

(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2008-545377

(P2008-545377A)

(43) 公表日 平成20年12月18日(2008.12.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C12N 15/09 (2006.01)</b>	C12N 15/00 ZNAA	2G045
<b>C12M 1/00 (2006.01)</b>	C12N 15/00 F	4B024
<b>C12Q 1/68 (2006.01)</b>	C12M 1/00 A	4B029
<b>GO1N 37/00 (2006.01)</b>	C12Q 1/68 A	4B063
<b>GO1N 33/53 (2006.01)</b>	GO1N 37/00 102	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 31 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2008-511059 (P2008-511059)	(71) 出願人	503447036
(86) (22) 出願日	平成18年5月15日 (2006.5.15)		サムスン エレクトロニクス カンパニー リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成20年1月15日 (2008.1.15)		大韓民国キョンギード, スウォン-シ, ヨ ントン-ク, マエタン-ド 416
(86) 国際出願番号	PCT/KR2006/001812	(74) 代理人	110000671
(87) 国際公開番号	W02006/121312		八田国際特許業務法人
(87) 国際公開日	平成18年11月16日 (2006.11.16)	(72) 発明者	キム, ビュン-チュル
(31) 優先権主張番号	10-2005-0040163		大韓民国, キョンギード 445-779 , ワソン-シ, ビョンジョム-ド ン, 10 2-1202 ウナム ファーストビル
(32) 優先日	平成17年5月13日 (2005.5.13)		
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		
(31) 優先権主張番号	10-2005-0047195		
(32) 優先日	平成17年6月2日 (2005.6.2)		
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 心筋梗塞に関連した遺伝子多型およびその使用

## (57) 【要約】

心筋梗塞に関連した遺伝子多型が提供される。より詳細には、心筋梗塞に関連した一塩基多型 (SNP) を含むポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドのうち1つによってコードされるポリペプチド、前記ポリペプチドに結合する抗体、前記ポリヌクレオチドのうち1つを含むマイクロアレイおよびキット、心筋梗塞の診断方法、SNPの検出方法、ならびに心筋梗塞用の薬剤組成物をスクリーニングする方法が提供される。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

配列番号 1 ~ 60 および 241 ~ 244 のヌクレオチド配列からなる群から選択されるポリヌクレオチドであって、前記ヌクレオチド配列の 101 番目の塩基を有する少なくとも 8 個の連続したフランキングヌクレオチドを含むポリヌクレオチド、および前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチド。

## 【請求項 2】

配列番号 57 ~ 60 のヌクレオチド配列からなる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 3】

配列番号 241 ~ 244 のヌクレオチド配列からなる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

10

## 【請求項 4】

配列番号 57 ~ 60 のヌクレオチド配列からなる群から選択され、男性であって喫煙しない被験者における心筋梗塞の診断に用いられる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 5】

配列番号 241、配列番号 243 および配列番号 244 のヌクレオチド配列からなる群から選択され、高い C 反応性タンパク質 (CRP) 値を有する被験者における心筋梗塞の診断に用いられる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 6】

配列番号 241、配列番号 243 および配列番号 244 のヌクレオチド配列からなる群から選択され、若い被験者における心筋梗塞の診断に用いられる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

20

## 【請求項 7】

前記若い被験者の年齢は 55 歳以下である、請求項 6 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 8】

配列番号 241、配列番号 242 および配列番号 244 のヌクレオチド配列からなる群から選択され、糖尿病でない被験者における心筋梗塞の診断に用いられる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 9】

配列番号 241、配列番号 242 および配列番号 244 のヌクレオチド配列からなる群から選択され、喫煙する被験者における心筋梗塞の診断に用いられる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

30

## 【請求項 10】

配列番号 243 であり、高いトリグリセロール (TG) 値を有する被験者における心筋梗塞の診断に用いられる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 11】

8 ~ 70 個の連続したヌクレオチドを含む、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 12】

請求項 1 に記載のポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチド。

40

## 【請求項 13】

8 ~ 70 個の連続したヌクレオチドを含む、請求項 12 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 14】

対立遺伝子特異的プローブである、請求項 12 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 15】

対立遺伝子特異的プライマーである、請求項 12 に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 16】

請求項 1 に記載のポリヌクレオチドによってコードされる、ポリペプチド。

## 【請求項 17】

請求項 16 に記載のポリペプチドに特異的に結合する、抗体。

50

## 【請求項 18】

モノクローナル抗体である、請求項 17 に記載の抗体。

## 【請求項 19】

請求項 1 または 12 に記載のポリヌクレオチド；

請求項 1 または 12 に記載のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド；または

前記ポリヌクレオチドの cDNA；

を含む、SNPを検出するためのマイクロアレイ。

## 【請求項 20】

請求項 1 または 12 に記載のポリヌクレオチド；

請求項 1 または 12 に記載のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド；または

前記ポリヌクレオチドの cDNA；

を含む、SNPを検出するためのキット。

## 【請求項 21】

被験者から核酸試料を単離する段階と、

配列番号 1～60 および 241～244 のヌクレオチド配列からなる群から選択される 1 以上のポリヌクレオチドの多型部位での対立遺伝子を決定する段階と、

を含み、前記多型部位は前記ポリヌクレオチドの 101 番目のヌクレオチドに位置する、心筋梗塞の発生の危険度の変化を有する被験者を特定する方法。

## 【請求項 22】

前記対立遺伝子を決定する段階は、対立遺伝子特異的プローブハイブリダイゼーション、対立遺伝子特異的増幅、シーケンシング、5'ヌクレアーゼ分解、分子ビーコンアッセイ、オリゴヌクレオチド結合アッセイ、大きさ分析、および一本鎖配座多型からなる群から選択される方法によって行われる、請求項 21 に記載の方法。

## 【請求項 23】

前記危険度の変化は、危険度の増加である、請求項 21 に記載の方法。

## 【請求項 24】

前記危険度の変化は、危険度の減少である、請求項 21 に記載の方法。

## 【請求項 25】

配列番号 1～60 および 241～244 のヌクレオチド配列からなる群から選択される 1 以上のポリヌクレオチドの多型部位での対立遺伝子が危険対立遺伝子である場合、被験者は心筋梗塞の発生の危険度の増加を有すると判断する段階をさらに含む、請求項 21 に記載の方法。

## 【請求項 26】

前記被験者が男性であって喫煙をせず、前記ポリヌクレオチドは配列番号 57～60 のヌクレオチド配列からなる群から選択される、請求項 21 に記載の方法。

## 【請求項 27】

前記被験者が高いCRP値を有し、前記ポリヌクレオチドは配列番号 241、243 および 244 のヌクレオチド配列からなる群から選択される、請求項 21 に記載の方法。

## 【請求項 28】

前記被験者が若く、前記ポリヌクレオチドは配列番号 241、243 および 244 のヌクレオチド配列からなる群から選択される、請求項 21 に記載の方法。

## 【請求項 29】

前記被験者が糖尿病ではなく、前記ポリヌクレオチドは配列番号 241、242 および 244 のヌクレオチド配列からなる群から選択される、請求項 21 に記載の方法。

## 【請求項 30】

前記被験者が喫煙し、前記ポリヌクレオチドは配列番号 241、242 および 244 のヌクレオチド配列からなる群から選択される、請求項 21 に記載の方法。

## 【請求項 31】

10

20

30

40

50

前記被験者が高いトリグリセロール ( T G ) 値を有し、前記ポリヌクレオチドは配列番号 2 4 3 である、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記ポリヌクレオチドは配列番号 5 7 ~ 6 0 のヌクレオチド配列からなる、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記ポリヌクレオチドは配列番号 2 4 1 ~ 2 4 4 のヌクレオチド配列からなる、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 3 4】

核酸分子を含む試験サンプルを、配列番号 1 ~ 6 0 および 2 4 1 ~ 2 4 4 のヌクレオチド配列からなる群から選択されるポリヌクレオチドであって、少なくとも 8 個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の 1 0 1 番目の塩基を含むポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドと厳しい条件下で特異的にハイブリダイズする試薬に接触させる段階と、

ハイブリダイズした二本鎖の形成を検出する段階と、  
を含む、核酸分子中の S N P を検出する方法。

【請求項 3 5】

前記ハイブリダイズした二本鎖の形成を検出する段階は、対立遺伝子特異的プローブハイブリダイゼーション、対立遺伝子特異的増幅、シークエンシング、5'ヌクレアーゼ分解、分子ビーコンアッセイ、オリゴヌクレオチド結合アッセイ、大きさ分析、および一本鎖配座多型からなる群から選択される方法によって行われる、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

候補物質を、配列番号 1 ~ 6 0 および 2 4 1 ~ 2 4 4 のヌクレオチド配列からなる群から選択されるポリヌクレオチドであって、少なくとも 8 個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の 1 0 1 番目の塩基を含むポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドに、結合複合体の形成に適した条件下で接触させる段階と、

