

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-525822

(P2010-525822A)

(43) 公表日 平成22年7月29日(2010.7.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00 Z N A A	2 G O 4 5
<b>G O 1 N 33/50 (2006.01)</b>	G O 1 N 33/50 Z	4 B O 2 4
<b>G O 1 N 33/53 (2006.01)</b>	G O 1 N 33/53 M	4 B O 2 9
<b>G O 1 N 37/00 (2006.01)</b>	G O 1 N 37/00 1 O 2	4 B O 6 3
<b>C 1 2 N 15/115 (2010.01)</b>	C 1 2 N 15/00 F	4 B O 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 100 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2010-506649 (P2010-506649)	(71) 出願人 306036668 ユニバーシティ オブ マイアミ アメリカ合衆国 フロリダ 33136, マイアミ, エヌ. ダブリュー. 12 ティーエイチ アベニュー 1475
(86) (22) 出願日 平成20年5月1日 (2008.5.1)	
(85) 翻訳文提出日 平成21年12月24日 (2009.12.24)	
(86) 国際出願番号 PCT/US2008/062281	
(87) 国際公開番号 W02008/137586	
(87) 国際公開日 平成20年11月13日 (2008.11.13)	(74) 代理人 100080089 弁理士 牛木 護
(31) 優先権主張番号 60/915, 224	(74) 代理人 100137800 弁理士 吉田 正義
(32) 優先日 平成19年5月1日 (2007.5.1)	(74) 代理人 100119312 弁理士 清水 栄松
(33) 優先権主張国 米国 (US)	(74) 代理人 100125081 弁理士 小合 宗一
(31) 優先権主張番号 61/019, 749	(74) 代理人 100161665 弁理士 高橋 知之
(32) 優先日 平成20年1月8日 (2008.1.8)	
(33) 優先権主張国 米国 (US)	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規に進行中の心不全における個人のリスク評価のためのトランスクリプトームのバイオマーカー

(57) 【要約】

心不全の予後判断のための新規のトランスクリプトームのバイオマーカーは、新規に進行中の心不全と、心臓病との予後の予測の直接的な臨床用途となる。このアプローチは心臓治療の個別対応を向上させ、心不全の診断から1年以内に循環虚脱を起こす高リスク患者を同定するのに役立つはずである。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (X P\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子バイオマーカー配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、分子組成物。

## 【請求項2】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心不全の所望の臨床的予後の予後判断となることを特徴

10

20

30

40

50

とする、請求項 1 に記載の分子組成物。

【請求項 3】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも 1 % から 100 % 又はそれ以上までのレベル過剰発現されることを特徴とする、請求項 1 に記載の分子組成物。

【請求項 4】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約 50 % 過剰発現されることを特徴とする、請求項 1 に記載の分子組成物。

10

【請求項 5】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約 75 % 過剰発現されることを特徴とする、請求項 1 に記載の分子組成物。

【請求項 6】

前記遺伝子配列のうち少なくとも 10 個が、心不全進行中の患者での個人のリスク評価の判断指標となることを特徴とする、請求項 1 に記載の分子組成物。

【請求項 7】

複数の遺伝子配列が、心不全進行中の患者での個人のリスク評価の判断指標となることを特徴とする、請求項 1 に記載の分子組成物。

20

【請求項 8】

232669\_\_at (低酸素誘導因子 3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体 (solute carrier) ファミリー 26、メンバー 10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質 15 - 様 1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子 (maternally expressed) 3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質 15 - 様 1)、233026\_\_s\_\_at (PDZ ドメイン含有 (PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220 - 様タンパク質の仮想遺伝子 LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン 20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体 18 オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTP アーゼ活性化タンパク質 26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子 1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7 型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポrotein L、6)、241597\_\_at (アルギニン - グルタミン酸ジペプチド (RE) リピート)、235887\_\_at (Smg - 6 ホモログ、ナンセンス変異介在型 mRNA 分解因子 (nonsense mediated mRNA decay factor) (C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質 91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L - 様 (S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTP アーゼ活性化タンパク質 10)、242194\_\_at (カリン (Cullin) 4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質 LOC283901)、227178\_\_at (CUG トリプレットリピート、RNA 結合タンパク質 2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質 S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNA クローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制 (suppression of tumorigenicity) 1)、232253\_\_at (RAD50 ホモログ (S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病 7 ドメイン含有 (Parkinson disease 7 domain containing) 1)、233197\_\_at (ケルチ (kelch) - 様 9 (Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421 に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at

30

40

50

(仮想タンパク質 LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質 LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)を含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、心不全の予後を予測するためのバイオマーカー(TBB)。

10

## 【請求項9】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%から100%又はそれ以上までのレベル過剰発現されることを特徴とする、請求項8に記載のバイオマーカー。

20

## 【請求項10】

前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約50%過剰発現されることを特徴とする、請求項8に記載のバイオマーカー。

## 【請求項11】

前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約75%過剰発現されることを特徴とする、請求項8に記載のバイオマーカー。

30

## 【請求項12】

232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C.elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S.cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプ

40

50

レットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_001081342.1に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)を含む各遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とに特異的であることを特徴とする、抗体又はアプタマー。

【請求項13】

232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC\_283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)

ty) 1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(*S. cerevisiae*))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(*Parkinson disease 7 domain containing*)) 1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(*Drosophila*))、244512\_\_at (XP\_001081342に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、バイオチップ

【請求項14】

前記核酸配列のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、請求項13に記載のバイオチップ。

【請求項15】

232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)) 3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(*C. elegans*))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(*S. cerevisiae*))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(*S. cerevisiae*

) )、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_001081342.1に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)のトランスクリプトームを利用するバイオマーカー(TBB)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、特発性心筋症と、心筋炎とを鑑別するステップとを含むことを特徴とする、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを評価し、これらを同定し、かつ、区別する方法。

【請求項16】

前記バイオマーカーは、生物学的試料から得られる核酸を単離することによって患者から同定されることを特徴とする、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記核酸は前記バイオチップにハイブリダイズされ、マイクロアレイのハイブリダイゼーションからの生の強度測定値が標準化され、遺伝子発現の表現型特異的な相違が同定されることを特徴とする、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記遺伝子発現の相違は、q値で定義され、多重比較がp値の調整を含む、マイクロアレイの有意性解析によって同定されることを特徴とする、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

得られるデータの約66%を含むトレーニング用セットで分類指標を作成し、その後、得られるデータの約33%が含まれるテスト用セットで検証し、分類のための表現型特異的最短収縮重心法で定義することで表現型の特異度が同定されることを特徴とする、請求項17に記載の方法。

【請求項20】

前記表現型特異的最短収縮重心法は、トレーニング用セットでの10回の交差確認について平均化することを含むことを特徴とする、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC\_283846

)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャンネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3(etsドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む組成物を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患の前記予後の結果又は心不全の回復を予測するステップとを含むことを特徴とする、心臓病の予後の結果又は心不全からの回復を予測する方法。

【請求項22】

前記遺伝子配列は、正常な細胞又は正常な被験者と比較して、少なくとも約20%過剰発現されることを特徴とする、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at

(PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポrotein L、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3(etsドメイン転写因子、上皮特異的)を含む遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別するステップとを含むことを特徴とする、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別する方法。

【請求項24】

1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パルカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメ

イン ( I g )、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3 B、SEMA3 B  
 )、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、R  
 BMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD  
 (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖  
 6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スブラ  
 イシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at  
 (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、  
 EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2 様、ATXN2L)、2  
 08978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at  
 (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_  
 x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4  
 )、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)  
 、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220 様タンパク質、核膜孔複  
 合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPAT  
 CH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、2149  
 51\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、22  
 0219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、22107  
 1\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)  
 ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含  
 有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソ-ム  
 、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisi  
 ae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:44  
 78733)、225562\_\_at (ASp21タンパク質アクチベーター3、RA  
 SA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156  
 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7  
 ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソーム  
 タンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230  
 683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA0343  
 0)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RB  
 MS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート  
 、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、  
 C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)  
 、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び  
 244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26  
 )の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含  
 むことを特徴とする、分子組成物。

【請求項25】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを  
 細胞又は患者で検出することが、心不全の臨床診断の結果及び予後の予測となることを特  
 徴とする、請求項24に記載の分子組成物。

【請求項26】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは  
 、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%か  
 ら100%又はそれ以上までのレベル過剰発現されることを特徴とする、請求項24に記  
 載の分子組成物。

【請求項27】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは  
 、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約50%過剰発現  
 されることを特徴とする、請求項24に記載の分子組成物。

【請求項28】

10

20

30

40

50

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約75%過剰発現されることを特徴とする、請求項24に記載の分子組成物。

【請求項29】

遺伝子配列のうち少なくとも9個が、患者の個人のリスク評価での判断指標であり、心不全の臨床診断の結果及び予後の予測となることを特徴とする、請求項24に記載の分子組成物。

【請求項30】

複数の遺伝子配列が、心不全進行中の患者の個人のリスク評価の判断指標となることを特徴とする、請求項24に記載の分子組成物。

10

【請求項31】

1558458\_\_a t (仮想 LOC401320)、1560049\_\_a t (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_a t (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_a t (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_a t (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_a t、203071\_\_a t (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_a t (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、203981\_\_s\_\_a t (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_a t (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_a t (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_a t (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_a t (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_a t (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_a t (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_a t (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_a t (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_a t (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_a t (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_a t (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_a t (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_a t (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_a t (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_a t、221780\_\_s\_\_a t (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_a t (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_a t (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_a t (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_a t (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_a t (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_a t (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_a t (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_a t (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_a t (転写される遺伝子座)、230683\_\_a t (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_a t (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、241597\_\_a t (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_a t (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_a t (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_a t (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び

20

30

40

50

244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、心不全の臨床診断の結果及び予後の予測のためのバイオマーカー(TBB)。

【請求項32】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心不全の臨床診断の結果及び予後の予測となることを特徴とする、請求項31に記載のバイオマーカー。

【請求項33】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%から100%又はそれ以上までのレベル過剰発現されることを特徴とする、請求項31に記載のバイオマーカー。

10

【請求項34】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約50%過剰発現されることを特徴とする、請求項31に記載のバイオマーカー。

【請求項35】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約75%過剰発現されることを特徴とする、請求項31に記載のバイオマーカー。

20

【請求項36】

1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パルカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 44

30

40

50

78733)、225562\_\_at (AS p21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZ p762N156 (クローンDKFZ p762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RE RE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHH C - 型含有1、ZDHH C1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む各遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とに特異的であることを特徴とする、抗体又はアプタマー。

【請求項37】

1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4478733)、225562\_\_at (AS p21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZ p762N156 (クローンDKFZ p762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RB

10

20

30

40

50

MS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RE RE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHH C - 型含有1、ZDHH C 1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、バイオチップ。

【請求項38】

核酸配列のうち少なくとも10個と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含むことを特徴とする、請求項37に記載のバイオチップ。

10

【請求項39】

1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASp21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RE RE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHH C - 型含有1、ZDHH C 1)及び

20

30

40

50

244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)のトランスクリプトームを利用するバイオマーカー(TBB)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、特発性心筋症と、心筋炎とを鑑別するステップとを含むことを特徴とする、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを評価し、これらを同定し、かつ、区別する方法。

【請求項40】

前記バイオマーカーは、生物学的試料から得られる核酸を単離することによって患者から同定されることを特徴とする、請求項39に記載の方法。

10

【請求項41】

前記核酸は前記バイオチップにハイブリダイズされ、マイクロアレイのハイブリダイゼーションからの生の強度測定値が標準化され、遺伝子発現の表現型特異的な相違が同定されることを特徴とする、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記遺伝子発現の相違は、q値で定義され、多重比較がp値の調整を含む、マイクロアレイの有意性解析によって同定されることを特徴とする、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

得られるデータの約66%を含むトレーニング用セットで分類指標を作成し、その後、得られるデータの約33%が含まれるテスト用セットで検証し、分類のための表現型特異的最短収縮重心法で定義することで表現型の特異度が同定されることを特徴とする、請求項42に記載の方法。

20

【請求項44】

前記表現型特異的最短収縮重心法は、トレーニング用セットでの10回の交差確認について平均化することを含むことを特徴とする、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パルカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)

30

40

50

ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (Asp21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む組成物を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患又は心筋症を予測するステップとを含むことを特徴とする、心疾患の予後の結果又は心不全からの回復を予測する方法。

【請求項46】

前記遺伝子配列は、正常な細胞又は正常な被験者と比較して、少なくとも約20%過剰発現されることを特徴とする、請求項45に記載の方法。

【請求項47】

1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2 様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220 様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含

有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別するステップとを含むことを特徴とする、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別する方法。

10

20

## 【請求項48】

232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポrotein L、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNA クローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_001081342.1に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at

30

40

50

(仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の核酸配列又はこれらの生産物うち、いずれか1種類又は2種類以上を発現することを特徴とする、細胞。

10

## 【請求項49】

232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (ES

20

30

40

50

T)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の核酸産物と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とのうち、いずれか1種類又は2種類以上を発現することを特徴とする、ベクター。

10

## 【請求項50】

1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)

20

30

40

50

、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHH C - 型含有1、ZDHH C 1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む核酸配列又はこれらの生産物と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とのうち、いずれか1種類又は2種類以上を発現することを特徴とする、細胞。

【請求項51】

1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASp21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBM51)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHH C - 型含有1、ZDHH C 1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とのうち、いずれか1種類又は2種類以上を発現することを特徴とする、ベクター。

【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

## 【技術分野】

## 【0001】

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

## 【背景技術】

## 【0002】

新たに診断された心不全患者の臨床経過は劇的に違いがあり、一部の患者は完全に正常なレベルの駆出率 (EF) にまで回復及び復帰する一方、他の患者は、左室補助循環装置 (LVAD) の挿入又は心臓移植を必要とする心代償不全の重篤な徴候を発症する。初検時の正確なリスク評価及び予後の予測は、治療の監視と、患者の管理との適切な割り当てにとって重要である。標準基準にもとづく予測ツールは精度に限度があった。早期に患者を同定することは、個々の患者と、政府との両方に相当な財政的節約をもたらすであろう。したがって、十分に適切かつ早期に治療法の修正を可能にする正確な予後評価のニーズがある。

10

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0003】

## 発明の概要

トランスクリプトームのバイオマーカーは、生体分子を含み、かつ、心疾患及びその関連疾患の予後の結果の予測を可能にする。前記予後を判断し、新規薬剤標的を同定するための方法が提供される。

20

## 【0004】

本明細書で開示される前記トランスクリプトームのバイオマーカー、方法及びアッセイは、哺乳類の組織又は細胞の試料でのトランスクリプトームのバイオマーカーの発現の検査に関連し、1種類又は2種類以上のかかるトランスクリプトームバイオマーカーの発現の測定は、例えば、心筋炎、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の心臓循環器疾患の予後の結果の予測又は診断となる。

30

## 【課題を解決するための手段】

## 【0005】

好ましい実施態様では、分子組成物は、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体 (solute carrier) ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子 (maternally expressed) 3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有 (PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子 LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド (RE) リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型 mRNA 分解因子 (nonsense mediated mRNA decay factor) (C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様 (S. cerevisiae))、239567\_\_at

