

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03814594.4

[51] Int. Cl.

C12N 15/09 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009年3月25日

[11] 授权公告号 CN 100471951C

[22] 申请日 2003.3.20 [21] 申请号 03814594.4

[30] 优先权

[32] 2002. 6. 21 [33] JP [31] 181580/2002

[86] 国际申请 PCT/JP2003/003477 2003. 3. 20

[87] 国际公布 WO2004/001037 日 2003. 12. 31

[85] 进入国家阶段日期 2004. 12. 21

[73] 专利权人 财团法人名古屋产业科学研究所

地址 日本爱知县名古屋市

[72] 发明人 山田芳司 横田充弘

[56] 参考文献

CN1060533A 1992. 4. 22

RU2182175C1 2002. 5. 10

US5955266A 1999. 9. 21

A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. . Weiss, E. J. et al. N. Engl. J. Med. , Vol. 334 No. 17. 1996

Deletion polymorphism in the gene for angiotensin - converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. . Cambien F. et al. Nature, Vol. 359 No. 6396. 1992

审查员 魏 聪

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 郭 煜 王景朝

权利要求书 6 页 说明书 90 页 附图 13 页

[54] 发明名称

检测核酸试样的基因型的方法

[57] 摘要

本发明提供高精度、预测概率高的心肌梗塞风险的诊断方法。通过包括以下步骤的方法进行心肌梗塞风险的诊断。(i)由确认与心肌梗塞相关的10个基因多态或5个基因多态中对两个以上的多态进行分析的步骤、(ii)由上述步骤得到的多态信息确定核酸试样的基因型的步骤、以及(iii)由确定的基因型求出心肌梗塞的遗传性风险的步骤。

1. 检测核酸试样的基因型的方法，该方法包括以下步骤 (a):

(a) 对核酸试样中两个以上选自以下 (1) - (10) 的多态进行分析的步骤

- (1) 连接蛋白 37 基因中碱基编号 1019 位的多态、
- (2) 肿瘤坏死因子 α 基因中碱基编号-863 位的多态、
- (3) NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因中碱基编号 242 位的多态、
- (4) 血管紧张肽原基因中碱基编号-6 位的多态、
- (5) 载脂蛋白 E 基因中碱基编号-219 位的多态、
- (6) 血小板活化因子乙酰水解酶基因中碱基编号 994 位的多态、
- (7) 载脂蛋白 C-III 基因中碱基编号-482 位的多态、
- (8) 血小板反应蛋白 4 基因中碱基编号 1186 位的多态、
- (9) 白细胞介素 10 基因中碱基编号-819 位的多态、和
- (10) 白细胞介素 10 基因中碱基编号-592 位的多态。

2. 检测核酸试样的基因型的方法，该方法包括以下步骤 (b):

(b) 对核酸试样中两个以上选自以下 (11) - (15) 的多态进行分析的步骤

- (11) 溶基质素 1 基因中碱基编号-1171 位的多态、
- (12) 纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因中碱基编号-668 位的多态、
- (13) 糖蛋白 Iba 基因中碱基编号 1018 位的多态、
- (14) 对氧磷酶基因中碱基编号 584 位的多态、
- (15) 载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态。

3. 检测核酸试样的基因型的方法，该方法包括以下步骤 (c):

(c) 对核酸试样的载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态进行分析的步骤。

4. 基因型检测用试剂盒，该试剂盒包含两种以上选自以下 (1) - (10) 的核酸:

(1) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 1019 位碱基为 C 的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 1019 位碱基为 T 的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基、

(2) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA

区包含-863位碱基为C的肿瘤坏死因子 α 基因的-863位碱基；或者具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含-863位碱基为A的肿瘤坏死因子 α 基因的-863位碱基、

(3) 具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含242位碱基为C的NADH/NADPH氧化酶p22 phox基因的242位碱基；或者具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含242位碱基为T的肿瘤坏死因子 α 基因的242位碱基、

(4) 具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含-6位碱基为G的血管紧张肽原基因的-6位碱基；或者具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含-6位碱基为A的血管紧张肽原基因的-6位碱基、

(5) 具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含-219位碱基为G的载脂蛋白E基因的-219位碱基；或者具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含-219位碱基为T的载脂蛋白E基因的-219位碱基、

(6) 具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含994位碱基为G的血小板活化因子乙酰水解酶基因的994位碱基；或者具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含994位碱基为T的血小板活化因子乙酰水解酶基因的994位碱基、

(7) 具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含-482位碱基为C的载脂蛋白C-III基因的-482位碱基；或者具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含-482位碱基为T的载脂蛋白C-III基因的-482位碱基、

(8) 具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含1186位碱基为G的血小板反应蛋白4基因的1186位碱基；或者具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含1186位碱基为C的血小板反应蛋白4基因的1186位碱基、

(9) 具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含-819位碱基为T的白细胞介素10基因的-819位碱基；或者具有与部分DNA区互补的序列的核酸，其中所述部分DNA区包含-819位碱基为C的白细胞介素10基因的-819位碱基、和

(10) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-592 位碱基为 A 的白细胞介素 10 基因的-592 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-592 位碱基为 C 的白细胞介素 10 基因的-592 位碱基。

5. 基因型检测用试剂盒, 该试剂盒包含两种以上选自以下 (11) - (15) 的核酸:

(11) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-1171 位沿 3' 方向 A 连续存在 5 个的溶基质素 1 基因的该序列部分; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-1171 位沿 3' 方向 A 连续存在 6 个的溶基质素 1 基因的该序列部分、

(12) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-668 位沿 3' 方向连续存在 4 个 G 的纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因的该序列部分; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-668 位沿 3' 方向连续存在 5 个 G 的纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因的该序列部分、

(13) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1018 位碱基为 C 的糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1018 位碱基为 T 的糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基、

(14) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 584 位碱基为 G 的对氧磷酶基因的 584 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 584 位碱基为 A 的对氧磷酶基因的 584 位碱基、

(15) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 C 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基。

6. 基因型检测用试剂盒, 该试剂盒包含以下核酸:

具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 C 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 T

的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基。

7. 固定化核酸，该固定化核酸是将两种以上选自以下(1)-(10)的核酸固定于不溶性支持物上而成：

(1) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 1019 位碱基为 C 的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 1019 位碱基为 T 的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基、

(2) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含-863 位碱基为 C 的肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含-863 位碱基为 A 的肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基、

(3) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 242 位碱基为 C 的 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的 242 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 242 位碱基为 T 的肿瘤坏死因子 α 基因的 242 位碱基、

(4) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含-6 位碱基为 G 的血管紧张肽原基因的-6 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含-6 位碱基为 A 的血管紧张肽原基因的-6 位碱基、

(5) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含-219 位碱基为 G 的载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含-219 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基、

(6) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 994 位碱基为 G 的血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 994 位碱基为 T 的血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基、

(7) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含-482 位碱基为 C 的载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含-482 位碱基为 T 的载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基、

(8) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1186 位碱基为 G 的血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1186 位碱基为 C 的血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基、

(9) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-819 位碱基为 T 的白细胞介素 10 基因的-819 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-819 位碱基为 C 的白细胞介素 10 基因的-819 位碱基、和

(10) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-592 位碱基为 A 的白细胞介素 10 基因的-592 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-592 位碱基为 C 的白细胞介素 10 基因的-592 位碱基。

8. 固定化核酸, 该固定化核酸是将两种以上选自以下(11)-(15)的核酸固定于不溶性支持物上而成:

(11) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-1171 位沿 3'方向 A 连续存在 5 个的溶基质素 1 基因的该序列部分; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-1171 位沿 3'方向 A 连续存在 6 个的溶基质素 1 基因的该序列部分、

(12) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-668 位沿 3'方向连续存在 4 个 G 的纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因的该序列部分; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-668 位沿 3'方向连续存在 5 个 G 的纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因的该序列部分、

(13) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1018 位碱基为 C 的糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1018 位碱基为 T 的糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基、

(14) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 584 位碱基为 G 的对氧磷酶基因的 584 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 584 位碱基为 A 的对氧磷酶基因的 584 位碱基、

(15) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 C 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基。

9. 固定化核酸，该固定化核酸是将具有与含 4070 位碱基为 C 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基的部分 DNA 区互补的序列的核酸；或者将具有与含 4070 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基的部分 DNA 区互补的序列的核酸固定于不溶性支持物上而成。

检测核酸试样的基因型的方法

技术领域

本发明涉及利用与心肌梗塞相关的基因的检测方法。具体地说，本发明涉及利用与心肌梗塞相关的多个基因的多态进行检测的方法以及该方法中使用的试剂盒。本发明例如可用于心肌梗塞风险的诊断。

背景技术

心肌梗塞是多因素疾病，其发病由每个人的遗传背景和各種环境因子的相互作用决定 (Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994; 330: 1041-1046.、Nora JJ, Lortscher RH, Spangler RD, Nora AH, Kimberling WJ. Genetic-epidemiologic study of early-onset ischemic heart disease. *Circulation* 1980; 61: 503-508.)。通常心肌梗塞的发病率与高血压、糖尿病、高脂血症等传统的危险因子的数成比例增高 (Nora JJ, Lortscher RH, Spangler RD, Nora AH, Kimberling WJ. Genetic-epidemiologic study of early-onset ischemic heart disease. *Circulation* 1980; 61: 503-508.)。这些危险因子本身也是部分受遗传因素控制，但家族史是独立的心肌梗塞的预测因子，这显示出除了传统的危险因子之外，还存在着心肌梗塞易感因子 (Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994; 330: 1041-1046.)。并且也有完全不具传统的危险因子也发生心肌梗塞的例子，这也显示与遗传因子相关。

在欧美各国，心肌梗塞是死亡率最高的疾病，即使未致死，也会并发心衰、心绞痛、难治性心律不齐，使患者的生活质量显著降低，因此预防该疾病自然是非常重要的。预防心肌梗塞的方法之一是鉴定心肌梗塞易感基因。通过连锁分析 (Broeckel U, Hengstenberg C, Mayer B 等人. A comprehensive linkage analysis for myocardial infarction and its related risk factors. *Nature genet* 2002;

30: 210-214.)和候选基因的相关分析(Cambien F, Poirier O, Lecerf L 等人. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. Nature 1992; 359: 641-644.、Weiss EJ, Bray PF, Tayback M 等人. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. N Engl J Med 1996; 334: 1090-1094.、Iacoviello L, Di Castelnuovo A, De Knijff P 等人. Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. N Engl J Med 1998; 338: 79-85.、Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH 等人. The role of a common variant of the cholesterol ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. N Engl J Med 1998; 338: 86-93.), 鉴定出了与心肌梗塞相关的染色体上的基因座和几个候选基因组。目前, 通过基因组流行病学研究, 已报道了血管紧张肽转化酶(Cambien F, Poirier O, Lecerf L 等人. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. Nature 1992; 359: 641-644.)、血小板糖蛋白 IIIa (Weiss EJ, Bray PF, Tayback M 等人. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. N Engl J Med 1996; 334: 1090-1094.)、第七凝血因子、胆固醇酯转移蛋白 (Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH 等人. The role of a common variant of the cholesterol ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. N Engl J Med 1998; 338: 86-93.) 等基因多态与心肌梗塞的相关性, 但也有相反的报告, 尚未得到定论。并且, 不同人种具有不同的基因组多态, 因此构建各人种的多态与心肌梗塞相关性的数据库是很重要的。

发明内容

如上所述, 目前已进行了很多基因多态与冠状动脉疾病或心肌梗塞的相关分析。但是对于很多研究, 从其意义上来讲并未得到一致的结论。主要原因是很多研究中的对象集团的规模不够、以及不只是基因多态, 环境因素在人种间也不同而引起的。并且, 即使认为与心肌

梗塞相关，通常在大规模集团中的分析中，其相对危险度（让步比）也低。

本发明是鉴于上述背景而提出的，其目的在于提供高精度、预测概率高的心肌梗塞的遗传性风险的诊断方法，为心肌梗塞的初级预防做出贡献。

本发明人为了实现上述目的，采用多种公开数据库，筛选出推测与冠状动脉硬化、冠状动脉痉挛、高血压、糖尿病、高脂血症等相关的 71 种基因，以推测与基因机能变化相关的基因型等为中心，选择了 112 个多态。接着，对该 71 种基因 112 个多态进行了超过 5000 例的大规模相关分析。结果，成功地在男性中鉴定出 10 个、在女性中鉴定出 5 个与心肌梗塞相关的 SNP（单核苷酸多态）。并进一步将这些多态组合使用，通过多因素逻辑回归分析的逐步顺向选择（stepwise forward selection），验证在男性中最大让步比为 11.26，女性中最大让步比为 88.51。由该结果得到以下认识：从这些 SNP 中选择多个 SNP，各 SNP 进行分析，将分析结果组合使用，则可进行可靠性高、预测概率高的心肌梗塞风险的诊断。而对于女性中证实与心肌梗塞相关的 5 个 SNP 中的一个，通过单独对其多态进行分析，也得到了极高的让步比。本发明基于以上认识完成，提供如下内容。

[1] 检测核酸试样的基因型的方法，该方法包括以下步骤（a）：

（a）对核酸试样中两个以上选自以下（1）-（10）的多态进行分析的步骤

- （1）连接蛋白 37 基因中碱基编号 1019 位的多态、
- （2）肿瘤坏死因子 α 基因中碱基编号-863 位的多态、
- （3）NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因中碱基编号 242 位的多态、
- （4）血管紧张肽原基因中碱基编号-6 位的多态、
- （5）载脂蛋白 B 基因中碱基编号-219 位的多态、
- （6）血小板活化因子乙酰水解酶基因中碱基编号 994 位的多态、
- （7）载脂蛋白 C-III 基因中碱基编号-482 位的多态、
- （8）血小板反应蛋白 4 基因中碱基编号 1186 位的多态、
- （9）白细胞介素 10 基因中碱基编号-819 位的多态、和
- （10）白细胞介素 10 基因中碱基编号-592 位的多态。

[2] 检测核酸试样的基因型的方法，该方法包括以下步骤（b）：

(b) 对核酸试样中两个以上选自以下 (11) - (15) 的多态进行分析的步骤

- (11) 溶基质素 1 基因中碱基编号-1171 位的多态、
- (12) 纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因中碱基编号-668 位的多态、
- (13) 糖蛋白 Iba 基因中碱基编号 1018 位的多态、
- (14) 对氧磷酶基因中碱基编号 584 位的多态、以及
- (15) 载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态。

[3] 检测核酸试样的基因型的方法, 该方法包括以下步骤 (c):

(c) 对核酸试样的载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态进行分析的步骤。

[4] 心肌梗塞风险的诊断方法, 该方法包括以下步骤 (i) - (iii):

(i) 对核酸试样中两个以上选自以下 (1) - (10) 的多态进行分析的步骤

- (1) 连接蛋白 37 基因中碱基编号 1019 位的多态、
- (2) 肿瘤坏死因子 α 基因中碱基编号-863 位的多态、
- (3) NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因中碱基编号 242 位的多态、
- (4) 血管紧张肽原基因中碱基编号-6 位的多态、
- (5) 载脂蛋白 E 基因中碱基编号-219 位的多态、
- (6) 血小板活化因子乙酰水解酶基因中碱基编号 994 位的多态、
- (7) 载脂蛋白 C-III 基因中碱基编号-482 位的多态、
- (8) 血小板反应蛋白 4 基因中碱基编号 1186 位的多态、
- (9) 白细胞介素 10 基因中碱基编号-819 位的多态、和
- (10) 白细胞介素 10 基因中碱基编号-592 位的多态;

(ii) 由上述步骤得到的多态信息确定核酸试样的基因型的步骤; 和

(iii) 由确定的基因型求出心肌梗塞的遗传性风险的步骤。

[5] 心肌梗塞风险的诊断方法, 该方法包括以下步骤 (iv) - (vi):

(iv) 对核酸试样中两个以上选自以下 (11) - (15) 的多态进行分析的步骤

- (11) 溶基质素 1 基因中碱基编号-1171 位的多态、

(12) 纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因中碱基编号-668 位的多态、

(13) 糖蛋白 Iba 基因中碱基编号 1018 位的多态、

(14) 对氧磷酶基因中碱基编号 584 位的多态、

(15) 载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态;

(v) 由上述步骤得到的多态信息确定核酸试样的基因型的步骤; 和

(vi) 由确定的基因型求出心肌梗塞的遗传性风险的步骤。

[6] 心肌梗塞风险的诊断方法, 该方法包括以下步骤 (vii) - (ix):

(vii) 对核酸试样的载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态进行分析的步骤;

(viii) 由上述步骤得到的多态信息确定核酸试样的基因型的步骤; 和

(ix) 由确定的基因型求出心肌梗塞的遗传性风险的步骤。

[7] 基因型检测用试剂盒, 该试剂盒包含两种以上选自以下 (1) - (10) 的核酸:

(1) 用于分析连接蛋白 37 基因中碱基编号 1019 位的多态的核酸、

(2) 用于分析肿瘤坏死因子 α 基因中碱基编号-863 位的多态的核酸、

(3) 用于分析 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因中碱基编号 242 位的多态的核酸、

(4) 用于分析血管紧张肽原基因中碱基编号-6 位的多态的核酸、

(5) 用于分析载脂蛋白 E 基因中碱基编号-219 位的多态的核酸、

(6) 用于分析血小板活化因子乙酰水解酶基因中碱基编号 994 位的多态的核酸、

(7) 用于分析载脂蛋白 C-III 基因中碱基编号-482 位的多态的核酸、

(8) 用于分析血小板反应蛋白 4 基因中碱基编号 1186 位的多态的核酸、

(9) 用于分析白细胞介素 10 基因中碱基编号-819 位的多态的核酸、和

(10) 用于分析白细胞介素 10 基因中碱基编号-592 位的多态的核酸。

[8] 基因型检测用试剂盒, 该试剂盒包含两种以上选自以下(11)-(15)的核酸:

(11) 用于分析溶基质素 1 基因中碱基编号-1171 位的多态的核酸、

(12) 用于分析纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因中碱基编号-668 位的多态的核酸、

(13) 用于分析糖蛋白 Iba 基因中碱基编号 1018 位的多态的核酸、

(14) 用于分析对氧磷酶基因中碱基编号 584 位的多态的核酸、和

(15) 用于分析载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态的核酸。

[9] 基因型检测用试剂盒, 该试剂盒包含用于分析载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态的核酸。

[10] 固定化核酸, 该固定化核酸是将两种以上选自以下(1)-(10)的核酸固定于不溶性支持物上而成:

(1) 用于分析连接蛋白 37 基因中碱基编号 1019 位的多态的核酸、

(2) 用于分析肿瘤坏死因子 α 基因中碱基编号-863 位的多态的核酸、

(3) 用于分析 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因中碱基编号 242 位的多态的核酸、

(4) 用于分析血管紧张肽原基因中碱基编号-6 位的多态的核酸、

(5) 用于分析载脂蛋白 E 基因中碱基编号-219 位的多态的核酸、

(6) 用于分析血小板活化因子乙酰水解酶基因中碱基编号 994 位的多态的核酸、

(7) 用于分析载脂蛋白 C-III 基因中碱基编号-482 位的多态的核酸、

(8) 用于分析血小板反应蛋白 4 基因中碱基编号 1186 位的多态的核酸、

(9) 用于分析白细胞介素 10 基因中碱基编号-819 位的多态的核酸、和

(10) 用于分析白细胞介素 10 基因中碱基编号-592 位的多态的核酸。

[11] 固定化核酸，该固定化核酸是将两种以上选自以下 (11) - (15) 的核酸固定于不溶性支持物上而成：

(11) 用于分析溶基质素 1 基因中碱基编号-1171 位的多态的核酸、

(12) 用于分析纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因中碱基编号-668 位的多态的核酸、

(13) 用于分析糖蛋白 Iba 基因中碱基编号 1018 位的多态的核酸、

(14) 用于分析对氧磷酶基因中碱基编号 584 位的多态的核酸、

(15) 用于分析载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态的核酸。

[12] 固定化核酸，该固定化核酸是将用于分析载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态的核酸固定于不溶性支持物上而成。

附图说明

图 1 是将实施例的筛选相关分析中所研究的 112 个基因多态进行汇总的表。

图 2 同样是将实施例的筛选相关分析中所研究的 112 个基因多态进行汇总的表。

图 3 是将实施例中为确定基因型而使用的引物(由上依次为 SEQ ID NO. 30、31、32、21、22、23、15、16、17、24、25、26、18、19、20、33、34、35、42、43、44)、探针(由上依次为 SEQ ID NO. 59、60)和其它条件汇总的表。图中，FITC 表示异硫氰酸荧光素，TxR 表示德克萨斯红。

图 4 同样是将实施例中为确定基因型而使用的引物(由上依次为 SEQ ID NO. 27、28、29、39、40、41、36、37、38、53、54、55、56、57、58、48、49、45、46、47、50、51、52)、探针(由上依次为 SEQ ID NO. 61、62、63、64)和其它条件汇总的表。图中，FITC 表示异硫氰酸荧光素，TxR 表示德克萨斯红。

图 5 是将实施例的筛选相关分析中 909 例对象的背景汇总的表。年龄和体重指数的数据以平均 ± 标准偏差表示。表中，*1 表示 $P=0.0278$ ，*2 表示相对于对照 $P<0.0001$ 。

图 6 是将实施例的筛选相关分析中认为与心肌梗塞相关的基因多态汇总的表。

图 7 是将实施例中进行相关分析的 5061 例全体对象的背景进行汇总的表。年龄和体重指数的数据以平均 ± 标准偏差表示。表中，*1 表示 $P=0.022$ ，*2 表示 $P<0.001$ ，*3 表示 $P=0.017$ 。

图 8 是将实施例中进行相关分析的 5061 例全体对象中认为与心肌梗塞相关的基因多态的基因型分布汇总的表。

图 9 是表示实施例中进行相关分析的 5061 例全体对象的基因多态与心肌梗塞的多因素逻辑回归分析结果的表。表中，OR 表示让步比，CI 表示可信区间。

图 10 是表示对与心肌梗塞相关的基因多态进行多因素逻辑回归分析的逐步顺向选择法所得结果的表。表中，CI 表示可信区间。

图 11 是表示使用男性的 5 种组合基因多态诊断心肌梗塞的遗传性风险（发病风险）的结果的表。

图 12 是表示使用女性的 5 种组合基因多态诊断心肌梗塞的遗传性风险（发病风险）的结果的表。

图 13 是表示组合的基因多态数目与罹患心肌梗塞的让步比的关系的图。(A) 是以男性为对象的情形，(B) 是以女性为对象的情形。

实施发明的最佳方式

本发明的第一方面涉及核酸试样的基因型的检测方法，其中一个实施方案的特征是包含对两种以上选自以下 (1) - (10) 的多态进行分析的步骤。作为另一实施方案，其特征是包含对两种以上选自以下 (11) - (15) 的多态进行分析的步骤。作为再一方案，其特征是至少包含对以下 (15) 的多态进行分析的步骤。另外，由以上步骤的结果得到的多态信息确定核酸试样的基因型，由此可求出心肌梗塞的遗传性风险。