前記ポリペプチドおよび前記候補物質からの結合複合体の形成を検出する段階と、  
を含む、心筋梗塞用の薬剤組成物をスクリーニングする方法。

【請求項 3 7】

前記結合複合体の形成を検出する段階は、免疫沈殿、放射免疫分析 ( R I A )、酵素免疫分析 ( E L I S A )、免疫組織化学、ウェスタンブロットティング、および蛍光励起細胞分取装置 ( F A C S ) からなる群から選択される方法によって行われる、請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

アンチセンスヌクレオチドまたは S i R N A を、配列番号 1 ~ 6 0 および 2 4 1 ~ 2 4 4 のヌクレオチド配列からなる群から選択されるポリヌクレオチドであって、少なくとも 8 個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の 1 0 1 番目の塩基を含むポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドと結合させる段階を含み、前記アンチセンスヌクレオチドおよび S i R N A は前記ポリヌクレオチドに特異的である、遺伝子発現を調節する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

技術分野

関連特許出願の相互参照

本願は、韓国特許庁に 2 0 0 5 年 5 月 1 3 日に提出された大韓民国特許出願第 1 0 - 2 0 0 5 - 0 0 4 0 1 6 3 号、および 2 0 0 5 年 6 月 2 日に提出された大韓民国特許出願第 1 0 - 2 0 0 5 - 0 0 4 7 1 9 5 号の利益を主張し、その開示は全体として本明細書中に参照として組み込まれる。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 0 2 】

本発明は、心筋梗塞に関連した遺伝子多型およびその使用に関する。

## 【 背景技術 】

## 【 0 0 0 3 】

背景技術

ヒトゲノムの塩基配列のうち99.9%が同一である。個人の姿、行動、およびある疾患に対する感受性の多様性は、ヒトゲノムの塩基配列の残りの0.1%における部分的な違いによって生じる。すなわち、ヒトゲノムのうち約3百万の塩基配列の違いによって、個人、集団、人種、民族の間の多様性が生じる。塩基配列の違いは、異なる人種の皮膚の色のような表現型の区別だけでなく、疾患の分布の違いに寄与する。約30億個の塩基対があり、ほぼ1.0 kbの間隔で多型が生じる塩基対が配置される。各人ごとに異なる塩基対は全部で約3百万個あり、これらの塩基対の変化を一塩基多型(SNP)という。個人および集団の中での多様性、または疾患群と正常群との間の違いの原因は、3百万個のSNPの解析を通して見出されうる。塩基配列全体の解析は必要ではない。

10

## 【 0 0 0 4 】

遺伝学の最も重要な目的は、人間の疾患のような表現型の違いをDNAにおける違いにマッピングすることである。すべてのゲノムに存在する多型マーカーは、この目的を達成するための最良の手段である。個人を区別し、遺伝病に関連する遺伝子を見出すために、マイクロサテライトマーカーが多型マーカーとして通常用いられてきたが、DNAチップの開発に伴ってSNPに関心が寄せられている。SNPの高い頻度、SNPの使用の安全性、およびすべてのゲノムにわたるSNPの分布によって、大きなスケールでの自動SNP検出が可能である。SNPは、医学の新しい分野である予測医学に寄与するであろう。例えば、個人の疾患を予測し、特定の医薬品に対する個人の反応を調べる革命的な工程が、DNAチップ技術および高速DNA配列解析技術などの最新のバイオテクノロジーを用いることによって実施されうる。

20

## 【 0 0 0 5 】

SNPの研究は、人口集団の中で均等に分布する遺伝型の分析を含む。SNPを研究することによって、人口集団は遺伝型に従って区分でき、遺伝型に従って疾患群が有意に分布すれば、遺伝型と疾患との関係が確立されうる。ほとんどのSNPの研究において、単一の遺伝型(single genotype)またはいくつかの遺伝型が疾患群と正常群で有意に異なる分布を有する場合、当該遺伝型による疾患の頻度の違いが解析されうる。

30

## 【 0 0 0 6 】

ヒトゲノムの3百万個のSNPのうち、約1/6である約510,000個のSNPが遺伝子中に存在する。SNPは遺伝子の発現またはタンパク質の機能と直接関連するため、このようなSNPの遺伝子における分布を知ることは非常に重要である。もし特定の疾患と関連している遺伝型が遺伝子の発現またはタンパク質の機能に影響を与えうるならば、前記遺伝子または前記タンパク質は、その疾患の原因である可能性が高い。この場合、前記遺伝子は、疾患の検出および治療の標的遺伝子となりうる。疾患に対する感受性もまた、前記遺伝子のSNP解析を用いて解析されうる。

40

## 【 0 0 0 7 】

プロモータのような遺伝子配列の転写調節部位のSNPは、発現される遺伝子の量を調節できる。まれに、SNPはまた、RNAスプライシングに影響を与えるエクソン・イントロン境界にある配列、または3'非翻訳領域(3'-UTR)に位置するRNAの安定性および翻訳効率に影響を与える。

## 【 0 0 0 8 】

すなわち、コーディング部位または転写調節部位および翻訳調節部位に位置するSNPは、疾患に対する感受性を決定するための有用な指標でありうる。コーディング部位または転写調節部位および翻訳調節部位に位置するSNPもあるが、タンパク質の発現および/または機能に影響を与えることが期待されない他のSNPも、疾患との関連が見出され

50

うる。国際的な研究は、人の疾患におけるこのようなSNPの役割の解明を試みている。

【0009】

ハプロタイプはSNPよりも多くの情報を有し、連鎖不均衡に関する情報を含むため、ハプロタイプを用いた遺伝型の解析はより正確な結果を与える。特に、いくつかのSNPが遺伝子の中に密に分布している場合、隣接したSNPに関する組み合わせた情報を有するハプロタイプを用いた遺伝子解析は、遺伝子の機能と疾患との間の関係を見出すのに有効である。例えば、5-リポオキシゲナーゼ活性化ペプチド(FLAP)のハプロタイプは、SNPに比べて、心臓発作のより正確なマーカーであることがわかっており、心臓発作の臨界的な原因であると報告されている(Helgadóttir et al., Nat Genet. 2004 Mar; 36(3): 233-9)。その後、Decod e Genet icsは、このハプロタイプの結果の報告に基づいて、心臓発作の予防医学のためにFLAPのハプロタイプを含む酵素の阻害剤に関する研究を行い、第2フェーズの臨床試験が既に開始されている。

10

【0010】

一方、心血管疾患は、全世界の工業化された国における主な死亡原因であり、韓国では1970年代から主な死亡原因となっている。韓国統計庁によれば、2003年には、246,000人の死亡者のうち22,000人(100,000人あたり9,087人、または9.1%)が心臓病および高血圧によるものであり、これらはガンおよび脳血管疾患に続く3番目の主な死亡原因である。

【0011】

心血管疾患の中でも重要な部分を占める冠状動脈疾患は、通常、心臓に血液を供給する冠状動脈の閉塞または狭窄である動脈硬化によって生じる。冠状動脈の閉塞は心筋梗塞を示し、冠状動脈の狭窄は狭心症を示す。冠状動脈疾患の原因としては、高脂血症(高コレステロール血症)、高血圧、喫煙、糖尿病、遺伝的形質、肥満、運動不足、ストレスおよび更年期が知られている。冠状動脈疾患の複合的な因子を有する被験者は発生の危険度が高い。

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

技術的課題

現在、心臓内部および冠状動脈のX線および超音波撮影が、心血管疾患の診断に用いられうる。しかしながら、心筋梗塞を含む他のさまざまな心血管疾患および複雑な疾患の、他の物理的な技術を用いた診断または予測については、診断または予測は疾患が進行した段階である場合にのみ実施されうる。

30

【課題を解決するための手段】

【0013】

技術的解決

発明の概要

本発明者らは、心筋梗塞に関連するSNPを見出すための研究の結果として、心筋梗塞の発生確率および遺伝的感受性の予測を可能にするSNPを発見した。

40

【0014】

本発明は、心筋梗塞に関連する一塩基多型(SNP)を提供する。

【0015】

本発明はまた、前記SNPを含むポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドを提供する。

【0016】

本発明はまた、前記ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドを提供する。

【0017】

本発明はまた、前記ポリペプチドに特異的に結合する抗体を提供する。

【0018】

50

本発明はまた、前記ポリヌクレオチドを含む、SNPを検出するためのマイクロアレイを提供する。

【0019】

本発明はまた、前記ポリヌクレオチドを含む、SNPを検出するためのキットを提供する。

【0020】

本発明はまた、心筋梗塞の発生の危険度の変化を有する被験者を特定する方法を提供する。

【0021】

本発明はまた、核酸分子のSNPを検出する方法を提供する。

10

【0022】

本発明はまた、心筋梗塞のための薬剤組成物をスクリーニングする方法を提供する。

【0023】

本発明はまた、遺伝子の発現を調節する方法を提供する。

【0024】

本発明の一態様によれば、少なくとも8個の連続したヌクレオチドおよびヌクレオチド配列の101番目の塩基を含む、配列番号1~60および241~244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドが提供される。

【0025】

20

本発明の他の態様によれば、前記ポリヌクレオチドまたはその相補的なポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドが提供される。

