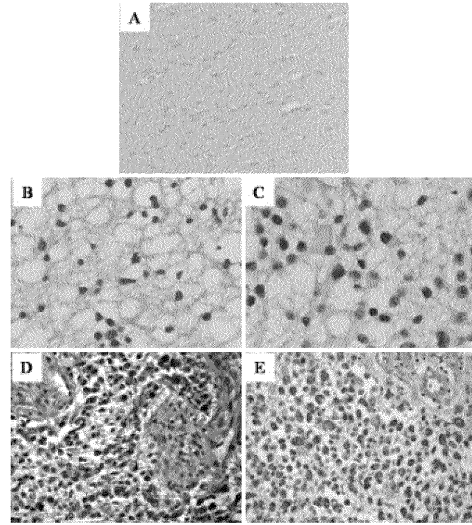
【 図 5 】



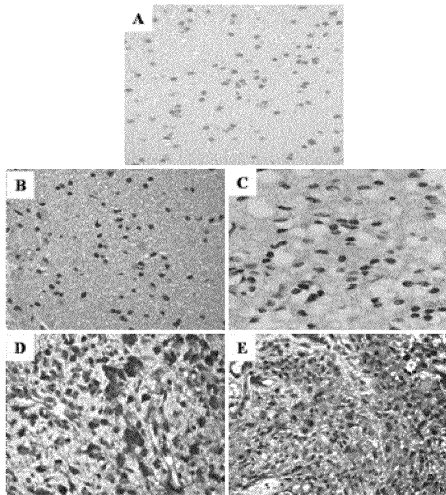
【 図 6 】



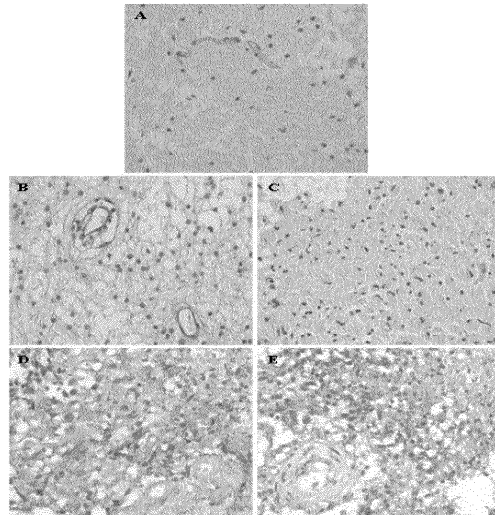
【 図 7 】



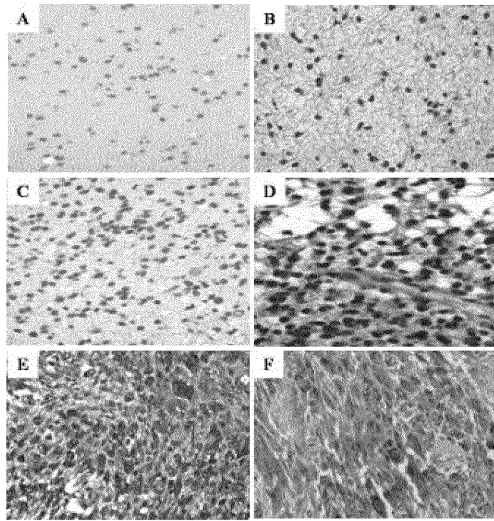
【 図 8 】



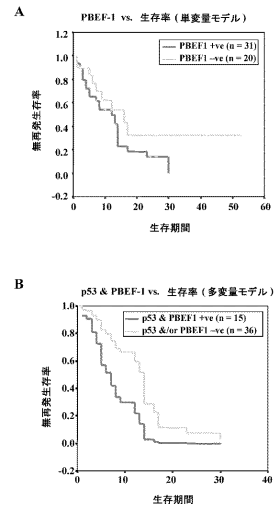
【 図 9 】



【図 10】



【図 11】



【配列表】

0005738599000001.xml

フロントページの続き

- (72)発明者 ソマサンドラム、クマラベル
インド国、バンガロール、560 012、インディアン インスティテュート オブ サイエンス内
- (72)発明者 コンダイア、パツール
インド国、バンガロール、560 012、インディアン インスティテュート オブ サイエンス内
- (72)発明者 サントス、パニ
インド国、バンガロール、560 029、ナショナル インスティテュート オブ メンタルヘルス アンド ニューロ、サイエンス内
- (72)発明者 バラスブラマニラム、アナンド
インド国、バンガロール、560 029、ナショナル インスティテュート オブ メンタルヘルス アンド ニューロ、サイエンス内
- (72)発明者 ヘドゲ、アランガル、サティヤランジャンダス
インド国、バンガロール、560 066、スリ サティヤ サイ インスティテュート オブ ハイヤー メディカル サイエンス内
- (72)発明者 チャンドラモウリ、アシュワテナラヤナラオ
インド国、バンガロール、560 029、ナショナル インスティテュート オブ メンタルヘルス アンド ニューロ、サイエンス内
- (72)発明者 ラオ、マンチャナハリ、ランガスワミ、サチャナラヤナ
インド国、バンガロール、560 064、ジャワハル ラール ネルー センター フォー アドバンスド サイエントフィック、リサーチ内

審査官 森井 文緒

- (56)参考文献 国際公開第2002/040716 (WO, A1)
国際公開第2007/111733 (WO, A1)
Oncogene (2005) vol.24, no.47, p.7073-7083
Neuro Oncol. (2005) vol.7, no.4, p.485-494
Glia (2007) vol.55, no.6, p.559-572
Br. J. Cancer (2001) vol.84, no.4, p.529-534