(1) 连接蛋白 37 (Connexin 37) 基因中碱基编号 1019 位的多态：1019C→T (以下也称为“连接蛋白 37 (1019C→T) 多态”)

(2) 肿瘤坏死因子 α 基因 (Tumor necrosis factor- α) 中碱基

编号-863 位的多态: -863C→A (以下也称为“TNF α (-863C→A) 多态”)

(3) NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox (NADH/NADPH oxidase p22 phox) 基因中碱基编号 242 位的多态: 242C→T (以下也称为“NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox (242C→T) 多态”)

(4) 血管紧张肽原 (Angiotensinogen) 基因中碱基编号-6 位的多态: -6G→A (以下也称为“血管紧张肽原 (-6G→A) 多态”)

(5) 载脂蛋白 E (Apolipoprotein E) 基因中碱基编号-219 位的多态: -219G→T (以下也称为“ApoE-219 (-219G→T) 多态”)

(6) 血小板活化因子乙酰水解酶 (Platelet-activating factor acetylhydrolase) 基因中碱基编号 994 位的多态: 994G→T (以下也称为“PAF 乙酰水解酶 (994G→T) 多态”)

(7) 载脂蛋白 C-III (Apolipoprotein C-III) 基因中碱基编号 -482 位的多态: -482C→T (以下也称为“ApoC-III (-482C→T) 多态”)

(8) 血小板反应蛋白 4 (Thrombospondin 4) 基因中碱基编号 1186 位的多态: 1186G→C (以下也称为“TSP4 (1186G→C) 多态”)

(9) 白细胞介素 10 (Interleukin-10) 基因中碱基编号-819 位的多态: -819T→C (以下也称为“IL-10 (-819T→C) 多态”)

(10) 白细胞介素 10 (Interleukin-10) 基因中碱基编号-592 位的多态: -592A→C (以下也称为“IL-10 (-592A→C) 多态”)

(11) 溶基质素 1 (Stromelysin-1) 基因中碱基编号-1171 位的多态: -1171/5A→6A (以下也称为“溶基质素 1 (-1171/5A→6A) 多态”)

(12) 纤溶酶原活化因子抑制剂 1 (Plasminogen activator inhibitor-1) 基因中碱基编号-668 位的多态: -668/4G→5G (以下也称为“PAI1 (-668/4G→5G) 多态”)

(13) 糖蛋白 Iba (Glycoprotein Iba) 基因中碱基编号 1018 位的多态: 1018C→T (以下也称为“糖蛋白 Iba (1018C→T) 多态”)

(14) 对氧磷酶 (Paraoxonase) 基因中碱基编号 584 位的多态: 584G→A (以下也称为“对氧磷酶 (584G→A) 多态”)

(15) 载脂蛋白 E (Apolipoprotein E) 基因中碱基编号 4070 位的多态: 4070C→T (以下也称为“ApoE (4070C→T) 多态”。

以上, 诸如 1019C→T 的标记是指该碱基编号位置的多态包含箭

头前或后的碱基两种基因型。不过，-1171/5A→6A 是指包含由碱基编号-1171 位沿 3'方向 A (腺嘌呤) 连续存在 5 个的基因型和存在 6 个的基因型的多态。同样，-668/4G→5G 是指包含由碱基编号-668 位沿 3'方向 G (鸟嘌呤) 连续存在 4 个的基因型和存在 5 个的基因型的多态。

各基因中的碱基编号是以登记于公共数据库 GenBank (NCBI) 的公知序列为基准表示的。另外，SEQ ID NO.1 的碱基序列 (登记号 M96789: 人类连接蛋白 37 (GJA4) mRNA, 完全编码序列) 中, 第 1019 号碱基相当于连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基。同样, SEQ ID NO.2 的碱基序列 (登记号 L11698: 人类肿瘤坏死因子 α 基因, 启动子区) 中, 第 197 号碱基相当于肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基; SEQ ID NO.3 的碱基序列 (登记号 M61107: 人类细胞色素 b 轻链 (CYBA) 基因, 外显子 3 和 4) 中, 第 684 号碱基相当于 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的 242 位碱基; SEQ ID NO.4 的碱基序列 (登记号 X15323: 人类血管紧张肽原基因 5'区和外显子 1) 中, 第 463 号碱基相当于血管紧张肽原基因的-6 位碱基; SEQ ID NO.5 的碱基序列 (登记号 AF055343: 人类载脂蛋白 E (APOE) 基因, 5'调节区, 部分序列) 中, 第 801 号碱基相当于载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基; SEQ ID NO.6 的碱基序列 (登记号 U20157: 人血小板活化因子乙酰水解酶 mRNA, 完全编码序列) 中, 第 996 号碱基相当于血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基; SEQ ID NO.7 的碱基序列 (登记号 X13367: 人载脂蛋白 C-III DNA 5'-侧翼) 中, 第 936 号碱基相当于载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基; SEQ ID NO.8 的碱基序列 (登记号 Z19585: 人类血小板反应蛋白-4 的 mRNA) 中, 第 1186 号碱基相当于血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基; SEQ ID NO.9 的碱基序列 (登记号 Z30175: 人类白细胞介素 10 的 IL-10 基因 (启动子)) 中, 第 455 号碱基相当于白细胞介素 10 基因的-819 位碱基、第 682 号碱基相当于-592 位碱基; SEQ ID NO.10 的碱基序列 (登记号 U43511: 人类溶基质素-1 基因, 启动子区) 中, 第 698 号碱基相当于溶基质素 1 基因的-1171 位碱基; SEQ ID NO.11 的碱基序列 (登记号 X13323: 人纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因 (PAI-1), 5'侧翼和外显子 1) 中, 第 131 号碱基相当于纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因的-668 位碱基; SEQ ID NO.12 的碱基序列 (登

记号 J02940: 人血小板糖蛋白 Iba 链 mRNA, 完全编码序列) 中, 第 524 号碱基相当于糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基; SEQ ID NO. 13 的碱基序列 (登记号 M63012: 人类血清对氧磷酶 (PON) mRNA, 完全编码序列) 中, 第 584 号碱基相当于对氧磷酶基因的 584 位碱基; SEQ ID NO. 14 的碱基序列 (登记号 M10065: 人载脂蛋白 E (ϵ -4 等位基因) 基因, 完全编码序列) 中, 第 4070 号碱基相当于载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基。

本发明中, “对多态进行分析” 是指对于分析对象的基因多态, 研究核酸试样具有什么样的基因型, 这与研究多态存在位置的碱基 (碱基序列) 是相同意思。典型的有, 例如以对连接蛋白 37 (1019C→T) 多态进行分析为例, 是指研究核酸试样的连接蛋白 37 的基因型为 TT (1019 位碱基是两个等位基因均为 T 的同源接合体)、CT (1019 位碱基是 C 等位基因与 T 等位基因的异源接合体) 和 CC (1019 位碱基是两个等位基因均为 C 的同源接合体) 中的哪一种。

如后述实施例所示, 上述 (1) - (10) 的多态是在以日本男性为对象的分析中, 被认为对用于判定心肌梗塞的遗传性风险特别有效的多态。因此, 以这些多态作为分析对象, 在受检者为男性、特别是日本男性时, 可以进行更高精度、预测概率高的诊断。

同样, 如后述实施例所示, 上述 (11) - (15) 的多态是在以日本女性为对象的分析中, 被认为对用于判定心肌梗塞的遗传性风险有效的多态。因此, 以这些多态作为分析对象, 在受检者为女性、特别是日本女性时, 可以进行更高精度、预测概率高的诊断。如后述实施例所示, 对于这些多态中 (15) 的多态, 通过对其进行分析, 确认可以以极高的让步比判别心肌梗塞的遗传性风险。因此, 通过单独分析该多态, 也可以高精度且预测概率高地判定心肌梗塞的遗传性风险。当然, 除该 (15) 的多态分析之外, 通过与选自 (11) - (14) 中任意一个或多个多态的分析组合实施, 也可以进行基因型的检测或心肌梗塞遗传性风险的诊断。

这里, 原则上, 与所分析的多态数的增加成比例, 可以将核酸试样的基因型更细地分类, 由此可进行预测概率更高的心肌梗塞遗传性风险的诊断。由所述认识可知, 优选在上述 (1) - (10) 的多态中对更多的多态进行分析并检测基因型。因此, 最优选对 (1) - (10) 的

所有多态进行分析。将九个以下的多态组合进行基因型的检测时，优先选择使用后述实施例所示的让步比高的多态。例如，如果将八个多态组合使用，则按照让步比高的顺序优先选择九个，即(1)、(3)、(5)、(6)、(7)、(8)、(9)和(10)。同样，如果将七个多态组合使用，则优先选择(1)、(3)、(5)、(6)、(8)、(9)和(10)。同样，例如将六个多态组合使用，则优先选择(1)、(5)、(6)、(8)、(9)和(10)。同样，例如将五个多态组合使用，则优先选择(1)、(5)、(6)、(8)和(9)。

对两个以上选自(11)-(15)的多态进行分析时也同样，最优选对它们的所有多态，即5个多态进行分析。将四个以下的多态组合进行基因型检测时，优先选择使用后述实施例所示的让步比高的多态。例如如果将四个多态组合使用，则按照让步比高的顺序优先选择四个，即(11)、(12)、(14)和(15)。同样，例如如果将三个多态组合使用，则优先选择(11)、(12)和(15)。同样，例如将两个多态组合使用，则优先选择(11)和(15)。

对各基因多态进行分析的方法并没有特别限定，例如可以采用如下公知的方法：使用等位基因特异性引物(和探针)，通过PCR扩增，以及通过荧光或发光对扩增产物的多态进行分析的方法；利用PCR(聚合酶链反应)法的PCR-RFLP(restriction fragment length polymorphism: 限制性片段长度多态性)法、PCR-SSCP(single strand conformation polymorphism: 单链构象多态性)法(Orita, M.等人., Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A., 86, 2766-2770(1989)等)、PCR-SSO(specific sequence oligonucleotide: 特异性序列寡核苷酸)法、PCR-SSO法与斑点杂交法组合的ASO(allele specific oligonucleotide: 等位基因特异性寡核苷酸)杂交法(Saiki, Nature, 324, 163-166(1986)等)、或TaqMan-PCR法(Livak, KJ, Genet Anal, 14, 143(1999), Morris, T.等人., J. Clin. Microbiol., 34, 2933(1996));或侵袭(invader)法(Lyamichev V等人., Nat Biotechnol, 17, 292(1999))、使用引物延伸法的基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法(MALDI-TOF/MS(matrix))(Haff LA, Smirnov IP, Genome Res 7, 378(1997))、RCA(rolling cycle amplification: 滚环扩增)法(Lizardi PM等人., Nat Genet 19, 225(1998))、使用DNA

芯片或微阵列的方法 (Wang DG 等人., Science 280, 1077 (1998) 等)、引物延伸法、DNA 印迹杂交法、斑点杂交法 (Southern. E., J. Mol. Biol. 98, 503-517 (1975)) 等。还可以通过对分析对象的多态部分直接测序进行分析。另外, 还可以将这些方法任意组合进行多态分析。

核酸试样量少的情况下, 从检测灵敏度和精度方面考虑, 优选通过利用 PCR 法的方法 (例如 PCR-RFLP 法) 进行分析。另外也可以通过 PCR 法或应用 PCR 法的方法等基因扩增法, 预先扩增核酸试样 (包括扩增核酸试样的部分区), 然后使用上述任意的分析方法。

另一方面, 对大量核酸试样进行分析时, 特别优选使用等位基因特异性 PCR 法、等位基因特异性杂交法、TaqMan-PCR 法、侵入法、使用引物延伸法的 MALDI-TOF/MS (matrix) 法、RCA (滚环扩增) 法或使用 DNA 芯片或微阵列的方法等可用比较短的时间分析大量检体的分析方法。

以上的方法中, 可使用适合各方法的引物、探针等核酸 (本发明中也称为“用于多态分析的核酸”)。用于多态分析的核酸的例子包括: 对于含有分析对象多态的基因, 具有与包含该多态位点的一定区域 (部分 DNA 区) 互补的序列的核酸。另外还有: 对于含有分析对象多态的基因, 设计为具有与包含该多态位点的一定区域 (部分 DNA 区) 互补的序列、可特异性扩增含有该多态部分的 DNA 片段的核酸 (引物)。例如连接蛋白 37 基因的多态为分析对象时, 具有与含有 1019 位碱基为 C (胞嘧啶) 的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基的部分 DNA 区互补的序列的核酸, 或者具有与含有 1019 位碱基为 T (胸腺嘧啶) 的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基的部分 DNA 区互补的序列的核酸就属于这样的核酸。

用于多态分析的核酸的其它具体例子有: 只在分析对象的多态位点为任意一种基因型时, 设计为特异性扩增含有该多态位点的部分 DNA 区的核酸组 (set)。更具体地说, 例如, 设计为特异性扩增包含分析对象多态位点的部分 DNA 区的核酸组, 且包含有义引物和反义引物的核酸组, 其中所述有义引物与多态位点为任意一种基因型的反义链中含有该多态位点的部分 DNA 区特异性杂交, 所述反义引物与有义链的部分区域特异性杂交。作为这样的核酸组, 当连接蛋白 37 基因的多态为分析对象时, 有设计为特异性扩增包含连接蛋白 37 基因

的 1019 位碱基的部分 DNA 区的核酸组，该核酸组：包含在 1019 位碱基为 C（胞嘧啶）的连接蛋白 37 基因的反义链中，与含有 1019 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物和与有义链的部分区域特异性杂交的反义引物的核酸组；或包含在 1019 位碱基为 T（胸腺嘧啶）的连接蛋白 37 基因的反义链中，与含有 1019 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物和与有义链的部分区域特异性杂交的反义引物的核酸组。这里，扩增的部分 DNA 区的长度可在适合其检测的范围内适当设定，例如 50 bp-200 bp，优选 80 bp-150 bp。更具体地说，可例举具有以下序列的引物作为用于分析连接蛋白 37（1019C→T）多态的核酸组。以下序列的下划线部分表示与多态对应的部分。另外，序列中的 N 是指 A、T、C 和 G 的任意一个。

有义引物

CTCAGAATGGCCAAAANCC: SEQ ID NO.15 或

CCTCAGAATGGCCAAAANTC: SEQ ID NO.16

反义引物

GCAGAGCTGCTGGGACGA: SEQ ID NO.17

同样，作为用于 TNF α （-863C→A）多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

反义引物

GGCCCTGTCTTCGTTAANGG: SEQ ID NO.18 或

ATGGCCCTGTCTTCGTTAANTG: SEQ ID NO.19

有义引物

CCAGGGCTATGGAAGTCGAGTATC: SEQ ID NO.20

同样，作为用于 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox（242C→T）多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

反义引物

ACCACGGCGGTCATGNGC: SEQ ID NO.21 或

ACCACGGCGGTCATGNAC: SEQ ID NO.22

有义引物

GCAGCAAAGGAGTCCCGAGT: SEQ ID NO. 23

同样，作为用于血管紧张肽原（-6G→A）多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

反义引物

CGGCAGCTTCTTCCCNCG: SEQ ID NO. 24 或

CGGCAGCTTCTTCCCTG: SEQ ID NO. 25

有义引物

CCACCCCTCAGCTATAAATAGG: SEQ ID NO. 26

同样，作为用于 ApoE（-219G→T）多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

GAATGGAGGAGGGTGTCTNGA: SEQ ID NO. 27 或

AGAATGGAGGAGGGTGTCTNTA: SEQ ID NO. 28

反义引物

CCAGGAAGGGAGGACACCTC: SEQ ID NO. 29

同样，作为用于 PAF 乙酰水解酶（994G→T）多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

TTCTTTTGGTGGAGCAACNT: SEQ ID NO. 30 或

ATTCTTTTGGTGGAGCAACNTT: SEQ ID NO. 31

反义引物

TCTTACCTGAATCTCTGATCTTCA: SEQ ID NO. 32

同样，作为用于 ApoC-III（-482C→T）多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

CGGAGCCACTGATGCNCG: SEQ ID NO. 33 或

CGGAGCCACTGATGCTG: SEQ ID NO. 34

反义引物

TGTTTGGAGTAAAGGCACAGAA: SEQ ID NO. 35

同样，作为用于 TSP4 (1186G→C) 多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

CGAGTTGGGAACGCACNCT: SEQ ID NO. 36 或

CGAGTTGGGAACGCACNGT: SEQ ID NO. 37

反义引物

GGTCTGCACTGACATTGATGAG: SEQ ID NO. 38

同样，作为用于 IL-10 (-819T→C) 多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

TACCCTTGTACAGGTGATGTANTA: SEQ ID NO. 39 或

TACCCTTGTACAGGTGATGTANCA: SEQ ID NO. 40

反义引物

ATAGTGAGCAAACCTGAGGCACA: SEQ ID NO. 41

同样，作为用于 IL-10 (-592A→C) 多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

反义引物

CAGAGACTGGCTTCCTACANGA: SEQ ID NO. 42 或

CCAGAGACTGGCTTCCTACANTA: SEQ ID NO. 43

有义引物

GCCTGGAACACATCCTGTGA: SEQ ID NO. 44

同样，作为用于溶基质素 1 (-1171/5A→6A) 多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

TTTGATGGGGGAAAANAC: SEQ ID NO. 45 或

TTGATGGGGGAAAANCC: SEQ ID NO. 46

反义引物

CCTCATATCAATGTGGCCAA: SEQ ID NO. 47

同样，作为用于 PA11 (-668/4G→5G) 多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

GGCACAGAGAGAGTCTGGACACG: SEQ ID NO. 48

反义引物

GGCCGCCTCCGATGATACA: SEQ ID NO. 49

同样，作为用于糖蛋白 Iba (1018C→T) 多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

CCCAGGGCTCCTGNCG: SEQ ID NO. 50 或

CCCCAGGGCTCCTGNTG: SEQ ID NO. 51

反义引物

TGAGCTTCTCCAGCTTGGGTG: SEQ ID NO. 52

同样，作为用于对氧磷酶 (584G→A) 多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

ACCCAAATACATCTCCAGGANCG: SEQ ID NO. 53 或

AACCCAAATACATCTCCAGGNCT: SEQ ID NO. 54

反义引物

GAATGATATTGTTGCTGTGGGAC: SEQ ID NO. 55

同样，作为用于 ApoE (4070C→T) 多态分析的核酸引物，可以例举具有以下序列的引物。

有义引物

CCGATGACCTGCAGAANCG: SEQ ID NO. 56 或

GCCGATGACCTGCAGAANTG: SEQ ID NO. 57

反义引物

CGGCCTGGTACTGCCCAG: SEQ ID NO. 58

另一方面，探针的具体例子可以例举以下物质。

用于 ApoC-III (-482C→T) 多态分析的探针有

AGCCACTGATGCNCGGTCT: SEQ ID NO. 59 或

AGCCACTGATGCNTGGTCT: SEQ ID NO. 60

用于 IL-10 (-819T→C) 多态分析的探针有

GTACAGGTGATGTANTATCTCTGTG: SEQ ID NO. 61 或

GTACAGGTGATGTANCATCTCTGTG: SEQ ID NO. 62

用于 PA11 (-668/4G→5G) 多态分析的探针有

TGGACACGTGGGGAGTCAG: SEQ ID NO. 63 或

TGGACACGTGGGGAGTCAGC: SEQ ID NO. 64

以上的核酸引物、核酸探针只是一些例子，如果是核酸引物，则在不阻碍目标扩增反应进行的限度内，另一方面，如果是核酸探针，则在不阻碍目标杂交反应进行的限度内，可以对部分碱基序列实施改变。这里的“部分改变”是指部分碱基的缺失、置换、插入和/或添加。改变的碱基数例如为 1-7 个，优选 1-5 个，进一步优选 1-3 个。另外，这样的改变原则上在多态位点所对应的碱基以外的部分进行。不过，分析对象的多态为溶基质素 1 (-1171/5A→6A) 多态或 PA11 (-668/4G→5G) 多态时，也可以使用将多态位点所对应的碱基的一部分进行改变而得到的核酸作为引物或探针。

对于用于多态分析的核酸（探针、引物），可以根据分析方法使用适当的 DNA 片段或 RNA 片段。用于多态分析的核酸的碱基长度只要是可发挥各自机能的长度即可，作为引物使用时的碱基长度例如为 10-50 bp 左右，优选 15-40 bp 左右，进一步优选 15-30 bp 左右。

另外，作为引物使用时，只要可与扩增对象特异性杂交，扩增目标 DNA 片段，可以与作为模板的序列有一些错配。作为探针使用时也同样，只要可与检测对象的序列特异性杂交，可以与检测对象的序列有一些错配。错配的程度为 1-数个，优选 1-5 个，进一步优选 1-3 个。

用于多态分析的核酸（引物、探针）可通过磷酸二酯法等公知的方法合成。另外，关于用于多态分析的核酸的设计、合成等，可以参

考现有书籍（例如分子克隆第三版（Molecular Cloning, Third Edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York）。

可以预先用标记物对本发明的用于多态分析的核酸进行标记。通过使用这样的标记核酸，例如可以以扩增产物的标记量作为指标进行多态分析。另外，如果将设计为分别对构成多态的各基因型基因中的部分 DNA 区特异性扩增的 2 种引物用相互不同的标记物标记，则由扩增产物检测出的标记物和标记量，可判别核酸试样的基因型。作为使用这样的标记引物进行检测的方法的具体例子，可以例举下述方法：将与构成多态的各基因型的有义链分别特异性杂交的 2 种核酸引物（等位基因特异性有义引物）分别用异硫氰酸荧光素和德克萨斯红标记，使用这些标记引物和与反义链特异性杂交的反义引物，对包含多态位点的部分 DNA 区进行扩增，测定得到的扩增产物中各荧光物质的标记量，检测多态。另外，例如如果用生物素标记这里的反义引物，则利用生物素与抗生物素蛋白的特异性结合，可以进行扩增产物的分离。

作为标记用于多态分析的核酸时所用的标记物，例如有 ^{32}P 等放射性同位素、异硫氰酸荧光素、四甲基罗丹明异硫氰酸酯、德克萨斯红等荧光物质，标记方法有使用碱性磷酸酶和 T4 多核苷酸激酶的 5' 末端标记法、使用 T4 DNA 聚合酶或克列诺（Klenow）片段的 3' 末端标记法、切口平移法、随机引物法（分子克隆第三版（Molecular Cloning, Third Edition), Chapter 9, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York）等。

可以将以上用于多态分析的核酸以固定于不溶性支持物上的状态使用。将用于固定的不溶性支持物加工成片状、珠状等的话，则可以使用这些固定核酸更简便地进行多态的分析。

核酸试样可以使用公知的提取方法、纯化方法，由受检者的血液、皮肤细胞、粘膜细胞、毛发等中制备。只要含有作为多态分析对象的基因，则可以使用任意长度的基因组 DNA 作为核酸试样。另外未必需要使用分析对象的全部基因存在于一个核酸上的核酸试样。即，作为本发明的核酸试样，可以使用作为分析对象的全部基因存在于一个核酸上的试样，也可以使用作为分析对象的基因分开存在于两个以上核酸上的试样。另外，核酸试样中，分析对象的基因可以不是完整的状态（即基因的全长均存在的状态），只要至少存在要分析的多态位点，