【0026】

本発明の他の態様によれば、前記ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドが提供される。

【0027】

本発明の他の態様によれば、前記ポリペプチドに特異的に結合する抗体が提供される。

【0028】

本発明の他の態様によれば、前記ポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または前記ポリヌクレオチドのcDNAを含む、SNPを検出するためのマイクロアレイが提供される。

30

【0029】

本発明の他の態様によれば、前記ポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、または前記ポリヌクレオチドのcDNAを含む、SNPを検出するためのキットが提供される。

【0030】

本発明の他の態様によれば、被験者から核酸試料を単離する段階と、配列番号1~60および241~244のヌクレオチド配列の中の1以上のポリヌクレオチドの多型部位での対立遺伝子を決定する段階と、を含み、前記多型部位は前記ポリヌクレオチドの101番目のヌクレオチドに位置する、心筋梗塞の発生の危険度の変化を有する被験者を特定する方法が提供される。

40

【0031】

本発明の他の態様によれば、核酸分子を含む試験サンプルを、配列番号1~60および241~244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチドであって、少なくとも8個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の101番目の塩基を含むポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドと厳しい条件下で特異的にハイブリダイズする試薬に接触させる段階と、ハイブリダイズした二本鎖の形成を検出する段階と、を含む、核酸分子中のSNPを検出する方法が提供される。

【0032】

本発明の他の態様によれば、候補物質を、配列番号1~60および241~244のヌ

50

クレオチド配列のポリヌクレオチドであって、少なくとも8個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の101番目の塩基を含むポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドに、結合複合体の形成に適した条件下で接触させる段階と、前記ポリペプチドと前記候補物質との間の結合複合体の形成を検出する段階と、を含む、心筋梗塞用の薬剤組成物をスクリーニングする方法が提供される。

【0033】

本発明の他の態様によれば、アンチセンスヌクレオチドまたは*SiRNA*を、配列番号1~60および241~244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチドであって、少なくとも8個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の101番目の塩基を含むポリヌクレオチドと結合させる段階を含み、前記アンチセンスヌクレオチドおよび*SiRNA*は前記ポリヌクレオチドに特異的である、遺伝子発現を調節する方法が提供される。

10

【0034】

本発明の上述の態様および利点は、その詳細な実施形態の記載によってより明らかになるであろう。

【0035】

発明の詳細な説明

本発明の一態様による心筋梗塞と関連した一塩基多型(SNP)は、配列番号1~60および241~244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチドであって、少なくとも8個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の101番目の塩基を含むポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドを含む。

20

【0036】

配列番号1~60および241~244のうち1つを含むポリヌクレオチドは、多型配列である。多型配列は、ポリヌクレオチド配列中にSNPが存在する多型部位を含むヌクレオチド配列である。前記ポリヌクレオチドは、DNAまたはRNAでありうる。

【0037】

本明細書中で、SNPは、個人のDNAに約1kbごとにみられるDNA配列多型のうち最も多く見られる1塩基対の違いでありうる。

【0038】

本発明の実施例では、心血管疾患、特に心筋梗塞と密接に関連するSNPを見出すために、一連の選択が行われた。心筋梗塞の患者および健常者の血液からDNAを単離し、増幅した。前記DNAのSNP配列の解析の後、患者と健常者との間で出現頻度が顕著に異なるSNPを同定した。実施例で同定された64個のSNPおよびその遺伝子型を表1~3に開示する。

30

【0039】

【表 1 - 1】

配列番号	alias_id	cas_num	con_num	allele A	allele a	Cas_AA	cas_Aa	cas_aa	conga	con_Aa	con_aa	GTX p-val	allele_OR
1	MI_0042	213	184	A	G	2	44	167	10	49	125	0.00777	0.550
2	MI_0050	220	190	T	G	8	57	155	2	35	153	0.0353	1.74
3	MI_0056	218	185	T	G	7	58	153	1	31	153	0.00669	2.02
4	MI_0070	220	187	A	G	10	54	156	9	68	110	0.0301	0.677
5	MI_0100	216	189	C	T	159	54	3	124	55	10	0.0397	1.53
6	MI_0127	217	190	C	T	127	79	11	126	62	2	0.0347	0.693
7	MI_0159	221	191	A	G	2	39	180	2	17	172	0.0221	1.85
8	MI_0177	218	190	A	G	0	12	206	0	22	168	0.0312	0.461
9	MI_0232	215	189	C	T	43	109	63	53	98	38	0.0450	0.708
10	MI_0235	216	189	A	G	5	63	148	2	33	154	0.00865	1.87
11	MI_0292	212	189	T	G	16	102	94	5	64	120	0.000255	1.90
12	MI_0294	221	191	A	G	138	77	6	100	76	15	0.02	1.52
13	MI_0299	220	191	A	G	36	110	74	61	85	45	0.000629	0.596
14	MI_0354	222	190	A	G	98	101	23	62	96	32	0.027	1.47
15	MI_0370	222	191	A	G	44	119	59	73	83	35	0.000155	0.584
16	MI_0374	219	187	A	G	5	48	166	1	25	161	0.023	1.96
17	MI_0393	222	189	C	T	50	125	47	31	82	76	0.000151	1.67
18	MI_0433	222	191	A	G	61	106	55	72	86	33	0.0444	0.698
19	MI_0464	222	189	A	G	27	95	100	31	96	62	0.0363	0.703
20	MI_0493	221	191	A	G	85	102	34	61	82	48	0.0422	1.40

10

【 0 0 4 0 】

【表 1 - 2】

配列番号	allele_OR_LB	allele_OR_UB	con_HWX_p-val	gene_name	SNP_function	AA_change	AA_position
1	0.369	0.82	0.0918	intergenic	intergenic	n/a	n/a
2	1.15	2.64	1.00	LOC144678	Intron	null	null
3	1.30	3.13	0.641	LOC144678	mrna-utr	null	null
4	0.479	0.958	0.810	FLJ11117	mrna-utr	null	null
5	1.06	2.23	0.249	intergenic	intergenic	n/a	n/a
6	0.49	0.98	0.0402	intergenic	intergenic	n/a	n/a
7	1.08	3.18	0.0988	intergenic	intergenic	n/a	n/a
8	0.225	0.944	0.476	intergenic	intergenic	n/a	n/a
9	0.536	0.934	0.665	DUSP10	locus-region	null	null
10	1.23	2.86	0.392	KIAA1573	mrna-utr	null	null
11	1.37	2.63	0.241	DSCR1	Intron	null	null
12	1.10	2.10	1	intergenic	intergenic	n/a	n/a
13	0.452	0.786	0.144	intergenic	intergenic	n/a	n/a
14	1.11	1.95	0.662	KIAA1363	Intron	null	null
15	0.442	0.77	0.176	MANBA	mrna-utr	null	null
16	1.21	3.17	0.984	PAPSS1	coding-synon	K	12
17	1.26	2.21	0.281	MANBA	Intron	null	null
18	0.529	0.92	0.45	intergenic	intergenic	n/a	n/a
19	0.529	0.934	0.656	intergenic	intergenic	n/a	n/a
20	1.06	1.84	0.0588	FLJ40288	mrna-utr	null	Null

20

30

【 0 0 4 1 】

【表 1 - 3】

配列番号	alias_id	cas_num	con_num	allele_A	allele_a	cas_A	cas_a	cas_a	conga	con_Aa	Con_aa	GTX_p-val	allele_OR
21	MI_0495	221	191	A	G	136	68	17	90	84	17	0.011	1.49
22	MI_0507	222	191	T	G	8	60	154	8	72	111	0.0498	0.69
23	MI_0526	221	191	C	A	23	97	101	33	91	67	0.0375	0.685
24	MI_0577	215	185	A	G	139	64	12	134	50	1	0.00782	0.636
25	MI_0606	222	190	C	G	142	68	12	136	53	1	0.00809	0.647
26	MI_0720	221	190	A	G	12	73	136	21	73	96	0.0299	0.648
27	MI_1005	221	189	C	A	16	66	139	12	92	85	0.000418	0.643
28	MI_1022	221	190	A	G	5	62	154	2	35	153	0.0397	1.7
29	MI_1028	220	190	T	G	193	27	0	181	9	0	0.00821	0.371
30	MI_1029	221	190	C	T	46	124	51	60	92	38	0.0468	0.757
31	MI_1036	219	191	C	T	14	102	103	29	90	72	0.00832	0.667
32	MI_1039	217	189	A	G	154	59	4	159	27	3	0.00415	0.524
33	MI_1051	222	191	A	G	131	85	6	95	80	16	0.0172	1.48
34	MI_1065	219	189	A	G	1	36	182	1	50	138	0.0193	0.596
35	MI_1070	216	185	T	G	28	107	81	41	93	51	0.0189	0.675
36	MI_1071	222	190	T	G	2	39	181	4	51	135	0.0384	0.583
37	MI_1076	215	190	T	G	97	96	22	108	72	10	0.0303	0.662
38	MI_1096	221	191	A	G	0	6	215	0	15	176	0.0235	0.337
39	MI_1112	222	191	A	G	115	94	13	123	62	6	0.0283	0.649
40	MI_1130	222	190	C	G	155	64	3	150	40	0	0.0359	0.629