40

50

( R h o G T P アーゼ活性化タンパク質 1 0 )、 2 4 2 1 9 4 \_\_ a t ( カリン ( C u l l i n ) 4 A )、 1 5 5 8 5 2 5 \_\_ a t ( 仮想タンパク質 L O C 2 8 3 9 0 1 )、 2 2 7 1 7 8 \_\_ a t ( C U G トリプレットリピート、 R N A 結合タンパク質 2 )、 2 2 8 1 9 8 \_\_ s \_\_ a t ( ミトコンドリアリボソームタンパク質 S 9 )、 2 0 2 3 7 9 \_\_ s \_\_ a t ( ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列 )、 2 2 4 2 6 0 \_\_ a t ( C D N A クローン )、 2 3 8 6 4 3 \_\_ a t ( 神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制 ( s u p p r e s s i o n o f t u m o r i g e n i c i t y ) 1 )、 2 3 2 2 5 3 \_\_ a t ( R A D 5 0 ホモログ ( S . c e r e v i s i a e ) )、 2 2 7 9 6 8 \_\_ a t ( パーキンソン病 7 ドメイン含有 ( P a r k i n s o n d i s e a s e 7 d o m a i n c o n t a i n i n g ) 1 )、 2 3 3 1 9 7 \_\_ a t ( ケルチ ( k e l c h ) - 様 9 ( D r o s o p h i l a ) )、 2 4 4 5 1 2 \_\_ a t ( X P \_\_ 0 0 1 0 8 1 3 4 2 1 に非常に類似した転写される遺伝子座 )、 2 3 3 4 4 3 \_\_ a t ( 仮想タンパク質 L O C 3 8 9 3 6 2 )、 2 3 1 2 7 5 \_\_ a t ( F L J 4 2 8 7 5 タンパク質 )、 2 2 6 4 1 9 \_\_ s \_\_ a t ( 仮想タンパク質 L O C 6 4 5 4 6 )、 2 0 1 2 2 1 \_\_ s \_\_ a t ( 核内低分子リボヌクレオタンパク質 7 0 k D a ポリペプチド )、 2 0 9 3 5 4 \_\_ a t ( 腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー 1 4 )、 2 2 6 5 7 1 \_\_ s \_\_ a t ( タンパク質チロシンホスファターゼ受容体 S 型 )、 2 2 0 7 2 8 \_\_ a t ( E S T )、 2 0 3 0 7 1 \_\_ a t ( セマ ( s e m a ) ドメイン、免疫グロブリンドメイン ( I g )、短い塩基性ドメイン )、 2 1 3 9 4 6 \_\_ s \_\_ a t ( オブスキュリン - 様 1、チチンアイソフォーム N 2 - B に類似 )、 2 0 1 3 9 4 \_\_ s \_\_ a t ( R N A 結合モチーフタンパク質 5 )、 2 0 3 7 4 8 \_\_ x \_\_ a t ( R N A 結合モチーフ、 1 本鎖相互作用タンパク質 1 )、 2 2 3 1 4 7 \_\_ s \_\_ a t ( W D リピートドメイン 3 3 )、 2 1 3 7 7 3 \_\_ x \_\_ a t ( N O L / N O P 2 / S u n ドメインファミリー、メンバー 5 )、 1 5 6 0 0 4 9 \_\_ a t ( C U G トリプレットリピート、 R N A 結合タンパク質 2 )、 2 4 3 9 7 4 \_\_ a t ( C D N A クローン I M A G E : 4 8 2 1 8 1 5 )、 2 0 1 5 1 0 \_\_ a t E 7 4 - 様因子 3 ( e t s ドメイン転写因子、上皮特異的 ) の遺伝子又は核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

#### 【 0 0 0 6 】

別の好ましい実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心不全の臨床的予後の良好な判断指標となり、バイオマーカーは、例えば、心筋炎、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の心臓循環器疾患の予後の結果の予測又は診断となる。

#### 【 0 0 0 7 】

別の好ましい実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも 1 % から 1 0 0 % 又はそれ以上までのレベル過剰発現される。

#### 【 0 0 0 8 】

別の好ましい実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約 5 0 % 過剰発現される。

#### 【 0 0 0 9 】

別の好ましい実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とが、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約 7 5 % 過剰発現される。

#### 【 0 0 1 0 】

別の好ましい実施態様では、前記遺伝子配列のうち少なくとも 1 0 個が、心筋炎、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の心不全及び心臓循環器疾患進行中の患者での個人のリスク評価の判断指標となる。

10

20

30

40

50

## 【0011】

別の好ましい実施態様では、複数の遺伝子配列が、心筋炎、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の心不全及び心臓循環器疾患進行中の患者での個人のリスク評価の判断指標となる。

## 【0012】

別の実施態様では、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3(etsドメイン転写因子、上皮特異的)を含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含

10

20

30

40

50

む、心不全の予後を予測するためのバイオマーカー ( T B B ) が提供される。

【 0 0 1 3 】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%から100%又はそれ以上までのレベル過剰発現される、請求項8に記載のバイオマーカーが提供される。

【 0 0 1 4 】

別の好ましい実施態様では、前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約50%で過剰に発現される。

10

【 0 0 1 5 】

別の好ましい実施態様では、前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約75%過剰発現される。

【 0 0 1 6 】

別の好ましい実施態様では、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体 (solute carrier) ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15 - 様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子 (maternally expressed) 3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15 - 様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有 (PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220 - 様タンパク質の仮想遺伝子 LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン - グルタミン酸ジペプチド (RE) リピート)、235887\_\_at (Smg - 6 ホモログ、ナンセンス変異介在型 mRNA 分解因子 (nonsense mediated mRNA decay factor) (C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L - 様 (S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン (Cullin) 4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質 LOC283901)、227178\_\_at (CUG トリプレットリピート、RNA 結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNA クローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制 (suppression of tumorigenicity) 1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ (S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有 (Parkinson disease 7 domain containing) 1)、233197\_\_at (ケルチ (kelch) - 様9 (Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質 LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質 LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70 kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ (sema) ドメイン、

20

30

40

50

免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン - 様1、チチンアイソフォームN2 - Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74 - 様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)を含む各遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とに特異的である、抗体又はアプタマーが提供される。

10

## 【0017】

別の好ましい実施態様では、バイオチップは、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体 (solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15 - 様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子 (maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15 - 様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有 (PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220 - 様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン - グルタミン酸ジペプチド (RE) リピート)、235887\_\_at (Smg - 6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子 (nonsense mediated mRNA decay factor) (C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L - 様 (S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリ

ン (Cullin) 4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制 (suppression of tumorigenicity) 1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ (S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有 (Parkinson disease 7 domain containing) 1)、233197\_\_at (ケルチ (kelch) - 様9 (Drosophila))、244512\_\_at (XP\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ (sema) ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン - 様1、チチンアイソフォームN2 - Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (W

20

30

40

50

Dリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

【0018】

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

【0019】

好ましい実施態様では、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (RhoGTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C.elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S.cerevisiae))、239567\_\_at (RhoGTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S.cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メン

10

20

30

40

50

パー5)、1560049\_\_at (CUG トリプレットリピート、RNA 結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)のトランスクリプトームを利用するバイオマーカー(TBB)と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、特発性心筋症と、心筋炎とを鑑別するステップとを含む、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを評価し、これらを同定し、かつ、区別する方法が提供される。

#### 【0020】

好ましい実施態様では、前記バイオマーカーは、生物学的試料から得られる核酸を単離することによって患者から同定される。

#### 【0021】

別の好ましい実施態様では、前記核酸は前記バイオチップにハイブリダイズされ、マイクロアレイのハイブリダイゼーションからの生の強度測定値が標準化され、遺伝子発現の表現型特異的な相違が同定される。前記遺伝子発現の相違は、q値で定義され、多重比較がp値の調整を含む、マイクロアレイの有意性解析によって同定される。

#### 【0022】

別の好ましい実施態様では、得られるデータの約66%を含むトレーニング用セットで分類指標を作成し、その後、得られるデータの約33%が含まれるテスト用セットで検証し、分類のための表現型特異的最短収縮重心法(nearest shrunken centroid)で定義することで表現型の特異度が同定される。前記表現型特異的最短収縮重心法は、トレーニング用セットでの10回の交差確認について平均化することを含む。

#### 【0023】

別の好ましい実施態様では、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUG トリプレットリピート、RNA 結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNA クローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(

10

20

30

40

50

S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sunドメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む組成物を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患の前記予後の結果又は心不全の回復を予測するステップとを含む、心臓病の予後の結果又は心不全からの回復を予測する方法が提供される。

10

20

## 【0024】

ある実施態様では、前記遺伝子配列は、正常な細胞又は正常な被験者と比較して、少なくとも約5%過剰発現される。

## 【0025】

別の好ましい実施態様では、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (RhoGTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C.elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S.cerevisiae))、239567\_\_at (RhoGTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、

30

40

50

238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制 (suppression of tumorigenicity) 1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ (S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有 (Parkinson disease 7 domain containing) 1)、233197\_\_at (ケルチ (kelch) - 様9 (Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ (sema) ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン - 様1、チチンアイソフォームN2 - Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sunドメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74 - 様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)を含む遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者との間で、同定し、かつ、区別するステップとを含む、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別する方法が提供される。

【0026】

別の好ましい実施態様では、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パルカン (perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ (sema) ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP - 結合カセット、サブ - ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン - 16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン - タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体 (LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン - 様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp

- Glu - Ala - Asp) ボックスポリペプチド 27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む、分子組成物が提供される。

#### 【0027】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心不全の臨床診断の結果及び予後の予測と、例えば、心筋炎、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の心臓循環器疾患の予後の結果又は診断の予測とになることが好ましい。

#### 【0028】

前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%から100%、200%、300%又はそれ以上までのレベル過剰発現される。

#### 【0029】

代替的な実施態様では、遺伝子配列のうち少なくとも9個が、患者の個人のリスク評価での判断指標であり、心不全の臨床診断の結果及び予後の予測となる。

#### 【0030】

別の好ましい実施態様では、複数の遺伝子配列は、心不全進行中の患者の個人のリスク評価の判断指標となる。

#### 【0031】

別の好ましい実施態様では、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRI

10

20

30

40

50

P2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRR37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソ-ム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様(S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNAクローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む、心不全の臨床診断の結果及び予後の予測のためのバイオマーカー(TBB)が提供される。

#### 【0032】

ある実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを細胞又は患者で検出することが、心不全の臨床診断の結果及び予後の予測と、例えば、心筋炎、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の心臓循環器疾患の予後の結果又は診断の予測とになる。

#### 【0033】

好ましい実施態様では、前記遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で少なくとも1%から100%、200%、300%又はそれ以上までのレベル過剰発現される。

#### 【0034】

別の実施態様では、バイオチップは、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBMS5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan)、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204

10

20

30

40

50

737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

#### 【0035】

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

#### 【0036】

別の実施態様では、抗体又はアプタマーは、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at

(アタキシン2 様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220 様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー-26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA ; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)のそれぞれと、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とに特異的である。

### 【0037】

別の好ましい実施態様では、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを評価し、これらを同定し、かつ、区別する方法は、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2 様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220 様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487

\_\_a t ( Gパッチドメイン含有8、G P A T C H 8 )、2 1 3 9 4 6 \_\_s \_\_a t ( オブスキュリン - 様1、O B S L 1 )、2 1 4 9 5 1 \_\_a t ( 電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、S L C 2 6 A 1 0 )、2 2 0 2 1 9 \_\_s \_\_a t ( 富ロイシンリピート含有37A、L R R C 3 7 A )、2 2 1 0 7 1 \_\_a t、2 2 1 7 8 0 \_\_s \_\_a t ( D E A D ( A s p - G l u - A l a - A s p ) ボックスポリペプチド27DDX27)、2 2 1 8 0 6 \_\_s \_\_a t ( S E Tドメイン含有5、S E T D 5 )、2 2 1 8 3 3 \_\_a t ( Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソ - ム、L O N P 2 )、2 2 3 5 4 6 \_\_x \_\_a t ( L U C 7 - 様 ( S . c e r e v i s i a e )、L U C 7 L )、2 2 4 2 6 0 \_\_a t ( C D N A クローン I M A G E : 4 4 7 8 7 3 3 )、2 2 5 5 6 2 \_\_a t ( A S p 2 1 タンパク質アクチベーター3、R A S A 3 )、2 2 6 0 4 0 \_\_a t ( M R N A ; c D N A D K F Z p 7 6 2 N 1 5 6 ( クローン D K F Z p 7 6 2 N 1 5 6 由来 )、2 2 7 9 6 8 \_\_a t ( パーキンソン病7ドメイン含有1、P D D C 1 )、2 2 8 1 9 8 \_\_s \_\_a t ( ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、M R P S 9 )、2 2 9 8 3 0 \_\_a t ( 転写される遺伝子座)、2 3 0 6 8 3 \_\_a t ( C D N A : F L J 2 0 8 9 2 f i s、クローン A D K A 0 3 4 3 0 )、2 3 8 1 8 5 \_\_a t ( R N A 結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、R B M S 1 )、2 4 1 5 9 7 \_\_a t ( アルギニン - グルタミン酸ジペプチド ( R E ) リピート、R E R E )、2 4 2 5 5 1 \_\_a t ( 染色体18オープンリーディングフレーム1、C 1 8 o r f 1 )、2 4 4 2 0 8 \_\_a t ( チェックポイント抑制因子1、C H E S 1 )、2 4 4 4 9 4 \_\_a t ( ジンクフィンガー、D H H C - 型含有1、Z D H H C 1 ) 及び2 4 4 5 4 8 \_\_a t ( R h o G T P アーゼ活性化タンパク質26、A R H G A P 2 6 ) のトランスクリプトームを利用するバイオマーカー ( T B B ) と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む分子的特徴を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、特発性心筋症と、心筋炎とを鑑別するステップとを含む。

#### 【0038】

別の好ましい実施態様では、心疾患の予後の結果又は心不全からの回復を予測する方法は、1 5 5 8 4 5 8 \_\_a t ( 仮想 L O C 4 0 1 3 2 0 )、1 5 6 0 0 4 9 \_\_a t ( C U G トリプレットリピート、R N A 結合タンパク質2、C U G B P 2 )、2 0 1 3 9 4 \_\_s \_\_a t ( R N A 結合モチーフタンパク質5、R B M 5 )、2 0 1 6 5 5 \_\_s \_\_a t ( ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 ( パールカン ( p e r l e c a n ) )、H S P G 2 )、2 0 2 3 7 9 \_\_s \_\_a t ( ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列、N K T R )、2 0 2 8 0 8 \_\_a t、2 0 3 0 7 1 \_\_a t ( セマ ( s e m a ) ドメイン、免疫グロブリンドメイン ( I g )、短い塩基性ドメイン、分泌型、( セマフォリン ) 3 B、S E M A 3 B )、2 0 3 7 4 8 \_\_x \_\_a t ( R N A 結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、R B M S 1 )、2 0 3 9 8 1 \_\_s \_\_a t ( A T P - 結合カセット、サブ - ファミリーD ( A L D )、メンバー4、A B C D 4 )、2 0 4 7 3 7 \_\_s \_\_a t ( ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、M Y H 6 / / / M Y H 7 )、2 0 4 9 7 8 \_\_a t ( スプライシング因子、富アルギニン / セリン - 16、S F R S 1 6 )、2 0 6 2 0 9 \_\_s \_\_a t ( 炭酸脱水酵素IV、C A 4 )、2 0 7 5 4 1 \_\_s \_\_a t ( エキソソーム成分10、E X O S C 1 0 )、2 0 7 7 9 8 \_\_s \_\_a t ( アタキシン2 様、A T X N 2 L )、2 0 8 9 7 8 \_\_a t ( 富システイン - タンパク質2、C R I P 2 )、2 0 9 3 5 4 \_\_a t ( 腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 T N F R S F 1 4 )、2 1 0 6 2 8 \_\_x \_\_a t ( 潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、L T B P 4 )、2 1 1 9 0 9 \_\_x \_\_a t ( プロスタグランジンE受容体3 ( サブタイプE P 3 )、P T G E R 3 )、2 1 1 9 9 6 \_\_a t ( K I A A 0 2 2 0 様タンパク質、核膜孔複合体 ( L O C 2 3 1 1 7 )、2 1 2 4 8 7 \_\_a t ( Gパッチドメイン含有8、G P A T C H 8 )、2 1 3 9 4 6 \_\_s \_\_a t ( オブスキュリン - 様1、O B S L 1 )、2 1 4 9 5 1 \_\_a t ( 電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、S L C 2 6 A 1 0 )、2 2 0 2 1 9 \_\_s \_\_a t ( 富ロイシンリピート含有37A、L R R C 3 7 A )、2 2 1 0

10

20

30

40

50

71\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソムタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む組成物を患者の生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患又は心筋症を予測するステップとを含む。

#### 【0039】

別の好ましい実施態様では、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別する方法は、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2 様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220 様タンパク質、核膜孔複合体 (LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LU

C7 - 様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE: 4478733)、225562\_\_at (AS p21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別するステップとを含む。

#### 【0040】

別の好ましい実施態様では、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNA クローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質L

OC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70 kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の核酸配列又はこれらの生産物うち、いずれか1種類又は2種類以上を発現する、細胞が提供される。

10

## 【0041】

別の好ましい実施態様では、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (RhoGTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C.elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S.cerevisiae))、239567\_\_at (RhoGTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S.cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70 kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、

20

30

40

50

免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン - 様1、チチンアイソフォームN2 - Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74 - 様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の核酸産物と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とのうち、いずれか1種類又は2種類以上を発現する、ベクターが提供される。

10

## 【0042】

別の好ましい実施態様では、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP - 結合カセット、サブ - ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン - 16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン - タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン - 様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp - Glu - Ala - Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソ - ム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7 - 様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNAクローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASp21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン - グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC - 型

20

30

40

50

含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む核酸配列又はこれらの生産物と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とのうち、いずれか1種類又は2種類以上を発現する、細胞が提供される。

【0043】

別の好ましい実施態様では、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン)3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様(S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNAクローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とのうち、いずれか1種類又は2種類以上を発現する、ベクターが提供される。