也可以是片段、部分的状态。

各基因多态的分析可以以每种基因多态进行或者多个或全部同时进行。当为前者时，例如将由受检者得到的核酸试样按照作为分析对象的多态数目分注，对各多态分别进行分析。当为后者时，例如可以通过 DNA 芯片或微阵列进行。另外，这里所述的“同时”不仅是指分析过程的所有操作同时进行，也包括部分操作（例如核酸扩增操作、探针的杂交、或检测）同时进行的情况。

利用分析对象基因的转录产物——mRNA，也可以对各基因的多态进行分析。例如可由受检者的血液、尿液等提取、纯化分析对象基因的 mRNA，然后通过施行采用 RNA 印迹法（分子克隆第三版（Molecular Cloning, Third Edition），7.42, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York）、斑点印迹法（分子克隆第三版（Molecular Cloning, Third Edition），7.46, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York）、RT-PCR 法（分子克隆第三版（Molecular Cloning, Third Edition），8.46, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York）、DNA 芯片（DNA 阵列）的方法等，以 mRNA 作为起始材料进行多态分析。

而且，对于在上述多态中伴随有氨基酸变化的，还可以使用分析对象基因的表达产物进行多态分析。此时，只要含有与多态位点对应的氨基酸，则即使是部分蛋白质、部分肽，也可以作为分析用试样使用。

作为使用这样的基因的表达产物进行分析的方法，可以例举直接对多态位点的氨基酸进行分析的方法、或利用立体结构的变化进行免疫学分析的方法等。前者可使用众所周知的氨基酸序列分析法（利用 Edman 法的方法）。后者可以采用使用了具有与基因表达产物特异性结合活性的单克隆抗体或多克隆抗体的、ELISA 法（酶联免疫吸附定量法）、放射免疫测定、免疫沉降法、免疫扩散法等，其中所述基因是具有构成多态的任意一种基因型的基因。

通过实施以上说明的本发明的检测方法而得到的多态信息可用于心肌梗塞的遗传性风险的诊断。即，本发明也提供心肌梗塞风险的诊断方法，该方法包括：从上述检测方法得到的多态信息确定核酸试样的基因型的步骤，以及由确定的核酸试样的基因型求出遗传性风险的步骤。这里所述的基因型的确定，典型的是对于检测对象的多态，确

定其核酸试样的两个等位基因分别具有哪一种基因型。以连接蛋白 37 (1019C→T) 多态作为检测对象的情形为例, 典型地是确定核酸试样的连接蛋白 37 的基因型为 TT (1019 位碱基是两个等位基因均为 T 的同源接合体)、CT (1019 位碱基是 C 的等位基因与 T 的等位基因的异源接合体) 和 CC (1019 位碱基是两个等位基因均为 C 的同源接合体) 中的哪一种。

考虑到后述的实施例得到的结果, 为了能够进行高精度且预测概率高的心肌梗塞遗传性风险的诊断, 例如如果是连接蛋白 37 (1019C→T) 多态, 则要确定核酸试样的基因型是 TT 或 CT 中的一个还是 CC。同样, 如果是 TNF α (-863C→A) 多态, 要确定是 AA 或 CA 中的一个还是 CC; 如果是 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox (242C→T) 多态, 则要确定是 TT 或 CT 中的一个还是 CC; 如果是血管紧张肽原 (-6G→A) 多态, 则要确定是 AA 还是 GA 或 GG 中的一个; 如果是 ApoE-219 (-219G→T) 多态, 则要确定是 TT 还是 GT 或 GG 中的一个; 如果是 PAF 乙酰水解酶 (994G→T) 多态, 则要确定是 TT 或 GT 中的一个还是 GG; 如果是 ApoC-III (-482C→T) 多态, 则要确定是 TT 还是 CT 或 CC 中的一个; 如果是 TSP4 (1186G→C) 多态, 则要确定是 CC 或 GC 中的一个还是 GG; 如果是 IL-10 (-819T→C) 多态, 则要确定是 CC 还是 CT 或 TT 中的一个; 如果是 IL-10 (-592A→C) 多态, 则要确定是 CC 还是 CA 或 AA 中的一个; 如果是溶基质素 1 (-1171/5A→6A) 多态, 则要确定是 6A/6A 或 5A/6A 中的一个还是 5A/5A; 如果是 PAI1 (-668/4G→5G) 多态, 则要确定是 5G/5G 或 4G/5G 中的一个还是 4G/4G; 如果是糖蛋白 Iba (1018C→T) 多态, 则要确定是 TT 还是 CT 或 CC 中的一个; 如果是对氧磷酶 (584G→A) 多态, 则要确定是 AA 还是 GA 或 GG 中的一个; 如果是 ApoE (4070C→T) 多态, 则要确定是 TT 还是 CT 或 CC 中的一个。

通过对心肌梗塞的遗传性风险进行诊断, 可以预测将来可能罹患心肌梗塞的程度 (发病的容易程度), 即发病风险 (发病脆弱性), 还可根据基因型这个客观指标来认定心肌梗塞、把握病状。换言之, 可以根据本发明的诊断方法来评价心肌梗塞的发病风险、认定是否罹患心肌梗塞, 或把握症状。其中, 评价发病风险在临床上极有意义。这是因为预知发病风险性有利于心肌梗塞的初级预防, 从而可以采取适

当的预防措施。

由本发明的诊断方法得到的信息可用于选择适当的治疗方法、预后改善、患者的 QOL (生活质量) 的提高或发病危险性的降低等。

通过定期施行本发明的诊断方法, 可以监控心肌梗塞的发病危险性。通过这样监控, 如果发现某种外在因素 (环境因素、给药等) 与发病危险性等的增加之间存在相关关系, 则可以将该外在因素认定为危险因子, 可以根据该信息来实现发病危险性等的降低。

利用本发明得到的与心肌梗塞的发病相关的遗传信息, 可以进行心肌梗塞的治疗 (包括预防性措施)。例如, 施行本发明的诊断方法, 结果作为分析对象的多态是使心肌梗塞发病危险性增高的基因型时, 如果将具有发病危险性低的基因型的基因导入机体内并使其表达, 则有望通过该基因的表达来减轻症状、抑制发病、减低发病危险性等。通过导入具有发病危险性高的基因型的基因的 mRNA 的反义链, 抑制该 mRNA 表达的方法, 也有望得到同样的治疗效果。

基因或反义链的导入例如可通过使用基因导入用质粒或病毒载体的方法、电穿孔 (Potter, H. 等人., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 81, 7161-7165 (1984))、超声波微泡 (Lawrie, A. 等人. Gene Therapy 7, 2023-2027 (2000))、脂转染 (Felgner, P.L. 等人., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 84, 7413-7417 (1984))、显微注射 (Graessmann, M. 和 Graessmann, A., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 73, 366-370 (1976)) 等方法进行。利用这些方法可以将希望的基因等直接导入 (体内法) 或间接导入 (体外法) 生物体。

本发明的第二方面提供在上述本发明的检测方法或诊断方法中使用的试剂盒 (基因型检测用试剂盒或心肌梗塞诊断用试剂盒)。所述试剂盒中包含用于分析两个以上选自上述 (1) - (10) 的多态的核酸 (用于分析多态的核酸)。或者包含用于分析两个以上选自上述 (11) - (15) 的多态的核酸 (用于分析多态的核酸)。作为其它方案, 还有包含用于分析上述 (15) 的多态的核酸而构成试剂盒。

用于分析多态的核酸设计为: 在其所适用的分析方法 (利用使用上述等位基因特异性核酸等的 PCR 法的方法、PCR-RFLP 法、PCR-SSCP 法、TaqMan-PCR 法、侵入法等) 中, 可特异性扩增 (引物) 或者可特

异性检测(探针)包含分析对象多态部分的 DNA 区或者与其对应的 mRNA 的核酸。以下给出本发明中提供的试剂盒的具体例子。

含有两种以上选自以下(1)-(10)的核酸而成的基因型检测用试剂盒:

(1) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1019 位碱基为 C 的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1019 位碱基为 T 的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基、

(2) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-863 位碱基为 C 的肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-863 位碱基为 A 的肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基、

(3) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 242 位碱基为 C 的 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的 242 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 242 位碱基为 T 的肿瘤坏死因子 α 基因的 242 位碱基、

(4) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-6 位碱基为 G 的血管紧张肽原基因的-6 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-6 位碱基为 A 的血管紧张肽原基因的-6 位碱基、

(5) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-219 位碱基为 G 的载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-219 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基、

(6) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 994 位碱基为 G 的血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 994 位碱基为 T 的血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基、

(7) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-482 位碱基为 C 的载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-482 位碱基为 T 的载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基、

(8) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1186 位碱基为 G 的血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含 1186 位碱基为 C 的血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基、

(9) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-819 位碱基为 T 的白细胞介素 10 基因的-819 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-819 位碱基为 C 的白细胞介素 10 基因的-819 位碱基、

(10) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-592 位碱基为 A 的白细胞介素 10 基因的-592 位碱基; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含-592 位碱基为 C 的白细胞介素 10 基因的-592 位碱基、

以上, 可以从 (1) - (10) 中选择两种以上的核酸构成试剂盒, 也可以任意选择 (1) - (10) 的两种以上形成组, 从所述组中选择两种以上的核酸构成试剂盒。例如可以从 (1)、(5)、(6)、(8)、(9) 和 (10) 形成的组 (后述的实施例中让步比为 1 以上的用于分析多态的核酸) 中选择两种以上核酸构成试剂盒, 也可以从 (1)、(5)、(6)、(8) 和 (9) 形成的组 (后述的实施例中让步比为前 5 位的用于分析多态的核酸) 中选择两种以上核酸构成试剂盒。

含有两种以上选自以下 (11) - (15) 的核酸而成的基因型检测用试剂盒:

(11) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-1171 位沿 3' 方向 A 连续存在 5 个的溶基质素 1 基因的该序列部分; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-1171 位沿 3' 方向 A 连续存在 6 个的溶基质素 1 基因的该序列部分、

(12) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-668 位沿 3' 方向连续存在 4 个 G 的纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因的该序列部分; 或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸, 其中所述部分 DNA 区包含由-668 位沿 3' 方向连续存在 5 个 G 的纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因的该序列部分、

(13) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 1018 位碱基为 C 的糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 1018 位碱基为 T 的糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基。

(14) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 584 位碱基为 G 的对氧磷酶基因的 584 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 584 位碱基为 A 的对氧磷酶基因的 584 位碱基。

(15) 具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 C 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基。

以上，可以从 (11) - (15) 中选择两种以上的核酸构成试剂盒，也可以任意选择 (11) - (15) 的两种以上形成组，从所述组中选择两种以上的核酸构成试剂盒。例如可以从 (11)、(12)、(14) 和 (15) 形成的组（后述的实施例中让步比为 1 以上的用于分析多态的核酸）选择两种以上核酸组构成试剂盒，也可以从 (11)、(12) 和 (15) 形成的组（后述的实施例中让步比为前 3 位的用于分析多态的核酸）选择两种以上核酸构成试剂盒。

含有以下核酸制成的基因型检测用试剂盒：

具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 C 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基；或者具有与部分 DNA 区互补的序列的核酸，其中所述部分 DNA 区包含 4070 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基。

含有两种以上选自以下 (1) - (10) 的核酸组而成的基因型检测用试剂盒：

(1) 设计为只在核酸试样的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基为 C 时，对包含该连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组；或设计为只在核酸试样的连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基为 T 时，对包含该连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组。

(2) 设计为只在核酸试样的肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基为 C 时, 对包含该肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基为 A 时, 对包含该肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(3) 设计为只在核酸试样的 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的 242 位碱基为 C 时, 对包含该 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的 242 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的 242 位碱基为 T 时, 对包含该 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的 242 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(4) 设计为只在核酸试样的血管紧张肽原基因的-6 位碱基为 G 时, 对包含该血管紧张肽原基因的-6 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的血管紧张肽原基因的-6 位碱基为 A 时, 对包含该血管紧张肽原基因的-6 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(5) 设计为只在核酸试样的载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基为 G 时, 对包含该载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基为 T 时, 对包含该载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(6) 设计为只在核酸试样的血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基为 G 时, 对包含该血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基为 T 时, 对包含该血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(7) 设计为只在核酸试样的载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基为 C 时, 对包含该载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基为 T 时, 对包含该载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(8) 设计为只在核酸试样的血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基为 G 时, 对包含该血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基为 C 时, 对包含该血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(9) 设计为只在核酸试样的白细胞介素 10 基因的-819 位碱基为 T 时, 对包含该白细胞介素 10 基因的-819 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的白细胞介素 10 基因的-819 位碱基为 C 时, 对包含该白细胞介素 10 基因的-819 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(10) 设计为只在核酸试样的白细胞介素 10 基因的-592 位碱基为 A 时, 对包含该白细胞介素 10 基因的-592 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的白细胞介素 10 基因的-592 位碱基为 C 时, 对包含该白细胞介素 10 基因的-592 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组。

以上, 可以从 (1) - (10) 中选择两种以上的核酸组构成试剂盒, 也可以任意选择 (1) - (10) 的两种以上形成组, 从所述组中选择两种以上的核酸组构成试剂盒。例如可以从 (1)、(5)、(6)、(8)、(9) 和 (10) 形成的组 (后述的实施例中让步比为 1 以上的用于分析多态的核酸组) 选择两种以上核酸组构成试剂盒, 也可以从 (1)、(5)、(6)、(8) 和 (9) 形成的组 (后述的实施例中让步比为前 5 位的用于分析多态的核酸组) 选择两种以上的核酸组构成试剂盒。

含有两种以上选自以下 (11) - (15) 的核酸组而成的基因型检测用试剂盒:

(11) 设计为只在核酸试样的溶基质素 1 基因中由-1171 位沿 3' 方向 A 连续存在 5 个时, 对包含该溶基质素 1 基因的该序列部分的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组; 或设计为只在核酸试样的溶基质素 1 基因中由-1171 位沿 3' 方向 A 连续存在 6 个时, 对包含该溶基质素 1 基因的该序列部分的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(12) 设计为只在核酸试样的纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因中由-668 位沿 3' 方向 G 连续存在 4 个时, 对包含该纤溶酶原活化因子抑

制剂 1 基因的该序列部分的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组；或设计为只在核酸试样的纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因中由-668 位沿 3'方向 G 连续存在 5 个时，对包含该纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因的该序列部分的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(13) 设计为只在核酸试样的糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基为 C 时，对包含该糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组；或设计为只在核酸试样的糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基为 T 时，对包含该糖蛋白 Iba 基因的 1018 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(14) 设计为只在核酸试样的对氧磷酶基因的 584 位碱基为 G 时，对包含该对氧磷酶基因的 584 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组；或设计为只在核酸试样的对氧磷酶基因的 584 位碱基为 A 时，对包含该对氧磷酶基因的 584 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

(15) 设计为只在核酸试样的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基为 C 时，对包含该载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组；或设计为只在核酸试样的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基为 T 时，对包含该载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组、

以上，可以从 (11) - (15) 中选择两种以上的核酸组构成试剂盒，也可以任意选择 (11) - (15) 的两种以上形成组，从所述组中选择两种以上的核酸组构成试剂盒。例如可以从 (11)、(12)、(14) 和 (15) 形成的组（后述的实施例中让步比为 1 以上的用于分析多态的核酸组）选择两种以上核酸组构成试剂盒，也可以从 (11)、(12) 和 (15) 形成的组（后述的实施例中让步比为前 3 位的用于分析多态的核酸组）选择两种以上核酸组构成试剂盒。

含有以下核酸组制成的基因型检测用试剂盒：

设计为只在核酸试样的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基为 C 时，对包含该载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组；或设计为只在核酸试样的载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基为 T 时，对包含该载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组。

含有两种以上选自以下(1)-(10)的核酸组而成的基因型检测用试剂盒:

(1) 设计为对包含连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组, 该核酸组包含: 在 1019 位碱基为 C 的连接蛋白 37 基因上与包含 1019 位碱基的部分 DNA 区进行特异性杂交的有义引物和/或在 1019 位碱基为 T 的连接蛋白 37 基因上与包含 1019 位碱基的部分 DNA 区进行特异性杂交的有义引物、和与连接蛋白 37 基因的部分区进行特异性杂交的反义引物;

(2) 设计为对包含肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组, 该核酸组包含: 在-863 位碱基为 C 的肿瘤坏死因子 α 基因上与包含-863 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的反义引物和/或在-863 位碱基为 A 的肿瘤坏死因子 α 基因上与包含-863 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的反义引物、和与肿瘤坏死因子 α 基因的部分区特异性杂交的有义引物;

(3) 设计为对包含 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的 242 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组, 该核酸组包含: 在 242 位碱基为 C 的 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因上与包含-863 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的反义引物和/或在 242 位碱基为 T 的 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因上与包含 242 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的反义引物、和与 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的部分区特异性杂交的有义引物;

(4) 设计为对包含血管紧张肽原基因的-6 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组, 该核酸组包含: 在-6 位碱基为 G 的血管紧张肽原基因上与包含-6 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的反义引物和/或在-6 位碱基为 A 的血管紧张肽原基因上与包含-6 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的反义引物、和与血管紧张肽原基因的部分区特异性杂交的有义引物;

(5) 设计为对包含载脂蛋白 E 基因的-219 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组, 该核酸组包含: 在-219 位碱基为 G 的载脂蛋白 E 基因上与包含-219 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物和/或在-219 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因上与包含-219 位碱基的部

分 DNA 区特异性杂交的有义引物、和与载脂蛋白 E 基因的部分区特异性杂交的反义引物；

(6) 设计为对包含血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组，该核酸组包含：在 994 位碱基为 G 的血小板活化因子乙酰水解酶基因上与包含 994 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物和/或在 994 位碱基为 T 的血小板活化因子乙酰水解酶基因上与包含 994 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物、和与血小板活化因子乙酰水解酶基因的部分区特异性杂交的反义引物；

(7) 设计为对包含载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组，该核酸组包含：在-482 位碱基为 C 的载脂蛋白 C-III 基因上与包含-482 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物和/或在-482 位碱基为 T 的载脂蛋白 C-III 基因上与包含-482 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物、和与载脂蛋白 C-III 基因的部分区特异性杂交的反义引物；

(8) 设计为对包含血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组，该核酸组包含：在 1186 位碱基为 G 的血小板反应蛋白 4 基因上与包含 1186 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物和/或在 1186 位碱基为 C 的血小板反应蛋白 4 基因上与包含 1186 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物、和与血小板反应蛋白 4 基因的部分区特异性杂交的反义引物；

(9) 设计为对包含白细胞介素 10 基因的-819 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组，该核酸组包含：在-819 位碱基为 T 的白细胞介素 10 基因上与包含-819 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物和/或在 1186 位碱基为 C 的白细胞介素 10 基因上与包含-819 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物、和与白细胞介素 10 基因的部分区特异性杂交的反义引物；

(10) 设计为对包含白细胞介素 10 基因的-592 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组，该核酸组包含：在-592 位碱基为 A 的白细胞介素 10 基因上与包含-592 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的反义引物和/或在-592 位碱基为 C 的白细胞介素 10 基因上与包含-592 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的反义引物、和与白细胞介素 10 基

因的部分区特异性杂交的有义引物;

以上, 可以从(1)-(10)中选择两种以上的核酸组构成试剂盒, 也可以任意选择(1)-(10)的两种以上形成组, 从所述组中选择两种以上的核酸组构成试剂盒。例如可以从(1)、(5)、(6)、(8)、(9)和(10)形成的组(后述的实施例中让步比为1以上的用于分析多态的核酸组)选择两种以上核酸组构成试剂盒, 也可以从(1)、(5)、(6)、(8)和(9)形成的组(后述的实施例中让步比为前5位的用于分析多态的核酸组)选择两种以上核酸组构成试剂盒。

含有两种以上选自以下(11)-(15)的核酸组而成的基因型检测用试剂盒:

(11) 设计为对包含溶基质素1基因-1171位的多态部分的部分DNA区进行特异性扩增的核酸组, 该核酸组包含: 在由-1171位沿3'方向A连续存在5个的溶基质素1基因上与包含该序列部分的部分DNA区特异性杂交的有义引物和/或在由-1171位沿3'方向A连续存在6个的溶基质素1基因上与包含该序列部分的部分DNA区特异性杂交的有义引物、和与溶基质素1基因的部分区特异性杂交的反义引物;

(12) 核酸组包括: 设计为对包含纤溶酶原活化因子抑制剂1基因-668位的多态部分的部分DNA区进行特异性扩增的一组引物、以及在由-668位沿3'方向G连续存在4个的纤溶酶原活化因子抑制剂1基因上与包含该序列部分的部分DNA区特异性杂交的探针和/或在由-668位沿3'方向G连续存在5个的纤溶酶原活化因子抑制剂1基因上与包含该序列部分的部分DNA区特异性杂交的探针;

(13) 设计为对包含糖蛋白Iba基因的1018位碱基的部分DNA区进行特异性扩增的核酸组, 该核酸组包含: 在1018位碱基为C的糖蛋白Iba基因上与包含1018位碱基的部分DNA区特异性杂交的有义引物和/或在1018位碱基为T的糖蛋白Iba基因上与包含1018位碱基的部分DNA区特异性杂交的有义引物、和与糖蛋白Iba基因的部分区特异性杂交的反义引物;

(14) 设计为对包含对氧磷酶基因的584位碱基的部分DNA区进行特异性扩增的核酸组, 该核酸组包含: 在584位碱基为G的对氧磷酶基因上与包含584位碱基的部分DNA区特异性杂交的有义引物和/

或在 584 位碱基为 A 的对氧磷酶基因上与包含 584 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物、和与对氧磷酶基因的部分区特异性杂交的反义引物；以及

(15) 设计为对包含载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组，该核酸组包含：在 4070 位碱基为 C 的载脂蛋白 E 基因上与包含 4070 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物和/或在 4070 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因上与包含 4070 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物、和与载脂蛋白 E 基因的部分区特异性杂交的反义引物；

以上，可以从 (11) - (15) 中选择两种以上的核酸组构成试剂盒，也可以任意选择 (11) - (15) 的两种以上形成组，从所述组中选择两种以上的核酸组构成试剂盒。例如可以从 (11)、(12)、(14) 和 (15) 形成的组（后述的实施例中让步比为 1 以上的用于分析多态的核酸组）选择两种以上核酸组构成试剂盒，也可以从 (11)、(12) 和 (15) 形成的组（后述的实施例中让步比为前 3 位的用于分析多态的核酸组）选择两种以上核酸组构成试剂盒。