10

【0042】

【表 1 - 4】

配列番号	allele_OR_LB	allele_OR_UB	con_HWX_p-val	gene_name	SNP_function	AA_change	AA_position
21	1.09	2.03	0.741	intergenic	intergenic	n/a	n/a
22	0.49	0.972	0.537	GNA12	Intron	null	null
23	0.515	0.911	0.775	intergenic	intergenic	n/a	n/a
24	0.437	0.925	0.135	ALOX5AP	Intron	null	null
25	0.449	0.934	0.0795	ALOX5AP	Intron	null	null
26	0.473	0.887	0.165	LGALS2	Intron	null	null
27	0.470	0.88	0.0571	intergenic	intergenic	n/a	n/a
28	1.12	2.58	1	ANK3	mrna-utr	null	null
29	0.172	0.799	1	HIP1	Intron	null	null
30	0.575	0.997	0.776	intergenic	intergenic	n/a	n/a
31	0.499	0.892	0.883	intergenic	intergenic	n/a	n/a
32	0.337	0.815	0.15	intergenic	intergenic	n/a	n/a
33	1.08	2.03	0.865	intergenic	intergenic	n/a	n/a
34	0.382	0.928	0.212	intergenic	intergenic	n/a	n/a
35	0.509	0.895	1	THH	Intron	null	null
36	0.384	0.888	1	MAP2K4	Intron	null	null
37	0.486	0.902	0.692	intergenic	intergenic	n/a	n/a
38	0.129	0.877	1	intergenic	intergenic	n/a	n/a
39	0.467	0.901	0.815	RGS7	Intron	null	null
40	0.415	0.952	0.23	RBI2	mrna-utr	null	null

20

30

【0043】

【表 1 - 5】

配列番号	alias_id	cas_num	con_num	allele_A	allele_a	cas_AA	cas_Aa	cas_aa	con_AA	con_Aa	con_aa	GTx p-val	allele_0R
41	MI_1145	221	191	A	G	23	99	99	34	93	64	0.0217	0.67
42	MI_1169	212	186	A	G	3	37	172	0	19	167	0.0207	2.10
43	MI_1175	222	187	A	G	0	26	196	1	36	150	0.0315	0.55
44	MI_1186	219	188	A	G	149	64	6	97	73	18	0.000435	1.94
45	MI_1206	222	190	A	G	80	113	29	57	90	43	0.035	1.38
46	MI_1209	218	190	T	G	16	77	125	16	89	85	0.0374	0.713
47	MI_1221	219	190	A	G	2	40	177	0	18	172	0.00955	2.25
48	MI_1247	215	186	C	T	54	101	60	67	85	34	0.0193	0.661
49	MI_1261	222	189	C	T	171	50	1	165	22	2	0.00513	0.557
50	MI_1264	222	190	C	T	14	55	153	2	46	142	0.0182	1.52
51	MI_1272	221	188	A	G	26	106	89	38	91	59	0.0332	0.696
52	MI_1273	221	188	C	A	188	30	3	136	45	7	0.00547	2.10
53	MI_1329	220	189	C	G	71	115	34	93	74	22	0.00255	0.637
54	MI_1363	221	190	T	A	103	102	16	67	97	26	0.0199	1.48
55	MI_1377	222	190	C	T	86	108	28	100	72	18	0.0181	0.678
56	MI_1503	216	187	A	G	0	30	186	2	42	143	0.0153	0.532

10

【0044】

【表 1 - 6】

配列番号	allele_OR_LB	allele_OR_UB	con_HWX_p-val	gene_name	SNP_function	AA_change	AA_position
41	0.504	0.89	1	intergenic	intergenic	n/a	n/a
42	1.20	3.67	1	SIPA1L1	Intron	null	null
43	0.327	0.924	0.413	intergenic	intergenic	n/a	n/a
44	1.39	2.71	0.38	intergenic	intergenic	n/a	n/a
45	1.04	1.82	0.476	CSMD1	Intron	null	Null
46	0.525	0.969	0.316	intergenic	intergenic	n/a	n/a
47	1.27	3.96	1	LOC387895	Intron	null	null
48	0.499	0.874	0.449	intergenic	intergenic	n/a	n/a
49	0.34	0.911	0.212	intergenic	intergenic	n/a	n/a
50	1.04	2.22	0.746	MST1R	coding-nonsynon	G	1335
51	0.525	0.923	0.769	SLC8A1	Intron	null	null
52	1.35	3.26	0.0919	intergenic	intergenic	n/a	n/a
53	0.478	0.851	0.168	NFKB1	Intron	null	null
54	1.11	1.98	0.361	intergenic	intergenic	n/a	n/a
55	0.505	0.91	0.369	NFKB1	Intron	null	null
56	0.328	0.862	1	CYBA	coding-nonsynon	H	72

20

30

【0045】

表 1 および 2 において、「配列番号」は、本発明の明細書に記載された、SNP を含むポリヌクレオチド配列の識別番号である。

【0046】

「alias\_id」は、本発明者らによって任意に指定された SNP の番号である。

【0047】

「cas\_num」および「con\_num」は、それぞれ、前記 SNP を有する患者および健常者の数を示す。

【0048】

Allele 「A」および「a」は、それぞれ、シーケノム (Sequenom) 社の均質的 Mass EXTEND (商標) 技術に従う配列実験において、低質量の対立遺伝子および高質量の対立遺伝子を表し、実験の便宜上任意に指定される。

40

【0049】

「cas\_AA」、「cas\_Aa」および「cas\_aa」は、それぞれ、「AA」、「Aa」および「aa」の遺伝子型を有する患者の数を表す。また、「con\_AA」、「con\_Aa」および「con\_aa」は、それぞれ、「AA」、「Aa」および「aa」の遺伝子型を有する健常者の数を表す。

【0050】

「GTx\_p\_val」は、フィッシャーの正確確率検定 (Fisher's exact test) を用いて遺伝子を調べて得られた p - 値である。p - 値が 0.05 以下

50

である場合、疾患群と正常群との間で遺伝子型は同じではない、すなわち、有意であると決定された。

【0051】

「allele\_OR」は、遺伝子型に基づく、正常群におけるSNPの確率に対する疾患群のSNPの確率であるオッズ比(odds ratio)である。

【0052】

「allele\_OR\_LB」および「allele\_OR\_UB」は、それぞれ、前記オッズ比の95%信頼区間の下限および上限を示す。前記オッズ比が1を超える場合、「A」が危険因子であり、前記オッズ比が1未満である場合、「a」が危険因子である。信頼区間が1を含む場合、前記遺伝子型と前記疾患との間の関係が有意であると決定することはできない。

10

【0053】

「con\_HWX\_p\_val」は、正常群におけるハーディー-ワインバーグ平衡(Hardy-Weinberg Equilibrium)を示す。p-値が0.05以下である場合、正常群はハーディー-ワインバーグ平衡にあると決定することはできない。

【0054】

「gene\_name」は、前記SNPが属する遺伝子の名称である。

【0055】

「SNP\_function」は、遺伝子中の前記SNPの位置である。

20

【0056】

「AA\_change」は、SNPによってアミノ酸が変化するか否かを示す。

【0057】

「AA\_position」は、SNP部位によってコードされるアミノ酸のポリペプチドにおける位置を示す。

【0058】

【表2-1】

配列番号	alias_id	allele A	allele a	gene_name	SNP_function	AA_change	AA_position	cas_a
57	MI_1111	A	G	polymerase iota	intron	null	null	0.287
58	MI_1248	C	T	polymerase iota	exon	Thr->Ala	706	0.715
59	MI_2143	T	G	polymerase iota	intron	null	null	0.285
60	MI_2144	T	G	polymerase iota	intron	null	null	0.322

30

【0059】

【表2-2】

配列番号	con_a	Delta	chi_value	chi_exact_Pvalue	OR	OR_LB	OR_UB	con_HW
57	0.215	0.072	7.561	0.0228	1.47	1.113	1.937	HWE
58	0.788	0.075	8.043	0.0179	1.5	1.131	1.978	HWE
59	0.217	0.068	6.829	0.0329	1.49	1.094	1.904	HWE
60	0.242	0.8	8.816	0.0122	1.49	1.137	1.949	HWE

40

【0060】

【表 3】

配列番号	SNP の NCBI GenBank 登録番号	allele A	allele a	OR	OR_LB	OR_UB	Chi_exact_pValue
241	rs2148582	A	G	0.619	0.436	0.877	0.0296
242	rs5050	T	G	0.659	0.455	0.955	0.0281
243	rs7079	T	G	0.657	0.428	1.01	0.0583
244	rs699	G	A	1.61	1.14	2.29	0.0297

## 【0061】

「cas\_a」、「con\_a」および「Delta」は、それぞれ、疾患群における「a」の頻度、正常群における「a」の頻度、および「cas\_a」と「con\_a」との間の差の絶対値を示す。ここで、「cas\_a」は（遺伝子型「aa」の頻度×2+遺伝子型「Aa」の頻度）/（疾患群のサンプル数×2）で与えられ、「con\_a」は（遺伝子型「aa」の頻度×2+遺伝子型「Aa」の頻度）/（正常群のサンプル数×2）で与えられる。