【0044】

本発明の他の局面は以下に説明される。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 4 5 】

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

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 4 6 】

【 図 1 】アジレント 2 1 0 0 バイオアナライザーでの抽出された全 RNA の解析を示す写真の取込画像。全ての細胞は、マイクロアレイのハイブリダイゼーション前に、そのインテグリティ ( i n t e g r i t y ) 及び純度が試験された。写真は、1 8 S 及び 2 8 S の RNA と一致するバンドを有する 1 2 種類の試料のゲルを示す。左のレーンは参照マーカーを含む。

10

【 図 2 】マイクロアレイの予測解析 ( P A M ) で分類指標の作成に用いられる際のトレーニング用及びテスト用のセットの模式図。予後が不良な患者 ( P P 、 1 8 人 ) から得られた全ての試料はバイオレポジトリ ( b i o r e p o s i t o r y ) ( n = 1 8 0 ) から選択され、かつ、予後が良好な患者 ( G P 、 n = 2 5 ) は症例 - 対照様式 ( c a s e - c o n t r o l f a s h i o n ) ( P P 及び G P の定義についての明細書本文を参照せよ。 ) で選択された。分類指標、最短収縮重心はデータの 3 分の 2 ( G P の 1 7 検体の試料、 P P の 6 検体の試料 ) から作成され、その後の検証は残りのデータの 3 分の 1 ( G P の 8 検体の試料、 P P の 6 検体の試料 ) で行なわれた。 T B B の全体のテスト精度は、トレーニング用及びテスト用のセットへの 5 0 回のランダムな配分から算出された。

20

【 図 3 】特発性拡張型心筋症の全ての患者 ( n = 4 3 ) からの試料のヒートマップ。各行は患者の試料に対応し、各列は遺伝子を示す。別々の集団から P P として分類された試料は、赤色の四角で強調される。下向き調節される遺伝子は赤色で示される一方、上向き調節される遺伝子は青色で標識される。黄色の矢印は未分類試料を示す。

【 図 4 】予後のバイオマーカーに含まれるパスウェイを示す円グラフ。 G P の患者で過剰発現される主要パスウェイは、転写 ( 2 6 % ) 、タンパク質結合 ( 1 5 % ) 、イオン輸送 ( 1 3 % ) 及び神経筋形成 ( 1 0 % ) を含んだ。

【 図 5 】基線から終点までの駆出率 ( E F ) の機能的改善を示す 2 つのグラフ。特発性心筋症の全ての登録済みの症例 ( n = 4 3 ) のうち、基線及び終点での心エコー図法による測定が利用できた症例 ( n = 1 7 ) がさらに解析された。試料は T B B の予測を利用して G P 又は P P に分類された。 G P として分類される患者 ( n = 1 1 、平均経過観察期間、 4 9 . 9 ± 2 1 ヶ月 ) は E F が改善する一方 ( \* P = 0 . 0 0 0 9 ) 、 P P ( n = 1 1 、平均経過観察期間、 6 . 2 ± 2 . 9 ヶ月 ) の患者は改善しなかった。赤線はある未分類試料を示す。誤差棒は S E M を示す。

30

【 図 6 】トレーニング用セットの交差検定を示すグラフ。遺伝子 9 個のセットから開始し、閾値の増大は 2 . 1 の極限後に誤分類度の一定の増大をもたらす。

【 図 7 】トレーニング用セットの交差検定を示すグラフ。閾値の増大は、 2 . 1 の極限後に誤分類度を一定に増大する。

【 図 8 】遺伝子 9 個の特徴を用いるヒートマップ。このヒートマップは、発現レベルの平均による標準化を用いる監督なしクラスタリングアプローチ ( u n s u p e r v i s e d c l u s t e r i n g a p p r o a c h ) によって作成された。各行は試料を示し、各線は、アフィメトリクスに由来する識別番号が左側に列挙される遺伝子に対応する。前記遺伝子の注釈の詳細については表 5 を参照せよ。赤色は遺伝子の低い発現を示す一方、青色は高い遺伝子発現レベルを示す。予後が不良な患者からの 3 検体の試料は誤ってグループ化された ( 丸で囲まれたもの ) 。

40

【 図 9 】遺伝子 4 3 個の特徴を用いるヒートマップ。このヒートマップは、図 9 のような同一の監督なし階層的クラスタリングアルゴリズム ( u n s u p e r v i s e d h i e r a r c h i c a l c l u s t e r i n g a l g o r i t h m ) で作成された。 1 検体の試料のみが誤って分類された ( B P - 1 0 ) 。興味深いことに、この患者の病歴をさらに研究することによって、患者が死亡する 5 年以上前に心不全と最初に診断され、この

50

ことは患者が実際に長期間の生存者であることを示唆し、かつ、本発明者のアルゴリズムによって正確に認識されることが判明した。本研究において、患者が死亡する1年前に生検が得られたために、患者は予後が不良な患者として分類された。

【図10】「遺伝子9個の分類指標」の最短収縮重心を示すグラフ。前記重心は、各遺伝子のクラス内標準偏差によって分配される各クラスのその発現平均からPAMで算出された。最短収縮重心分類は、前記クラスの重心それぞれを閾値によって全てのクラスの全体的な重心に「収縮する」。最短重心分類は新規試料の遺伝子発現プロファイルをもたらし、前記プロファイルをこれらのクラス重心それぞれと比較する。平方距離で最も近い重心のクラスは、新規試料の予測されたクラスとなる。グラフ中の各線は遺伝子を示す。赤色の重心はグループ1（予後不良）として特徴付けられ、緑色の重心はグループ2（予後良好）として特徴付けられる。予後が良好な前記グループで上向き調節される、1個の遺伝子を除く全ての遺伝子は、不良な臨床結果の前記グループでは発現されていなかった。

【図11】「遺伝子43個の分類指標」の最短収縮重心。本発明の分類指標を遺伝子43個に拡大後に、第2の上向き調節される遺伝子は予後が不良なグループで出現した。

【発明を実施するための形態】

【0047】

詳細な説明

本発明は、心不全、心疾患、心筋炎その他の心臓病のための非常に高感度の予後のバイオマーカーとして機能する分子的特徴を含む。

【0048】

予後の予測は、新規に進行中の心不全（HF）において満たされない主要なニーズのままである。複数の臨床的なテストが使われているが、予後の悪い患者と、予後の良好な患者とを正確に区別できない。心筋生検（EMB）からもたらされるトランスクリプトームの特徴は、HFの新規な予後バイオマーカーとして用いられる。

【0049】

定義

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

【0050】

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

【0051】

本明細書で用いられるところの「分子的特徴」、「特徴」、「バイオマーカー」又は「トランスクリプトームを利用するバイオマーカー」は本明細書で互換的に用いられ、表2及び8で同定される全ての生体分子を指す。より多くの生体分子が発見されるにつれて、新規に同定された生体分子それぞれは、いずれか1種類又は2種類以上のバイオマーカー又は分子的特徴に割り当てられる場合がある。各生体分子は、分子的特徴から除去されるか、あるいは分子的特徴に再割当又は再配分される場合がある。

【0052】

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

【0053】

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

【0054】

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

【0055】

本明細書で用いられるところの「アドレス指定可能なアレイ（addressable

10

20

30

40

50

array)」という用語は、アレイの特定の位置での特定の要素が同定できるように個々の要素が正確に定義されたXY座標でアレイを指す。

【0056】

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

【0057】

本明細書で用いられるところの「バイオアレイ」、「バイオチップ」及び「バイオチップアレイ」という用語は、固体支持基質上に配列される微小電極に不動化される生体分子の規則正しい空間的な配置を指す。プローブ分子は、アダプター、核酸、オリゴヌクレオチド、ペプチド、リガンド、抗体及び抗原を含むことが好ましく、ペプチド及びタンパク質が、最も好ましいプローブ種である。当業者が用いるようなバイオチップは、アレイ又はマイクロアレイを含む基質を含み、生物学的結合対のメンバーの1種類を含む、生物学的分子の規則正しいアレイが好ましく、規則正しいアドレス指定可能なアレイが最も好ましい。かかるアレイは、生物学的試料に存在する可能性があるか、あるいは期待される、少なくとも1種類の配列に相補的であるヌクレオチド配列を含む、オリゴヌクレオチドアレイであることが典型的である。代替的には、タンパク質、ペプチドその他の低分子は、とりわけ、（配置される分子が抗原である）免疫学的解析の実施が、（配置される分子が、

10

20

【0058】

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

30

【0059】

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

【0060】

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

40

【0061】

あるポリヌクレオチド配列を指す「相補配列」は、塩基対合の規則によって別の核酸分

50

子中の塩基配列に関係付けられる。とりわけ、前記用語又は類似の用語は、例えば、2本鎖DNA分子の2本鎖の間か、シーケンス又は増幅するためのオリゴヌクレオチドプライマーと、1本鎖核酸のプライマー結合部位との間かのようなヌクレオチド又は核酸の間でのハイブリダイゼーション又は塩基対合を指す。相補ヌクレオチドは、AとTと（あるいはAとUと）か、CとGとかが一般的である。1本鎖のヌクレオチドが、適切なヌクレオチドの挿入又は欠失を有する他鎖のヌクレオチドと、最適にアライメント及び比較され、少なくとも約95%、通常は少なくとも98%、より好ましくは約99%から約100%までで対合する際に、2本の1本鎖RNA又はDNA分子は実質的に相補的であるといわれる。相補ポリヌクレオチド配列は、周知のコンピューターのアルゴリズム及びソフトウェア、例えば、BLASTプログラムの使用を含む、さまざまなアプローチによって同定される場合がある。

10

**【0062】**

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

20

**【0063】**

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

**【0064】**

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

30

**【0065】**

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

40

**【0066】**

50

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

【0067】

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

【0068】

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

【0069】

「検出すること (detecting)」又は「検出する (detect)」という用語は、トランスクリプトームのバイオマーカーか、該バイオマーカーを含む生体分子の組み合わせかと、同様のものとの有無を、アッセイ、定量化、画像化その他確立することか、心不全の予後を、アッセイ、確認、確立その他決定することかを含む。

【0070】

トランスクリプトームのバイオマーカー/分子的特徴

好ましい実施態様では、心不全の予後の結果のためのバイオマーカーは、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体 (solute carrier) ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子 (maternally expressed) 3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有 (PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド (RE) リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子 (nonsense mediated mRNA decay factor) (C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様 (S. cerevis

10

20

30

40

50

iae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kerlch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3(etsドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む、生体分子/核酸配列を含む。

#### 【0071】

別の好ましい実施態様では、バイオマーカー(TBB)の細胞又は患者での検出は、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリ

ボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNA クローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch) - 様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン - 様1、チチンアイソフォームN2 - Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74 - 様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の核酸配列/生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含み、心筋炎の診断となる。前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約1%、1.2%、2%、5%、10%、20%のレベル過剰発現されることが好ましく、前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約50%のレベル過剰発現されることが好ましく、前記核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とは、正常な細胞又は正常な被験者でのレベルと比較して、細胞又は患者で約75%のレベル過剰発現されることがより好ましい。

#### 【0072】

別の好ましい実施態様では、バイオマーカーは、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パルカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP - 結合カセット、サブ - ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン - 16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2 様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン - タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロス

タグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at  
 (KIAA0220 様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、21248  
 7\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オ  
 ブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー  
 26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピ  
 ート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD  
 (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)  
 、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_a  
 t (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソ-ム、LONP2)、223546\_\_x\_\_a  
 t (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_ 10  
 at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (MR  
 NA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由  
 来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228  
 198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229  
 830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ2  
 0892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結  
 合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アル  
 ギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at  
 (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at 20  
 (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィン  
 ガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTP  
 アーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の核酸配列と、これらの相補配列、断  
 片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

### 【0073】

別の好ましい実施態様では、バイオチップは分子的特徴/バイオマーカーを含み、バイ  
 オマーカーは、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、2  
 14951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、  
 メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、2  
 26210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed 30  
 )3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、23302  
 6\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing)  
 )、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC  
 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_  
 at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho  
 GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因  
 子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、  
 230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03  
 430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at  
 (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at 40  
 (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense me  
 diated mRNA decay factor)(C. elegans))、2  
 29957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L  
 -様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ  
 活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、15  
 58525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (C  
 UG トリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミ  
 トコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキ  
 ラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNA クローン)、238643\_\_  
 at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumori 50

genicity) 1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing) 1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch) - 様9(Drosophila)、244512\_\_at (XP\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン - 様1、チチンアイソフォームN2 - Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74 - 様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

10

20

## 【0074】

別の好ましい実施態様では、バイオチップは、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan)、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP - 結合カセット、サブ - ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン - 16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2 様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン - タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220 様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン - 様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp - Glu - Ala - Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソ - ム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7 - 様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNAクローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (A

30

40

50

S p 2 1 タンパク質アクチベーター 3、R A S A 3)、2 2 6 0 4 0\_\_a t (M R N A ; c D N A D K F Z p 7 6 2 N 1 5 6 (クローン D K F Z p 7 6 2 N 1 5 6 由来)、2 2 7 9 6 8\_\_a t (パーキンソン病 7 ドメイン含有 1、P D D C 1)、2 2 8 1 9 8\_\_s\_\_a t (ミトコンドリアリボソームタンパク質 S 9、M R P S 9)、2 2 9 8 3 0\_\_a t (転写される遺伝子座)、2 3 0 6 8 3\_\_a t (C D N A : F L J 2 0 8 9 2 f i s、クローン A D K A 0 3 4 3 0)、2 3 8 1 8 5\_\_a t (R N A 結合モチーフ、1 本鎖相互作用タンパク質 1、R B M S 1)、2 4 1 5 9 7\_\_a t (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド (R E) リピート、R E R E)、2 4 2 5 5 1\_\_a t (染色体 1 8 オープンリーディングフレーム 1、C 1 8 o r f 1)、2 4 4 2 0 8\_\_a t (チェックポイント抑制因子 1、C H E S 1)、2 4 4 4 9 4\_\_a t (ジンクフィンガー、D H H C - 型含有 1、Z D H H C 1) 及び 2 4 4 5 4 8\_\_a t (R h o G T P アーゼ活性化タンパク質 2 6、A R H G A P 2 6) の核酸配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

【 0 0 7 5 】

別の好ましい実施態様では、心不全の予後判断の方法は、トランスクリプトームを利用するバイオマーカー (T B B) を含む分子的特徴を患者からの生物学的試料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップとを含み、バイオマーカーは、2 3 2 6 6 9\_\_a t (低酸素誘導因子 3、アルファサブユニット)、2 1 4 9 5 1\_\_a t (電解質運搬体 (s o l u t e c a r r i e r) ファミリー 2 6、メンバー 1 0)、2 4 3 4 8 2\_\_a t (上皮増殖因子受容体経路基質 1 5 - 様 1)、2 2 6 2 1 0\_\_s\_\_a t (母性発現遺伝子 (m a t e r n a l l y e x p r e s s e d) 3)、2 3 2 1 5 9\_\_a t (上皮増殖因子受容体経路基質 1 5 - 様 1)、2 3 3 0 2 6\_\_s\_\_a t (P D Z ドメイン含有 (P D Z d o m a i n c o n t a i n i n g))、2 1 1 9 9 6\_\_s\_\_a t (K I A A 0 2 2 0 - 様タンパク質の仮想遺伝子 L O C 2 8 3 8 4 6)、2 4 3 7 7 4\_\_a t (ムチン 2 0、細胞表面関連)、2 4 2 5 5 1\_\_a t (染色体 1 8 オープンリーディングフレーム)、2 4 4 5 4 8\_\_a t (R h o G T P アーゼ活性化タンパク質 2 6)、2 4 4 2 0 8\_\_a t (チェックポイント抑制因子 1)、2 3 9 9 8 4\_\_a t (ナトリウムチャネル、電位開口型、7 型、アルファ)、2 3 0 6 8 3\_\_a t (C D N A : F L J 2 0 8 9 2 f i s、クローン A D K A 0 3 4 3 0)、2 1 4 8 6 9\_\_a t (アポリポプロテイン L、6)、2 4 1 5 9 7\_\_a t (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド (R E) リピート)、2 3 5 8 8 7\_\_a t (S m g - 6 ホモログ、ナンセンス変異介在型 m R N A 分解因子 (n o n s e n s e m e d i a t e d m R N A d e c a y f a c t o r) (C . e l e g a n s))、2 2 9 9 5 7\_\_a t (膜貫通タンパク質 9 1)、2 2 3 5 4 6\_\_x\_\_a t (L U C 7 L - 様 (S . c e r e v i s i a e))、2 3 9 5 6 7\_\_a t (R h o G T P アーゼ活性化タンパク質 1 0)、2 4 2 1 9 4\_\_a t (カリン (C u l l i n) 4 A)、1 5 5 8 5 2 5\_\_a t (仮想タンパク質 L O C 2 8 3 9 0 1)、2 2 7 1 7 8\_\_a t (C U G トリプレットリピート、R N A 結合タンパク質 2)、2 2 8 1 9 8\_\_s\_\_a t (ミトコンドリアリボソームタンパク質 S 9)、2 0 2 3 7 9\_\_s\_\_a t (ナチュラルキラー - 腫瘍認識配列)、2 2 4 2 6 0\_\_a t (C D N A クローン)、2 3 8 6 4 3\_\_a t (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制 (s u p p r e s s i o n o f t u m o r i g e n i c i t y) 1)、2 3 2 2 5 3\_\_a t (R A D 5 0 ホモログ (S . c e r e v i s i a e))、2 2 7 9 6 8\_\_a t (パーキンソン病 7 ドメイン含有 (P a r k i n s o n d i s e a s e 7 d o m a i n c o n t a i n i n g) 1)、2 3 3 1 9 7\_\_a t (ケルチ (k e l c h) - 様 9 (D r o s o p h i l a))、2 4 4 5 1 2\_\_a t (X P\_\_0 0 1 0 8 1 3 4 2 1 に非常に類似した転写される遺伝子座)、2 3 3 4 4 3\_\_a t (仮想タンパク質 L O C 3 8 9 3 6 2)、2 3 1 2 7 5\_\_a t (F L J 4 2 8 7 5 タンパク質)、2 2 6 4 1 9\_\_s\_\_a t (仮想タンパク質 L O C 6 4 5 4 6)、2 0 1 2 2 1\_\_s\_\_a t (核内低分子リボヌクレオタンパク質 7 0 k D a ポリペプチド)、2 0 9 3 5 4\_\_a t (腫瘍壊死因子受容