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90

PubMed

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

WPIDS/WPIX(STN)

专利名称(译)	一种鉴定和分类星形细胞瘤的方法，一种用于星形细胞瘤鉴定和分类的试剂盒		
公开(公告)号	JP5738599B2	公开(公告)日	2015-06-24
申请号	JP2010541888	申请日	2009-01-06
[标]申请(专利权)人(译)	科学与工业研究理事会		
申请(专利权)人(译)	科学和工业研究的Kaunsuiru		
当前申请(专利权)人(译)	科学和工业研究的Kaunsuiru		
[标]发明人	ソマサンドラムクマラベル コンダイアパツール サントスバニ バラスブラマニウムアナンド ヘドゲアランガルサティヤランジャンダス チャンドラモウリアシュワテナラヤナラオ ラオマンチャナハリランガスワミサチャナラヤナ		
发明人	ソマサンドラム、クマラベル コンダイア、パツール サントス、バニ バラスブラマニウム、アナンド ヘドゲ、アランガル、サティヤランジャンダス チャンドラモウリ、アシュワテナラヤナラオ ラオ、マンチャナハリ、ランガスワミ、サチャナラヤナ		
IPC分类号	C12Q1/68 C12N15/09 G01N33/53 G01N33/574		
CPC分类号	C12Q1/6886 C12Q2600/112 C12Q2600/118 C12Q2600/158		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A C12N15/00.A G01N33/53.D G01N33/574.Z		
优先权	54DEL2008 2008-01-07 IN 55DEL2008 2008-01-07 IN		
其他公开文献	JP2011508609A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及用于鉴定星形细胞瘤，其等级和胶质母细胞瘤预后的新型引物。此外，公开了一种诊断人受试者中不同等级的弥漫性星形细胞瘤和成胶质细胞瘤的存在的方法，其涉及与正常脑相比检测肿瘤组织样品中所述基因的表达水平。还公开了一种区分两种类型的胶质母细胞瘤 - 渐进性和从属型的方法。还公开了基于PBEF1基因表达的胶质母细胞瘤预后的方法，其中肿瘤样品中基因的较高表达水平表明人受试者的存活较差。所公开的组合物可用于例如星形细胞瘤的诊断，预防，治疗和/或预后。本发明还提供了用于检测和预测所述疾病的试剂盒。