10

## 【0062】

「chi-value」は、カイ二乗検定を通して得られた値であり、p-値の計算に用いられた。「chi-exact-p-value」は、カイ二乗検定のフィッシャーの正確確率検定のp-値を示し、遺伝子型の数が5より小さい場合はカイ二乗検定の結果が不正確でありうるため、統計的な有意性をより正確に決定するために用いられる変数である。p-値が0.05以下である場合、疾患群と正常群との間で遺伝子型が同じではない、すなわち、有意であると決定された。

20

## 【0063】

「OR」は、疾患群および正常群において、特定の遺伝子型がどの程度の頻度で見られるかを示す比であり、（疾患群において特定の遺伝子型を有する患者の数）×（正常群において特定の遺伝子型を有さない人の数）/（疾患群において特定の遺伝子型を有さない患者の数）×（正常群において特定の遺伝子型を有する人の数）として計算される。「OR\_LB」、「OR\_UB」は、それぞれ、有意水準5%でのORの信頼区間の最小値および最大値を示す。

## 【0064】

表3の4つのSNPはすべてAGT遺伝子上に位置する。

30

## 【0065】

本発明の一態様による心筋梗塞診断のためのハプロタイプは、配列番号57~60のポリヌクレオチドから構成されうる。互いのSNPの連鎖不均衡(LD)を表4に開示する。表4に示すように、4つのSNPは、強いLDブロックを構成した。

## 【0066】

## 【表4】

	MI_2144	MI_1111	MI_2143	MI_1248
MI_2144	0	1	1	0.9898
MI_1111	1	0	1	0.9951
MI_2143	1	1	0	1
MI_1248	0.9898	0.9951	1	0

40

## 【0067】

例えば、前記ハプロタイプを構成する配列番号57~60のポリヌクレオチドのうち、SNP部位である101番目の塩基が危険対立遺伝子でありうる。すなわち、前記ハプロタイプは、表5のハプロタイプ番号1または2でありうる。

## 【0068】

【表 5】

ハプロタイプ番号	MI_2144	MI_1111	MI_2143	MI_1248	Hap. score	p. val	Hap. Freq total_freq
1	A	A	A	a	-3.06506	0.00218	71.60%
2	a	a	a	A	2.71413	0.00664	25.00%
3	a	A	A	a	0.73651	0.46142	3%

【0069】

表 5 中、「A」または「a」は対立遺伝子を示す。例えば、ハプロタイプ番号 1 は、対立遺伝子が「A」、「A」、「A」および「a」である、4 個の SNP を含むハプロタイプである。「Hap. score」は、前記ハプロタイプがいかに良好に被験者を正常群と疾患群とに分類しうるかを示す。「p. val」が 0.05 以下である場合、遺伝子型と疾患との間の関係が有意であると決定された。

10

【0070】

または、本発明の一実施形態による心筋梗塞診断のためのハプロタイプは、配列番号 241 ~ 244 のポリヌクレオチドにより構成されうる。

【0071】

前記ハプロタイプを構成する配列番号 241 ~ 244 のポリヌクレオチドのうち、SNP 部位である 101 番目の塩基が危険対立遺伝子でありうる。すなわち、前記ハプロタイプは、表 6 のハプロタイプ番号 4 または 7 でありうる。

20

【0072】

【表 6】

ハプロタイプ番号	rs2148582	rs5050	rs7079	rs699	p-value	Hap. Freq total_freq	y. 0 con_freq	y. 1 cas_freq
4	A	A	A	a	0.024	0.110	0.135	0.088
5	A	A	a	a	0.134	0.084	0.099	0.071
6	a	A	a	A	0.608	0.627	0.618	0.634
7	a	a	a	A	0.035	0.172	0.142	0.198

【0073】

「Hap. Freq total\_freq」は、疾患群および正常群のハプロタイプの頻度を示す。

30

【0074】

「y. 0 con\_freq」は、正常群のハプロタイプの頻度を示す。

【0075】

「y. 1 cas\_freq」は、疾患群のハプロタイプの頻度を示す。

【0076】

心血管疾患の発生はさまざまな環境的因子または習慣的因子に影響されうるため、遺伝的因子のみを用いて心血管疾患の発生可能性を予測することは難しい。ある特定の特徴を有する患者に有意に関連する SNP を選択した。また、心血管疾患の患者に存在するが、健常者には存在しない SNP を同定した。

40

【0077】

その結果、男性の非喫煙者は、配列番号 57 ~ 60 のヌクレオチド配列の SNP の存在と心筋梗塞の発生との間に、より有意な関係を示した。これは、表 7 で男性の非喫煙者は、高いオッズ比を有することから示された。したがって、本発明の一実施形態によれば、心筋梗塞の診断のための SNP は、配列番号 57 ~ 60 のヌクレオチド配列であり、被験者は男性の非喫煙者でありうる。

【0078】

【表 7】

群	alias_id	配列番号	OR	OR_LB	OR_UB	Chi_squ_Pvalue
男性	MI_1111	57	1.3816	1.0067	1.8961	0.0939
	MI_1248	58	1.4353	1.0427	1.9757	0.0674
	MI_2143	59	1.3513	0.98	1.8587	0.112
	MI_2144	60	1.4705	1.08	2	0.0547
男性喫煙者	MI_1111	57	1.8472	1.0138	3.3657	0.161
	MI_1248	58	1.8752	1.029	3.4173	0.166
	MI_2143	59	1.8181	1.033	3.1746	0.122
	MI_2144	60	1.8518	1.0141	3.3557	0.132
男性非喫煙者	MI_1111	57	2.2865	1.2005	4.3546	0.0231
	MI_1248	58	2.3976	1.2492	4.6018	0.024
	MI_2143	59	2.2727	1.2004	4.3478	0.0242
	MI_2144	60	2.5641	1.3458	4.7619	0.0107

10

## 【0079】

本発明の一実施形態によるポリヌクレオチドは、配列番号241、配列番号243または配列番号244のヌクレオチド配列であってもよく、C反応性タンパク質(CRP)値が高い被験者の心筋梗塞の診断に用いられる。

## 【0080】

血中CRP値は、炎症の程度を示し、心血管疾患の危険度を測定するために用いられる。心血管疾患を有する更年期の女性被験者のCRP値が0.42mg/dlであるのに対し、心血管疾患でない更年期の女性被験者のCRP値は0.28mg/dlであった(Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-Reactive Protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women, N Engl J Med, 2000, 342: pp. 836-843)。

20

## 【0081】

配列番号241、配列番号243および配列番号244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチドを有する被験者では、CRP数値が高い被験者ほど相対的に心血管疾患の発生の可能性が高いと見積もることができるため、CRP値は限定されない。

30

## 【0082】

## 【表 8】

配列番号	SPNのNCBI GenBank登録番号	危険対立遺伝子	オッズ比	信頼区間	Chi_exact_pValue
241	rs2148582	G	0.276	(0.118, 0.645)	0.0052
243	rs7079	G	0.348	(0.121, 0.999)	0.0485
244	rs699	G	3.45	(1.48, 8.04)	0.0101

## 【0083】

また、本発明の一実施形態によるポリヌクレオチドは、配列番号241、配列番号243もしくは配列番号244のヌクレオチド配列、またはその相補的なポリヌクレオチドであってもよく、若い被験者の心血管疾患の診断に用いられる。

40

## 【0084】

心筋梗塞に関しては、45歳を超える男性、更年期に入った55歳を超える女性が危険群であると知られている。

## 【0085】

配列番号241、配列番号243および配列番号244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチドを有する被験者においては、若い被験者ほど相対的に心血管疾患の発生の可能性が低いと見積もることができるため、年齢は限定されない。

50

【 0 0 8 6 】

【 表 9 】

配列番号	SPN の NCBI GenBank 登録番号	危険対立 遺伝子	オッズ比	信頼区間	Chi_exact_pValue
241	Rs2148582	G	0.482	(0.28, 0.83)	0.0307
243	rs7079	G	0.345	(0.169, 0.706)	0.0058
244	rs699	G	2.04	(1.19, 3.52)	0.0309

【 0 0 8 7 】

本発明の一実施形態によるポリヌクレオチドは、配列番号 2 4 1、配列番号 2 4 2 もしくは配列番号 2 4 4 のヌクレオチド配列、またはその相補的なポリヌクレオチドであってもよく、糖尿病を有していない被験者の心血管疾患の診断に用いられうる。

10

【 0 0 8 8 】

表 1 0 は、被験者が糖尿病を有していないときの、本発明の実施例から得られた結果を含む。

【 0 0 8 9 】

【 表 1 0 】

配列番号	SPN の NCBI GenBank 登録番号	危険対立 遺伝子	オッズ比	信頼区間	Chi_exact_pValue
241	rs2148582	G	0.622	(0.433, 0.892)	0.0378
242	rs5050	G	0.641	(0.434, 0.946)	0.0141
244	rs699	G	1.6	(1.12, 2.3)	0.0395

20

【 0 0 9 0 】

本発明の一実施形態によるポリヌクレオチドは、配列番号 2 4 1、配列番号 2 4 2 もしくは配列番号 2 4 4 のヌクレオチド配列、またはその相補的なポリヌクレオチドであってもよく、喫煙する被験者の心血管疾患の診断に用いられうる。