10

20

30

40

50

体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

10

【0076】

別の好ましい実施態様では、心不全の臨床診断の結果及び予後を予測する方法は、1558458\_\_at (仮想LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パルカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソ-ム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、R

20

30

40

50

ERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHH C - 型含有1、ZDHH C 1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含むバイオマーカーと、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物との検出を含む。

【0077】

別の好ましい実施態様では、得られるデータの約66%を含むトレーニング用セットで分類指標を作成し、その後、得られるデータの約33%が含まれるテスト用セットで検証し、分類のための表現型特異的最短収縮重心法(nearest shrunken centroid)で定義することで表現型の特異度が同定される。

10

【0078】

別の好ましい実施態様では、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別する方法は、トランスクリプトームを利用するバイオマーカー(TBB)を含む分子的特徴を患者からの生物学的試料で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別するステップとを含み、バイオマーカーは、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUG トリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNA クローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミ

20

30

40

50

リーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

10

## 【0079】

別の好ましい実施態様では、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別する方法は、トランスクリプトームを利用するバイオマーカー(TBB)を含む分子的特徴を患者からの生物学的試料で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別するステップとを含み、バイオマーカーは、1558458\_\_at (仮想LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン)3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様(S.cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA;cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198

20

30

40

50

\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

10

## 【0080】

別の好ましい実施態様では、心不全の予後の予測は、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at

20

30

40

50

(WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Su  
ンドメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレット  
リピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMA  
GE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転  
写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及  
び遺伝子産物とを有する分子のうち少なくとも10個を検出することを含む。

【0081】

別の好ましい実施態様では、心不全の予後の予測は、1558458\_\_at (仮想  
LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA  
結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタ  
ンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2  
(パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナ  
チュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at  
(セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイ  
ン、分泌型、(セマフォリン)3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (R  
NA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_a  
t (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD(ALD)、メンバー4、ABC  
D4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6  
///MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリ  
ン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、  
207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_  
s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン  
-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリー  
メンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォー  
ミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プ  
ロスタグランジンE受容体3(サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_  
at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212  
487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at  
(オプスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミ  
リー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシン  
リピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at  
(DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX2  
7)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833  
\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x  
\_\_at (LUC7-様(S.cerevisiae)、LUC7L)、22426  
0\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4478733)、225562\_\_at  
(ASp21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (M  
RNA;cDNA DKFZp762N156(クローンDKFZp762N15  
6由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、2  
28198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、2  
29830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA:FL  
J20892fis、クローンADKA03430)、238185\_\_at (RNA  
結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (ア  
ルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_a  
t (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_  
at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジंकフ  
インガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (RhoG  
TPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の遺伝子配列と、これらの相補配  
列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを有する分子のうち少なくとも9個を検  
出を含む。

10

20

30

40

50

## 【0082】

別の好ましい実施態様では、遺伝子配列を含むバイオチップの組成物が提供され、バイオマーカーは、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オブスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー-26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASp21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリポソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

## 【0083】

ある実施態様では、前記バイオチップは、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー-26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基

10

20

30

40

50

質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む、バイオマーカーから選択される生体分子のうち少なくとも10個を含む。

#### 【0084】

別の好ましい実施態様では、遺伝子配列を含むバイオチップの組成物が提供され、バイオマーカーは、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タン

パク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー-26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASp21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

【0085】

好ましい実施態様では、パイオチップは、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan)、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク

10

20

30

40

50

質 2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー1  
4 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖  
因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグラン  
ジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (K  
IAA0220 様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_a  
t (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプス  
キュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、  
メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含  
有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEA  
D (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、22  
1806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (L  
onペプチダーゼ2、ペルオキシソ-ム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (L  
UC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at  
(CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (AS  
p21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA ;  
cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、  
227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198  
\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830  
\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ2089  
2 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチ  
ーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン  
-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色  
体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チ  
ェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、  
DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ  
活性化タンパク質26、ARHGAP26)を含む分子のうち少なくとも9個と、これら  
の相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

#### 【0086】

別の好ましい実施態様では、遺伝子配列を含むバイオマーカーを患者からの生物学的試  
料中で同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それ  
ぞれをクラスに割り当てるステップとを含む、新規に進行中の心不全、心疾患又はこれ  
らの症状の予後を予測する方法が提供され、バイオマーカーは、232669\_\_at (低  
酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(s  
olute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at  
(上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝  
子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増  
殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(  
PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIA  
A0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at  
(ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディ  
ングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、  
244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリ  
ウムチャンネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FL  
J20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポ  
リポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド  
(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介  
在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay  
factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質  
91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))  
、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194

\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3(etsドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。好ましい方法の例は以下の実施例で詳細に説明される。

#### 【0087】

別の好ましい実施態様では、遺伝子配列を含むバイオマーカーを同定するステップと、各試料で各成分遺伝子の同定確率を評価するステップと、それぞれをクラスに割り当てるステップと、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別するステップとを含む、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者を同定し、かつ、これらを区別する方法が提供され、バイオマーカーは、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、2421

94\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sunドメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3(et sドメイン転写因子、上皮特異的)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

10

20

30

40

50

#### 【0088】

別の好ましい実施態様では、遺伝子配列を含むバイオマーカーを同定するステップを含む、心疾患の高リスク患者と、回復の予後が良好な患者とを同定し、かつ、これらを区別する方法が提供され、1558458\_\_at (仮想LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン)3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、OB

SL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S.cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASP21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZ p762N156 (クローンDKFZ p762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)の遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを含む。

#### 【0089】

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

マーカーとしての核酸及びタンパク質の検出

好ましい実施態様では、各バイオマーカーは以下の実施例で詳細に説明されるような方法を利用するチップに関する。例えば、心不全、心筋炎、心筋症等の心臓循環器疾患の良好な予後の結果の心不全患者の正確な予後及び診断を提供するために。他の方法は当業者に知られ、1種類又は2種類以上の方法が利用される場合がある。

#### 【0090】

本明細書で開示される前記方法及びアッセイは、哺乳類の組織又は細胞の試料中でのトランスクリプトームのバイオマーカーの発現の試験に関し、1種類又は2種類以上のかかるトランスクリプトームのバイオマーカーの発現の決定は、例えば、心筋炎、冠動脈心疾患、狭心症、急性冠症候群、大動脈瘤及び大動脈解離、不整脈、心筋症、先天性心疾患、うっ血性心不全又は慢性心不全、心膜炎等の心臓循環器疾患の予後の結果の予測又は診断となる。分子的特徴又はトランスクリプトームのバイオマーカーは、表2で同定された生体分子を含む。より多くの生体分子が発見されるにつれて、新規に同定された生体分子それぞれは、いずれか1種類又は2種類以上のバイオマーカー又は分子的特徴に割り当てられる場合がある。各生体分子は、分子的特徴から除去されるか、あるいは分子的特徴に再割当又は再配分される場合がある。

#### 【0091】

生体分子の同定、解析方法などの好ましい実施例が、以下の実施例で詳細に説明される。

#### 【0092】

マイクロアレイ

一般的に、核酸マイクロアレイに用いられる際に、テスト用及び対照用の組織試料からのテスト用及び対照用のmRNA試料は、cDNAプローブを生成するために、逆転写され、標識される。その後、前記プローブは、固体支持体上に不動化される核酸のアレイにハイブリダイズされる。前記アレイは、該アレイの各メンバーの配列及び位置が知られるように形成される。例えば、ある疾患状態で発現される可能性がある選択遺伝子が、固体

支持体上に配列される場合がある。標識化プローブが特定のアレイのメンバーとのハイブリダイズすることは、前記プローブが由来した前記試料はその遺伝子を発現することを示す。疾患組織での差次的遺伝子発現解析は、有用な情報を提供する場合がある。マイクロアレイ技術は、1回の実験で数百個の遺伝子のmRNA発現プロファイルを評価するための核酸ハイブリダイゼーション手法及びコンピューター技術を利用する。例えば、2001年10月11日に開示された国際公開第WO 01/75166号明細書を参照せよ。(アレイ作製の議論のために、例えば、米国特許第5,700,637号明細書、米国特許第5,445,934号明細書及び米国特許第5,807,522号明細書と、Lockart、Nature Biotechnology, 14:1675-1680 (1996)及びCheung, V. Gら、Nature Genetics 21 (Suppl):15-19 (1999)とを参照せよ。)。DNAマイクロアレイは、ガラスその他の基質上に直接的に合成されるか、配置されるかのいずれかの遺伝子断片を含む、小型のアレイである。数百個の遺伝子は、1つのアレイにしばしば示される。典型的なマイクロアレイの実験は、1)試料から単離されるRNAに由来する蛍光標識化標的を準備するステップと、2)前記マイクロアレイに前記標識化標的をハイブリダイゼーションするステップと、3)前記アレイを、洗浄、染色及び走査するステップと、4)走査画像を解析するステップと、5)遺伝子発現プロファイルを作成するステップとを含む。現在のDNAマイクロアレイの主要な2種類のタイプは、(通常、25ないし70塩基長の)オリゴヌクレオチドアレイと、cDNAから調製されるPCR産物を含む遺伝子発現アレイとが用いられている。アレイの製造において、オリゴヌクレオチドは、前もって作製され、表面上に配置されるか、表面上に直接的に合成させるか(in situ)のいずれかの場合がある。アフィメトリクスジーンチップ(商標)システムは、ガラス表面上にオリゴヌクレオチドを直接的に合成することによって作製されるアレイを含む、商業的に入手可能なマイクロアレイシステムである。

#### 【0093】

##### アレイのプローブ/遺伝子

通常25塩基長のオリゴヌクレオチドは、半導体を利用するフォトリソグラフィと、固相化学合成技術との組み合わせによってガラス基板上に直接的に合成される。各アレイは400,000個までの異なるオリゴヌクレオチドを含み、各オリゴヌクレオチドは数百万の複製物で存在する。オリゴヌクレオチドのプローブはアレイ上の既知の位置で合成されるため、ハイブリダイゼーションのパターン及びシグナル強度は、アフィメトリクスのマイクロアレイスイートソフトウェアによって、遺伝子の同定及び相対的発現レベルの面から解釈される。各遺伝子は、一連の異なるオリゴヌクレオチドのプローブによって前記アレイ上に示される。各プローブの対合は、完全な適正塩基対合のオリゴヌクレオチドと、不適正塩基対合のオリゴヌクレオチドとからなる。前記完全な適正塩基対合のプローブは特定の遺伝子に正確に相補的な配列を有し、その後、遺伝子の発現を測定する。前記不適正塩基対合のプローブは、標的遺伝子転写産物の結合を妨げる、中心の塩基位置での1塩基置換によって、前記完全な適正塩基対合のプローブと異なる。バックグラウンド及び非特異的ハイブリダイゼーションを決定するためのこの手助けは、前記オリゴヌクレオチドの完全な適正塩基対合に関するシグナルを測定するのに貢献する。前記マイクロアレイスイートソフトウェアは、各プローブセットの絶対的又は特異的な強度値を測定するために、前記完全な適正塩基対合のプローブのハイブリダイゼーション強度から不適正塩基対合のプローブのハイブリダイゼーション強度を減算する。プローブは、GenBankその他のヌクレオチドのレポジトリ( repository )からの現在の情報にもとづいて選択される。配列は遺伝子の3'末端のユニークな領域を認識すると思われる。ジーンチップハイブリダイゼーションオープン(「回転式肉焼き用( rotisserie )」オープン)が、1度に64個までのアレイのハイブリダイゼーションを実施するために用いられる。自動洗浄染色装置( fluidics station )は、プローブアレイの洗浄及び染色を実施する。それは完全に自動化され、4個のモジュールを含み、各モジュールは1個のプローブアレイを保持する。各モジュールは、プログラム化された洗浄

プロトコルを用いる、マイクロアレイスイートソフトウェアを通じて独立的に制御される。走査装置は、前記プローブアレイに結合する標識化 cRNA によって放出される蛍光強度を測定する共焦点レーザー蛍光走査装置である。マイクロアレイスイートソフトウェアを有するコンピュータワークステーションは、前記自動洗浄染色装置及び前記走査装置を制御する。マイクロアレイスイートソフトウェアは、前記プローブアレイのためにプログラム化された、ハイブリダイゼーション、洗浄及び染色のプロトコルを用いる自動洗浄染色装置を 8 台まで制御する場合がある。前記ソフトウェアはハイブリダイゼーション強度のデータを習得し、適切なアルゴリズムを用いて前記データを各遺伝子の有/無の呼び掛け (call) に換算する。最終的に、前記ソフトウェアは比較解析による実験間の遺伝子発現の変化を検出し、さらなるデータ解析のために他のソフトウェアプログラムで用

10

#### 【0094】

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

20

#### 【0095】

##### ポリペプチドの検出

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

30

#### 【0096】

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

40

50

ることでの使用のために既知のタンパク質 / 抗体検出方法を容易に適用できる。

【0097】

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

10

【0098】

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

20

【0099】

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

30

40

【0100】

代替的な方法は、試料中で標的バイオマーカ - を不動化するステップと、その後、リポーター分子で標識されるか、あるいは標識されない場合がある、特異的な抗体に不動化標的を曝露するステップとを含む。標的の量及び前記リポーター分子シグナルの強度に依存する場合に、結合された標的は、前記抗体で直接標識することによって検出可能となる場合がある。代替的に、第1抗体に特異的な第2標識化抗体は、標的 - 第1抗体 - 第2抗体の第3複合体を形成するための標的 - 第1抗体複合体に曝露される。前記複合体は、リポーター分子によって放出されるシグナルによって検出される。本明細書で用いられるところ

50

の「リポーター分子」は、その化学的な性質によって、抗原 - 結合抗体の検出を可能にする、解析的に同定可能なシグナルを提供する分子を意味する。このタイプのアッセイで最も一般的に用いられるリポーター分子は、酵素か、フルオロフォアか、分子（例えば、放射性同位体）及び化学発光分子を含む放射性核種かのいずれかである。

#### 【0101】

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

10

20

#### 【0102】

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

30

#### 【0103】

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

40

50

り、本発明のマーカ-をエンコードしている、mRNA又はゲノムDNAにストリンジェントな条件下で特異的にハイブリダイズするのに十分な場合がある。本発明の診断アッセイでの使用のための他の適切なプローブは、本明細書で説明される。前記プローブとのmRNAのハイブリダイゼーションは、問題となっているマーカ-が発現されていることを示す。

#### 【0104】

あるフォーマットでは、前記mRNAは、例えば、アガロースゲルに単離されるmRNAを流がし、ゲルからニトロセルロースのような膜に前記mRNAを移すことによって、固体表面上に不動化され、プローブに接触される。代替的なフォーマットでは、例えば、アフィメトリクスジーンチップアレイ中で、プローブは固体表面に不動化され、前記mRNAは前記プローブと接触される。当業者は、本発明のマーカ-がエンコードされるmRNAのレベルの検出での使用に既知のmRNA検出方法を容易に適応できる。