含有以下核酸组制成的基因型检测用试剂盒：

设计为对包含载脂蛋白 E 基因的 4070 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的核酸组，该核酸组包含：在 4070 位碱基为 C 的载脂蛋白 E 基因上与包含 4070 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物和/或在 4070 位碱基为 T 的载脂蛋白 E 基因上与包含 4070 位碱基的部分 DNA 区特异性杂交的有义引物、和与载脂蛋白 E 基因的部分区特异性杂交的反义引物。

含有两种以上选自以下 (1) - (10) 的核酸组而成的基因型检测用试剂盒：

(1) 该核酸组含有如下核酸：在 1019 位碱基为 C 的连接蛋白 37 基因的反义链上与包含 1019 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第 1 标记物标记的第 1 核酸、在 1019 位碱基为 T 的连接蛋白 37 基因的反义链上与包含 1019 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第 2 标记物标记的第 2 核酸、以及与连接蛋白 37 基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用，

可对包含连接蛋白 37 基因的 1019 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸；

(2) 该核酸组含有如下核酸：在-863 位碱基为 C 的肿瘤坏死因子 α 基因的有义链上与包含-863 位碱基的部分区特异性杂交且由第 1 标记物标记的第 1 核酸、在-863 位碱基为 A 的肿瘤坏死因子 α 基因的有义链上与包含-863 位碱基的部分区特异性杂交且由第 2 标记物标记的第 2 核酸、以及与肿瘤坏死因子 α 基因的反义链的部分区特异性杂交且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用，可对包含肿瘤坏死因子 α 基因的-863 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸；

(3) 该核酸组含有如下核酸：在 242 位碱基为 C 的 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的有义链上与包含 242 位碱基的部分区特异性杂交且由第 1 标记物标记的第 1 核酸、在 242 位碱基为 T 的 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的有义链上与包含 242 位碱基的部分区特异性杂交且由第 2 标记物标记的第 2 核酸、以及与 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的反义链的部分区特异性杂交且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用，可对包含 NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因的 242 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸；

(4) 该核酸组含有如下核酸：在-6 位碱基为 G 的血管紧张肽原基因的有义链上与包含-6 位碱基的部分区特异性杂交且由第 1 标记物标记的第 1 核酸、在-6 位碱基为 A 的血管紧张肽原基因的有义链上与包含-6 位碱基的部分区特异性杂交且由第 2 标记物标记的第 2 核酸、以及与血管紧张肽原基因的反义链的部分区特异性杂交且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用，可对包含血管紧张肽原基因的-6 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸；

(5) 该核酸组含有如下核酸：在-219 位碱基为 G 的载脂蛋白 B 基因的反义链上与包含-219 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第 1 标记物标记的第 1 核酸、在-219 位碱基为 T 的载脂蛋白 B 基因的反义链上与包含-219 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第 2 标记物标记的第 2 核酸、以及与载脂蛋白 B 基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用，可对包含载脂蛋白 B 基因的-219 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸；

(6) 该核酸组含有如下核酸：在 994 位碱基为 G 的血小板活化因子乙酰水解酶基因的反义链上与包含 994 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第 1 标记物标记的第 1 核酸、在 994 位碱基为 T 的血小板活化因子乙酰水解酶基因的反义链上与包含 994 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第 2 标记物标记的第 2 核酸、以及与血小板活化因子乙酰水解酶基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用，可对包含血小板活化因子乙酰水解酶基因的 994 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸；

(7) 该核酸组含有如下核酸：在-482 位碱基为 C 的载脂蛋白 C-III 基因的反义链上与包含-482 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交的第 1 核酸、在-482 位碱基为 T 的载脂蛋白 C-III 基因的反义链上，与包含-482 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交的第 2 核酸、以及与载脂蛋白 C-III 基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用，可对包含载脂蛋白 C-III 基因的-482 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸、与使用上述第 1 核酸和上述第 3 核酸进行扩增得到的核酸特异性杂交的第 4 核酸、和与使用上述第 2 核酸和上述第 3 核酸进行扩增得到的核酸特异性杂交的第 5 核酸；

(8) 该核酸组含有如下核酸：在 1186 位碱基为 G 的血小板反应蛋白 4 基因的反义链上与包含 1186 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第 1 标记物标记的第 1 核酸、在 1186 位碱基为 C 的血小板反应蛋白 4 基因的反义链上与包含 1186 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第 2 标记物标记的第 2 核酸、以及与血小板反应蛋白 4 基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用，可对包含血小板反应蛋白 4 基因的 1186 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸；

(9) 该核酸组含有如下核酸：在-819 位碱基为 T 的白细胞介素 10 基因的反义链上与包含-819 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交的第 1 核酸、在-819 位碱基为 C 的白细胞介素 10 基因的反义链上与包含-819 位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交的第 2 核酸、以及与白细胞介素 10 基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第 1

核酸/或上述第 2 核酸同时使用, 可对包含白细胞介素 10 基因的-819 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸、与使用上述第 1 核酸和上述第 3 核酸进行扩增得到的核酸特异性杂交的第 4 核酸、和与使用上述第 2 核酸和上述第 3 核酸进行扩增得到的核酸特异性杂交的第 5 核酸;

(10) 该核酸组含有如下核酸: 在-592 位碱基为 A 的白细胞介素 10 基因的有义链上与包含-592 位碱基的部分区特异性杂交且由第 1 标记物标记的第 1 核酸、在-592 位碱基为 C 的白细胞介素 10 基因的有义链上与包含-592 位碱基的部分区特异性杂交且由第 2 标记物标记的第 2 核酸、以及与白细胞介素 10 基因的反义链的部分区特异性杂交且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用, 可对包含白细胞介素 10 基因的-592 位碱基的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸。

以上, 可以从 (1) - (10) 中选择两种以上的核酸组构成试剂盒, 也可以任意选择 (1) - (10) 的两种以上形成组, 从所述组中选择两种以上的核酸组构成试剂盒。例如可以从 (1)、(5)、(6)、(8)、(9) 和 (10) 的组 (后述的实施例中让步比为 1 以上的用于分析多态的核酸组) 选择两种以上核酸组构成试剂盒, 也可以从 (1)、(5)、(6)、(8) 和 (9) 的组 (后述的实施例中让步比为前 5 位的用于分析多态的核酸组) 选择两种以上核酸组构成试剂盒。

含有两种以上选自以下 (11) - (15) 的核酸组而成的基因型检测用试剂盒:

(11) 该核酸组含有如下核酸: 在由-1171 位沿 3' 方向 A 连续存在 5 个的溶基质素 1 基因的反义链上与包含该序列部分所对应的序列的部分区特异性杂交且用第 1 标记物标记的第 1 核酸、在由-1171 位沿 3' 方向 A 连续存在 6 个的溶基质素 1 基因的反义链上与包含该序列部分所对应的序列的部分区特异性杂交且用第 2 标记物标记的第 2 核酸、以及与溶基质素 1 基因的有义链的部分区特异性杂交, 且与上述第 1 核酸/或上述第 2 核酸同时使用, 可对包含溶基质素 1 基因-1171 位的多态部分的部分 DNA 区进行特异性扩增的第 3 核酸;

(12) 该核酸组含有如下核酸: 设计为对包含纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因-668 位的多态部分的部分 DNA 区进行特异性扩增的一组

核酸(第1核酸和第2核酸)、以由-668位沿3'方向G连续存在4个的纤溶酶原活化因子抑制剂1基因为模板,且使用上述一组核酸进行扩增,与扩增所得核酸特异性杂交的第3核酸、以及以由-668位沿3'方向G连续存在5个的纤溶酶原活化因子抑制剂1基因为模板,且使用上述一组核酸进行扩增,与扩增所得核酸特异性杂交的第4核酸;

(13)该核酸组含有如下核酸:在1018位碱基为C的糖蛋白Ib α 基因的反义链上与包含1018位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第1标记物标记的第1核酸、在1018位碱基为T的糖蛋白Ib α 基因的反义链上与包含1018位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第2标记物标记的第2核酸、以及与糖蛋白Ib α 基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第1核酸/或上述第2核酸同时使用,可对包含糖蛋白Ib α 基因的1018位碱基的部分DNA区进行特异性扩增的第3核酸;

(14)该核酸组含有如下核酸:在584位碱基为G的对氧磷酶基因的反义链上与包含584位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第1标记物标记的第1核酸、在584位碱基为A的对氧磷酶基因的反义链上与包含584位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第2标记物标记的第2核酸、以及与对氧磷酶基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第1核酸/或上述第2核酸同时使用,可对包含对氧磷酶基因的584位碱基的部分DNA区进行特异性扩增的第3核酸;以及

(15)该核酸组含有如下核酸:在4070位碱基为C的载脂蛋白E基因的反义链上与包含4070位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第1标记物标记的第1核酸、在4070位碱基为T的载脂蛋白E基因的反义链上与包含4070位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第2标记物标记的第2核酸、以及与载脂蛋白E基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第1核酸/或上述第2核酸同时使用,可对包含载脂蛋白E基因的4070位碱基的部分DNA区进行特异性扩增的第3核酸。

以上,可以从(11)-(15)中选择两种以上的核酸组构成试剂盒,也可以任意选择(11)-(15)的两种以上形成组,从所述组中选择两种以上的核酸组构成试剂盒。例如可以从(11)、(12)、(14)

和(15)形成的组(后述的实施例中让步比为1以上的用于分析多态的核酸组)选择两种以上核酸组构成试剂盒,也可以从(11)、(12)和(15)形成的组(后述的实施例中让步比为前3位的用于分析多态的核酸组)选择两种以上核酸组构成试剂盒。

含有以下核酸组制成的基因型检测用试剂盒:

核酸组包含下述核酸:在4070位碱基为C的载脂蛋白E基因的反义链中与包含4070位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第1标记物标记的第1核酸、在4070位碱基为T的载脂蛋白E基因的反义链上与包含4070位碱基所对应的碱基的部分区特异性杂交且由第2标记物标记的第2核酸、以及与载脂蛋白E基因的有义链的部分区特异性杂交且与上述第1核酸/或上述第2核酸同时使用,可对包含载脂蛋白E基因的4070位碱基的部分DNA区进行特异性扩增的第3核酸。

在以上试剂盒中,可以将与试剂盒的使用方法相对应的一种或两种以上的试剂(缓冲液、反应用试剂、检测用试剂等)等组合。

以下通过实施例更具体地说明本发明。

<实施例1> 基因多态的选择

使用PubMed[National Center for Biological Information (NCBI)]、Online Mendelian inheritance in Men (NCBI)、单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism (NCBI))等多种公开数据库,综合考虑血管生物学、血小板·白细胞生物学、凝血纤溶体系、脂质·糖·其他代谢因素等方面,从目前为止已报告的基因中筛选推断与冠状动脉硬化、冠状动脉痉挛、高血压、糖尿病、高血脂症等相关的71种基因。而且,在这些基因中存在的多态中,以存在于启动子区、外显子中的、或位于剪接供体位点或接受位点、推断与基因产物的机能变化相关的多态为中心,选择了112个多态(图1和图2)。

<实施例2> 基因多态的确定

对象为5061例日本男性女性(男性3309例、女性1752例),是1994年7月至2001年12月期间15间实验机构的门诊或住院的病例。

心肌梗塞为 2819 例 (男性 2003 例、女性 816 例), 所有病例都进行了冠状动脉造影术和左心室造影术。通过典型的心电图变化和血清 CK、GOT、LDH 的升高来进行心肌梗塞的诊断。而且, 通过左心室造影显示左心室壁运动异常以及与其对应的左主动脉或主要冠状动脉狭窄来对心肌梗塞进行确诊。

对照为 2242 例 (男性 1306 例、女性 936 例), 是在实验机构受诊、具有传统的冠状动脉疾病的危险因素, 即具有吸烟 (每天 10 支以上)、肥胖 (体重指数 $> 26 \text{ kg/m}^2$)、高血压 (收缩压 $> 140 \text{ mmHg}$ 或舒张压 $> 90 \text{ mmHg}$ 或两者兼具)、糖尿病 (空腹时血糖 $> 126 \text{ mg/dL}$ 或血红蛋白 A1c $> 6.5\%$ 或两者兼具)、高脂血症 (血清总胆固醇 $> 220 \text{ mg/dL}$)、高尿酸血症 (男性血清尿酸 $> 7.7 \text{ mg/dL}$ 、女性血清尿酸 $> 5.5 \text{ mg/dL}$) 中至少一项但没有冠状动脉疾病的病例。这些对照的安静时心电图正常, 在运动负荷试验中也未见心肌缺血性变化。

由每个对象采集 7 mL 静脉血, 装入含有 50 mmol/L EDTA-2Na 的管中, 用 DNA 提取试剂盒 (Qiagen, Chatsworth, CA) 提取基因组 DNA。由根据荧光、发光法制造的等位基因特异性引物·探针测定系统 (东洋纺ジーンアナリシス、敦贺、日本) 进行 71 种候选基因的 112 个多态的确定 (图 3 和图 4)。使用 5'末端用异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate: FITC) 或德克萨斯红 (Texas red: TxR) 标记的两种等位基因特异性有义引物 (或反义引物) 和用生物素标记 5'末端的反义引物 (或有义引物), 通过聚合酶链反应 (PCR) 对含有多态位点的 DNA 片段进行扩增。另外, 作为其它方法, 使用两种等位基因特异性有义引物和用生物素标记 5'末端的反义引物, 或使用有义引物和用生物素标记 5'末端的反义引物, 通过 PCR 对含有多态位点的 DNA 片段进行扩增。反应溶液 (25 μl) 中含有 20 ng DNA、5 pmol 各引物、0.2 mmol/L 各脱氧核苷三磷酸 (dATP、dGTP、dCTP、dTTP)、1-4 mmol/L MgCl_2 、1 U DNA 聚合酶 (rTaq 或 KODplus; 东洋纺、大阪、日本), 以及使用各自 DNA 聚合酶缓冲液。扩增方法: 预变性为 95 $^{\circ}\text{C}$ 、5 分钟, 然后以 35-45 个循环进行 95 $^{\circ}\text{C}$ 、30 分钟的变性, 退火为 55-67.5 $^{\circ}\text{C}$ 、30 秒, 延伸为 72 $^{\circ}\text{C}$ 、30 秒, 最终延伸为 72 $^{\circ}\text{C}$ 、2 分钟。

在通过荧光法确定基因型的过程中, 将扩增的 DNA 铺于 96 孔板的各孔中, 在含有结合了链霉菌抗生物素蛋白的磁珠的溶液中、在室

温下孵育。将该板置于磁架上，由各孔收集上清液，移入含有 0.01 M NaOH 的 96 孔板的各孔中，然后通过微量反应板读数器，FITC 采用 485 和 538 nm 的激发·荧光波长，TxR 采用 584 和 612 nm 的激发·荧光波长来测定荧光。另外，在通过发光法确定基因型的过程中，将扩增的 DNA 用 0.3 M NaOH 进行变性，用固定于 96 孔板各孔底的任意一种等位基因特异性补足探针和含有 35-40% 甲酰胺的杂交缓冲液在 37℃ 杂交 30 分钟。充分洗涤孔，然后向各孔中加入结合了碱性磷酸酶的链霉菌抗生物素蛋白，将板在 37℃ 振荡 15 分钟。再次洗涤孔，加入含有 0.8 mM 2-(4-碘苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2,4-二硫代苯基)-2H-四唑翁(一钠盐)和 0.4 mM 5-溴-4-氯-3-吡啶基磷酸对甲苯胺盐的溶液，然后测定 450 nm 吸光度。

为了确认由以上方法确定基因型的精度，随机选取 50 人的 DNA 样品，进行 PCR-限制性片段长度多态 (PCR-RFLP) 法或 PCR 产物的碱基序列直接确定法。所有的样品中，由等位基因特异性引物·探针测定系统确定的基因型与由 PCR-限制性片段长度多态 (PCR-RFLP) 法或 DNA 碱基序列确定法确定的基因型相同。

以下的相关分析中的统计分析如下进行。首先，数据以平均±标准偏差表示。临床数据使用 unpaired Student's t test 或 Mann-Whitney U test 在心肌梗塞患者和对照之间进行比较。3 组之间的数据通过 one-way analysis of variance 或 Kruskal-Wallis test 以及 Scheffe's post-hoc test 进行比较。定性数据通过 chi-square test 进行检定。等位基因频率通过 gene counting method 进行推断，通过 chi-square test 来检定是否脱离哈迪温伯格平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium)。另外，还进行了校正危险因子的多因素逻辑回归分析。作为心肌梗塞的从属因子，以年龄、体重指数 (BMI)、吸烟状况 (0=不吸烟、1=吸烟)、代谢因素 (0=无高血压、糖尿病、高胆固醇血症、高尿酸血症病史、1=有病史)、各多态的基因型作为独立因子。各基因型用显性 (优势)、隐性 (劣势)、加性 (附加) 遗传模型进行分析，计算 P 值、让步比、95% 可信区间 (CI)。在组合基因型的分析中，通过逻辑回归分析的逐步顺向选择回归法计算各基因型的让步比。

<实施例 3> 心肌梗塞相关多态的选择和心肌梗塞诊断方法的开发

首先，对 451 例男性（心肌梗塞 219 例、对照 232 例）、458 例女性（心肌梗塞 226 例、对照 232 例）进行关于 71 种基因 112 个多态的筛选相关分析。这些病例是从全部 5061 例中随机选出的。

通过以上方法进行筛选相关分析的 909 例（男性 451 例、女性 458 例）的背景数据如图 5 所示。男性中，对于年龄、BMI 和传统冠状动脉疾病的危险因素——吸烟、高血压、糖尿病、高胆固醇血症、高尿酸血症等的频率，心肌梗塞组和对照组之间未见显著差异。女性中，对于年龄、BMI 和高血压、高胆固醇血症、高尿酸血症等的频率，心肌梗塞组和对照组之间未见显著差异，但关于吸烟和糖尿病的频率，心肌梗塞组的值显著高于对照组。在对 112 个多态和心肌梗塞的筛选相关分析中，通过对年龄、BMI 和吸烟、高血压、糖尿病、高胆固醇血症、高尿酸血症的频率进行校正的多因素逻辑回归分析，男性中 19 个、女性中 18 个的单碱基多态（SNP）显示了与心肌梗塞的相关性（图 6）。另外，在筛选相关分析中，采用了逻辑回归分析中， P 值 < 0.1 时使用有相关性的类。这些 SNP 中，4 个 SNP 与男女双方的心肌梗塞相关，其它 SNP 与男女其中一方的心肌梗塞相关。

接着，对余下的 4152 例（男性心肌梗塞 1784 例、男性对照 1074 例、女性心肌梗塞 590 例、女性对照 704 例）确定这些多态的基因型。然后在合计 5061 例（男性心肌梗塞 2003 例、男性对照 1306 例、女性心肌梗塞 816 例、女性对照 936 例）中进行关于这些多态与心肌梗塞的相关性的大规模相关性分析。

大规模相关性分析中的全部 5061 例（男性 3309、女性 1752 例）的背景数据如图 7 所示。男性中，对于年龄、BMI 和吸烟的频率，在心肌梗塞组与对照组之间未见显著差异，但关于高血压、高尿酸血症，心肌梗塞组显著低于对照组；关于糖尿病和高胆固醇血症的频率，心肌梗塞组显著高于对照组。女性中，关于年龄和高血压的频率，心肌梗塞组和对照组之间未见显著差异，但关于 BMI 和吸烟、糖尿病、高胆固醇血症、高尿酸血症的频率，心肌梗塞组显著高于对照组。在男性 19 SNP、女性 18 SNP 与心肌梗塞的大规模相关性分析中，通过对年龄、BMI 和吸烟、高血压、糖尿病、高胆固醇血症、高尿酸血症的频率进行校正的多因素逻辑回归分析，男性 10 个、女性 5 个 SNP 显示了与心肌梗塞的显著相关性（显性或隐性遗传模型均为 $P < 0.05$ ）（图

8)。这些 SNP 的基因型的分布和逻辑回归分析的结果分别表示在图 8 和图 9 中。

本实施例中进行了多因素逻辑回归分析的逐步顺向选择回归法(图 10)。该方法中,根据图 9 所示的各 SNP 与心肌梗塞的相关性中的 P 值,分别采用显性或隐性遗传模型。这些基因在染色体上的基因座如图 10 所示。白细胞介素 10 (interleukin-10) 基因的-819T→C 多态和-592A→C 多态存在连锁不平衡[成对连锁不平衡系数(pairwise linkage disequilibrium coefficient), D' (D/D_{max}) 为 0.406; 标准连锁不平衡系数 (standardized linkage disequilibrium coefficient), r 为 0.396; $P < 0.0001$, chi-square test]。肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor- α) 基因和血小板活化因子乙酰水解酶 (platelet-activating factor acetylhydrolase) 基因的基因座接近,但两者的多态的基因型分布未见相关性。同样,纤溶酶原活化因子抑制剂 1 (plasminogen activator inhibitor-1) 基因和对氧磷酶基因的基因座接近,但两者的多态的基因型分布未见相关性。

关于通过由逐步顺向选择回归法计算的组合基因型得出的罹患心肌梗塞的让步比,男性的如图 11 和图 13 (A) 所示,女性如图 12 和图 13 (B) 所示。男性中,通过 5 个 SNP (TSP4 (1186G→C) 多态、连接蛋白 37 (1019C→T) 多态、PAF 乙酰水解酶 (994G→T) 多态、血管紧张肽原 (-6G→A) 多态、肿瘤坏死因子 α (-863C→A) 多态) 的组合基因型,最大让步比为 4.50 (参照图 11、图 13 (A))。再加上 5 个 SNP (NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox (242C→T) 多态、ApoE (-219G→T) 多态、ApoC-III (-482C→T) 多态、IL-10 (-819T→C) 多态、IL-10 (-592A→C) 多态) 全部为 10 个 SNP 时,最大让步比为 11.26 (参照图 10 和图 13 (A))。女性中,通过 5 个 SNP (ApoE (4070C→T) 多态、糖蛋白 Iba (1018C→T) 多态、溶基质素 1 (-1171/5A→6A) 多态、PAI1 (-668/4G→5G) 多态、对氧磷酶 (584G→A) 多态) 的组合基因型,最大让步比为 88.51 (参照图 12 和图 13 (B))。

如上所述,本发明人对于由 71 种候选基因中选择的 112 个多态与心肌梗塞的相关性进行了研究,通过 5061 例的大规模相关性分析,在男性中鉴定了 10 个、在女性中鉴定出 5 个与心肌梗塞相关的 SNP。

而且,开发了心肌梗塞风险的诊断方法(心肌梗塞遗传性风险的诊断系统),该方法通过多因素逻辑回归分析的逐步顺向选择回归法,在男性中显示11.26的最大让步比、女性中显示88.51的最大让步比。