【 0 0 9 1 】

表 1 1 は、被験者が喫煙するときの、本発明の実施例から得られた結果を含む。

【 0 0 9 2 】

【 表 1 1 】

配列番号	SPN の NCBI GenBank 登録番号	危険対立 遺伝子	オッズ比	信頼区間	Chi_exact_pValue
241	rs2148582	G	0.545	(0.317, 0.938)	0.0392
242	rs5050	G	0.465	(0.236, 0.914)	0.0458
244	rs699	G	1.83	(1.07, 3.16)	0.0392

30

【 0 0 9 3 】

本発明の一実施形態によるポリヌクレオチドは、配列番号 2 4 3、またはその相補的なポリヌクレオチドであってもよく、高い T G 値を有する被験者の心血管疾患の診断に用いられうる。

【 0 0 9 4 】

Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) の 8 年間の予測疫学的試験の結果として、空腹時の T G 値は心血管疾患の頻度と定量的に関連することが明らかになった。被験者が非常に高い T G 値、例えば 4 0 0 ~ 7 9 9 m g / d l を有する場合、心血管疾患の発生率は正常な T G 値に対して 3 倍以上増加することが明らかになった。

40

【 0 0 9 5 】

配列番号 2 4 3 のポリヌクレオチドを有する被験者においては、高い T G 値を示す被験者は相対的に心血管疾患の発生の可能性が高いため、T G 値は限定されない。

【 0 0 9 6 】

【表 1 2】

配列番号	SPN の NCBI GenBank 登録番号	危険対立遺伝子	オッズ比	信頼区間	Chi_exact_pValue
243	rs7079	G	0.167	(0.0341, 0.814)	0.035

## 【0097】

本発明の一実施形態においては、SNPを含むポリヌクレオチドは、少なくとも8個の連続したヌクレオチド、例えば8～70個の連続したヌクレオチドを含みうる。

## 【0098】

本発明の一態様においては、ポリヌクレオチドは、配列番号1～60および241～244のポリヌクレオチド、またはその相補的なポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズする。前記ポリヌクレオチドは、対立遺伝子特異的でありうる。

10

## 【0099】

前記ポリヌクレオチドは、少なくとも8個の連続したヌクレオチド、例えば8～70個の連続したヌクレオチドを含みうる。

## 【0100】

対立遺伝子特異的ポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの各対立遺伝子塩基に特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドである。ハイブリダイゼーションは、配列番号1～60および241～244の多型配列のうち、多型部位の塩基を特異的に区別するために行われうる。ハイブリダイゼーションは、厳しい条件下、例えば、1M以下の塩濃度および25以上の温度で行われうる。例えば、5×SSPE(750mM NaCl、50mM リン酸ナトリウム、5mM EDTA、pH7.4)および25～30が、対立遺伝子特異的プローブハイブリダイゼーションに適した条件でありうる。

20

## 【0101】

本発明の一実施形態において、前記対立遺伝子特異的ポリヌクレオチドは、プライマーでありうる。プライマーとは、適切なバッファ中で適切な条件下で(例えば、4個の異なるヌクレオチド三リン酸、およびDNA、RNAポリメラーゼまたは逆転写酵素のような重合剤の存在下、適当な温度で)、テンプレート指示DNAの合成を開始することができる一本鎖のオリゴヌクレオチドである。前記プライマーの長さは使用目的によって変わりうるが、本発明の実施形態においては15～30個のヌクレオチドである。短いプライマー分子は、テンプレートと安定にハイブリダイズするために、より低い温度を必要とする。プライマー配列は、必ずしもテンプレートと完全に相補的である必要はなく、前記テンプレートとハイブリダイズするのに十分に相補的であればよい。前記プライマーの3'末端は、配列番号1～60および241～244の多型部位に対応するように配列される。前記プライマーは、多型部位を含む標的DNAとハイブリダイズし、前記プライマーと完全な相同性を有する対立遺伝子の増幅を開始する。前記プライマーおよび他方の側でハイブリダイズする他のプライマーが、プライマー対として用いられる。2つのプライマーから増幅が行われ、これはポリヌクレオチドに特異的対立遺伝子が存在することを意味する。本発明の一実施形態によれば、前記プライマーは、リガーゼ連鎖反応(LCR)で用いられるポリヌクレオチド断片を含む。例えば、前記プライマーは、以下の実施例で用いられるプライマーでありうる。

30

40

## 【0102】

本発明の一実施形態によれば、対立遺伝子特異的ポリヌクレオチドは、プローブでありうる。前記プローブはハイブリダイゼーションプローブであり、これは核酸の相補的な鎖に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドである。このようなプローブとしては、Nielsen et al., Science 254, 1497-1500 (1991)に記載されたペプチド核酸がある。本発明の一実施形態によれば、前記プローブは対立遺伝子特異的プローブである。多型部位が同じ種の2つの構成員に由来する核酸の断片に位置する場合、前記対立遺伝子特異的プローブは1つの構成員に由来するDNA断片にはハイブリダイズしうるが、他方の構成員に由来する断片にはハイブリダイズしえない。この場

50

合、ハイブリダイゼーションの条件は、異なる対立遺伝子のハイブリダイゼーション強度に有意な差を与えるように、1つの対立遺伝子のみがハイブリダイズするのに適当でありうる。本発明の一実施形態によれば、前記プローブは、その中央部位（例えば、15個のヌクレオチドからなるプローブの7番目の位置、または16個のヌクレオチドからなるプローブの8番目または9番目の位置）が前記配列の多型部位となるように配列される。このように、異なる対立遺伝子に対するハイブリダイゼーションの差が得られうる。本発明の一実施形態によれば、前記プローブは、対立遺伝子を検出するための診断方法などに用いられうる。前記診断方法は、検出が核酸のハイブリダイゼーションを用いて行われるサザンブロッティング、またはあらかじめプローブが結合したマイクロアレイを用いる方法でありうる。

10

**【0103】**

本発明の一態様によるポリペプチドは、配列番号1～60および241～244のポリヌクレオチドによってコードされる。

**【0104】**

特に、CYBA遺伝子に位置するMI\_\_1503を含む配列番号56のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのアミノ酸が変化した。MST1R遺伝子に位置するMI\_\_1264を含む配列番号50のポリヌクレオチドおよびポリメラーゼ・イオタ（polymerase iota）遺伝子に位置するMI\_\_1248を含む配列番号58のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのアミノ酸もまた変化した。3個のアミノ酸が変化した部位は、それぞれCYBAタンパク質の72番目のアミノ酸、MST1Rタンパク質の1335番目のアミノ酸、およびポリメラーゼ・イオタタンパク質の706番目のアミノ酸である。

20

**【0105】**

本発明の一態様による抗体は、前記ポリペプチドに特異的に結合する。前記抗体は、モノクローナル抗体でありうる。

**【0106】**

本発明の一態様によるマイクロアレイは、配列番号1～60および241～244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチド、その相補的なポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドの1つとハイブリダイズするポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドの1つによってコードされるポリペプチド、またはそのcDNAを含む。

30

**【0107】**

前記マイクロアレイは、前記ポリヌクレオチド、プローブもしくは前記プローブとハイブリダイズするポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドの1つによってコードされるポリペプチド、またはそのcDNAを利用して、当業者に周知の一般的な方法を用いて調製されうる。

**【0108】**

例えば、前記ポリヌクレオチドは、アミノシラン、ポリ-L-リシン（poly-L-lysine）またはアルデヒドの活性基でコートされた基板に固定化されうる。また、前記基板は、シリコン、ガラス、石英、金属またはプラスチックから構成されうる。前記ポリヌクレオチドは、圧電法を利用したマイクロピペッティングによって、またはピンの形状のスポットを利用して前記基板に固定化されうる。

40

**【0109】**

本発明の一態様によるキットは、配列番号1～60および241～244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドの1つとハイブリダイズするポリヌクレオチド、前記ポリヌクレオチドの1つによってコードされるポリペプチド、またはそのcDNAを含む。

**【0110】**

前記キットは、SNPを含むDNAを診断される被験者から単離し、前記DNAを増幅するために用いられるプライマーセットをさらに含んでもよい。適切なプライマーセットは、当業者によって決定されうる。例えば、本発明の実施例におけるプライマーセットが

50

利用できる。また、前記キットは、重合反応のための試薬、例えば、dNTP、各種の重合酵素および発色剤などをさらに含んでもよい。

【0111】

本発明の一態様による特定方法は、心筋梗塞の発生の危険度の変化を有する被験者を特定するためのSNPの利用を含む。

【0112】

前記特定方法は、被験者から核酸試料を単離する段階と、配列番号1～60および241～244のうち1以上のポリヌクレオチドの多型部位での対立遺伝子型を決定する段階とを含み、前記多型部位は前記ポリヌクレオチドの101番目のヌクレオチドに位置する。