10

#### 【0105】

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

20

30

#### 【0106】

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

#### 【0107】

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

40

#### 【0108】

代替的には、前記発現レベルは、相対的な発現レベルとして提供される場合がある。マーカ-の相対的な発現レベルを決定するために、前記マーカ-の発現レベルは、問題の試料についての発現レベルの決定の前に、正常な生物学的試料と、疾患の生物学的試料とを

50

比較する、10検体又は11検体以上の試料について決定され、50検体又は51検体以上の試料が好ましい。多数の試料中でアッセイされる各遺伝子の平均発現レベルが決定され、その後、これは前記マーカーの基線発現レベルとして用いられる。その後、テスト試料（の発現の絶対的なレベル）について決定される前記マーカーの発現レベルは、そのマーカーについて得られた平均発現値によって割られる。これは相対的な発現レベルを提供する。

#### 【0109】

基線決定で用いられる前記試料は、多型を有さない患者由来であることが好ましい。細胞の供給源の選択は、使用する相対的な発現レベルに依存する。平均発現スコアとして正常な組織で見出される発現を使用することは、アッセイされる前記マーカーが（正常な細胞と比較して）特異的であるかの検証を助ける。さらに、より多くのデータが蓄積されるときに、前記平均発現値は修正され、蓄積データにもとづく改善された相対的な発現値を提供する。

10

#### 【0110】

##### 抗体及びアプタマー

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

#### 【0111】

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

20

#### 【0112】

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

#### 【0113】

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

30

#### 【0114】

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

40

#### 【0115】

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

#### 【0116】

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

#### 【0117】

50

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

【0118】

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

【0119】

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

【0120】

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

【0121】

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

【0122】

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

【0123】

好ましい実施態様では、抗体又はアプタマーは、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャネル

10

20

30

40

50

、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA:FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3(etsドメイン転写因子、上皮特異的)のバイオマーカーの各遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とに特異的である。

#### 【0124】

好ましい実施態様では、抗体又はアプタマーは、1558458\_\_at (仮想 LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン)3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2 様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タ

ンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220 様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27) 10、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソ-ム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASp21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)のバイオマーカーの各遺伝子配列と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とに特異的である。

#### 【0125】

##### 創薬

別の好ましい実施態様では、分子的特徴は、心臓循環器疾患の治療の新規薬剤の同定に役立つ。 30

#### 【0126】

##### 低分子

低分子テスト化合物又は候補治療化合物は、最初は有機又は無機の化学ライブラリーのメンバーの場合がある。本明細書で用いられるところの「低分子」は、約3,000ダルトン未満の分子量の有機又は無機の低分子を指す。前記低分子は、天然物又はコンビナトリアル化学ライブラリーのメンバーとなる。多様な分子のセットは、電荷、芳香族性、水素結合、可動性、サイズ、側鎖の長さ、疎水性及び剛性のようなさまざまな作用を網羅するために用いられるべきである。低分子を合成するのに適切なコンビナトリアル法は、Obrecht及びVillalgorido、Solid-Supported Combinatorial and Parallel Synthesis of Small-Molecular-Weight Compound Libraries、Pergamon-Elsevier Science 40 有限会社(1998)に示されるように当業者に知られ、「スプリット・アンド・プール(split and pool)」合成法又は「パラレル(parallel)」合成法と、固相及び液相法と、エンコード法(例えば、Czarnik、Curr. Opin. Chem. Bio., 1:60 (1997)を参照せよ。)とのようなものを含む。さらに、低分子ライブラリーの多くは商業的に入手可能である。

#### 【0127】

本発明の特定のスクリーニングの用途は、薬剤研究での医薬品化合物の試験に関する。 50

一般的に、標準的な教科書「In vitro Methods in Pharmaceutical Research」、Academic Press、1997と、米国特許第5,030,015号明細書とを参照せよ。候補の医薬品化合物の活性の評価は、候補化合物を投与するステップと、(未処理の細胞又は不活性化化合物で処理された細胞と比較して)前記化合物に起因する、形態か、マーカーの表現型及び発現か、細胞の代謝活性及び細胞の作用かのいずれかの変化を決定するステップと、その後、化合物の効果を観察された変化とを相関させるステップとを一般的に含む。

【0128】

前記スクリーニングは、例えば、前記化合物は特定の細胞タイプで薬効を有するように設計されるためか、その他の効果を有するように設計された化合物が意図されない副作用を有するためか、のいずれかのために行なわれる場合がある。2種類又は3種類以上の薬剤は、想定される薬剤-薬剤の相互作用効果を検出するために、(同時か、あるいは連続のいずれかで細胞と組み合わせることによる)組み合わせでテストされる場合がある。ある用途では、化合物は、潜在的な毒性について初めにスクリーニングされる(Castellら、「In vitro Methods in Pharmaceutical Research」の375頁-410頁、Academic Press、1997)。細胞毒性は、細胞の生存率と、生存と、形態と、特定のマーカー、受容体又は酵素の発現又は放出との影響によって、最初に決定される場合がある。染色体DNAへの薬剤の影響は、DNA合成又は修復を測定することによって決定される場合がある。特に細胞周期の予定外の時間でか、あるいは細胞複製で必要とされるレベル以上の[<sup>3</sup>H]チミジン又はBrdUの取込は薬効と一致する。期待しない効果は、分裂中期展開法によって決定される姉妹染色分体交換の異常な割合を含む場合がある。さらに詳細な説明は、A. Vickers(「In vitro Methods in Pharmaceutical Research」の375頁-410頁、Academic Press、1997)を参照せよ。

10

20

【0129】

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

30

【0130】

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

40

【0131】

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

【0132】

本発明の別の実施態様では、本発明による薬剤を含む医薬品調製物が提供される。

【0133】

本発明の別の好ましい実施態様では、被験者に対して治療学的な有効量で前記薬剤を提供するための十分な量で、上記のステップ(c)で同定された候補薬剤か、こららの類似

50

体又は誘導体かを合成するステップ ( i )、及び/又は、上記のステップ ( c ) で同定された薬剤候補、候補薬剤か、これらの類似体又は誘導体かと、薬学的に許容可能な担体とを組み合わせるステップ ( i i ) の本発明による方法のステップを含む薬剤を生産する方法が提供される。

#### 【 0 1 3 4 】

##### ベクター及び細胞

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

#### 【 0 1 3 5 】

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

#### 【 0 1 3 6 】

好ましい実施態様では、候補治療化合物の同定方法は、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャンネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、214869\_\_at (アポリポロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、23

10

20

30

40

50

9567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNAクローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)、201510\_\_at E74-様因子3(etsドメイン転写因子、上皮特異的)から選択される生体分子のうち少なくとも1つと、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを発現している細胞を候補治療薬剤とともに培養するステップと、前記生体分子の発現を変調する候補治療薬剤を同定するステップと、候補治療薬剤を同定するステップとを含む。候補治療薬剤は、有機分子、無機分子、ワクチン、抗体、核酸分子、タンパク質、ペプチド及び核酸分子を発現するベクターを含むことが、好ましい。

#### 【0137】

好ましい実施態様では、候補治療化合物を同定する方法は、1558458\_\_at (仮想LOC401320)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CUGBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2(パルカン(perlecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォリン)3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセット、サブ-ファミリーD(ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6///MYH7)、204978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16)、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRIP2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14TNFRSF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at

(プロスタグランジンE受容体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA0220 様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッチドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富口イシンリピート含有37A、LRRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DX27)、221806\_\_s\_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASp21タンパク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHHC-型含有1、ZDHHC1)及び244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26、ARHGAP26)から選択される生体分子のうち少なくとも1つと、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とを発現している細胞を候補治療薬剤とともに培養するステップと、前記生体分子の発現を変調する候補治療薬剤を同定するステップと、候補治療薬剤を同定するステップとを含む。候補治療薬剤は、有機分子、無機分子、ワクチン、抗体、核酸分子、タンパク質、ペプチド及び核酸分子を発現するベクターを含むことが好ましい。

10

20

30

40

50

#### 【0138】

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

#### 【0139】

生体分子は、1種類又は2種類以上のベクターから発現される場合がある。(遺伝子送達又は遺伝子伝達の「運搬体」として時折言及される)「ベクター」は、in vitro又はin vivoのいずれかの宿主細胞に送達されるポリヌクレオチドを含む、高分子又は分子複合体を指す。送達される前記ポリヌクレオチドは、遺伝子治療で興味のあるコード配列を含む場合がある。ベクターは、例えば、(アデノウイルス(「Ad」)、アデノ-随伴ウイルス(AAV)及びレトロウイルスのような)ウイルスベクター、リボソームその他の脂質-含有複合体と、宿主細胞へのポリヌクレオチドの送達を仲介すること

が可能な他の高分子複合体とを含む。ベクターは、遺伝子送達及び/又は遺伝子発現をさらに変調するか、あるいは標的とされた細胞に有用な性質を提供する、他の成分又は機能を含む。以下により詳細に説明され、例示されるように、かかる他の成分は、例えば、(細胞-タイプ又は組織-特異的な結合を仲介する成分を含む)細胞への結合か、あるいは標的化に影響を及ぼす成分と、前記細胞によるベクターの核酸の取込に影響を及ぼす成分と、取込後の前記細胞内でのポリヌクレオチドの局在に影響を及ぼす(核移行を仲介する薬剤のような)成分と、ポリヌクレオチドの発現に影響を及ぼす成分とを含む。かかる成分は、検出可能及び/又は選択可能なマーカーのようなマーカーを含む場合があり、該マーカーは、前記ベクターによって送達される核酸を、取り込み、かつ、発現している細胞を検出又は選択するのに用いられる。かかる成分が、(結合及び取込を仲介する、成分又は機能を有する一定のウイルスベクターの使用のような)ベクターの天然の特徴として提供される場合があり、ベクターはかかる機能を提供するために改変される場合がある。別のベクターは、Chenら、BioTechniques, 34: 167-171 (2003)によって説明されるベクターを含む。広範なかかるベクターは、当業者に知られ、一般的に利用可能である。

10

## 【0140】

## キット

別の好ましい実施態様では、232669\_\_at (低酸素誘導因子3、アルファサブユニット)、214951\_\_at (電解質運搬体(solute carrier)ファミリー26、メンバー10)、243482\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、226210\_\_s\_\_at (母性発現遺伝子(maternally expressed)3)、232159\_\_at (上皮増殖因子受容体経路基質15-様1)、233026\_\_s\_\_at (PDZドメイン含有(PDZ domain containing))、211996\_\_s\_\_at (KIAA0220-様タンパク質の仮想遺伝子LOC 283846)、243774\_\_at (ムチン20、細胞表面関連)、242551\_\_at (染色体18オープンリーディングフレーム)、244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子1)、239984\_\_at (ナトリウムチャンネル、電位開口型、7型、アルファ)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、クローンADKA03430)、214869\_\_at (アポリポプロテインL、6)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート)、235887\_\_at (Smg-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(nonsense mediated mRNA decay factor)(C. elegans))、229957\_\_at (膜貫通タンパク質91)、223546\_\_x\_\_at (LUC7L-様(S. cerevisiae))、239567\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質10)、242194\_\_at (カリン(Cullin)4A)、1558525\_\_at (仮想タンパク質LOC283901)、227178\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2)、228198\_\_s\_\_at (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認識配列)、224260\_\_at (CDNA クローン)、238643\_\_at (神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制(suppression of tumorigenicity)1)、232253\_\_at (RAD50ホモログ(S. cerevisiae))、227968\_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有(Parkinson disease 7 domain containing)1)、233197\_\_at (ケルチ(kelch)-様9(Drosophila))、244512\_\_at (XP\_\_0010813421に非常に類似した転写される遺伝子座)、233443\_\_at (仮想タンパク質LOC389362)、231275\_\_at (FLJ42875タンパク質)、226419\_\_s\_\_at (仮想タンパク質LOC64546)、201221\_\_s\_\_at (核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー

20

30

40

50

14)、226571\_\_s\_\_at (タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型)、  
 220728\_\_at (EST)、203071\_\_at (セマ(sema)ドメイン、  
 免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似)、201394\_\_s\_\_at  
 (RNA結合モチーフタンパク質5)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチ  
 ーフ、1本鎖相互作用タンパク質1)、223147\_\_s\_\_at (WDリピートドメイ  
 ン33)、213773\_\_x\_\_at (NOL/NOP2/Sundメインファミリー、  
 メンバー5)、1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タ  
 ンパク質2)、243974\_\_at (CDNAクローンIMAGE:4821815)  
 、201510\_\_at E74-様因子3 (etsドメイン転写因子、上皮特異的)の  
 生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とのうち、い  
 ずれか1種類又は2種類以上を含むキットが提供される。

10

## 【0141】

別の好ましい実施態様では、1558458\_\_at (仮想LOC401320)、  
 1560049\_\_at (CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2、CU  
 GBP2)、201394\_\_s\_\_at (RNA結合モチーフタンパク質5、RBM5)  
 、201655\_\_s\_\_at (ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン(per  
 lecan))、HSPG2)、202379\_\_s\_\_at (ナチュラルキラー-腫瘍認  
 識配列、NKTR)、202808\_\_at、203071\_\_at (セマ(sema)ド  
 メイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型、(セマフォ  
 リン) 3B、SEMA3B)、203748\_\_x\_\_at (RNA結合モチーフ、1本  
 鎖相互作用タンパク質1、RBMS1)、203981\_\_s\_\_at (ATP-結合カセ  
 ット、サブ-ファミリーD (ALD)、メンバー4、ABCD4)、204737\_\_  
 s\_\_at (ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7、MYH6 / / / MYH7)、2  
 04978\_\_at (スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16、SFRS16  
 )、206209\_\_s\_\_at (炭酸脱水酵素IV、CA4)、207541\_\_s\_\_at  
 (エキソソーム成分10、EXOSC10)、207798\_\_s\_\_at (アタキシン  
 2様、ATXN2L)、208978\_\_at (富システイン-タンパク質2、CRI  
 P2)、209354\_\_at (腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14 TNFR  
 SF14)、210628\_\_x\_\_at (潜在型トランスフォーミング増殖因子ベータ結  
 合タンパク質4、LTBP4)、211909\_\_x\_\_at (プロスタグランジンE受容  
 体3 (サブタイプEP3)、PTGER3)、211996\_\_at (KIAA022  
 0様タンパク質、核膜孔複合体(LOC23117)、212487\_\_at (Gパッ  
 チドメイン含有8、GPATCH8)、213946\_\_s\_\_at (オプスキュリン-様  
 1、OBSL1)、214951\_\_at (電解質運搬体ファミリー26、メンバー10  
 、SLC26A10)、220219\_\_s\_\_at (富ロイシンリピート含有37A、L  
 RRC37A)、221071\_\_at、221780\_\_s\_\_at (DEAD (Asp  
 -Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27DDX27)、221806\_\_s  
 \_\_at (SETドメイン含有5、SETD5)、221833\_\_at (Lonペプチ  
 ダーゼ2、ペルオキシソ-ム、LONP2)、223546\_\_x\_\_at (LUC7-様  
 (S. cerevisiae)、LUC7L)、224260\_\_at (CDNA  
 クローン IMAGE:4478733)、225562\_\_at (ASp21タンパ  
 ク質アクチベーター3、RASA3)、226040\_\_at (MRNA; cDNA  
 DKFZp762N156 (クローンDKFZp762N156由来)、227968  
 \_\_at (パーキンソン病7ドメイン含有1、PDDC1)、228198\_\_s\_\_at  
 (ミトコンドリアリボソームタンパク質S9、MRPS9)、229830\_\_at (転  
 写される遺伝子座)、230683\_\_at (CDNA: FLJ20892 fis、  
 クローン ADKA03430)、238185\_\_at (RNA結合モチーフ、1本鎖  
 相互作用タンパク質1、RBMS1)、241597\_\_at (アルギニン-グルタミン  
 酸ジペプチド(RE)リピート、RERE)、242551\_\_at (染色体18オーブ

20

30

40

50

ンリーディングフレーム 1、C18orf1)、244208\_\_at (チェックポイント抑制因子 1、CHES1)、244494\_\_at (ジンクフィンガー、DHH C - 型含有 1、ZDHH C1) 及び 244548\_\_at (Rho GTPアーゼ活性化タンパク質 26、ARHGAP26) の生体分子と、これらの相補配列、断片、対立遺伝子、変異体及び遺伝子産物とのうち、いずれか 1 種類又は 2 種類以上を含む、キットが提供される。