心肌梗塞的主要原因是动脉硬化性冠状动脉疾病,由此产生动脉内径的血流力学性显著狭窄,招致血管收缩舒张调节的异常,容易引起动脉硬化灶的破裂、血栓形成。本发明人根据血管生物学、血小板和白细胞生物学、凝血和纤溶系、脂质、糖和其他代谢因素等综合角度的考虑,筛选了71种候选基因。实际上与心肌梗塞相关的基因组在其发病病态中起着各种作用。即,血管生物学(连接蛋白37、NADH/NADPH氧化酶p22 phox和血小板反应蛋白4)、血管炎症(肿瘤坏死因子- α 、血小板活化因子乙酰水解酶和白细胞介素-10)、高血压(血管紧张肽原)、脂质代谢(载脂蛋白E、载脂蛋白C-III和对氧磷脂酶)、血小板机能(糖蛋白Ib α)、基质代谢(溶基质素1)、纤溶系(PAI-1)等(Boerma M, Forsberg L, van Zeijl L, et al. A genetic polymorphism in connexin 37 as a prognostic marker for atherosclerotic plaque development. *J Intern Med* 1999; 246:211-218.、Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, Yamada S, Akita H, Yokoyama M. Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1998; 97:135-137.、Topol EJ, McCarthy J, Gabriel S, et al. Single nucleotide polymorphisms in multiple novel thrombospondin genes may be associated with familial premature myocardial infarction. *Circulation* 2001; 104:2641-2644.、Skoog T, van' t Hooft FM, Kallin B, et al. A common functional polymorphism(C \rightarrow A substitution at position -863) in the promoter region of the tumor necrosis factor- α (TNF- α) gene associated with reduced circulating level of TNF- α . *Hum Mol Genet* 1999; 8:1443-1449.、Yamada Y, Ichihara S, Fujimura T, Yokota M. Identification of the G⁹⁹⁴ \rightarrow T missense mutation in exon 9 of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene as an independent risk factor for coronary artery disease in Japanese men. *Metabolism* 1998; 47:177-181.、Koch W, Kastrati A, Bottiger C, Mehilli J, von Beckerath N, Schomig A. Interleukin-10 and tumor

necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001; 159:137-144.、Inoue I, Nakajima T, Williams CS, et al. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest* 1997; 99:1786-1797.、Lambert J-C, Brousseau T, Defosse V, et al. Independent association of an APOE gene promoter polymorphism with increased risk of myocardial infarction and decreased APOE plasma concentrations - the ECTIM study. *Hum Mol Genet* 2000; 9:57-61.、Eto M, Watanabe K, Makino I. Increased frequency of apolipoprotein epsilon 2 and epsilon 4 alleles in patients with ischemic heart disease. *Clin Genet* 1989; 36:183-188.、Ruiz J, Blanche H, James RW, et al. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes. *Lancet* 1995; 346:869-72.、Murata M, Matsubara Y, Kawano K, et al. Coronary artery disease and polymorphisms in a receptor mediating shear stress-dependent platelet activation. *Circulation* 1997; 96:3281-3286.、Eriksson P, Kallin B, van't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:1851-1855.、Ye S, Watts GF, Mandalia S, Humphries SE, Henney AM. Preliminary report: genetic variation in the human stromelysin promoter is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Br Heart J* 1995; 73:209-215.)。本发明人在 909 例中对 112 个基因多态进行了研究,并在 2858 例男性中研究了 19 个 SNP,在 1294 例女性中研究了 18 个 SNP,结果共确定了 179,402 个基因型。该确定的基因型数目是目前为止所报告的基因多态相关性分析中最多的。以上实施例所示的心肌梗塞风险的诊断方法最大让步比男性显示 11.26,女性显示 88.51,是迄今为止所报告的大规模相关性分析中最大的让步比。

与心肌梗塞相关的 15 个 SNP 中, 载脂蛋白 E 基因的 4070T→C (Arg158Cys) 多态作为女性心肌梗塞风险, 显示了最大让步比。载脂蛋白 E 是乳糜微粒和超低密度脂蛋白 (VLDL) 残留的主要构成成分, 通过肝脏中的受体摄取这些脂蛋白时, 作为配体发挥作用 (Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1998; 240: 622-630.). 载脂蛋白 E 基因的 158Cys ($\epsilon 2$) 等位基因导致残留脂蛋白与肝脏受体的结合异常 (Schneider WJ, Kovanen PT, Brown MS, 等人. Familial dysbetalipoproteinemia. Abnormal binding of mutant apolipoprotein E to low density lipoprotein receptors of human fibroblasts and membranes from liver and adrenal of rats, rabbits, and cows. *J Clin invest* 1981; 68: 1075-1085.), 延迟了由血浆的排出 (Gregg RE, Zech LA, Schaefer EJ, Brewer HB Jr. Type III hyperlipoproteinemia: defective metabolism of an abnormal apolipoprotein E. *Science* 1981; 211: 584-586.). 大多数家族性 β 脂蛋白障碍症 (FD, 或 III 型高脂蛋白血症) 患者的 Arg158Cys 多态都为同源接合体 (Breslow JL, Zannis VI, SanGiacomo TR, Third JL, Tracy T, Glueck CJ. Studies of familial type III hyperlipoproteinemia using as a genetic marker the apo E phenotype E2/2. *J Lipid Res* 1982; 23: 1224-1235.). 但是, 158Cys/Cys 同源接合体中, 只有 1-4% 的家族性 β 脂蛋白障碍症发病, 由此可认为其他遗传因素或环境因素对于本疾病的发病也是必需的。认为家族性 β 脂蛋白障碍症患者中, 动脉硬化性残留脂蛋白 (β -VLDL) 在血浆中蓄积 (Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1998; 240: 622-630.) 或过量表达人 158Cys/Cys 的小鼠 (Sullivan PM, Mezdour H, Quarfordt SH, Maeda N. Type III hyperlipoproteinemia and spontaneous atherosclerosis in mice resulting from gene replacement of mouse Apoe with human APOE*2. *J Clin Invest* 1998; 102: 130-135.) 促进了动脉硬化的发展。Eto 等人报告: $\epsilon 2$ (158Cys) 等位基因在日本男性 (让步比为 2.44, $\epsilon 2$ 等位基因对 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 型) 和女性 (让步比为 3.03) 中与冠状动脉疾病相关 (Eto M, Watanabe K, Makino

I. Increased frequency of apolipoprotein epsilon 2 and epsilon 4 alleles in patients with ischemic heart disease. Clin Genet 1989; 36: 183-188.). 本发明人得到的结果是 TT 型 (158Cy/Cys) 是罹患心肌梗塞的危险因子, 这与 Eto 等人的结果一致。

以上的实施例研究的几个 SNP 有可能与存在于其附近的与心肌梗塞发病确实相关的基因的 SNP 存在连锁不平衡。不过仍然显示了男性的 9 个、女性的 5 个基因是日本人心肌梗塞易感基因座。并且通过组合基因型, 可以进行可靠性和预测概率高的风险诊断。由此, 本发明的诊断方法期待可以对心肌梗塞的初级预防和中老年人生活质量的改善以及医疗费用的削减做出贡献。

本发明并不受上述发明的实施方案和实施例的说明的任何限制。只要不脱离权利要求的范围, 在本领域人员容易联想到的范围内的各种变形方案也包括在本发明之内。

以下公开如下事项。

11. 检测核酸试样的基因型的方法, 该方法包含以下步骤 (a1):

(a1) 对核酸试样的以下 (1) - (10) 的多态进行分析的步骤

(1) 连接蛋白 37 基因中碱基编号 1019 位的多态、

(2) 肿瘤坏死因子 α 基因中碱基编号-863 位的多态、

(3) NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因中碱基编号 242 位的多态、

(4) 血管紧张肽原基因中碱基编号-6 位的多态、

(5) 载脂蛋白 E 基因中碱基编号-219 位的多态、

(6) 血小板活化因子乙酰水解酶基因中碱基编号 994 位的多态、

(7) 载脂蛋白 C-III 基因中碱基编号-482 位的多态、

(8) 血小板反应蛋白 4 基因中碱基编号 1186 位的多态、

(9) 白细胞介素 10 基因中碱基编号-819 位的多态、和

(10) 白细胞介素 10 基因中碱基编号-592 位的多态。

12. 检测核酸试样的基因型的方法, 该方法包括以下步骤 (b1):

(b1) 对核酸试样的以下 (11) - (15) 的多态进行分析的步骤

(11) 溶基质素 1 基因中碱基编号-1171 位的多态、

(12) 纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因中碱基编号-668 位的多态、

(13) 糖蛋白 Iba 基因中碱基编号 1018 位的多态、

(14) 对氧磷酶基因中碱基编号 584 位的多态、以及

(15) 载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态。

13. 心肌梗塞风险的诊断方法, 该方法包括以下步骤 (I)-(III):

(I) 对核酸试样的以下 (1)-(10) 的多态进行分析的步骤

(1) 连接蛋白 37 基因中碱基编号 1019 位的多态、

(2) 肿瘤坏死因子 α 基因中碱基编号-863 位的多态、

(3) NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox 基因中碱基编号 242 位的多态、

(4) 血管紧张肽原基因中碱基编号-6 位的多态、

(5) 载脂蛋白 E 基因中碱基编号-219 位的多态、

(6) 血小板活化因子乙酰水解酶基因中碱基编号 994 位的多态、

(7) 载脂蛋白 C-III 基因中碱基编号-482 位的多态、

(8) 血小板反应蛋白 4 基因中碱基编号 1186 位的多态、

(9) 白细胞介素 10 基因中碱基编号-819 位的多态、和

(10) 白细胞介素 10 基因中碱基编号-592 位的多态;

(II) 由上述步骤得到的多态信息确定核酸试样的基因型的步骤; 以及

(III) 由确定的基因型求出心肌梗塞的遗传性风险的步骤。

14. 心肌梗塞风险的诊断方法, 该方法包括以下步骤 (IV)-(VI):

(IV) 对核酸试样的以下 (11)-(15) 的多态进行分析的步骤

(11) 溶基质素 1 基因中碱基编号-1171 位的多态、

(12) 纤溶酶原活化因子抑制剂 1 基因中碱基编号-668 位的多态、

(13) 糖蛋白 Iba 基因中碱基编号 1018 位的多态、

(14) 对氧磷酶基因中碱基编号 584 位的多态、以及

(15) 载脂蛋白 E 基因中碱基编号 4070 位的多态;

(V) 由上述步骤得到的多态信息确定核酸试样的基因型的步骤; 以及

(VI) 由确定的基因型求出心肌梗塞的遗传性风险的步骤。

工业实用性

根据本发明, 可以对于心肌梗塞相关的基因多态进行分析, 检测核酸试样的基因型。使用通过检测该基因型而得到的多态信息, 可以进行高精度、预测概率高的心肌梗塞风险的诊断。因此, 本发明是预先获知心肌梗塞发病危险的有效手段。另外, 根据本发明, 可以获得对这些疾病的诊断有用的辅助信息, 可以采取更适当的治疗, 实现预

后的改善等。本发明还可提供对阐明心肌梗塞发病机理方面有效的信息，有望对心肌梗塞的预防、治疗做出贡献。

序列表

<110> 财团法人名古屋产业科学研究所

财团法人岐阜县国际生物研究所

山田芳司

横田充弘

<120> 心肌梗塞风险的诊断方法

<130> C0200201

<150> JP P2002-181580

<151> 2002-06-21

<160> 64

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1601

<212> DNA

<213> 人类

<400> 1

```

ctccggccat cgtccccacc tccacctggg ccgcccgoga ggcagcggac ggaggccggg      60
agccatgggt gactggggct tectggagaa gttgctggac caggtccagg agcactcgac      120
cgtggtgggt aagatctggc tgacggtgct cttcatcttc cgcatectca tectgggcct      180
ggccggcgag tcagtgtggg gtgacgagca gtcagatttc gagtgtaaca cgcccagcc      240
aggctgcacc aaogtetget atgaccagge ctcccate tcccacatcc gctactgggt      300
getgcagtte ctcttcgtea gcacacccac cctgggtctac ctgggcatg tcatttacct      360
gtctogggca gaagagcggc tgcggcagaa ggagggggag ctgogggcac tgccggccaa      420

```

ggacccacag gtggagcggg cgetggcggc cgtagagcgt cagatggcca agatctcggg 480
 ggcagaagat ggtcgcctgc gcacccggg agcactgatg ggcacctatg tcgccagtgt 540
 gctctgcaag agtgtgctag aggcaggctt cctctatgga cagtggcggc tgtaccgctg 600
 gaccatggag cccgtgittg tgtgccagcg agcaccctgc cctacctog tggactgctt 660
 tgtctctcgc cccacggaga agaccatctt catcatcttc atgttgggtg ttggactcat 720
 ctccctggtg cttaacctgc tggagtggg gcacctgetg tgtcgetgcc toagccgggg 780
 gatgagggca cggcaaggcc aagacgcacc cccgaccag ggcacctcct cagaacctta 840
 cacggaccag gtcttctctt acctccccgt ggccagggg cctcatccc caccatgcc 900
 cacctacaat gggctctcat ccagtggaca gaactgggcc aacctgacca cagaggagag 960
 gctggcgtct tocaggcccc ctctctctct ggaccacccc cctcagaatg gccaaaaacc 1020
 cccaagtcgt cccagcagct ctgcttctaa gaagcagtat gtatagagge ctgtggctta 1080
 tgtcacccaa cagaggggtc ctgagaagtc tggctgcctg ggatgcccc tgccccctcc 1140
 tggaaggctc tgcagagatg actgggctgg ggaagcagat gcttgctggc catggagcct 1200
 cattgcaagt tgttcttgaa cacctgagge ctctctgtgg cccaccagge actacggctt 1260
 cctctccaga tgtgctttgc ctgagcagc acagtcagca tggaatgctc ttggccaagg 1320
 gtactggggc cctctggcct tttgcagctg atccagagga acccagagcc aacttcccc 1380
 aacctacccc tatggaacag tcacctgtgc gcaggttgc ctcaaacct ctctcacag 1440
 gaaaaggcgg attgaggctg ctgggtcagc cttgatcgca cagacagagc ttgtgccgga 1500
 tttggccctg tcaaggggac tgggtccttg tttcatcac tcttctctag ttctaotgtt 1560
 caagctctctg aaataaacag gacttgatca caaaaaaaaa a 1601

<210> 2

<211> 1178

<212> DNA

<213> 人类

<220>

<221> misc_feature

<222> (881)..(881)

<223> n stands for any base

<400> 2

```

ggggaagcaa aggagaagct gagaagatga aggaaaagtc agggtotgga ggggcggggg      60
tcagggagct cctgggagat atggccacat gtagcggctc tgaggaatgg gttacaggag     120
acctctgggg agatgtgacc acagcaatgg gtaggagaat gtccagggtc atggaagtog     180
agtatcgggg accccccctt aacgaagaca gggccatgta gagggcccca gggagtgaaa     240
gagcctccag gacctccagg tatggaatac aggggacgtt taagaagata tggccacaca     300
ctggggccct gagaagtgag agcttcatga aaaaaatcag ggaccccaga gttccttga      360
agccaagact gaaaccagca ttatgagtct cogggtcaga atgaaagaag aaggcctgcc     420
ccagtggctc gtgaattccc gggggtgatt tcaactcccc ggctgtccca ggcttgtccc     480
tgctaccccc acccagcctt tctgaggcc tcaagctgcc accaagcccc cagctccttc     540
tccccgaga cccaaacaca ggctcagga ctcaacacag cttttccctc caaccccgtt     600
ttctctccct caaggactca gttttctgaa gccctccca gttctagtte tatcttttcc     660
ctgcatcctg totggaagt agaaagaaac agaccacaga cctgggtccc aaaagaatg      720
gaggcaatag gttttgagg gcatggggac ggggttcagc ctccagggtc ctacacacaa     780
atcagtcagt ggcccagaag acccccctcg gaatcggagc agggaggatg gggagtgtga     840
ggggtatcct tgatgcttgt gtgtcccaa ctttccaaat ncccgcccc gcgatggaga     900
agaaaocgag acagaaggtg cagggccccc taccgcttcc tccagatgag cttatgggtt     960
tctccaccaa ggaagtttcc cgtggttga atgattcttt ccccgccctc ctctcgeccc    1020
agggacatat aaaggcagtt gttggcaaac ccagccagca gacgtccct cagcaaggac    1080
agcagaggac cagctaagag ggagagaago aactgcagac cccccctgaa aacaaccctc    1140

```

agacgcaca tcccctgaca agctgccagg caggttot	1178
<210> 3	
<211> 971	
<212> DNA	
<213> 人类	
<400> 3	
ccaggctgca gtgcagtggc gcagctgtga ctcatggcag cctccacotg gctcaggcca	60
ccctcttacc tcagcctctg gagtagctgg gaccacagge acacaccact gcaoctggct	120
tttaaatttt ttgtagagat gagggtctca ctatggtgce caggctggtc tcaaaactcct	180
ggctccagt gatcctccc cctcagcctc ccaaaatgct gggattccag gcatgagcca	240
ccgtgctcgg gccctctct gtgttgtctt cagtaaaggg agttccctgt gcccctcag	300
gctgagctgg gctgttctt aaccacatgg cttcagtgtg gcggcgtgt ttgtgtgct	360
gctggagtac ccccggggga agaggaagaa gggctccacc atggagcgt ggtgagtctc	420
ctcctgatct ggggtctctc cggggcgtgc ggggccagg caggcctcac agggttgggt	480
ggagcttggc ttctcacttg gaggctccgg aaccaacct ttggtgcttg tgggtaaacc	540
aaggccggtg cctgcccggt gtgtttgtg ggaggaagaa ggcctgggtg ccctgggggtg	600
gtcagcaggg cagcaaagga gtcccagtg ggagaggecc agccgcgccc tctgccttc	660
ctccctcccc caggggacag aagtacatga ccgccgtggc gaagctgttc gggcccttta	720
ccaggaatta ctatgttcgg gccgtcctgc atctcctgtg agtcccctgc ccgcacccc	780
tctagggctc aggagggtt ggagccgacc ctcccactg tcccacggc cgggctgcct	840
ggacaggagc caccctcact tacctcagt tttttccaaa caaaaattcg ggtccctggc	900
tctggcaggg cctgtgtctg ctgtctagt tgcaggattt gtaaggatcc actccaaatc	960
cgaggagctc g	971

<210> 4

<211> 1278

<212> DNA

<213> 人类

<400> 4

ccagacaagt gatttttgag gaggccctat ctataggaac aaagtaatta aaaaaatgta 60

tttcagaatt tacaggccca tgtgagatat gattttttta aatgaagatt tagagtaatg 120

ggtaaaaaag aggtatttgt gtgtttgttg attgttcagt cagtgaatgt acagcttctg 180

cctcatatcc aggcaccate tcttctget ctttgttgtt aaatgtcca ttcctgggta 240

atttcatgtc tgccatcgtg gatatgccgt ggctcettga acctgcttgt gttgaagcag 300

gatottoctt cctgtccctt cagtgccta ataccatgta ttaaggctg gacacatcac 360

cactcccaac ctgcctcacc cactgcgtca cttgtgatca ctggcttctg ggcactctca 420

ccaaggtctc tgtcatgcc tgttataacg actacaaaag caagtcttac ctataggaaa 480

ataagaatta taaccctttt actggtcatg tgaacttac catttgcaat ttgtacagca 540

taaacacaga acagcacatc tttcaatgcc tgeatcctga aggcatcttg tttgtgtctt 600

tcaatctggtc tgtgctattg ttgggtttta acagtctccc cagctacact ggaaaacttc 660

agaaggcact tttcaactgc ttgtgtgttt tcccagctgt ctattagagg cctttgcaca 720

gggtaggctc tttggagcag ctgaaggcca cacatccat gagcgggcag cagggtcaga 780

agtggcccc gtgttgcta agcaagactc tcccctgcc tctgccctct gcaoctccgg 840

cctgcatgtc cctgtggcct cttgggggta catctcccgg ggctgggtca gaaggcctgg 900

gtggttggcc tcaggctgtc acacacctag ggagatgctc cgtttcttg gaaccttggc 960

cccgaactct gcaaaacttcg gtaaagtgt aactegacce tgcaccgct cactctgttc 1020

agcagtgaac ctctgcatg atcactaaga cttcctggaa gaggtcccag cgtgagtgct 1080

gcttctggca totgtcttc tggccagcct gtggtctggtc caagtgatgt aacctctc 1140

tccagcctgt gcacaggcag cctgggaaca getccatccc caccctcag ctataaatag 1200
 ggctcctga cccggccagg ggaagaagct gccgttgctc tgggtactac agcagaaggt 1260
 aagccggggg cccctca 1278

 <210> 5
 <211> 1426
 <212> DNA
 <213> 人类

 <400> 5
 caaggtcaca cagctggcaa ctggcagagc caggattcac gccctggcaa ttgactcca 60
 gaatectaac cttaaaccag aagcacgget tcaagccct ggaaccaca ataactgtgg 120
 cagccagggg gaggtgctgg aatctcattt cacatgtggg gagggggctc cctgtgctc 180
 aaggtcacia ccaaagagga agctgtgatt aaaacocagg tccatttgc aaagcotoga 240
 cttttagcag gtgcataata ctgttcccac cctcccata ccacttctgt ccagccgct 300
 agccccactt ttttttttt ctttttttga gacagtctcc ctottgctga ggotggagtg 360
 cagtggcgag atctcgctc actgtaacct ccgctcccg ggttcaagc attctcctgc 420
 ctacgctcc caagtagcta ggattacagg cgcgccac caogcctgga taacttttgt 480
 atttttagta gagatgggtt ttcaccatgt tggccaggct ggtctcaaac tctgacctt 540
 aagtgattcg cccactgtgg cctcccaaag tgctgggatt acaggcgtga gctaccgccc 600
 ccagcccctc ccateccact tetgtccage ccctagccc tactttttt ctgggatcca 660
 ggagtccaga tcccagccc cctctccaga ttacattcat ccaggcacag gaaaggacag 720
 ggtcaggaaa ggaggactct gggcggcagc ctccacattc ccttccacg cttggcccc 780
 agaatggagg aggggtctct tattactggg cgaggtgtcc tcccttctg gggactgtgg 840
 ggggtggtca aaagacctct atgccccacc tcttctctc ctctgcccgt ctgtgctgg 900

ggcaggggga gaacagccca cctcgtgact gggggctggc ccagcccgcc ctatccctgg 960
 gggagggggc gggacagggg gagccctata attggaoag tctgggatcc ttgagtccta 1020
 ctacagccca gggaggtga aggaactcct tccccaggag ccggtgagaa gcgcagtogg 1080
 gggcacgggg atgagctcag gggcctctag aaagagctgg gaccctggga agccctggcc 1140
 tccaggtagt ctcaggagag ctactcgggg tcgggcttgg ggagaggagg agcgggggtg 1200
 aggcaagcag caggggactg gacctgggaa gggctgggca gcagagacga cccgaccgca 1260
 tagaaggtgg ggtggggaga gcagctggac tgggatgtaa gccatagcag gactccacga 1320
 gttgtcacta tcatttatcg agcacctact ggggtgcccc agtgtcctca gatctccata 1380
 actggggagc caggggcagc gacacggtag ctagecctog attgga 1426