10

【0113】

本発明の一実施形態において、被験者からのDNAの単離は、当業者に周知の方法を実行することによって実施されうる。例えば、DNAが組織もしくは細胞から直接精製されてもよく、または特定の部位がポリメラーゼ連鎖反応(PCR)などを使用して増幅され、その後単離されてもよい。本明細書中、DNAは、DNAだけではなく、mRNAから合成されるcDNAも意味する。核酸は、例えば、PCR増幅、リガーゼ連鎖反応(LCR)(WuおよびWallace, Genomics 4, 560(1989); Landegren, etc., Science 241, 1077(1988))、転写増幅(Kwoh, etc., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 1173(1989))、自己維持配列複製(Guatelli, etc., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 1874(1990))または核酸配列に基づいた配列増幅(NASBA)を用いて被験者から得られうる。

20

【0114】

単離されたDNAのシーケンシングは、当業者に周知の多様な方法によって行われうる。例えば、核酸のヌクレオチドは、ジデオキシ法を用いて直接シーケンシングされうる。また、多型部位のヌクレオチドは、DNAをSNP部位の配列を含むプローブ、およびその相補的なプローブとハイブリダイズさせ、ハイブリダイゼーションの程度を調べることによってシーケンシングされうる。ハイブリダイゼーションの程度は、標的DNAの検出可能な指標を表示させ、ハイブリダイズされた標的を特異的に検出する方法を用いて、または電気信号を検出する方法を用いて測定されうる。

30

【0115】

特に、シーケンシングは、対立遺伝子特異的プローブハイブリダイゼーション(allele-specific probe hybridization)法、対立遺伝子特異的増幅(allele-specific amplification)法、シーケンシング(sequencing)法、5'ヌクレアーゼ分解(5' nuclease digestion)法、分子ビーコンアッセイ(molecular beacon assay)法、オリゴヌクレオチド結合アッセイ(oligonucleotide ligation assay)法、大きさ分析(size analysis)法または一本鎖配座多型(single-stranded conformation polymorphism)法を用いて行われうる。

40

【0116】

本発明の一実施形態において、心筋梗塞を診断する方法は、配列番号1～60および241～244の1以上のポリヌクレオチドの多型部位での対立遺伝子が危険対立遺伝子である場合、被験者は心筋梗塞の発生の危険度の増加を有すると判断する段階をさらに含んでもよい。

【0117】

本発明の一実施形態によれば、危険対立遺伝子は、対立遺伝子「A」を基準として決定される。疾患群における対立遺伝子「A」の頻度が正常群における「A」の頻度よりも高い場合、「A」を危険対立遺伝子と考える。その反対の場合、「a」を危険対立遺伝子と考える。危険対立遺伝子を多く有する被験者ほど、心筋梗塞を有する可能性が高い。

50

## 【 0 1 1 8 】

本発明の一実施形態において、危険度は、危険度の増加または危険度の減少でありうる。ある対立遺伝子の頻度が疾患群よりも正常群においてより高い場合、前記対立遺伝子を有する被験者の危険度は減少しうる。一方、SNPの対立遺伝子の頻度が正常群よりも疾患群においてより高い場合、前記対立遺伝子を有する被験者の危険度は増加しうる。

## 【 0 1 1 9 】

本発明の一実施形態による心筋梗塞を診断する方法において、被験者は男性で喫煙をせず、被験者の多型部位での対立遺伝子を決定するポリヌクレオチドは配列番号57～60のヌクレオチド配列でありうる。

## 【 0 1 2 0 】

また、被験者は高いCRP値を有してもよく、このとき被験者の多型部位での対立遺伝子を決定するポリヌクレオチドは配列番号241、243または244のヌクレオチド配列でありうる。

## 【 0 1 2 1 】

被験者は若くてもよく、このとき被験者の多型部位での対立遺伝子を決定するポリヌクレオチドは配列番号241、243または244のヌクレオチド配列でありうる。

## 【 0 1 2 2 】

被験者は糖尿病ではなくてもよく、このとき被験者の多型部位での対立遺伝子を決定するポリヌクレオチドは配列番号241、243または244のヌクレオチド配列でありうる。

## 【 0 1 2 3 】

被験者は喫煙をしてもよく、このとき被験者の多型部位での対立遺伝子を決定するポリヌクレオチドは配列番号241、242または244のヌクレオチド配列でありうる。

## 【 0 1 2 4 】

被験者は高いTG値を有してもよく、このとき被験者の多型部位での対立遺伝子を決定するポリヌクレオチドは配列番号243でありうる。

## 【 0 1 2 5 】

本発明の一実施形態による心筋梗塞を診断する方法において、ハプロタイプが用いられうる。ポリヌクレオチドは配列番号57～60から構成されうる。または、ポリヌクレオチドは配列番号241～244から構成されうる。

## 【 0 1 2 6 】

本発明の一態様による核酸分子中のSNPを検出する方法は、核酸分子を含む試験サンプルを、配列番号1～60および241～244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチドであって、少なくとも8個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の101番目の塩基を含むポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドと厳しい条件下で特異的にハイブリダイズする試薬に接触させる段階と、ハイブリダイズした二本鎖の形成を検出する段階と、を含む。

## 【 0 1 2 7 】

前記ハイブリダイズした二本鎖の形成を検出する段階は、対立遺伝子特異的プローブハイブリダイゼーション、対立遺伝子特異的増幅、シーケンシング、5'ヌクレアーゼ分解、分子ビーコンアッセイ、オリゴヌクレオチド結合アッセイ、大きさ分析、または一本鎖配座多型を用いて行われうる。

## 【 0 1 2 8 】

本発明の一態様による心筋梗塞のための薬剤組成物をスクリーニングする方法は、候補物質を、配列番号1～60および241～244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチドであって、少なくとも8個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の101番目の塩基を含むポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドに、結合複合体の形成に適した条件下で接触させる段階と、前記ポリペプチドおよび前記候補物質からの結合複合体の形成を検出する段階と、を含む。

10

20

30

40

50

## 【0129】

前記結合複合体の形成を検出する段階は、免疫沈殿 (coimmunoprecipitation)、放射免疫分析 (RIA)、酵素免疫分析 (ELISA)、免疫組織化学、ウェスタンブロッティング (Western Blotting) または蛍光励起細胞分取装置 (FACS) によって行われうる。

## 【0130】

本発明の一実施形態による遺伝子発現を調節する方法はアンチセンスヌクレオチドまたは SiRNA を、配列番号 1 ~ 60 および 241 ~ 244 のヌクレオチド配列のポリヌクレオチドであって、少なくとも 8 個の連続したヌクレオチドおよび前記ヌクレオチド配列の 101 番目の塩基を含むポリヌクレオチド、ならびに前記ヌクレオチド配列に相補的なポリヌクレオチドと結合させる段階を含み、前記アンチセンスヌクレオチドおよび SiRNA は前記ポリヌクレオチドに特異的である。

10

## 【0131】

## 有利な効果

本発明による心筋梗塞に関連する SNP およびハプロタイプは、心筋梗塞の診断および治療ならびに遺伝子指紋解析に用いられうる。本発明の SNP を含むマイクロアレイおよびキットを用いると、心筋梗塞を効果的に診断できる。本発明の心筋梗塞に関連した SNP を解析する方法によれば、心筋梗塞の存在または危険度の存在を効果的に診断できる。

## 【実施例】

## 【0132】

20

## 最良の形態

以下、本発明を下記の実施例を参照してさらに詳細に説明する。下記の実施例は、本発明を例示的に説明するためのものであり、本発明の範囲がこれらの実施例に限定されるものではない。

## 【0133】

実施例 1SNP の選択

心血管疾患と診断され、治療を受けた疾患群の血液から DNA を単離し、心血管疾患の症状のない正常群の血液から DNA を単離し、次いで特定の SNP の出現頻度を解析した。いずれの群も韓国人から構成された。本発明の実施例の SNP は、公開されたデータベース (NCBI dbSNP: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) またはシーケノム社のウェブサイト (<http://www.realsnp.com/>) のいずれかから選択された。SNP は、選択された SNP に近いプライマーを使用して解析された。

30

## 【0134】

1-1. DNA 試料の調製

心筋梗塞と診断された 221 人の韓国人男性患者からなる疾患群の血液から DNA を抽出し、心筋梗塞の症状のない 192 人の韓国人男性からなる正常群から DNA を抽出した。染色体 DNA の抽出は、公知の方法 (Molecular cloning: A Laboratory Manual, p. 392, Sambrook, Fritsch and Maniatis, 2nd edition, Cold Spring Harbor Press, 1989) および市販のキット (Gentra system, D-50K) の説明書に従って行われた。抽出された DNA のうち、UV 吸収比 (260 / 280 nm) が少なくとも 1.7 である DNA のみを選択した。

40

## 【0135】

1-2. 標的 DNA の増幅

分析しようとする SNP を含む特定の DNA 領域を含む標的 DNA を、PCR を用いて増幅した。PCR は、一般的な方法を用いて行い、その条件は、以下に示す通りであった。はじめに 2.5 ng / ml の標的ゲノム DNA を準備した。次に、以下の PCR 反応溶液を準備した。