#### 【0142】

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

10

#### 【0143】

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

20

#### 【0144】

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

30

#### 【0145】

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

40

#### 【0146】

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

#### 【0147】

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

#### 【実施例 1】

#### 【0148】

新規に進行中の心不全における個人のリスク評価のためのトランスクリプトームのバイ

50

## オマーカー

初検時での正確なリスク評価及び予後の予測は、治療、監視、患者の管理の適切な割り当てにとって重要である。この研究では、提供されるトランスクリプトームを利用するバイオマーカー（TBB）は、1回の心筋生検（EMB）から生じ、非常に高い精度で特発性拡張型心筋症（IDCM）の患者の長期臨床結果を予測する。

## 【0149】

## 材料及び方法

## 略語

NYHAはニューヨーク心臓病学会分類であり、LVEFは左室補助循環装置であり、LVIDDは左室拡張末期内径であり、PAPは肺動脈圧であり、PCWPは肺毛細血管楔入圧である。

10

## 【0150】

## 患者

EMBは、心筋症の評価のために1997年から2006年までにジョンズ・ホプキンス病院に紹介された患者から採取された（ $n = 35012$ ）。患者の結果の臨床データベースは、1997年の開始と同時に10年間維持された。全ての患者は、試料の採取及び医療記録の抽出について同意書を提出した。右心室中隔からの経静脈EMBは、以前に説明されたように（Felker GMら、N Engl J Med 2000；342：1077-8）、マイクロアレイ解析から得られた。想定される疾患特異的な交絡因子を回避するために、一つの、単回型、頻型の（one single frequent type of）心筋症（IDCM）からの試料が選択された。IDCMは、検出可能な病理学的徴候を全く示すことない、詳細な組織学的精密検査の後の除外診断であった。180検体のIDCMのレポジトリ内において、生検は予後が良好なコホートの表現型の極値を利用する症例-対照様式で選択された。予後が良好なグループ（GP、 $n = 25$ ）は、心不全の徴候の初検後少なくとも5年間発症無しとして定義され、予後が不良なグループ（BP、 $n = 18$ ）は、最初の2年以内に発症を経験した。発症は、死亡（ $n = 14$ ）と、左室補助装置（ $n = 2$ ）又は心臓移植（ $n = 2$ ）の必要性とを含んだ。

20

## 【0151】

## 生検の処理

EMBsは、バイオレポジトリ中で保存するために液体窒素中でただちに瞬間凍結された。RNAの単離及び処理の全てのステップは、MIAME（マイクロアレイ実験についての最低限の情報）の指針に従って実施された。組織試料（平均直径 - 2 mm）は、MM301ミキサミル（レッチェ（Rettsch）、カタログ番号第85120番）でホモジナイズされた。マイクロ-トゥ-ミディ全RNA精製システム（インビトロジェン、カタログ番号第12183-018番）とともにトリゾール試薬が、全RNAの抽出のために用いられた（成功率：試料の97%）。全RNAの濃度及びインテグリティは、アジレント2100バイオアナライザーで測定された。全てのRNA試料は、変性アガロースゲル電気泳動で未消化の28S及び18SのリボソームRNAを示し、260/280nmの吸光度計測値は、1.8-2.1の許容可能な範囲に収まった。平均量586ngの全RNAがオベーションピオチンRNA増幅及び標識化システム（ニューゲン（NuGen）、カタログ番号第2300-12番）で単離され、前処理された。

30

40

## 【0152】

## マイクロアレイのハイブリダイゼーション

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

## 【0153】

50

### 統計解析

マイクロアレイのハイブリダイゼーションからの低い強度値は、([www.R-project.com](http://www.R-project.com)で入手可能な)統計計算用Rパッケージで実施される頑健なマイクロアレイ平均(Robust Multiaarray Average)(RMA)で標準化された。次のステップでは、マイクロアレイの有意性解析(SAM)は、遺伝子発現の表現型特異的な相違を同定するために用いられた。SAMは多重比較のためのq-値、p-値の調整の有意性を定義する(Storey J., Journal of the Royal Statistical Society 2007:64:479-498)。TBBの開発のために、マイクロアレイの予測解析(PAM)が、(データの3分の2、n=29を含む)トレーニング用セットの分類指標を作成するために用いられ、その後の検証は、(データの3分の1、n=14を含む)テスト用セットで行なわれた。全ての精度は、50回のランダムな配分後に評価された。コホート(トレーニング用及びテスト用のセット)のサブグループの平均化された基線条件をテストするために、t-検定及び一元配置分散分析か、必要の場合には、マン-ホイットニーの順位和検定及びクラスカル-ワリスの順位一元配置分散分析かが用いられた。

10

#### 【0154】

##### 結果

機能状態が改善されるであろう患者と、循環虚脱に発展し、心臓移植及びLVAD設置が必要となるであろう患者とを区別することを可能にすることは、重要な臨床学的挑戦である。

20

#### 【0155】

##### 患者の特徴

EMB43検体の全ては、遺伝子発現の表現型に特異的な相違を同定し、予後判断のTBBを開発するためにマイクロアレイ技術で解析された。表1は全ての患者の基線条件を含む。前記表は、トレーニング用及びテスト用のコホートで非平均化リスクパラメーターによってもたらされる場合がある、想定されるバイアスを除くために、臨床結果に応じて4種類のサブグループと、PAM解析に用いられる区分とに分割された。サブグループ間の年齢、性別、心室機能、血行力学又は薬剤治療での有意差は全くなかった。IDCMの全ての集団は、男性(67%)でわずかな過剰提示を有する、平均年齢 $46 \pm 15$ 歳であった。全てのサブグループは、 $23 \pm 13\%$ の重篤に低下した駆出率(EF)と、 $6.1 \pm 1.5$  cmの平均LVIDDと、 $15 \pm 9$  mmHgの肺毛細血管楔入圧(PCWP)とを示し、進行型NYHA段階 $2.6 \pm 0.7$ であった。

30

#### 【0156】

【表 1】

	予後良好 (n = 25)	予後不良 (n = 18)
年齢	46 ± 15	48 ± 17
男性、n (%)	17 (68%)	12 (67%)
NYHA、n (%)		
I	1 (4%)	1 (5%)
II	13 (52%)	6 (33%)
III	10 (40%)	8 (44%)
IV	1 (4%)	4 (22%)
LVEF、%	24 ± 13	23 ± 13
LVIDD、cm	6.4 ± 1	6.3 ± 2
PAP、mmHg		
収縮期	36 ± 13	41 ± 13
拡張期	16 ± 6	20 ± 11
肺毛細血管楔入圧、mmHg	13 ± 7	18 ± 10
服用、n (%)		
ベータ拮抗剤	17 (68%)	13 (72%)
ACE阻害剤	17 (68%)	12 (67%)
アルデステロン拮抗剤	4 (16%)	4 (22%)
利尿剤	17 (68%)	15 (83%)
静脈変力物質療法	0	0

10

20

## 【0157】

## マイクロアレイ解析

平均  $568 \pm 92$  ng の全 RNA が全ての EMB から単離され、アジレント 2100 バイオアナライザーでテストされ、均質な 18S 及び 28S RNA のバンドを有するため、全ての試料の RNA のインテグリティー及び純度が高いことを示した (表 1)。SAM で決定されたように、心不全から回復した患者で顕著に過剰発現した遺伝子 46 個が存在する ( $q < 5\%$ 、 $FC > 1.2$ 、表 1)。PAM はこの遺伝子セットの予測値を評価するために用いられた。これを達成し、妥当性について試験するために、患者は、試料の 3分の2 ( $n = 29$ ) を含むトレーニング用セットと、試料の 3分の1 ( $n = 14$ ) を含むテスト用セットとに割り当てられた (図 2)。このアプローチは、高リスク患者と、予後が優良な患者とを高精度で区別した遺伝子 45 個の「最短収縮重心」をもたらした。

30

## 【0158】

【表2】

アフィ識別番号	遺伝子名	倍数変化	
232669_at	低酸素誘導因子3、アルファサブユニット	1.8	
214951_at	電解質運搬体ファミリー26、メンバー10	1.8	
243482_at	上皮増殖因子受容体経路基質15-様1	1.8	
226210_s_at	母性発現遺伝子3	1.7	
232159_at	上皮増殖因子受容体経路基質15-様1	1.7	
233026_s_at	PDZドメイン含有2	1.6	
211996_s_at	K I A A 0 2 2 0-様タンパク質の仮想遺伝子LOC283846	1.6	
243774_at	ムチン20、細胞表面関連	1.6	10
242551_at	染色体18オープンリーディングフレーム	1.6	
244548_at	R h o GTPアーゼ活性化タンパク質26	1.6	
244208_at	チェックポイント抑制因子1	1.6	
239984_at	ナトリウムチャネル、電位開口型、7型、アルファ	1.6	
230683_at	CDNA:FLJ20892 fis、クローン ADKA03430	1.5	
241869_at	アポリポプロテインL、6	1.5	
241597_at	アルギニン-グルタミン酸ジペプチド(RE)リピート	1.5	
235887_at	S m g-6 ホモログ、ナンセンス変異介在型mRNA分解因子(C. elegans)	1.5	
229957_at	膜貫通タンパク質91	1.5	
223546_x_at	LUC7L-様(S. cerevisiae)	1.5	20
239567_at	R h o GTPアーゼ活性化タンパク質10	1.5	
242194_at	カリン4A	1.5	
1558525_at	仮想タンパク質LOC283901	1.4	
227178_at	CUG トリプレットリピート、RNA結合タンパク質2	1.4	
228198_s_at	ミトコンドリアリボソームタンパク質S9	1.4	
202379_s_at	ナチュラルキラー-腫瘍認識配列	1.4	
224260_at	CDNA クローン	1.4	
238643_at	神経芽細胞腫、腫瘍形成能抑制1	1.4	
232253_at	RAD50ホモログ(S. cerevisiae)	1.4	
227968_at	パーキンソン病7ドメイン含有1	1.4	
233197_at	ケルチン様9(Drosophila)	1.4	
244512_at	XP_001081342.1に非常に類似した転写される遺伝子座	1.4	30
233443_at	仮想タンパク質LOC389362	1.4	
231275_at	FLJ42875タンパク質	1.4	
226419_s_at	仮想タンパク質LOC645460	1.4	
201221_s_at	核内低分子リボヌクレオタンパク質70kDaポリペプチド	1.4	
209354_at	腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14	1.4	
226571_s_at	タンパク質チロシンホスファターゼ受容体S型	1.4	
220728_at	EST	1.3	
203071_at	セマドメイン、免疫グロブリンドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン	1.3	
213946_s_at	オプスキュリン様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似	1.3	40
201394_s_at	RNA結合モチーフタンパク質5	1.3	
203748_x_at	RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1	1.3	
223147_s_at	WDリピートドメイン33	1.3	
213773_x_at	NOL/NOP2/Sunドメインファミリー、メンバー5	1.3	
1560049_at	CUG トリプレットリピート、RNA結合タンパク質2	1.3	
243974_at	CDNAクローンIMAGE:4821815	1.2	
201510_at	E74-様因子3(etsドメイン転写因子、上皮特異的)	1.2	

## 【0159】

## 検証

本発明のバイオマーカーの全ての性能を得るために、50回のランダムな配分がトレ

ニング用及びテスト用のセットで実施され、全体の感度が74% (95% CI: 69% - 79%)を示し、かつ、全体の特異度が90% (95% CI: 87% - 93%)が示した。陽性予測値は85% (95% CI: 80% - 89%)である一方、陰性予測値は82% (95% CI: 78% - 86%)であった。対数オッズ比は3.3であった。さまざまな宿主因子の影響を評価するために、43人のIDCMの被験者は、多重二元配置層 (multiple two-way strata) を利用する、年齢 (50歳以上又は50歳未満) と、駆出率 (15%以上又は15%未満) と、予後マーカーの精度が基線パラメーターによって影響されるかをテストするための静脈変力物質 (intravenous inotropes) の使用とに分割された。その後、TBBの感度及び特異度は、各階層に正確に分類された被験者の割合を決定することによって評価された。特に、予測精度は、50歳以上の患者と、15%以上の駆出率の患者との両方で完璧であった (感度及び特異度、100%)。患者は変力薬物の服用を受けていない。

#### 【0160】

分子的特徴は、ユークリッド距離によって作成されたヒートマップで例示された (図3)。この監督なしクラスタリングの独自のアプローチは、BPの試料と、GPの試料とで非常に明瞭な相違を有する、遺伝子の作成されたセットの頑健性をさらに確かめた。主要な関係パスウェイは、輸送機構 (13%)、神経筋形成 (10%)、タンパク質結合 (15%) 及び転写 (26%) であった ([www.geneontology.org](http://www.geneontology.org)) (図4)。

#### 【0161】

##### 左室機能の回復予測

改善された臨床結果は、LV機能の回復にしばしば関連する。したがって、GPの特徴は改善された駆出率に関係するであろうとの仮説がテストされた。研究試料 (n = 43) 中で、基線からの心エコー検査のデータと、経過観察との組み合わせが利用可能な被験者の全て (n = 17) が選択され、これらのTBBに従ってGP又はPPとして特徴付けられた (図5)。GPを有するとして分類された患者は、 $23 \pm 3\%$  から  $42 \pm 5\%$  まで (P = 0.0009) EFの実質的な改善を経験した一方、PPの分子的特徴を有する患者は、基線で  $20 \pm 3\%$  及び  $21 \pm 3\%$  で抑制されたEFと、経過観察とのそれぞれが持続された。

#### 【0162】

##### 議論

ゲノム情報の最も価値のある用途の1つは臨床予測であることが証明済みである。差次的に発現された遺伝子のパターンは疾患病因学に洞察を与える一方、バイオマーカーの開発に用いられた。このアプローチは腫瘍性疾患で大いに成功し、さまざまな他の疾患過程で用いられている。本明細書では、TBBを同定するために探索され、新規に進行中の心不全の患者の臨床結果を予測した。予後が不良な患者と、予後が優良な患者とを区別することが可能な高精度の予後判断バイオマーカーが開発された。重要なことに、この研究は、RNAの追加の増幅なしで、疾患の初期段階を提示している患者からの生検を用いた。2つの主要な理由のために、このアプローチは、以前の研究と比較して、より正確で、かつ、より代表的な結果を提供した。第1に、疾患の進行中に活性化される場合がある、非特異的な代償性変化の「ノイズ (noise)」無しに初期のトランスクリプトームの違いが報告された。第2に、プライマーの結合優先度の違いのために生じる増幅のバイアスが回避された。

#### 【0163】

新規かつ有用な臨床バイオマーカーを提供することに加えて、この研究は、心不全からの不良な結果を機構的に関係する場合がある、遺伝子発現の個々の相違に洞察を与えた。とりわけ、我々は心不全の管理における主要な満たされていないニーズ、患者の予後の正確な評価を可能にすることを解決した。予後値のバイオマーカーが出てきているが、これらのマーカーは非常に可変性の結果を有する患者間で実質的に分けられない。検診でほぼ同一の特徴を有する患者は、同一の治療を受けても、劇的に異なる予後となる場合がある

10

20

30

40

50

。ある患者は平均5年以内に心不全の完全な回復を経験する一方、他の患者は発症から最初の2年以内に循環虚脱に進行し、機械的循環補助又は心臓移植のような積極的な治療的介入を必要とする。

【0164】

遺伝子45個の最短収縮重心を含む、開発されたTBBは、非常に高い特異度(90%)で試料の表現型を予測し、除外テスト(rule out test)として特にその有用性を示唆し、現在の標準的なリスク評価に加えて用いられる場合がある。さらに本発明のTBBの結果は、移植リストの優先スコアの評価に含まれる場合がある。臨床データと、実験値との組み合わせで、本発明のTBBは、患者の管理でより良い指導を提供することが見込まれている。

10

【0165】

本発明の予後のTBBが、50歳以上の患者又は15%より高いEFの患者で完全に実施されたことは、特筆すべきである。これに関して、年齢及び機能に特異的なマーカーは、将来的に考えられる場合がある。さらなる研究が、新規に進行中のHFのためのTBBアプローチの正確な臨床値を検証するために必要とされるであろう。さらに、本発明のデータは、心不全の患者の回復に影響する、分子成分を強く示唆する。差次的に発現する遺伝子46個の全ては、心不全から回復した患者で過剰に発現された。これらの患者で多く過剰発現された遺伝子は、RNA又はDNA結合機能を有し、例えば、RBMS1及びWDR33は、DNAの複製、遺伝子の転写、細胞周期の進行及びアポトーシスで重要な役割を担っている。重要な調節機能を有するさまざまな遺伝子、例えば、SNRP70と、核内転写因子ELF3、CHES1及びREREと、メチルトランスフェラーゼ活性を有する遺伝子である、NSUN4と、転写因子HIF3Aとが同定された。HIF3Aは、HIF1A及びHIF2Aと同様に、グルコース運搬体、血管内皮増殖因子及びエリスロポエチンの誘導因子(inductor)として議論された一方、他の研究者は、これが他の2つのサブユニットとの反作用を提唱した。