<210> 6
 <211> 1505
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 6
 gctggtcgga ggctcgcagt gctgtcggcg agaagcagtc gggtttggag cgcttgggtc 60
 ggttgggtgc gcggtggaac gcgcccaggg acccagttc ccgogagcag ctccgcgcgc 120
 cgctgagag actaagctga aactgctgct cagctcccaa gatggtgcca cccaaattgc 180
 atgtgctttt ctgcctctgc ggctgcctgg ctgtggttta tccttttgac tggcaataca 240
 taaatcctgt tgcccatatg aaatcatcag catgggtcaa caaaatacaa gtactgatgg 300
 ctgctgcaag ctttggccaa actaaaatcc cccggggaaa tgggccttat tccgttggtt 360
 gtacagactt aatgtttgat cacactaata agggcacctt cttgcttta tattatccat 420
 cccaagataa tgatgcctt gacaccctt ggatcccaa taaagaatat tttggggtc 480
 ttagcaaatt tcttgaaca cactgctta tgggcaacat tttgaggtta ctctttggtt 540
 caatgacaac tcctgcaaac tggaattccc ctctgaggcc tggtaaaaa tatccacttg 600

ttgttttttc tcatggctctt ggggcattca ggacacttta ttctgctatt ggcattgacc 660
 tggeatctca tgggtttata gttgctgctg tagaacacag agatagatct gcatctgcaa 720
 cttactatctt caaggaccaa tctgctgcag aatagggga caagtcttgg ctctacetta 780
 gaaccctgaa acaagaggag gagacacata tacgaaatga gcaggtaoagg caaagagcaa 840
 aagaatgttc ccaagctctc agtctgattc ttgacattga tcatggaaaag ccagtgaaga 900
 atgcattaga tttaaagttt gatatggaac aactgaagga ctctattgat agggaaaaaa 960
 tagcagtaat tggacattct tttggtggag caacggttat tcagactctt agtgaagatc 1020
 agagattcag atgtggtatt gccctggatg catggatggt tccactgggt gatgaagtat 1080
 attccagaat tctcageccc ctctttttta tcaactctga atatttcaa tatcctgcta 1140
 atatcataaa aatgaaaaaa tgctaactcac ctgataaaga aagaaagatg attacaatca 1200
 ggggttcagt ccaccagaat tttgctgact tcacttttgc aactggcaaa ataattggac 1260
 acatgctcaa attaaaggga gacatagatt caaatgtage tattgatctt agcaacaaaag 1320
 cttcattage attcttacia aagcatttag gacttcataa agattttgat cagtgggact 1380
 gcttgattga aggagatgat gagaatctta ttccaggac caacattaac acaaccaatc 1440
 aacacatcat gttacagaac tcttcaggaa tagagaaata caattaggat taaaataggt 1500
 ttttt 1505

<210> 7
 <211> 1419
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 7
 gaattctgag ggcagagcgg gccactttct aggcctotga tttcactctg tgggtttagt 60
 tactctgag aggaocagctt gctgccagag ctctatcttt tatgttagag gctcctctg 120

cctgcagaact ctgctgtctg ggaagggcac agcgttagga gggagaggga ggtgtgagtc 180
 cctcctgga cccgtgctt tgtacttctc tatctcattt ccttttcagc accactctgg 240
 gaaatcagta ttccagcccc attttatect cagaaaattg aggetotgag atgttatctc 300
 tgtgacotgg gtccatttac gtgccaaagg catcatttaa gcctaagatg tccctggctcc 360
 aaggtgtcag catctggaag acaggcgcct catcctgcc a cccctgctgc ggcttcaactg 420
 tggcccaggg gacatctcag ccogagaagg tcagcggccc cctcctggac caccgactcc 480
 ccgcagaact cctctgtgce ctctctctcac cagacctgtt tccctccagt tgcctccaca 540
 gccagggggc agtgaggget gctottcccc cagccccact gaggaacca ggaaggtgaa 600
 cgagagaatc agtccctggg ggggctgggg agggccccag acatgagacc agctcctccc 660
 ccaggggatg ttatcagtgg gtccagaggg caaaataggg agcctgggtg agggagggggc 720
 aaaggcctcg ggtctgagc ggctttggcc ttctccacca accctccct acactcaggg 780
 ggaggcggcg gtggggcaca caggggtggg ggcgggtggc gggctgctgg gtgagcagca 840
 ctgcctgccc tggattgaaa cccagagatg gaggtgctgg gaggggctgt gagagctcag 900
 ccctgtaacc aggccttgcc ggagccactg atgcccggtc ttctgtgctt ttactocaaa 960
 catccccag cccaagccac ccacttgctc tcaagtctga agaagaagtc cctcaccct 1020
 ctactccagg ctgtgttcag ggcttggggc tgggtggagg aggggcctga aattccagtg 1080
 tgaaggotg agatgccga gccctggcc tatgtccaag ccatttccc totctacca 1140
 gcctctccct ggggagccag tcagctagga aggaatgagg gctccccagg cccacccca 1200
 gttcctgagc tcacttgggc tgcagggtg gcgggacagc agcgtggact cagtctcota 1260
 gggatttccc aactctccc cccgcttget gcacttggac accctgoctc aggcctctat 1320
 ctccactggt cagcaggtga cctttgccca gcgcctggg tccctcagtgc ctgctgcct 1380
 ggagatgata taaaacaggt cagaaccctc ctgctgtc 1419

<210> 8

<211> 3074

<212> DNA

<213> 人类

<400> 8

```

gaattccggg gagcaggaag agccaaacatg ctggccccgc ggggagccgc cgtcctcctg      60
ctgcacctgg tcctgcagcg gtggetagcg goaggogccc aggccacccc ccaggtcttt      120
gaccttctcc catcttcag tcagaggcta aaccagggcg ctctgetgce agtcctgaca      180
gaccccgccc tgaatgatct ctatgtgatt tccacottca agctgcagac taaaagttca      240
gccaccatct tcggtcttta ctcttcaact gacaacagta aatattttga atttactgtg      300
atgggacgct taagcaaagc catcctcctg tacctgaaga acgatgggaa ggtgcatttg      360
gtggttttca acaacctgca gctggcagac ggaaggcgge acaggatcct cctgaggctg      420
agcaatttgc agcgaggggc cggctcccta gagctctacc tggactgcat ccaggtggat      480
tccgttcaca atctcccag ggcctttgct ggccccctcc agaaacctga gaccattgaa      540
ttgaggactt tccagaggaa gccacaggac ttcttgggag agctgaagct ggtggtgaga      600
ggctcactgt tccaggtggc cagcctgcaa gactgcttcc tgcagcagag tgagccactg      660
gctgccacag gcacagggga cttaaccgg cagttcttgg gtcaaatgac acaattaaac      720
caactcctgg gagaggtgaa ggaccttctg agacagcagg ttaaggaaac atcatttttg      780
cgaaacacca tagctgaatg ccaggcttgc ggtcctctca agtttcagtc tcogacocca      840
agcacggtgg tcgccccgpc tccccctgca cggccaacac gcccaacctg tcggtgtgac      900
tccaacccat gtttccgagg tgtccaatgt accgacagta gagatggctt ccagtgtggg      960
ccctgccccg agggetacac aggaaacggg atcacctgta ttgatgttga tgagtgcaaa     1020
taccatccct gtaaccggg cgtgcaactgc ataaatttgt ctctggctt cagatgtgac     1080
gcctgcccag tgggetteac agggcccatg gtgcagggtg ttgggatcag ttttgccaag     1140

```

tcaaacaagc aggtotgcac tgacattgat gagtgtogaa atggagcgtg cgttcccaac 1200
tcgatctgcg ttaatacttt gggatcttac cgtgtgggco cttgtaagcc ggggtatact 1260
ggtgatcaga taaggggatg caaagtggaa agaaactgca gaaaccaga gctgaaccct 1320
tgcagtgtga atgoccagtg cattgaagag aggcaggggg atgtgacatg tgtgtgtgga 1380
gtcggttggg ctggagatgg ctatatctgt ggaaaggatg tggacatcga cagttacccc 1440
gacgaagaac tgccatgctc tgccaggaac tgtaaaaagg acaactgca atatgtgcca 1500
aattctggcc aagaagatgc agacagagat ggcattggcg acgcttgtga cgaggatgct 1560
gacggagatg ggatcctgaa tgagcaggat aactgtgtcc tgattcataa tgtggacca 1620
aggaacagcg ataaagatat ctttgggat gctgtgata actgcctgag tgtcttaaat 1680
aacgaccaga aagacaccga tggggatgga agaggagatg cctgtgatga tgacatggat 1740
ggagatggaa taaaaacat tctggacaac tgccaaaat ttcccaatcg tgaccaacgg 1800
gacaaggatg gtgatggtgt ggggatgcc tgtgacagtt gtctgatgt cagcaaccct 1860
aaccagtctg atgtggataa tgatctggtt ggggactcct gtgacacca teaggacagt 1920
gatggagatg ggcaccagga cagcacagac aactgcccc cogtcattaa cagtgccag 1980
ctggacaccg ataaggatgg aattggtgac gagtgtgatg atgatgatga oaatgatggt 2040
atcccagacc tgggtccccc tggaccagac aactgcggc tggccccaa cccagcccag 2100
gaggatagca acagcgacgg agtgggagac atctgtgagt ctgactttga ccaggaccag 2160
gtcatcgatc ggatcgaogt ctgccagag aacgcagagg tcacctgac cgacttcagg 2220
gettaccaga cgtgggcct ggatcctgaa ggggatgcc agatcgatcc caactgggtg 2280
gtcctgaacc agggcatgga gattgtacag accatgaaca gtgatcctgg cctggcagtg 2340
gggtacacag cttttaatgg agttgacttc gaagggacct tccatgtgaa taccagaca 2400
gatgatgact atgcaggett tatctttggc taccaagata gctccagctt ctacgtggtc 2460
atgtggaagc agacggagca gacatattgg caagccacce cattccgagc agttgcagaa 2520

octggcattc agctcaagge tgtgaagtct aagacaggte caggggagca tctccggaac 2580
 tcctgtggc acacggggga caccagtac caggtcagge tgctgtggaa ggactccagg 2640
 aatgtgggct ggaaggacaa ggtgtcctac cgotggttcc tacagcacag gccccagggtg 2700
 ggctacatca gggtacgatt ttatgaagge tctgagttgg tggctgactc tggcgtcacc 2760
 atagacacca caatgogtgg aggcogactt ggogttttct gcttctctca agaaaacatc 2820
 atctggttca acctcaagta toctgcaat gacaccatcc ctgaggactt ccaagagttt 2880
 caaaccaga attogaccg ctogataat taaaccaagg aagoaatctg taactgcttt 2940
 toggaacact aaaaccatat atattttaac ttcaattttc tttagctttt accaaccocaa 3000
 atatatcaaa acgttttatg tgaatgtggc aataaaggag aagagatcat ttttaaaaaa 3060
 aaaaaaaaaa aaaa 3074

<210> 9
 <211> 1327
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 9
 gatcccaga gactttccag atatctgaag aagtctgat gtcactgccc cggtccttcc 60
 ccaggtagag caacactcct cgtogcaacc caactggctc cccttacctt ctacacacac 120
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacaaat ccaagacaac actactaagg 180
 cttctttggg agggggaagt agggataggt aagaggaaag taagggacct cctatccage 240
 ctccatggaa tectgacttc ttttcttgt tatttcaact tcttccacc cactttttaa 300
 acttttagact ccagccacag aagcttaca ctaaaagaaa ctctaaggcc aatttaatec 360
 aaggtttcat tctatgtgct ggagatggtg tacagtaggg tgaggaaacc aatttctcag 420
 ttggcactgg tgtaccottg tacaggtgat gtaacatctc tgtgctcag tttgctcact 480

ataaaataga gacggtaggg gtcatggtga gcactacctg actagcatat aagaagcttt 540
 cagcaagtgc agaactactct taccacttc cccaagcac agttgggggtg ggggacagct 600
 gaagaggtgg aacatgtgc ctgagaatcc taatgaaac ggggtaaagg agcctggaac 660
 acatcctgtg acccgcctg tctgttagga agccagtctc tggaaagtaa aatggaaggg 720
 ctgcttggga actttgagga tatttagccc acccctcat ttttacttgg ggaaactaag 780
 gccagagac ctaaggtgac tgcctaagtt agcaaggaga agtcttgggt attcatcca 840
 ggttgggggg acccaattat ttctcaatcc cattgtatc tggaatgggc aatttgcaca 900
 cgtcactgtg acctaggaac acgcgaatga gaaccacag ctgagggoot ctgogcacag 960
 aacagctgtt ctcccagga aatcaacttt ttttaattga gaagctaaa aattattcta 1020
 agagaggtag cccatcctaa aatagctgt aatgcagaag ttcattgtoa accaatcatt 1080
 tttgcttacg atgcaaaaat tgaaaactaa gtttattaga gaggttagag aaggaggagc 1140
 tctaagcaga aaaaatcctg tgccgggaaa ccttgattgt ggctttttaa tgaatgaaga 1200
 ggctccctg agcttacaat ataaaagggg gacagagagg tgaaggtcta cacatcaggg 1260
 gcttgcctt gcaaaaacca accacaagac gaacttcaa aagaaggcat gcacagctca 1320
 gcaactgc 1327

<210> 10
 <211> 2376
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 10
 tetagaaatg tetgcatgat ttttgattt ttgactttt aatttacctg tttgacattt 60
 gctatgagcc tttcactcat aactaatata ttatttagtt ctctaagtaa tttttggtta 120
 cctactatat atcagatacc atgctaagta ctaggaatac agaatcaaat gaggcattgt 180
 ccataccctc aagtagctta cattagaatg agagagacag ataaaccatt tcaactacagt 240

tcagtgtgga aatagagta gcagaggcag gtacaaggta ccattgaaca atgattaatg 300
 actcttctctg ggacttggga aacatcttcc agggaagtcg tcgaagctgt tttaaaatat 360
 agcaaaacttt tgtatttagt tcaggaacag catggcccat tttgccaatc acatcttaac 420
 agttggaaaa gcaaacatat tatctatcag gctttctct aaactttaa tatgttttat 480
 aagttataac tccagagaaa atttacaag gataaacctt aatatagaag gaattagagc 540
 tgccacagct tctacacttt taacctctca atattttatc tgttgggctc caotgtttct 600
 tcttgaatt cacatcactg ccaccactct gttctctctg tctctatc aatgtggcca 660
 aatattttcc ctgtatttca atcaggacaa gacatggttt ttcccccca tcaaaggaat 720
 ggagaacat agaatactag ttttaaaatg totttaggcc aggtgcectg acccatgtct 780
 gtaatectag cactttgaga ggttgaggca ggagaatcac ttgatcccag agctcgaaac 840
 cagcctgggc aacatagtga aacctctgct tctatttttt aaataaaatt tgaaaaagtc 900
 tttagacata atctagtcta aaaatgaagg cttaaattgt atgtatagcc cctgccaag 960
 tggctatcac ctgtgtgggc atcttcagtc atagggatct tattgccaca gagaaatccc 1020
 tttaaactta ttgggtaaaa tctctccaat gtttattaag aaacacacaa aaataaagc 1080
 aaagaagaaa atgcaaaaga gttataaatg agaggaagca aamtgggcac ttattaaagg 1140
 tctaataaat gcacatttgt atccatcatt ctactgagtt ctactccca agatgttctt 1200
 ccctttagca aacaataag caagtcagca aagaagaaa gaacaacaa aatgtggtga 1260
 tcagggaagc attgaggaga tggatggtgg caggtggcaa gaggactata aaagttttac 1320
 aaaatgtctt cctotgaata tgtttagagt cttgcattca agcatttatt atacaccaat 1380
 aatgtgagca acactttact tgacaaagaa acagaaaaga aaggaaagga agaaaacaga 1440
 agagcatgaa gagaaaattt aggatggatt ctgtttctca acttcaaagc atctgctaata 1500
 ttgaatttag ggaggagggg aaaaggttga aagagaataa gacatgtgta gaagacaagg 1560

acagagagaa ttccagtcog gtaagcaatg taattcattt caattctaoa actatttatg 1620
 gagcagctac gtgggeccat caccattaa taattgggtt acagaattaa aaccaacca 1680
 aaggaatat acttcottct tttcacaga cctctttgt tetattctgc ceatgaggtt 1740
 ttctctctca agaaccagca aatccaacga cagtcaatag caggcattac aatcagatt 1800
 cagaaaaata aatcaccctc totaaatttc ttctagatat tatcttttat gttttgagta 1860
 taattgtata tagtatagac tatagctatg tatgtacct ttccacttac atcttttatt 1920
 tgcttttata atgtctttct taaaataaaa ctgcttttag aagtcttcca caattctgat 1980
 tttaccaag tcaacctact tctctctca aaaggacaaa cataaattgt ctagtgaatt 2040
 ccagtcaatt ttccagaag aaaaaaatg ctccagtttt ctctctacc aagacaggaa 2100
 gcaacttctg gagattaatc actgtgttgc cttgcaaat tgggaaggtt gagagaaatt 2160
 agtaaagtag gttgtatcat ctaactttga atttggaatg tttggaaatg gtctgtctgc 2220
 catttgatg aaagcaagga tgagtoaagc tggggatgat ccaacaaac actgtcactc 2280
 tttaaaagct gcgtccoga ggttggacct acaaggagc aggcaagaca gcaaggcata 2340
 gagacaacat agagctaagt aaagccagtg gaaatg 2376

<210> 11
 <211> 959
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 11
 aagcttttac catggtaac cctggctccg ttcagccacc accaccccac ccagcacacc 60
 tccaacctca gccagacaag gttgttgaca caagagagcc ctccagggca cagagagagt 120
 ctggacacgt gggggagtca gccgtgtatc atcggaggcg gccgggcaca tggcagggat 180
 gagggaaaga ccaagagtcc tctgttgggc ccaagtcota gacagacaaa acctagacaa 240
 tcacgtggct ggctgcacgc cctgtggctg ttgggtggg occaggagga gggagggcg 300

ctctttctctg gaggtgggtcc agagcaccgg gtggacagcc ctgggggaaa acttccacgt 360
 tttgatggag gttatctttg ataactccac agtgacctgg ttgccaaaag gaaaagcagg 420
 caaacgtgag ctgtttttt tttctccaag ctgaacacta ggggtcctag gctttttggg 480
 tcacccggca tggcagacag tcaacctggc aggacatccg ggagagacag acacaggcag 540
 agggcagaaa ggtcaaggga ggttctcagg ccaaggctat tggggtttgc tcaattgttc 600
 ctgaatgctc ttacacacgt acacacacag agcagcacac acacacacac acacatgect 660
 cagcaagtcc cagagaggga ggtgtcgagg gggaccogct ggtgttccag acggactccc 720
 agagccagtg agtgggtggg gctggaacat gagtccatct atttctgccc cacatctggt 780
 ataaaaggag gcagtggccc acagaggagc acagctgtgt ttggtgcag ggccaagagc 840
 gctgtcaaga agaccacac gccccctcc agcagctgaa ttctgcagc tcagcagccg 900
 ccgccagagc aggaagaacc gccaatgca aggeacctct gagaacttca ggtaggaga 959

<210> 12
 <211> 2480
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 12
 gacgtctgt gccttoggag gtctttctgc ctgctgtcc tcatgctct cctctcttg 60
 ctgctctgc tgecaagccc ettacacccc cacccatct gtgaggtoto caaagtggcc 120
 agccacctag aagtgaactg tgacaagagg aatctgacag cgtgcctcc agacctgccc 180
 aaagacacaa ccatctoca cctgagttag aacctctgt acacctctc cctggcaacc 240
 ctgatgcctt aactgcct cactcagctg aacctagata ggtgcgagct caccaagctc 300
 caggtcagtg ggaogctgcc agtctgggg acctggatc tatccacaa tcagctgcaa 360
 agcctgcct tgetagggca gacactgct gctctcaccg tctggagct ctcctcaac 420

cggetgacct cgetgcoctet tgggtgccctg cgtgggtettg gcgaactcca agagctctac 480
 ctgaaaggca atgagctgaa gaccctgccc ccagggtccc tgacgcccac acccaagctg 540
 gagaagctca gtctggctaa caacaacttg actgagctcc ccgctgggct cctgaatggg 600
 ctggagaatc togacacct tctctccaa gagaactcgc tgtatacaat accaaagggc 660
 ttttttgggt cccacotcet gccttttget tttctccacg ggaaccctg gttatgcaac 720
 tgtgagatec tctattttcg tcgctggctg caggacaatg ctgaaaatgt ctacgtatgg 780
 aagcaagggtg tggacgtcaa ggccatgacc tctaacgtgg ccagtgtgca gtgtgacaat 840
 tcagacaagt ttcccgteta caaatacca ggaagggtt gccccacct tggatgaa 900
 ggtgacacag acctatatga ttactacca gaagaggaca ctgaggcga taaggtcgt 960
 gccacaagga ctgtggtoaa gttcccacc aaagccata caaccctg gggtotatte 1020
 tactcatggt ccactgcttc tctagacagc caaatgccct octccttga tccaacaaa 1080
 gaatcacta aggagcagac cacattcca cctagatgga ccccaattt cacaattcac 1140
 atggaatcca tcacattctc caaaactcca aatccacta ctgaaccaac cccaagccc 1200
 accaectcag agcccgtccc ggagcccgc ccaaacatga ccacctgga gcccactcca 1260
 agcccgacca ccccagagcc cactcagag ccgccccca gcccgaccac ccggagccc 1320
 accccaatcc cgaccatgc cacaagccc accatcctgg tgtctgccac aagcctgate 1380
 actccaaaaa gcacattttt aactaccaca aaaccgtat cactcttaga atccacaaa 1440
 aaaaccatcc ctgaacttga tcagccacca aagctcctg gggctctcca agggcatttg 1500
 gagagctcca gaaatgacc tttctccac ccgactttt gctgctcct ccccctgggc 1560
 ttctatgtet tgggtctett ctggctctc tttgctctg tggctctcat cctgetgetg 1620
 agctgggttg ggcattgaa accacaggcc ctggactctg gccaaagtgc tgetctgacc 1680
 acagccacac aaaccacaca cctggagctg cagaggggac ggcaagtgc agtgccccg 1740
 gcctggctgc tcttctctc aggttcctt ccaactttc getccagcct ctctctgtgg 1800

gtacggccta atggccgtgt ggggcctcta gtggcaggaa ggaggccctc agctctgagt 1860
 cagggtcgtg gtcaggacct gctgagcaca gtgagcatta ggtactctgg ccaacagctc 1920
 tgagggtggg aggtttgggg accttgagag aagagcctgt gggctctcct attggaatct 1980
 agttgggggt tggaggggta aggaacacag ggtgataggg gaggggtctt agttcctttt 2040
 tctgtatcag aagccctgtc ttcacaacac aggcacacaa ttcagtccc agccaaagca 2100
 gaaggggtaa tgacatggac ttggcggggg gacaagacaa agctcccgat gctgcatggg 2160
 gcgctgccag atctcacggt gaaccatttt ggcagaatac agcatggttc ccacatgcat 2220
 ttatgcacag aagaaaatct ggaaagtgat ttatcaggat gtgagcactc gttgtgtctg 2280
 gatgttaca atattgggtg ttttattttc tttttcctg ttttagcattt tctagttttc 2340
 ttatcaggat gtgagcactc gttgtgtctg gatgttaca atattgggtg ttttattttc 2400
 tttttcctg ttttagcattt tctagttttc cactattatt gtatattatc tgtataataa 2460
 aaaataattt tagggttggg 2480