20

【0166】

CUGBP2、LUC7-様及びSEMA3Bの遺伝子は、神経筋形成、軸索誘導及び心収縮の調節に含まれる(www.geneontology.org/)。その機能と密接に関係するのは、過剰発現されたオブスキュリン-様1の遺伝子であり、該遺伝子は、細胞接着及び細胞骨格内の細胞小器官を安定にするリンカーで、成人の心筋細胞の介在板に局在する。オブスキュリン-様1の遺伝子は、筋原線維の集合及び筋細胞の細胞内機構を担う多機能タンパク質である、オブスキュリンに類似の機能を有することを支持する。筋節及び筋小胞体の連結と同様に、タイチン及びアンキリンとの相互作用によって、収縮のための必要とされた配置が提供される。

30

【0167】

さらに、テロメラーゼ活性及びDNAの修復の重要な主要調節因子である、2個の修復性遺伝子、Rad50及びSMG6が発見された。Rad50はMre11/Rad50/Nbs1(MRN)複合体の一部で、ヒトのテロメア末端で3'G-突出を挿入することによってt-ループを生じる機能単位である。これらのt-ループは、染色体末端を損傷されたDNAとして認識されることから妨げ、テロメラーゼのための鋳型と、ゲノムの安定性の維持とを提供する。テロメラーゼ活性の増大は、予後が良好な患者の心臓での変性過程及び老化に対する保護効果を説明する場合がある。Rad50は幹細胞の生存能力に重要かもしれないので、良好な回復の理由が細胞の再生能力の増大によるかも知れないと推測することは魅力的である。本発明の予後判断のTBB(SNRP70kDa、オブスキュリン-様1及びRNA結合モチーフ)内の多くの遺伝子は、これらの遺伝子が回復に含まれるということを示した、199個のヒトLVADの試料の研究の発見と一致した。これらは、HFからの回復中に過剰発現された遺伝子を調査したLowesらによって発表された結果と全く重複していない(N Engl J Med 2002 5月2;346(18):1357-65、Lowes BDら、J Heart Lung Transplant 2006 5月;25(5):579-88)。これは、治療

40

50

によって生じる遺伝子発現の変化と、臨床結果を予測する場合の遺伝子発現の特徴との間で、重要な相違があることを示す場合がある。この研究の多くの技術的特徴が記載を保証する。多くの以前の研究は心筋症の進行期（しばしば移植）で得られた心臓組織を用いたが、本発明では心不全の初検時で得られた患者からの生検で調査された。したがって、得られたバイオマーカーは想定される臨床用途に非常に関連性があり、疾患及び想定される治療の標的の原因となる場合がある、トランスクリプトームにおける初期の病態の変化を示唆する。さらに、本発明では、追加的な増幅なしにマイクロアレイができ、したがって、プライマーの異なる結合優先度のために生じる想定されるバイアスを回避し、前の臨床用途に関して時間及び労力の削減する、高効率のRNAプロセッシング手法が用いられた。

10

**【0168】**

心筋生検は低リスクの手順であるが、トランスクリプトームのバイオマーカーを得るための代替的な方法が開発される場合がある。患部組織及び循環血液細胞は高い百分率で共通遺伝子を共有するという証拠が存在した。簡単な静脈穿刺による、PBMCsの容易な利便性は、臨床用途としてこれらの細胞を非常に魅力的にする。

**【0169】**

要約すると、本発明では、直接的な臨床用途として潜在能力を有する、簡単な心筋生検から獲得可能な心不全の予後のための新規のトランスクリプトームのバイオマーカーが開発された。このアプローチは心臓治療の個別対応を向上させ、心不全の診断から1年以内に循環虚脱を起こす高リスク患者を同定するのに役立つはずである。優良な臨床結果の患者のTBB中の神経筋の形成、血管新生及びテロメラーゼ活性を含むDNA修復機構の遺伝子の関与は、回復での利益に関する生物学的な真実味を提供する。

20

**【実施例2】****【0170】**

臨床結果を予測するためのトランスクリプトームのバイオマーカー及びトランスクリプトームのバイオマーカーを用いる心不全の予後診断

このバイオマーカー（遺伝子特徴）を同定するために、心臓の試料は臨床経過の初期に心臓の生検を受けている患者から採取された。この後、前記試料は、患者の結果が決定される期間中の5 - 10年間バイオレポジトリに保存された。

**【0171】**

特発性心筋症の患者の心筋生検の試料は、1997年から2004年までジョンズ・ホプキンス病院で採取され、液体窒素中で保存された。特発性心筋症の患者の生検の試料は、予後が良好な患者18人及び予後が不良な患者12人の - このバイオレポジトリから選択された。不良な予後は、死亡か、介在治療、すなわち診断後の最初の2年間でのすなわち左室補助循環装置の配置又は心臓移植かの発生として定義された一方、良好な予後は、診断後5年より長く生存する発症なしとして定義された。MIAME（マイクロアレイ実験についての最低限の情報）の指針は、全ての実験で従われた。組織はレッチェのMM301装置でホモジナイズされ、全RNAはインビトロジェンのマイクロ-トゥ-ミディ全RNA精製システムで単離された。全RNAのマイクロアレイ解析は、アフィメトリクスのヒトゲノムU133プラス2.0アレイで行なわれた。全ての試料で、RNAの単離及びマイクロアレイのハイブリダイゼーションの両方は、試料及びアレイの品質を評価するためのアフィメトリクスの指針で詳しく記されたような品質対照の全ての指数を充足した。

30

40

**【0172】**

全てのマイクロアレイチップの生の発現値は、Rの頑健なマイクロアレイ平均（RMA）で前処理された。不良又は良好な予後のいずれかのクラス予測のためのトランスクリプトームのバイオマーカーを発見するために、Rでかかれたマイクロアレイの予測解析（PAM）が用いられた。PAMは、クラス予測のために「最短収縮重心」法を用いる。予後が良好な患者の13検体の試料と、予後が不良な患者の7検体の試料とのサブセットの分類指標（監督されたクラスタリング）のトレーニング後、60%の感度及び100%の特

50

異度（図6、図10、表3、表5）で臨床予後を予測した遺伝子9個のクラスターが発見された。同一の遺伝子9個は、発現の平均レベルによって標準化された（監督なしのクラスタリングの）ヒートマップを作成するために用いられた（図8）。各列は遺伝子9個の1個を示し、各行は患者の試料を示す。赤色の区分は全ての患者での平均遺伝子発現と比較して、特定の患者での低発現の遺伝子を示す一方、青色の区分は過剰発現した遺伝子を示す。上部の樹状図は、類似の遺伝子発現プロファイルにもとづかれたグループに試料を分配する、監督なしの階層的クラスタリングアルゴリズムである。「予後が良好な試料」及び「予後が不良な試料」は、2種類の優勢クラスターに分離する。しかし、3検体の試料はこのアプローチで誤分類された（感度75%、特異度100%）。全ての場合で、誤分類は良好な予後として誤分類された予後が不良な患者であった。多くの遺伝子は、誤分類度を最小限にするために43個に増大され（図6、図7）、同一のトレーニング用セット（20個）のPAMで分類指標が開発され、60%の感度及び100%の特異度で再度予測された。しかし、表5に示したように、正確な分類予測のための個々の確立は僅かに改善された。これらの遺伝子43個を含むヒートマップを用いて、PAMでよりもより高い正確性が達成され、全30検体の試料のうち1個のみの試料を誤分類する（92%の感度及び100%の特異度）。1検体の試料（BP-10）は、おそらく異常値のため、全てのアプローチで誤分類された（図9）。遺伝子の開発されたセットは、全ての試料で非常に正確に実施されたという事実は、バイオマー特徴の結果を強固にする。遺伝子9個のトランスクリプトームのバイオマーカーに寄与している全ての遺伝子のうち1個のみが、予後が不良なグループで有意に上向き調節された。遺伝子43個のセットは、予後が不良なグループでの上向き調節された未同定の追加の転写産物の1個を含んだ（図11）。表6及び7は、長期間の生存の患者グループで過剰発現された、遺伝子9個及び43個の特徴に含まれた全ての遺伝子を列挙する。前記遺伝子43個のバイオマーカーは、例えば、ミオシンの重鎖ポリペプチド7のような予後判断に関連する遺伝子を含んだ。その変異は心不全、特に家族性拡張型心筋症の重症度に関連することが示された。前記異常値は、多くの調査された試料の分類をトレーニングすることによって、低下される場合がある。提供されたバイオマーカーは、他のグループ、例えば、シアトルの心不全の指標によって示唆された、古典的リスク因子及び機構よりも有意に高い予後の正確性を達成した。

【0173】

10

20

【表 3】

予測閾値 = 0											
設定名: 設定4											
オフセット分位数	50	オフセット値	0.3								
両方		RNGシード	420								
事前分布 (事前分布からのサンプル)											
クラス	1	2									
Prob.	0.35	0.65									
テスト用セット予測混同マトリクス											
真\予測	1	2									
	1	3	2								
	2	0	5								
実際のクラス、予測されたクラス及び予測された事後確率											
サンプル標識	BP-10	BP-18	BP-6	BP-7	BP-9	GP-20	GP-22	GP-23	GP-24	GP-25	
クラス標識	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2
予測	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	2
予後不良	0.00842577	0.08808878	0.806138	0.73512	0.999652	0.000469	0.098695	0.0002	0.000244	0.00194	
予後良好	0.99157422	0.91191122	0.193861	0.26488	0.000348	0.999531	0.901305	0.9998	0.999756	0.99805	

10

20

30

40

50

## 【 0 1 7 4 】

テスト用セットの予測結果 ( n = 1 0 )

遺伝子 9 個の特徴が用いられた ( 表 3 ) 。試料の標識は下部から 5 列に列挙され、続いて、実際の分類及び予測された分類が列挙される。予後が不良 ( B P ) の試料は分類 1 に割り当てられ、予後が良好 ( G P ) の試料は分類 2 に割り当てられた。8 検体の試料は正確に分類された ( 7 3 から 9 9 % までの確率 ) 。2 検体の試料のみが ( 9 0 % よりも高い確率で ) 誤分類された。予測された確率は、最後の 2 線に各分類について列挙される。

## 【 0 1 7 5 】



テスト用セットの予測結果 (  $n = 10$  )

遺伝子 43 個の特徴が用いられた ( 表 4 )。表の説明は表 6 と同一である。正しく分類するための確率は、僅かに増大された。

【 0 1 7 7 】

【表 5】

	BP-10	BP-18	BP-6	BP-7	BP-9	GP-20	GP-22	GP-23	GP-24	GP-25
サンプル標識										
遺伝子 9 個の指標										
予後不良	0.008425774	0.08808878	0.806138017	0.73512	0.999652	0.000469	0.098695	0.0002	0.000244	0.001943
予後良好	0.991574226	0.91191122	0.193861983	0.26488	0.000348	0.999531	0.901305	0.9998	0.999756	0.998057
遺伝子 4 3 個の指標										
予後不良	0.011971912	1.92842E-06	0.995824315	0.896715	1	2.3E-13	1.47E-05	2.74E-13	1.48E-12	3.69E-08
予後良好	0.988028088	0.999998072	0.004175685	0.103285	4.51E-08	1	0.999985	1	1	1

10

20

30

40

【 0 1 7 8 】

表 5 は、遺伝子 9 個の特徴及び遺伝子 4 3 個の特徴の両方の性能の P A M の結果を示す

。B Pと標識された各試料は予後が不良の患者から得られ、G Pと標識された各試料は予後が良好の患者から得られた。開発された分類指標を用いる各分類の予測された確率は、各列に列挙される。正確に分類するための確率は、多くの遺伝子の増大にともなって僅かに増大した。

【0179】

【表6】

用いられた方法	感度	特異度
PAM：遺伝子9個	60%	100%
PAM：遺伝子43個	60%	100%
ヒートマップ：遺伝子9個	75%	100%
ヒートマップ：遺伝子43個	92%	100%

10

【0180】

表6は全ての適用されたアルゴリズムの性能の概要である。用いられた全ての方法は、100%の特異度で不良な予後結果を予測できた。しかし、特に、遺伝子9個から43個までの分子的特徴において多くの遺伝子が増大されるとき、監督なしのクラスタリング（ヒートマップ）は、一般的及びより好ましい実施態様で高い感度で予測した。

20

【0181】

【表 7】

プローブ	遺伝子名	遺伝子記号	GOの生物学的過程の説明
201655	ヘパラン硫酸プロテオグリカン2 (パールカン)	HSPG2	細胞接着、タンパク質局在
208978	富システインタンパク質2	CRIP2	---
209354	腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14	TNFRSF14	アポトーシス、免疫反応、細胞表面受容体結合シグナル
211996	K I A A 0 2 2 0 一様タンパク質、核膜孔複合体	LOC23117	生物学的過程
213946	オプスキュリン様1、チチンアイソフォームN2 -Bに類似	OBSL1	---
214951	電解質運搬体ファミリー26、メンバー10	SLC26A10	輸送、Rhoタンパク質シグナル伝達の制御
227968	パーキンソン病7ドメイン含有1	PDDC1	---
241597	アルギニン-グルタミン酸ジペプチド (RE) リ ピート	RERE	クロマチンリモデリング、転写、NLS-関連 基質移入
242551	染色体18オープンリーディングフレーム1	C18orf1	生物学的過程

【0182】

表 7 は、良好な予後の患者で上向き調節された遺伝子 8 個を示す。第 1 行は、遺伝子 9

個のバイオマーカーの全ての上向き調節された転写産物についてのアフィメトリクスの識別番号 ( I D ) を含む。遺伝子 1 個、すなわちムスカリン性アセチルコリン受容体 M 3 のみが下向き調節された。生物学的機能のための注釈は、遺伝子オントロジー ( G e n e O n t o l o g y ) のウェブサイト ( G O ) から得られた。

【 0 1 8 3 】

【表 8 - 1】

プローブ	遺伝子名	遺伝子記号	GO生物学的過程の説明
155845	仮想 LOC401320	LOC401320	---
156004	CUGトリプレットリピート、RNA結合タンパク質2	CUGBP2	RNAプロセッシング、神経筋接合形成、制御
201394	RNA結合モチーフタンパク質5	RBM5	RNAプロセッシング、細胞周期、進行の負の制御
201655	ヘパリン硫酸プロテオグリカン2 (パールカ)	HSPG2	細胞接着、タンパク質局在
202379	ナチュラルキラー腫瘍認識配列	NKTR	タンパク質フォールディング
202808	---	---	---
203071	セマドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性	SEMA3B	細胞間シグナリング、発生、軸索誘導
203748	RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1	RBMS1	DNA複製、RNAプロセッシング、翻訳の制御
203981	ATP-結合カセット、サブファミリーD (ALD)、メンバー4	ABCD4	輸送
204737	ミオシン、重鎖6、ミオシン、重鎖7	MYH6 /// MYH7	横紋筋収縮、筋収縮
204978	スプライシング因子、富アルギニン/セリン-16	SFRS16	mRNAプロセッシング、RNAスプライシング
206209	炭酸脱水酵素 I V	CA4	一炭素化合物の代謝、視覚認知、応答
207541	エキソソーム成分10	EXOSC10	mRNAの異化、ナンセンス変異介在型分解機構、rRNAプロセッシング
207798	アタキシン2-様	ATXN2L	生物学的過程
208978	富システインタンパク質2	CRIP2	---
209354	腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバー14	TNFRSF14	アポトーシス、免疫反応、細胞表面受容体結合シグナル
210628	潜在型トランスファームイング増殖因子ベータ結合タンパク質4	LTP4	細胞増殖の制御、タンパク質フォールディング、発生、制御
211909	プロスタグランジンE受容体3 (サブユニットEP3)	PTGER3	転写、DNA-依存性シグナル伝達、Gタンパク質共役
211996	KIAA0220-様タンパク質、核膜孔複合体	LOC23117	生物学的過程
212487	Gパッチドメイン含有8	GPATCH8	生物学的過程
213946	オブスキュリン様1、チチンアイソフォームN2-Bに類似	OBSL1	---