<210> 13
 <211> 1337
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 13
 cccccacca tggcgaagct gattgcctc accctcttgg ggatgggact ggcactcttc 60
 aggaaccacc agtcttctta ccaaacacga cttaatgctc tccgagaggt acaaccctga 120
 gaacttcta actgtaattt agttaagga atcgaaactg gctotgaaga catggagata 180
 ctgcctaata gactggcttt cattagetct ggattaaagt atcctggaat aaagagcttc 240
 aacccaaca gtcotggaaa aatactcttg atggacctga atgaagaaga tccaacagtg 300
 ttggaattgg ggatcactgg aagtaaattt gatgtatctt catttaacc tcatgggatt 360

agcacattca cagatgaaga taatgccatg tacctcctgg tggatgaacca tccagatgcc 420
 aagtccacag tggagttggt taaatttcaa gaagaagaaa aatcgctttt gcatctaaaa 480
 accatcagac ataaacttct gcctaatttg aatgatattg ttgetgtggg acctgagcac 540
 ttttatggca caaatgatca ctattttctt gaccctact tacaatcctg ggagatgtat 600
 ttgggttag cgtggctgta tgttgtctac tatagtocaa gtgaagtctg agtgggtgca 660
 gaaggatttg attttgctaa tggaatcaac atttcaccog atggcaagta tgtctatata 720
 gctgagttgc tggctcataa gattcatgtg tatgaaaagg atgctaattg gactttaact 780
 ccattgaagt ccocttgact taataccctc gtggataaca tatctgtgga tctgagaca 840
 ggagaccctt gggttggatg ccatcccaat ggcataaaaa tcttcttcta tgactcagag 900
 aatcctcctg catcagaggt gcttcgaato cagaacatc taacagaaga acctaaagt 960
 acacaggttt atgcagaaaa tggcacagtg ttcaaggca gtacagttgc ctctgtgtac 1020
 aaagggaaac tgctgattgg cacagtgtt cacaagctc tttactgtga gctctaacag 1080
 accgatttgc acctatgcca tagaaactga ggccattatt tcaaccgott gcatattcc 1140
 gaggaccag tgttcttagc tgaacaatga atgctgacce taaatgtgga catcatgaag 1200
 catcaaagca ctgtttaact gggagtgata tgatgtgtag ggctttttt tgagaataca 1260
 ctatcaaatc agtcttggaa tacttgaaa cotcatttac cataaaaate ettctcacta 1320
 aatggataa atcagtt 1337

<210> 14
 <211> 5515
 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 14
 ggaacttgat gctcagagag gacaagtcac ttgcccaagg tcacacagct ggcaactggc 60
 agacgagatt cacgccctgg caatttgact ccagaatcct aaccttaacc cagaagcaog 120

gttcaagcc ctggaacca caatacctgt ggcagccagg gggagggtgct ggaatctcat 180
 ttcacatgtg gggagggggc tctgtgctc aaggtcacaa ccaagagga agctgtgatt 240
 aaaaccagg tccatttgc aaagcctoga ctttagcag gtgcatacata ctgttcccac 300
 cctcccac ccaattctgt ccagccgct agecccaact ttttttttt ctttttttga 360
 gacagtctcc ctcttctga ggctggagtg cagtggogag atctcgctc actgtaacct 420
 ccgctcccg ggttcaagcg attctctgc ctacgctcc caagtagcta ggattacagg 480
 cgcccgcac cacgcctggc taactttgt attttagta gagatgggtt ttcacatgt 540
 tggccaggt ggtctcaaac tctgacctt aagtattog cccactgtg cctcccagg 600
 tgctgggatt acaggcgtga gctacgcgcc ccagccctc ccatcccact tctgtccagc 660
 ccctagccc tactttctt ctgggatcca ggagtccaga tcccagccc cctctccaga 720
 ttacattcat ccaggcacag gaaaggacag ggtcaggaaa ggaggactct gggcggcagc 780
 ctccacatte cccttccag ctggccccc agaattggagg aggggtctctg tattactggg 840
 cgaggtgtcc tccctctctg gggactgtg ggggtgtca aaagacctct atgcccacc 900
 tcttctctc ctctgacctg ctgtgacctg ggcaggggga gaacagccc cctctgact 960
 gggctgccc gccgcctc tccctggggg agggggcggg acagggggag cctataatt 1020
 ggacaagtct gggatcctg agtctactc agecccagc gaggtgaagg acgtcctcc 1080
 ccaggagccg gtgagaagcg cagtggggg cacgggatg agctcagggg cctctagaaa 1140
 gagctgggac cctgggaagc cctggcctcc aggtagtctc aggagagcta ctcggggtcg 1200
 ggcttgggga gaggaggagc ggggtgagg caagcagcag gggactggac ctgggaaggg 1260
 ctgggcagca gagacgacc gaccgctag aaggtgggtt ggggagagca gctggactgg 1320
 gatgtaagcc atagcaggac tccacagtt gtcaactatca ttatcgagca cctactgggt 1380
 gtcccagtg tctcagatc tccataactg gggagccagg ggcagcgaca cggtagctag 1440

ccgtcgattg gagaacttta aaatgaggac tgaattagct cataaatgga acacggcget 1500
 taactgtgag gttggagctt agaatgtgaa gggagaaatga ggaatgcgag actgggactg 1560
 agatggaacc ggoggtgggg agggggtggg gggatggaat ttgaaccccg ggagaggaag 1620
 atggaatfff ctatggagge cgacctgggg atggggagat aagagaagac caggagggag 1680
 ttaaataagg aatgggttgg gggcggttg gtaaagtgc tgggattagg ctgttgcaga 1740
 taatgcaaca aggettggaa ggctaacctg ggtgaggcc gggttgggg cgctgggggt 1800
 gggaggagtc ctactggcg gttgattgac agttctct tcccagact ggccaatcac 1860
 aggcaggaag atgaaggte tgtggctgc gttgctggtc acattcctgg caggtatggg 1920
 ggoggggett gctcggttc cccgctct cccctctca tctcacctc aacctcctgg 1980
 cccattcag acagacctg gccccctct tctgaggett ctgtctct tctggctct 2040
 gaacagcagat ttgacctct ctggcctcg gttccccca tcttgagat aggagttaga 2100
 agttgtttt ttgtttgt ttgtttgt tgtttgtt ttttgagat agtctctct 2160
 ctgtcgcca ggctggagt cagtggcgg atctcgctc aotgcaagct cgcctcca 2220
 ggtccagcc attctctgc ctacgctcc oaagtagct ggactacagg cacatgccac 2280
 cacaccgac taacttttt gtattttcag tagagaogg gttcaccat gttggccagg 2340
 ctggtctgga actcctgacc tcaggtgac tgcocgttc gatctccaa agtctggga 2400
 ttacaggcgt gagccaccg acctggctgg gagttagagg tttctaatgc attgcaggca 2460
 gatagtgaat acoagacag ggcagctgt gatctttatt ctccatcacc cccacacagc 2520
 cctgcctggg gcacacaagg aactcaata catgctttc cgtgggccc gtgctcacc 2580
 cctgtaatcc cagcaacttg ggaggccaag gtggaggat cacttgacc caggagtca 2640
 acaccagct ggcaacata gtgagacct gtcttacta aaaatacaaa aattagccag 2700
 gcatggtgcc acacacctg gctctcagct actcaggagg ctgaggcagg aggatcctt 2760
 gagccagaa ggtcaaggt gcagtgaacc atgtcagge cgotgcactc cagcctgggt 2820

gacagagcaa gaccctgttt ataaatacat aatgctttcc aagtgattaa accgactccc 2880
ccctcaccct gccaccatg gctccaaaga agcatttggt gagcaccttc tgtgtgcccc 2940
taggtagcta gatgcctgga oggggtcaga aggaccctga cccgaccttg aacttgttcc 3000
acacaggatg ccaggccaag gtggagcaag cggaggagac agagccggag cccgagctgc 3060
gccagcagac cgagtggcag agcggccago gctgggaact ggcactgggt cgtttttggg 3120
attacctgog ctgggtgcag acaactgtctg agcaggtgca ggaggagctg ctcagctccc 3180
aggtcaccca ggaactgagg tgagtgccc catcctggcc cttgaccctc ctgggtggcg 3240
gctatacctc cccaggtcca ggtttcatte tgcccctgtc gctaagtctt ggggggcctg 3300
ggtctctgct ggttctagct tctcttccc attctgact cctggettta gctctctgga 3360
attctctctc tcagctttgt ctctctctct tccctctga ctcagctctc cacactctc 3420
ctggtctgt ctctgtcctt cctagctct tttatataga gacagagaga tggggtctca 3480
ctgtgttgc caggctggtc ttgaacttct gggtcaagc gatcctccc cctggcctc 3540
ccaaagtgt gggattagag gcatgagcac cttgcccggc ctcctagctc cttctctctc 3600
tetgctctg cctctgcat ctgctctctg catctgtctc tgtctctctc tetggcctc 3660
tgccccttc cttctctccc tctgggtct ctctggctca tcccctctc gccgcccc 3720
tcccagcct tctccccgc ctcctcctg tgogacccc tcccgcctc tggccgcag 3780
ggcgtgatg gacgagacca tgaaggagt gaaggctac aatcggaac tggaggaaca 3840
actgaccccg gtggcggagg agacggggc acggctgtcc aaggagctgc aggcggcga 3900
ggcccggctg ggcgcggaca tggaggact ggcggcccgc ctggtgcagt accgcggcga 3960
ggtgcaggcc atgctggcc agagcaccga ggagctgccc gtgcctctg cctcccact 4020
gcgcaagctg cgttaagggc tctctcga tgccgatgac ctgcagaagc gcctggcagt 4080
gtaccaggcc ggggcccgc agggcgcga ggcggcctc agcgcctcc gcgagcct 4140

ggggcccctg gtggaacagg gccgcgtgcg ggccgcoact gtgggctccc tggccggcca 4200
 gccgctacag gagcggggccc aggcctgggg cgagcggtg cgccgogga tggaggagat 4260
 gggcagccgg acccgcgacc gcctggaoga ggtgaaggag caggtggcgg aggtgcgocg 4320
 caagctggag gagcaggccc agcagatacg cctgcaggcc gaggccttcc aggcccgcct 4380
 caagagctgg ttcgagcccc tgggtgaaga catgcagcgc cagtgggccc ggctggtgga 4440
 gaaggtgcag gctgccgtgg gcaccagcgc cggccctgtg cccagcgaca atcactgaac 4500
 gccgaagcct gcagccatgc gaccccacgc caccocgtgc ctccctgcctc cgccagcct 4560
 gcagcgggag accctgtccc cggcccagcc gtccctctgg ggtggaccct agtttaataa 4620
 agattcacca agtttcaacg atctgctgge ctcccctgt gatttctct aagcccagc 4680
 ctcaagttct cttctgccc acatactgcc acacaattct cagcccctc ctctccatct 4740
 gtgtctgtgt gtatctttct ctctgccctt ttttttttt tagacggagt ctggctctgt 4800
 caccaggt agagtgcagt ggcacgatct tggtcactg caacctctgc ctcttgggtt 4860
 caagcattc tgctgctca gtagctggga ttacagctc acaccaccac acccggctaa 4920
 tttttgtatt ttagtagag acgagcttc accatgttg ccaggcaggt ctcaaacctc 4980
 tgaccaagt atccaccgc cggcctccc aagtctgag attacagcc tgagccacca 5040
 tgcccggcct ctgcccctct ttcttttta gggggcaggg aaaggtctca cctgtcac 5100
 cgccatcaca gtcactgca gcctccact cctggactca agtgataagt gatcctccc 5160
 ctccagcct tccagtagt gagactacag gcgcatacca ctaggattaa tttggggggg 5220
 ggtggtgtgt gtggagatgg ggtctggctt tgttggccag gctgatgtgg aattcctggg 5280
 ctcaagcgt actcccact tgccctctg agtagctgag actactggt agcaccacca 5340
 caccagctt tttattatta tttgtagaga caaggtctca atatgttgc caggctagtc 5400
 tcaaacctt ggtcaagag atctccgc atcgccctc caaagtctg ggattccagg 5460
 catgggctcc gagcggcctg cccaactta taatattgtt cctagagttg cactc 5515

<210> 15

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> n stands for any base

<400> 15

ctcagaatg ccaaaaacc

19

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> n stands for any base

<400> 16

cctcagaatg gccaaaantc

20

<210> 17

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 17

gcagagctgc tgggacga

18

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> n stands for any base

<400> 18

ggccctgtct tcgttaangg

20

<210> 19

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> n stands for any base

<400> .19 atggccctgt cttegtaan tg	22
<210> 20	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 引物	
<400> 20 ccagggtat ggaagtcgag tatc	24
<210> 21	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 引物	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (16)..(16)	
<223> n stands for any base	
<400> 21 accacggcgg tcatgncc	18
<210> 22	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n stands for any base

<400> 22

accacggcgg tcatgnac

18

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 23

gcagcaaagg agtcccagat

20

<210> 24

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n stands for any base

<400> 24

cggcagcttc ttccnccg

18

<210> 25

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n stands for any base

<400> 25

cggcagcttc ttcccntg

18

<210> 26

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 26

ccaccctca gctataaata gg

22

<210> 27

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> n stands for any base

<400> 27

gaatggagga ggggtgtctng a

21

<210> 28

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> n stands for any base

<400> 28

agaatggagg aggggtgtctn ta

22

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 29

ccaggaaggg aggacacctc

20

<210> 30

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> *misc_feature*

<222> (19)..(19)

<223> n stands for any base

<400> 30

ttcttttggg ggagcaacng t

21

<210> 31

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> *misc_feature*

<222> (20)..(20)

<223> n stands for any base

<400> 31

attcttttgg tggagcaacn tt

22

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 32

tottacctga atctctgac ttca

24

<210> 33

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n stands for any base

<400> 33

cggagccaact gatgcncg

18

<210> 34

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n stands for any base

<400> 34

eggagccact gatgcntg

18

<210> 35

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 35

tgtttgagt aaagcacag aa

22

<210> 36

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> n stands for any base

<400> 36

cgagttggga acgcacnct

19

<210> 37

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> n stands for any base

<400> 37

cgagttggga acgcacngt

19

<210> 38

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 38

ggtctgcact gacattgatg ag

22

<210> 39

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(22)

<223> n stands for any base

<400> 39
tacccttgta caggtgatgt anta 24

<210> 40
<211> 24
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> n stands for any base

<400> 40
tacccttgta caggtgatgt anca 24

<210> 41
<211> 22
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 41
atagtgagca aactgaggca ca 22

<210> 42
<211> 22
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> n stands for any base

<400> 42

cagagactgg cttcctacan ga

22

<210> 43

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> n stands for any base

<400> 43

ccagagactg gcttctaca nta

23

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 44

gcctggaaca catcctgtga

20

<210> 45

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> n stands for any base

<400> 45

tttgatgggg ggaaaanac

19

<210> 46

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n stands for any base

<400> 46

ttgatggggg gaaaancc

18

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 47

cctcatatca atgtggccaa

20

<210> 48

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 48

ggcacagaga gagtctggac acg

23

<210> 49

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 49

ggcgcctcc gatgataca

19

<210> 50

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> n stands for any base

<400> 50

cccagggetc ctgncg

16

<210> 51

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> n stands for any base

<400> 51

ccccagggct cctgntg

17

<210> 52

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 52

tgagcttctc cagcttgggt g

21

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(22)

<223> n stands for any base

<400> 53

acccaaatac atctcccagg ancg

24

<210> 54

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(22)

<223> n stands for any base

<400> 54

aacccaaata catctcccag gnet

24

<210> 55

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 55

gaatgatatt gttgctgtgg gac

23

<210> 56

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> n stands for any base

<400> 56

ccgatgacct gcagaancg

19

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> n stands for any base

<400> 57

gccgatgacc tgcagaantg

20

<210> 58

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 引物

<400> 58

eggcctggta cactgccag

19

<210> 59

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 探针

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> n stands for any base

<400> 59

agccactgat gcnccgtct

19

<210> 60

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 探针

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> n stands for any base

<400> 60

agccactgat gcntggtct

19

<210> 61

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 探针

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n stands for any base

<400> 61

agtacaggtg atgtantatc tctgtg

26

<210> 62

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 探针

<220>

<221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> n stands for any base

<400> 62

gtacaggtga tgtancatct ctgtg

25

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 探针

<400> 63

tggacacgtg ggggagtcag

20

<210> 64

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 探针

<400> 64

tggacacgtg gggagtcagc

20

基因	多态	基因	多态
血管紧张素转化酶	I/D in intron 16	胰岛素受体底物1	3494G→A (Gly972Arg)
血管紧张素II型I受体	-535C→T	白细胞介素-10	-1082G→A
血管紧张素原	-6G→A	白细胞介素-1α	-819T→C
载脂蛋白A1	-75G→A	白细胞介素-1β	-592A→C
载脂蛋白B	83C→T	白细胞介素-6	-889C→T
载脂蛋白C-III	I/D in signal peptide	LDL受体相关蛋白	-511C→T
载脂蛋白E	-482C→T	Leptin	3953C→T
	1100C→T	脂蛋白脂肪酶	-634C→G
	-491A→T	锰超氧化物歧化酶	-174G→C
	-219G→T	基质Gla蛋白	766C→T
载脂蛋白(a)	3932T→C (Cys112Arg)	金属蛋白酶-1 (胶原酶)	-1887C→A
	4070C→T (Arg158Cys)	金属蛋白酶-12 (巨噬细胞弹性蛋白酶)	280G→A (Asp9Asn)
	93C→T	甲硫氨酸合成酶	1127A→G (Asn291Ser)
	121G→A	亚甲基四氢叶酸还原酶	47C→T (Ala16Val)
ATP-结合区转运蛋白-1	11764A→C (Thr12Pro)	NADH/NADPH氧化酶p22 phox	173T→C (Ile58Thr)
	-477C→T	神经肽Y	-7G→A
心房钠利尿肽 (ANP)	1051G→A (Arg219Lys)	对氧磷酶	7158A→G (Thr83Ala)
ANP清除受体	664G→A (Val7Met)	PECAM1 (CD31)	-1607G→GG
β 2-肾上腺素受体	-55A→C		-82A→G
	46A→G (Arg16Gly)		2756A→G (Asp919Gly)
	79C→G (Gln27Glu)		677C→T (Ala222Val)
β 3-肾上腺素受体	491C→T (Thr164Ile)		-2518G→A
β -纤维蛋白原	190T→C (Trp64Arg)		242C→T (His72Tyr)
	-854G→A		1128T→C (Leu7Pro)
	-455G→A		-107T→C
CD14受体	148C→T		172A→T (Met55Leu)
	8059G→A (Arg448Lys)		584G→A (Gln192Arg)
	-260C→T		1454C→G (Leu125Val)

图 1

转化因子受体2	190G→A (Val64Ile)	4428G→A (Ser563Asn)
胆固醇酯转运蛋白	1061A→G (Ile405Val)	696C→G (Leu162Val)
凝血因子VII	1163A→G (Asp442Gly)	34C→G (Pro12Ala)
凝血因子XII	1200G→A (Arg451Gln)	344C→A (Pro115Gln)
凝血因子XIII A-亚单位	1691G→A (Arg506Gln)	-668/4G→5G
连接蛋白37	11496G→A (Arg353Glu)	994G→T (Val279Phe)
一氧化氮合成酶	46C→T	20210G→A
内皮素-1	163G→T (Val34Leu)	76666A→C (Thr715Pro)
B-选择蛋白	1019C→T (Pro319Ser)	4G→A (Gly2Ser)
细胞外超氧化物歧化酶	-786T→C	403G→A (Val135Ile)
脂脂肪酸结合蛋白2	894G→T (Glu298Asp)	102T→C
Fractalkine受体	5665G→T (Lys198Asn)	-1171/5A→6A
糖蛋白Ia	98G→T	-33G→A
糖蛋白Ib α	561A→C (Ser128Arg)	-10GG→TA
糖蛋白IIa	1839C→T (Leu554Phe)	845G→A (Ala25Thr)
G-蛋白 β 3亚单位	5775C→G (Arg213Gly)	2136C→T (Ala455Val)
血色病相关蛋白	2445G→A (Ala54Thr)	5713A→G
肝性脂肪酶	84635G→A (Val249Ile)	2210A→G (Asn700Ser)
	807C→T	1186G→C (Ala387Pro)
	873G→A	874G→A (Val264Met)
	1648A→G (Lys505Glu)	-509C→T
	1018C→T (Thr145Met)	869T→C (Leu10Pro)
	1565T→C (Leu33Pro)	-863C→A
	97A→C (Lys121Gln)	-850C→T
	825C→T (剪切平移)	-308G→A
	845G→A (Cys282Tyr)	-238G→A
	-480C→T	-1234C→T
	-250G→A	-1051G→A
PECAM1 (CD31)		
过氧化物酶增殖体激活受体- α		
过氧化物酶增殖体激活受体- γ 2		
纤溶酶原活化因子抑制剂1		
血小板活化因子乙酰水解酶		
凝血酶原		
P-选择蛋白		
清除受体-BI		
5-羟色胺2A受体		
溶基质素-1		
凝血调节蛋白		
血小板生成素		
血小板反应蛋白1		
血小板反应蛋白4		
外因凝血(组织因子)抑制剂		
转化生长因子- β 1		
肿瘤坏死因子- α		
遗传性假血友病因子		

图 2

基因	单核苷酸多态	标记	引物	次数	探针	甲酰胺
退火温度, 55-67.5°C; Mg, 1-4 mM						
血小板活化因子	994G→T	FITC	TTCCTTTGGTGGAGCAACXGT			
乙酰水分解酶		TxR 生物素	ATTCCTTTGGTGGAGCAACXIT TCTTACCTGAATCTCTGATCTTCA	40		
NADH/NADPH	242C→T	FITC	ACCACGGGGTCAATGXGC			
氧化酶p22 phox		TxR 生物素	ACCACGGGGTCAATGXAC GCAGCAAAGGAGTCCCGAGT	40		
连接蛋白37	1019C→T	TxR	CTCAGAAATGGCCAAAXCC			
		FITC 生物素	CCTCAGAATGGCCAAAXTC GCAGAGCTGCTGGGAGGA	35		
血管紧张肽原	-6G→A	TxR	CGGCAGCTTCTTCCCXCG			
		FITC 生物素	CGGCAGCTTCTTCCCXIG CCACCCCTCAGCTATAAATAGG	35		
肿瘤坏死因子-α	-863C→A	TxR	GGCOCTGCTTCGTTAAXGG			
		FITC 生物素	ATGGCCCTGCTTCGTTAAXIG CCAGGGCTATGGAAGTCGAGTATC	35		
载脂蛋白C-III	-482C→T		CGGAGCCACTGATGCXCG		AGCCACTGATGCXCGGTCT	
		生物素	CGGAGCCACTGATGCXIG	35	AGCCACTGATGCXIGGTCT	30%
白细胞介素-10	-592A→C	生物素	TGTTTGGAGTAAAGGCACAGAA			
		FITC	CAGAGACTGGCTTCCCTACAXGA			
		TxR 生物素	CCAGAGACTGGCTTCCCTACAXIA GCCTGGAACACACATCCTGTGA	35		

图 3

载脂蛋白E	-219G→T	FIIC	GAATGGAGGAGGGTGTCTXGA		
		TxR	AGAATGGAGGAGGGTGTCTXIA	35	
		生物素	CCAGGAAGGGAGGACACCTC		
白细胞介素-10	-819T→C		TACCCCTTGATACAGGTGATGTAIXA		GTACAGGTGATGTAIXAICTCTGTG
		生物素	TACCCCTTGATACAGGTGATGTAIXA	35	GTACAGGTGATGTAIXCAICTCTGTG
血小板反应蛋白4	1186G→C		ATAGTGAGCAAACTGAGGCACA		
		TxR	CGAGTTGGGAACCGCACXCT	35	
		生物素	CGAGTTGGGAACCGCACXCT		
对氧磷酶	584G→A		GGTCTGCACTGACATTTGATGAG		
		生物素	GGTCTGCACTGACATTTGATGAG	35	
		FIIC	ACCCAAATACATCTCCAGGAXCG		
		TxR	AACCCAAATACATCTCCAGGAXCT	35	
		生物素	GAATGATATTGTTGCTGTGGGAC		
载脂蛋白E	4070C→T	FIIC	COGATGACCTGCAGAAAXCG		
		TxR	GCCGATGACCTGCAGAAAXIG	40	
		生物素	CGGCCTGGTACACTGCCAG		
纤溶酶原活化因子抑制剂1	-668/4G→5G		GGCACAGAGAGAGTCTGGACACG		TGGACACGTGGGGGAGTCAAG
		生物素	GGCCGCCCTCCGATGATACA	35	TGGACACGTGGGGGAGTCAAG
溶基质素1	-1171/5A→6A	FIIC	TTTGATGGGGGGAAAAXAC		
		TxR	TTGATGGGGGGAAAAXCC	40	
		生物素	CCTCATATCAATGTGGCCAA		
糖蛋白Ib α	1018C→T	FIIC	CCCAGGGCTCCTGXCG		
		TxR	CCCCAGGGCTCCTGXIG	40	
		生物素	TGAGCTTCTCCAGCTTGGGTG		

图 4

	男性 (n = 451)		女性 (n = 458)	
	对照 (n = 232)	心肌梗塞病例 (n = 219)	对照 (n = 232)	心肌梗塞病例 (n = 226)
年龄 (years)	52.4 ± 3.6	51.8 ± 6.0	62.6 ± 8.8	62.2 ± 8.3
体重指数 (kg/m ²)	23.8 ± 2.5	24.2 ± 2.7	23.4 ± 3.2	23.2 ± 2.9
吸烟 (%)	60.3	60.7	9.5	16.5*1
高血压 (%)	43.5	42.9	69.8	65.5
糖尿病 (%)	11.2	16.0	15.5	36.7†
高胆固醇血症 (%)	45.3	52.5	59.9	66.8
高尿酸血症 (%)	16.4	21.0	10.3	11.9

图 5

基因	多态	遗传模型	P	基因	多态	遗传模型	P
男性				女性			
血小板活化因子乙酰水解酶	994G→T	加性	0.0006	对氧磷酶	584G→A	显性	0.009
NADH/NADPH氧化酶p22 phox	242C→T	显性	0.006	白细胞介素-6	-634C→G	加性	0.009
连接蛋白37	1019C→T	加性	0.007	连接蛋白37	1019C→T	显性	0.013
血小板反应蛋白4	1186G→C	显性	0.013	ATP-结合区转运蛋白-1	1051G→A	加性	0.014
血管紧张素原-α	-6G→A	隐性	0.019	肿瘤坏死因子-α	-850C→T	加性	0.015
肿瘤坏死因子-β 1	-863C→A	显性	0.045	内皮素-1	5665G→T	隐性	0.028
转化生长因子-β 1	869T→C	加性	0.049	载脂蛋白B	4070C→T	隐性	0.038
G-蛋蛋白β 3亚单位	825C→T	加性	0.051	载脂蛋白C-III	-482C→T	隐性	0.044
载脂蛋白C-III	-482C→T	隐性	0.057	载脂蛋白E	3932T→C	显性	0.047
载脂蛋白A-10	-819T→C	隐性	0.061	CD14受体	-260C→T	加性	0.050
载脂蛋白B	2136C→T	加性	0.065	肿瘤坏死因子-α	-238G→A	显性	0.052
载脂蛋白E	4070C→T	加性	0.074	纤溶酶原活化因子抑制剂1	-668/4G→5G	隐性	0.055
载脂蛋白Ia	A1648→G	隐性	0.080	脂肪结合蛋白2	2445G→A	加性	0.057
载脂蛋白E	-592A→C	隐性	0.088	胰岛素受体底物-1	3494G→A	显性	0.058
载脂蛋白E	-219G→T	隐性	0.092	胰岛素-1	-1171/5A→6A	加性	0.072
载脂蛋白E	5713A→G	隐性	0.094	糖基蛋白Ib α	1018C→T	加性	0.072
载脂蛋白E	1100C→T	隐性	0.095	糖蛋白E-选择蛋白	A561→C	加性	0.074
载脂蛋白E	190G→A	隐性	0.097	E-选择蛋白	-786T→C	显性	0.087
载脂蛋白E	-786T→C	显性	0.098	一氧化氮合成酶			

图 6

	男性 (n = 3309)		女性 (n = 1752)	
	对照 (n = 1306)	心肌梗塞病例 (n = 2003)	对照 (n = 936)	心肌梗塞病例 (n = 816)
年龄 (years)	60.1 ± 9.6	60.8 ± 10.3	60.8 ± 11.2	60.5 ± 10.6
体重指数 (kg/m ²)	23.6 ± 2.6	23.6 ± 2.9	23.0 ± 3.3	23.4 ± 3.5*1
吸烟 (%)	57.6	58.2	9.5	15.5*2
高血压 (%)	53.6	45.0*2	59.4	55.9
糖尿病 (%)	15.4	32.4*2	16.5	42.1*1
高胆固醇血症 (%)	35.4	43.7*2	51.2	56.8*3
高尿酸血症 (%)	17.2	14.2*3	9.7	13.2*1

图 7

基因	多态		基型分布 (%)		心肌梗塞病例		
	对照						
男性 (n = 3309)							
连接蛋白 37	1019C→T	CC, 72.5	CT, 22.7	TT, 4.9	CC, 66.3	CT, 28.8	TT, 4.9
肿瘤坏死因子 α	-863C→A	CC, 70.9	CA, 20.7	AA, 8.5	CC, 75.5	CA, 17.9	AA, 6.6
NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox	242C→T	CC, 74.8	CT, 24.2	TT, 1.0	CC, 79.7	CT, 19.0	TT, 1.3
血管紧张肽原	-6G→A	GG, 2.6	GA, 29.6	AA, 67.8	GG, 4.3	GA, 33.4	AA, 62.3
载脂蛋白 B	-219G→T	GG, 8.4	GT, 42.7	TT, 48.9	GG, 7.2	GT, 39.2	TT, 53.6
血小板活化因子乙酰水解酶	994G→T	GG, 71.2	GT, 26.3	TT, 2.5	GG, 68.1	GT, 29.2	TT, 2.6
载脂蛋白 C-III	-482C→T	CC, 28.1	CT, 48.4	TT, 23.5	CC, 27.5	CT, 51.2	TT, 21.3
血小板反应蛋白 4	1186G→C	GG, 88.1	GC, 11.8	CC, 0.1	GG, 85.4	GC, 14.0	CC, 0.5
白细胞介素 10	-819T→C	TT, 47.2	TC, 42.4	CC, 10.4	TT, 47.2	TC, 39.6	CC, 13.1
白细胞介素 10	-592A→C	AA, 47.5	AC, 41.8	CC, 10.6	AA, 46.2	AC, 40.4	CC, 13.4
女性 (n = 1752)							
溶基质素-1	-1171/5A→6A	5A/5A, 1.2	5A/6A, 47.1	6A/6A, 51.7	5A/5A, 1.8	5A/6A, 37.9	6A/6A, 60.2
纤溶酶原活化因子抑制剂 1	-668/4G→5G	4G/4G, 43.8	4G/5G, 44.2	5G/5G, 12.0	4G/4G, 37.3	4G/5G, 49.6	5G/5G, 13.1
糖蛋白 Ib α	1018C→T	CC, 76.7	CT, 20.8	TT, 2.5	CC, 77.7	CT, 21.6	TT, 0.7
对氧磷酶	584G→A	GG, 44.7	GA, 45.0	AA, 10.3	GG, 44.6	GA, 41.7	AA, 13.6
载脂蛋白 B	4070C→T	CC, 91.2	CT, 8.7	TT, 0.1	CC, 91.8	CT, 7.2	TT, 1.0

图 8

基因	多态			显性			隐性			加性		
		P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)			
男性 (n = 3309)												
连接蛋白 37	1019C→T	0.0001	1.4 (1.2-1.7)	0.7834		<0.0001	1.5 (1.2-1.7)					
肿瘤坏死因子 α	-863C→A	0.0020	0.7 (0.6-0.9)	0.0235		0.0105	0.7 (0.5-1.0)					
NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox	242C→T	0.0027	0.7 (0.6-0.9)	0.9462		0.0021	0.7 (0.6-0.9)					
血管紧张素原	-6G→A	0.0563		0.0038		0.0283	0.6 (0.4-0.9)					
载脂蛋白 B	-219G→T	0.4015		0.0085		0.1557						
血小板活化因子乙酰水解酶	994G→T	0.0349	1.2 (1.0-1.4)	0.6522		0.0227	1.2 (1.0-1.4)					
载脂蛋白 C-III	-482C→T	0.6297		0.0367		0.2716						
血小板反应蛋白 4	1186G→C	0.0373	1.3 (1.0-1.6)	0.0834		0.0700						
白细胞介素 10	-819T→C	0.9108		0.0375		0.0738	1.3 (1.0-1.6)					
白细胞介素 10	-592A→C	0.2692		0.0427		0.0394	1.3 (1.0-1.6)				1.3 (1.0-1.7)	
女性 (n = 1752)												
溶质素 1	-1171/5A→6A	<0.0001	2.1 (1.6-2.8)	0.0002		<0.0001	2.2 (1.6-2.9)					
纤溶酶原活化因子抑制剂 1	-668/4G→5G	0.0008	1.5 (1.2-1.8)	0.4495		0.0010	1.5 (1.2-1.9)					
糖蛋白 Ib α	1018C→T	0.6065		0.0238		0.0242	0.3 (0.1-0.8)				0.3 (0.1-0.8)	
对氧磷酶	584G→A	0.3966		0.0349		0.1017	1.4 (1.0-2.0)					
载脂蛋白 B	4070C→T	0.6881		0.0399		0.0418	9.7 (1.6-185.6)				9.5 (1.6-181.7)	

图 9

基因	基因座	多态	遗传模型	P	让步比	95% CI
男性						
连接蛋白37	1p35.1	1019C→T	TT + CT versus CC	0.0124	1.31	1.06-1.61
肿瘤坏死因子 α	6p21.3	-863C→A	AA + CA versus CC	0.0336	0.79	0.64-0.98
NADH/NADPH 氧化酶 p22 phox	16q24	242C→T	TT + CT versus CC	0.2926	0.88	0.70-1.11
血管紧张肽原	1q42-q43	-6G→A	AA versus GA + GG	0.0251	0.79	0.65-0.97
载脂蛋白E	19q13.2	-219G→T	TT versus GT + GG	0.0209	1.26	1.03-1.51
血小板活化因子乙酰水解酶	6p21.2-p12	994G→T	TT + GT versus GG	0.0155	1.30	1.05-1.59
载脂蛋白C-III	11q23	-482C→T	TT versus CT + CC	0.0606	0.80	0.64-1.01
血小板反应蛋白4	5q13	1186G→C	CC + GC versus GG	0.0011	1.64	1.22-2.21
白细胞介素10	1q31-q32	-819T→C	CC versus CT + TT	0.5643	1.20	0.65-2.17
白细胞介素10 女性	1q31-q32	-592A→C	CC versus CA + AA	0.6323	1.16	0.63-2.12
溶基质素1	11q23	-1171/5A→6A	6A/6A + 5A/6A versus 5A/5A	<0.0001	1.87	1.42-2.47
纤溶酶原活化因子抑制剂1	7q21.3-q22	-668/4G→5G	5G/5G + 4G/5G versus 4G/4G	0.0005	1.50	1.19-1.89
糖蛋白Ib α	22q11.2	1018C→T	TT versus CT + CC	0.0308	0.28	0.09-0.89
对氧磷酶	7q21.3	584G→A	AA versus GA + GG	0.1889	1.27	0.89-1.81
载脂蛋白E	19q13.2	4070C→T	TT versus CT + CC	0.0872	6.96	0.75-64.36

图 10

血小板反应蛋白4 (0 = GG, 1 = GC = CC)	连接蛋白37 (0 = CC, 1 = CT = TT)	PAF乙酰水解酶 (0 = GG, 1 = GT = TT)	血管紧张肽原 (0 = GA = GG, 1 = AA)	肿瘤坏死因子 α (0 = CC, 1 = CA = AA)	让步 比
1	1	1	0	0	4.50
1	1	1	0	1	3.55
1	1	1	1	0	3.55
1	1	1	1	1	2.79
1	1	0	0	0	3.47
1	1	0	0	1	2.73
1	1	0	1	0	2.73
1	1	0	1	1	2.15
1	0	1	0	0	3.44
1	0	1	0	1	2.71
1	0	1	1	0	2.71
1	0	1	1	1	2.33
1	0	0	0	0	2.65
1	0	0	0	1	2.08
1	0	0	1	0	2.08
1	0	0	1	1	1.64
0	1	1	0	0	2.75
0	1	1	0	1	2.16
0	1	1	1	0	2.16
0	1	1	1	1	1.70
0	1	0	0	0	2.11
0	1	0	0	1	1.66
0	1	0	1	0	1.66
0	1	0	1	1	1.31
0	0	1	0	0	2.10
0	0	1	0	1	1.65
0	0	1	1	0	1.65
0	0	1	1	1	1.30
0	0	0	0	0	1.61
0	0	0	0	1	1.27
0	0	0	1	0	1.27
0	0	0	1	1	1.00

图 11

载脂蛋白B (0 = CC = CT, 1 = TT)	糖蛋白Ib α (0 = CC = CT, 1 = TT)	溶基质素1 (0 = SA/SA, 1 = SA/SA = SA/SA)	纤溶酶原活化因子抑制剂1 (0 = 4G/4G, 1 = 4G/5G = 5G/5G)	对氧磷酶 (0 = GG = GA, 1 = AA)	让步比
1	0	1	1	1	88.51
1	0	1	1	0	69.70
1	0	1	0	1	59.01
1	0	1	0	0	46.46
1	0	0	1	1	47.33
1	0	0	1	0	37.27
1	0	0	0	1	31.56
1	0	0	0	0	24.85
1	1	1	1	1	24.79
1	1	1	1	0	19.52
1	1	1	0	1	16.53
1	1	1	0	0	13.02
1	1	0	1	1	13.26
1	1	0	1	0	10.44
1	1	0	0	1	8.84
1	1	0	0	0	6.96
0	0	1	1	1	12.72
0	0	1	1	0	10.01
0	0	1	0	1	8.48
0	0	1	0	0	6.68
0	0	0	1	1	6.80
0	0	0	1	0	5.36
0	0	0	0	1	4.53
0	0	0	0	0	3.57
0	1	1	1	1	3.56
0	1	1	1	0	2.81
0	1	1	0	1	2.37
0	1	1	0	0	1.87
0	1	0	1	1	1.91
0	1	0	1	0	1.50
0	1	0	0	1	1.27
0	1	0	0	0	1.00

图 12

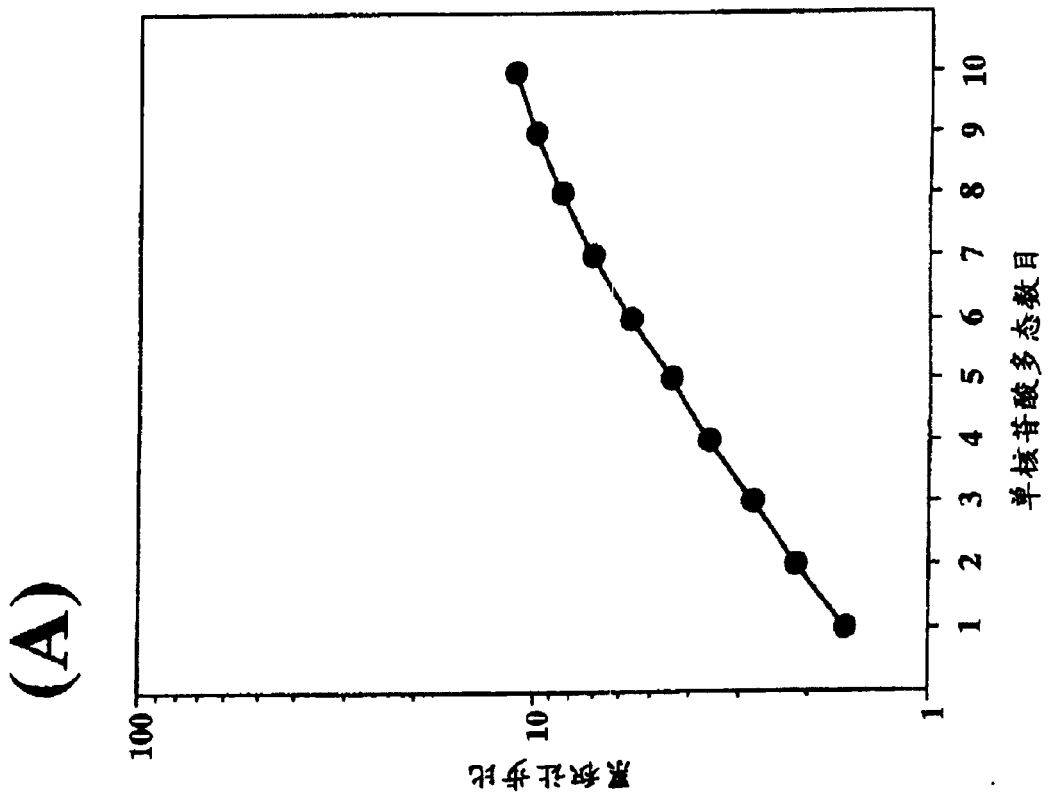
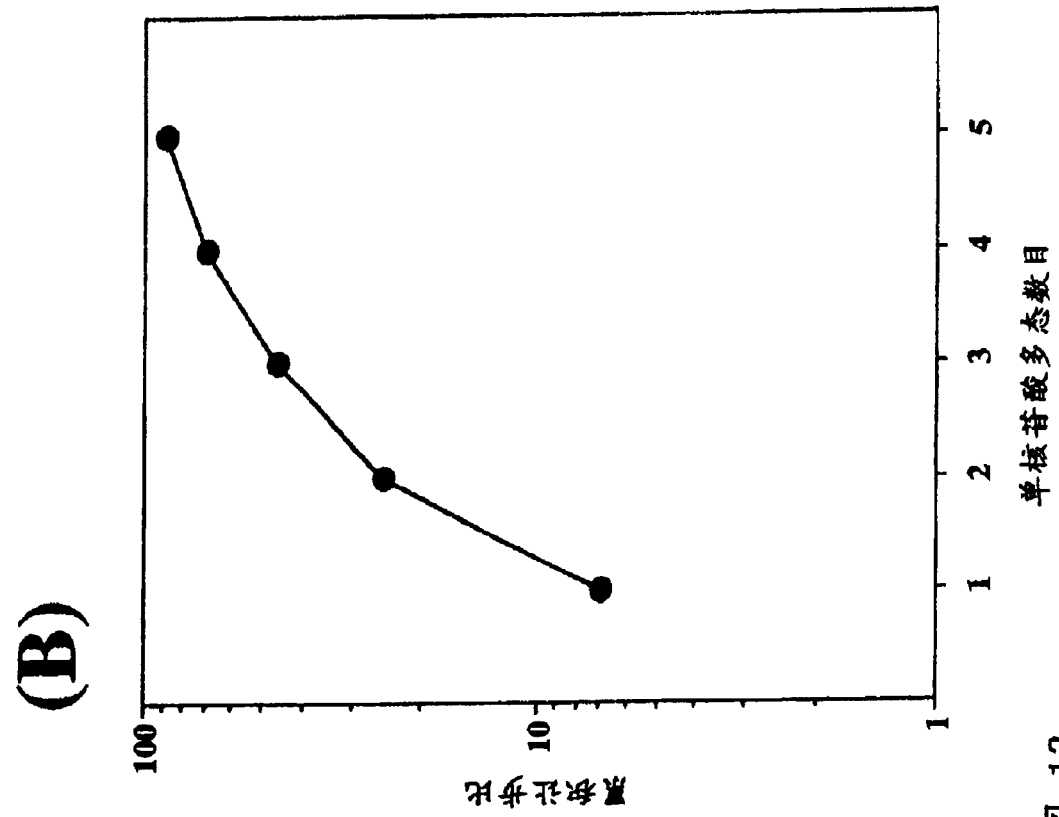


图 13

专利名称(译)	检测核酸试样的基因型的方法		
公开(公告)号	CN100471951C	公开(公告)日	2009-03-25
申请号	CN03814594.4	申请日	2003-03-20
申请(专利权)人(译)	财团法人名古屋产业科学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	财团法人名古屋产业科学研究所		
[标]发明人	山田芳司 横田充弘		
发明人	山田芳司 横田充弘		
IPC分类号	C12N15/09 C12Q1/68 G01N33/50 G01N33/53 A61K48/00 A61P9/10 G01N37/00		
CPC分类号	C12Q2600/156 C12Q1/6883 A61P9/10 C12N15/09 C12Q1/6827 G01N33/53		
代理人(译)	郭煜 王景朝		
审查员(译)	魏聪		
优先权	2002181580 2002-06-21 JP		
其他公开文献	CN1662651A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供高精度、预测概率高的心肌梗塞风险的诊断方法。通过包括以下步骤的方法进行心肌梗塞风险的诊断。(i)由确认与心肌梗塞相关的10个基因多态或5个基因多态中对两个以上的多态进行分析的步骤、(ii)由上述步骤得到的多态信息确定核酸试样的基因型的步骤、以及(iii)由确定的基因型求出心肌梗塞的遗传性风险的步骤。