10

20

30

40

50

【 0 1 8 4 】

【 表 8 - 2 】

プローブ	遺伝子名	遺伝子記号	GO生物学的過程の説明
214951	電解質運搬体ファミリー26、メンバー10	SLC26A10	輸送、Rhoタンパク質シグナル伝達の制御
220219	富ロイシンリピート含有37A	LRRC37A	---
221071	---	---	---
221780	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド27	DDX27	---
221806	SETドメイン含有5	SETD5	---
221833	Lonペプチダーゼ2、ペルオキシソーム	LONP2	タンパク質分解、ATP-依存性タンパク質分解
223546	LUC7-様 (S. cerevisiae)	LUC7L	横紋筋形成の負の制御
224260	CDNA クローン IMAGE: 4478733	---	---
225562	RAS p21タンパク質アクチバーター3	RASA3	細胞内シグナリング経路、低GTPアーゼ介在型の制御
226040	MRNA; cDNA DKFZp762N156 (クローン由来)	---	---
227968	パーキンソン病7ドメイン含有1	PDDC1	---
228198	ミトコンドリアリボソームタンパク質S9	MRPS9	タンパク質の生成、DNA損傷反応、DNAの検出
229830	転写される遺伝子座	---	---
230683	CDNA: FLJ20892 fis、クローン ADKA03430	---	---
238185	RNA結合モチーフ、1本鎖相互作用タンパク質1	RBMS1	DNA複製、RNAプロセッシング//翻訳の制御
241597	アルギニン-グルタミン酸ジペプチド (RE) リペート	RERE	クロマチンリモデリング、転写、NSL-関連基質移入
242551	染色体18オープンリーディングフレーム1	C18orf1	生物学的過程
244208	チェックポイント抑制因子1	CHES1	DNA損傷チェックポイント、有糸細胞分裂周期のG2期
244494	ジンクフィンガー、DHHC-型含有1	ZDHHC1	生物学的過程、タンパク質のパルミトイル化
244548	Rho GTPアーゼ活性化タンパク質26	ARHGAP26	シグナル伝達、神経系の発生、アクチン細胞骨格

10

20

30

40

50

【 0 1 8 5 】

表 8 予後が良好な患者で上向き調節される遺伝子 4 1 個

遺伝子 4 3 個のバイオマーカーのうちの転写産物 4 1 個は、良好な臨床結果のグループで過剰に発現された。前記遺伝子 9 個の分子的特徴でのように、再び前記ムスカリン性アセチルコリン受容体 M 3 と、未知の機能を有する転写産物との遺伝子 2 個のみが下向き調節された。

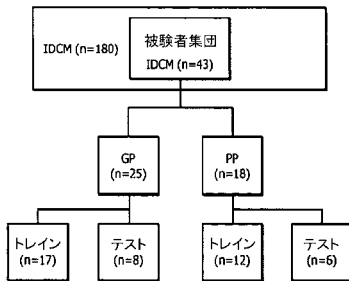
【 0 1 8 6 】

他の実施態様

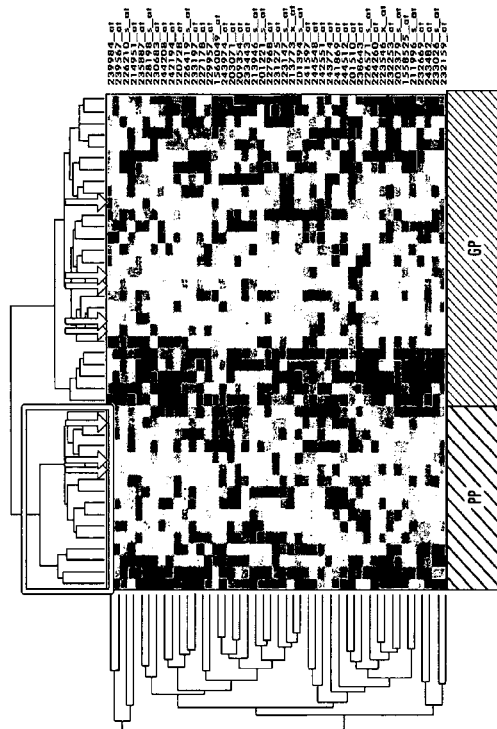
発明は本明細書の詳細な説明とともに関連して説明されたが、前述の説明は例示することを意図するものであって、本発明の範囲を限定するものではないことが理解されるべきである。他の局面、利点及び変更は以下の請求項の範囲に記載の範囲内である。

10

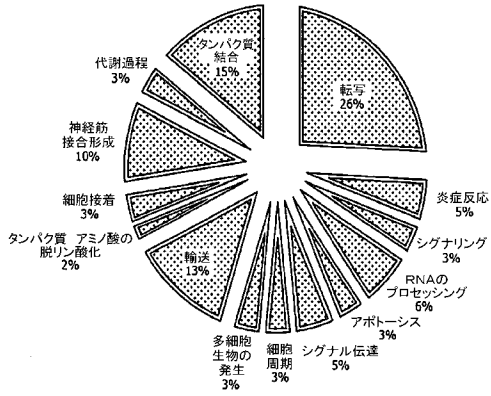
【 図 2 】



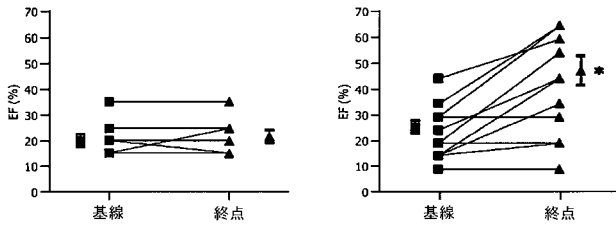
【 図 3 】



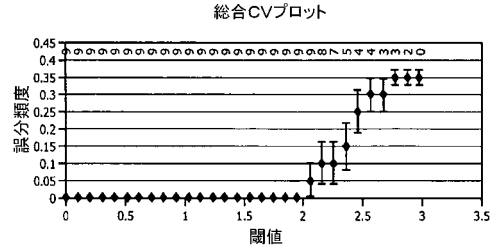
【 図 4 】



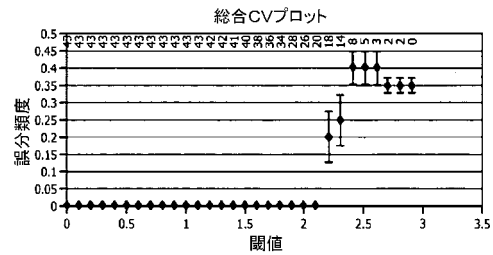
【 図 5 】



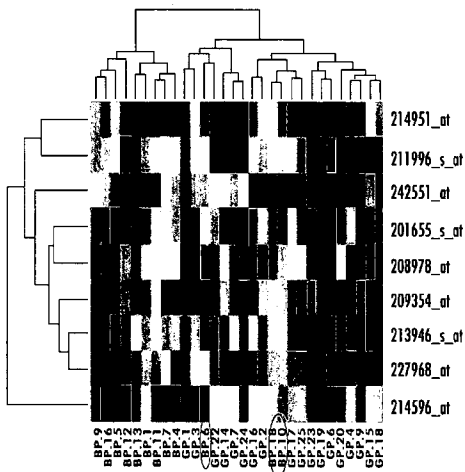
【 図 6 】



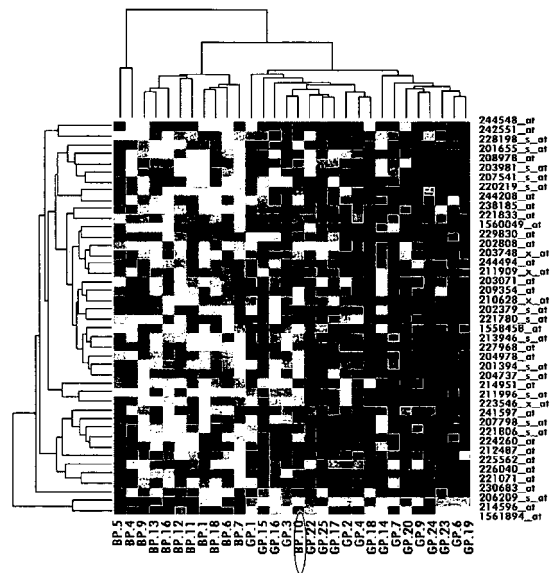
【 図 7 】



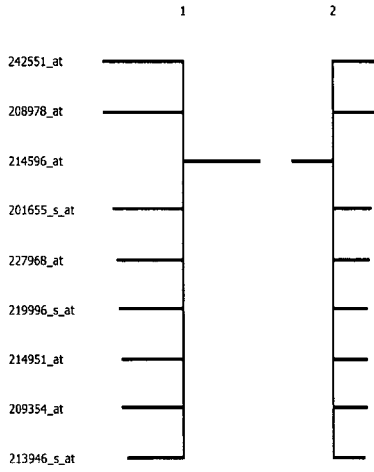
【 図 8 】



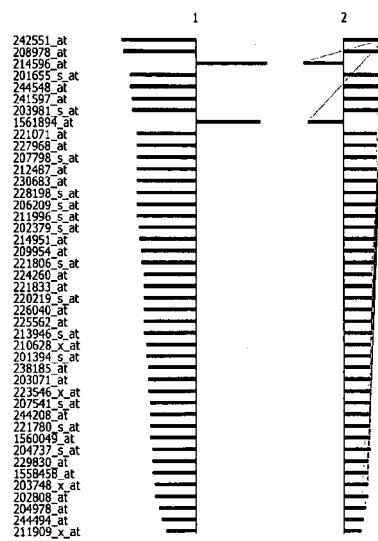
【 図 9 】



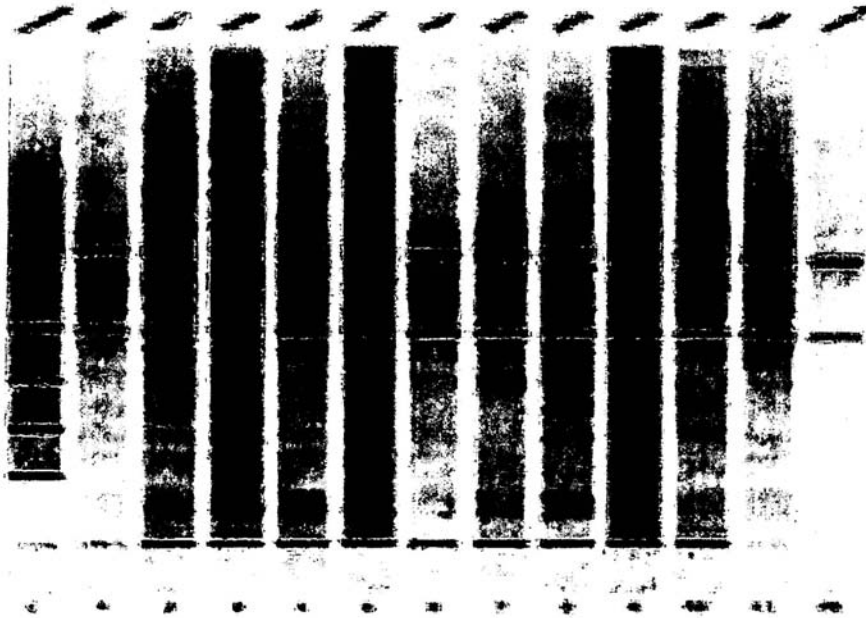
【 図 1 0 】



【 図 1 1 】



【 図 1 】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 08/62281
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - C07H 21/00; C12Q 1/68; G01N 33/48 (2008.04) USPC - 536/23.1; 435/6; 436/63 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) USPC: 536/23.1; 435/6; 436/63 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 536/23.1; 435/6; 436/63 (see search terms below) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWest: PGPB,USPT,USOC,EPAB,JPAB Google Patents, Google Scholar, Google myocarditis, cardiomyopathy, idiopathic, transcriptomic, based, biomarker, differentiating between, heart failure, over-expressed, levels, 50%, compared, levels, normal, Hypoxia, inducible factor, normal, levels 100%, maternally, expressed, Arginine-gl		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2003/0026793 A1 (Guy et al.) 06 February 2003 (06.02.2003), para [0017], [0140], [0216]	1-7, 12-14, 21-23, 37-38, 48-49
Y	US 2006/0094038 A1 (Wagner et al.) 04 May 2006 (04.05.2006), abstract; para [0010], [0021], [0023]-[0024], [0027]-[0028], [0034], [0046], [0047], [0049], [0050], [0052], [0092], [0152], [0164], [0170], [0171], [0092], [0198]	1-51
Y	US 2004/0167067 A1 (Griggs et al.) 26 August 2004 (26.08.2004), para [0012], [0002], [0079], [0058].	3-5, 9-11, 22, 26-28, 33-35 and 46
Y	Barth et al. 'The Potential for the Transcriptome to Serve as a Clinical Biomarker for Cardiovascular Diseases' Circulation Research, 23 June 2006, Vol 98, pg 1459-1461, pg 1, col 1, para 1; pg 1, col 2, para 1; pg 2, col 2, para 3; pg 2, col 2, para 2	8-11, 15-20, 31-35, 39-44
Y	US 2006/0246495 A1 (Garrett et al.) 02 November 2006 (02.11.2006), para [0274], [0303], [0305], [0299], [0494], [0543], [0585], [0586]	18-20, 42-44
Y	US 2005/0196764 A1 (Liew) 08 September 2005 (08.09.2005), para [0065]	24-47 and 50-51
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 28 July 2008 (28.07.2008)		Date of mailing of the international search report <b>06 AUG 2008</b>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)
C 1 2 M 1/00 (2006.01)			C 1 2 N 15/00		H	4 H 0 4 5
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)			C 1 2 M 1/00		A	
C 1 2 N 1/15 (2006.01)			C 1 2 Q 1/68		A	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)			C 1 2 N 1/15			
C 1 2 N 1/21 (2006.01)			C 1 2 N 1/19			
C 1 2 N 5/10 (2006.01)			C 1 2 N 1/21			
C 0 7 K 16/18 (2006.01)			C 1 2 N 5/00	1 0 1		
			C 0 7 K 16/18			

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

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

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

F ターム(参考) 2G045 BB03 CB01 DA14 FB02  
 4B024 AA11 CA09 CA11 HA14  
 4B029 AA07 CC03 FA15  
 4B063 QA01 QA19 QQ52 QR55 QS34  
 4B065 AB01 BA02 CA46  
 4H045 AA10 AA11 AA30 DA75 EA50

专利名称(译)	转录组生物标志物用于新发现的心力衰竭中的个体风险评估		
公开(公告)号	<a href="#">JP2010525822A</a>	公开(公告)日	2010-07-29
申请号	JP2010506649	申请日	2008-05-01
[标]申请(专利权)人(译)	迈阿密大学		
申请(专利权)人(译)	迈阿密大学		
[标]发明人	ヘアジョシユアエム ハイデッカーベティーナ		
发明人	ヘア,ジョシユア,エム. ハイデッカー,ベティーナ		
IPC分类号	C12N15/09 G01N33/50 G01N33/53 G01N37/00 C12N15/115 C12M1/00 C12Q1/68 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/18		
CPC分类号	C12Q1/6883 C12Q2600/118 C12Q2600/136 C12Q2600/158 G01N33/6893 G01N2800/325 G01N2800/50 C12N15/11 C12N15/115 C12Q1/6837 C40B40/08 C12Q2600/16		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N37/00.102 C12N15/00.F C12N15/00.H C12M1/00.A C12Q1/68.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C07K16/18		
F-TERM分类号	2G045/BB03 2G045/CB01 2G045/DA14 2G045/FB02 4B024/AA11 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/HA14 4B029/AA07 4B029/CC03 4B029/FA15 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ52 4B063/QR55 4B063/QS34 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA46 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/DA75 4H045/EA50		
代理人(译)	吉田 正义 清水 栄松 高桥智之		
优先权	60/915224 2007-05-01 US 61/019749 2008-01-08 US		
其他公开文献	JP5714326B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

用于预测心力衰竭的新型转录组生物标志物是用于预测新发现的心力衰竭和心脏病之间的预后的直接临床用途。这种方法可以改善心脏治疗的个体化治疗，并有助于识别在心力衰竭诊断后一年内发生循环衰竭的高风险患者。【选择图】无

【表 1】

	予後良好 (n = 25)	予後不良 (n = 18)
年齢	46 ± 15	48 ± 17
男性、n (%)	17 (68%)	12 (67%)
NYHA、n (%)		
I	1 (4%)	1 (5%)
II	13 (52%)	6 (33%)
III	10 (40%)	8 (44%)
IV	1 (4%)	4 (22%)
LVEF、%	24 ± 13	23 ± 13
LVIDD、cm	6.4 ± 1	6.3 ± 2
PAP、mmHg		
収縮期	36 ± 13	41 ± 13
拡張期	16 ± 6	20 ± 11
肺毛細血管楔入圧、mmHg	13 ± 7	18 ± 10
服用、n (%)		
ベータ拮抗剤	17 (68%)	13 (72%)
ACE阻害剤	17 (68%)	12 (67%)
アルドステロン拮抗剤	4 (16%)	4 (22%)
利尿剤	17 (68%)	15 (83%)
静脈炎力物質療法	0	0