50

## 【0136】

水 (HPLCグレード) 3.14  
 10×バッファ 0.5  
 MgCl<sub>2</sub> 25mM 0.2  
 dNTP混合物 (GIBCO) (各25mM) 0.04  
 Taq pol (HotStart) (5U/ ) 0.02  
 フォワード/リバースプライマー混合物 (10μM) 0.1  
 DNA 1.00  
 総体積 5.00

ここで、前記フォワードプライマーおよびリバースプライマーは、SNPから適当な位置で上流および下流を選択した。プライマーセットを表13に示した。

10

## 【0137】

PCRの熱循環は、95 で15分間維持し、続いて95 で30秒、56 で30秒、および72 で1分を合計45回反復し、72 で3分間維持した後、4 に保管した。その結果、200ヌクレオチド以下の長さを有する標的DNA断片を得た。

## 【0138】

## 1-3. 増幅された標的DNAのSNPの分析

標的DNA断片におけるSNPの分析は、シーケノム社の均質的Mass Extend (hME)法を用いて行った。hME法の原理は以下の通りである。まず、標的DNA断片のSNPの直前までの塩基に相補的なプライマー(伸長プライマーともいう)を調製した。次に、前記プライマーを標的DNA断片とハイブリダイズさせ、DNA重合を促進した。このとき、被験者のSNP対立遺伝子のうち、第1対立遺伝子の塩基(例えば、「A」対立遺伝子)に相補的な塩基が添加された後、重合を終止させる試薬(終止混合物、例えば、ddTTP)を前記反応溶液に添加した。その結果、標的DNA断片に第1対立遺伝子(例えば、「A」対立遺伝子)が含まれる場合には、前記第1対立遺伝子に相補的な1つの塩基(例えば、「T」)だけを有する産物が得られる。一方、標的DNA断片に第2対立遺伝子(例えば、「G」対立遺伝子)が含まれる場合には、前記第2対立遺伝子に相補的な塩基(例えば、「C」)を有し、第1対立遺伝子の塩基(例えば、「A」)まで伸びた産物が得られる。プライマーから伸びた産物の長さを質量分析を用いて決定し、標的DNAの対立遺伝子の型を決定した。具体的な実験条件は、以下の通りであった。

20

30

## 【0139】

まず、遊離dNTPをPCR産物から除去した。このために、純水1.53、hMEバッファ0.17、エピアルカリホスファターゼ(SAP)0.30を1.5mlチューブに入れて混合し、SAP酵素溶液を準備した。前記チューブを5,000rpmで10秒間遠心分離した。その後、PCR産物を前記SAP溶液チューブに入れ、密封して37で20分、および85で5分間維持した後、4で保管した。

## 【0140】

次に、前記標的DNA産物をテンプレートとして均質な伸長を実施した。反応溶液は、以下の通りであった。

40

## 【0141】

水(ナノピュアグレード)1.728  
 hME伸長混合物(2.25mMのd/ddNTPsを含む10×バッファ)0.200  
 伸長プライマー(各100μM)0.054  
 サーマシークエナーゼ(32U/ )0.018  
 総体積 2.00

前記反応溶液をよく混合した後、スピンドウン遠心分離した。前記反応溶液の入ったチューブまたはプレートを密封し、94で2分間維持し、94で5秒間、52で5秒間、72で5秒間を、合わせて40回反復した後、4に保管した。得られた均質な伸長の産物を樹脂で洗浄し、塩の量を減少させた(SpectroCLEAN、シーケノム

50

社、#10053)。均質な伸長に用いられた伸長プライマーを表13に示した。

【0142】

【表13-1】

SNP含有ヌクレオチド (配列番号)	標的DNA増幅用プライマー(配列番号)		伸長プライマー (配列番号)
	フォワードプライマー	リバースプライマー	
1	61	62	63
2	64	65	66
3	67	68	69
4	70	71	72
5	73	74	75
6	76	77	78
7	79	80	81
8	82	83	84
9	85	86	87
10	88	89	90
11	91	92	93
12	94	95	96
13	97	98	99
14	100	101	102
15	103	104	105
16	106	107	108
17	109	110	111
18	112	113	114
19	115	116	117
20	118	119	120

10

20

【0143】

【表13-2】

SNP含有ヌクレオチド (配列番号)	標的DNA増幅用プライマー(配列番号)		伸長プライマー (配列番号)
	フォワードプライマー	リバースプライマー	
21	121	122	123
22	124	125	126
23	127	128	129
24	130	131	132
25	133	134	135
26	136	137	138
27	139	140	141
28	142	143	144
29	145	146	147
30	148	149	150
31	151	152	153
32	154	155	156
33	157	158	159
34	160	161	162
35	163	164	165
36	166	167	168
37	169	170	171
38	172	173	174
39	175	176	177
40	178	179	180

30

40

【0144】

【表 1 3 - 3】

SNP 含有ヌクレオチド (配列番号)	標的 DNA 増幅用プライマー(配列番号)		伸長プライマー (配列番号)
	フォワードプライマー	リバースプライマー	
41	181	182	183
42	184	185	186
43	187	188	189
44	190	191	192
45	193	194	195
46	196	197	198
47	199	200	201
48	202	203	204
49	205	206	207
50	208	209	210
51	211	212	213
52	214	215	216
53	217	218	219
54	220	221	222
55	223	224	225
56	226	227	228
57	229	230	231
58	232	233	234
59	235	236	237
60	238	239	240

10

20

【 0 1 4 5 】

【表 1 3 - 4】

SNP 含有ヌクレオチド (配列番号)	標的 DNA 増幅用プライマー(配列番号)		伸長プライマー (配列番号)
	フォワードプライマー	リバースプライマー	
241	245	246	247
242	248	249	250
243	251	252	253
244	254	255	256

30

【 0 1 4 6 】

得られた伸長産物について、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間法(MALDI-TOF)を用いて質量分析を行い、多型部位の配列を決定した。MALDI-TOFにおいては、分析しようとする物質はレーザー光を照射され、イオン化マトリックス(例えば3-ヒドロキシピコリン酸)と共に真空中を検出器まで飛行する。検出器までの飛行時間を計算し、質量を決定した。軽い物質は、重い物質よりもより短い時間で検出器に到達することができる。標的DNAにおけるSNPのヌクレオチド配列は、質量の違いとSNPの既知のヌクレオチド配列とに基づいて決定される。

【 0 1 4 7 】

#### 1 - 4 . SNP の選択

心筋梗塞と診断され治療を受けた韓国人男性患者221人からなる疾患群の対立遺伝子頻度と、心筋梗塞の症状のない韓国人男性192人からなる正常群の対立遺伝子頻度とを比較した。前記頻度に基づいて、関連性試験(association test)であるフィッシャーの正確確立検定を行った。

40

【 0 1 4 8 】

対立遺伝子の95%信頼区間でのオッズ比を用いてエフェクトサイズを仮定した。正常群がある対立遺伝子を疾患群よりも高い頻度で有する場合、この対立遺伝子は心筋梗塞の危険度の減少と関連があると決定され、他の対立遺伝子は心筋梗塞の危険対立遺伝子であると決定された。一方、疾患群がある対立遺伝子を正常群よりも高い頻度で有する場合、この対立遺伝子は危険対立遺伝子であると決定された。

50

## 【0149】

SNPの対立遺伝子関連性試験で、p - 値が0.05以下である場合、前記SNPを顕著な遺伝子マーカーであると見なした。

## 【0150】

結果を表1～3に示す。表1～3に示すように、心筋梗塞に関連した64個のSNPが同定された。

## 【0151】

1 - 5 . ハプロタイプの選択

DNA修復に関連するポリメラーゼ・イオタ遺伝子の、配列番号57～69の4個のSNPを表5に開示する。また、配列番号241～244の4個のSNPを表6に開示する。

10

## 【0152】

1 - 6 . SNPの環境的因子または習慣的因子依存性の調査

心筋梗塞と診断され治療を受けた221人の韓国人男性患者からなる疾患群と、心筋梗塞の症状のない192人の韓国人男性からなる正常群とを、それぞれ心筋梗塞に関連した環境的因子または習慣的因子に関する危険度の程度を考慮してサブグループに分類し、対立遺伝子頻度を比較した。結果を表7～12に示した。

## 【0153】

実施例2SNPが固定されたマイクロアレイの調製

選択されたSNPを基板上に固定してマイクロアレイを調製した。すなわち、20個の連続したヌクレオチドを含む配列番号1～60および241～244のヌクレオチド配列のポリヌクレオチドが基板に固定され、各SNP（前記ヌクレオチド配列の101番目の塩基）は、20個のヌクレオチドの11番目に位置した。

20

## 【0154】

まず、各ポリヌクレオチドのN - 末端をアミン基で置換し、前記ポリヌクレオチドを、2 x SSC (pH7.0)のスプレッティングバッファを用いてシリル化スライド (Telchem社製) 上にスプレッティングした。スプレッティング後、乾燥器中で結合を誘導し、0.2% SDS溶液で2分間、3次蒸留水で2分間洗浄して結合していないオリゴヌクレオチドを除去した。スライドの温度を95℃に2分間上昇させて変性を誘導し、ブロッ

30

## 【0155】

実施例3マイクロアレイを利用した心筋梗塞の診断

心筋梗塞の発生または発生可能性を診断するために、実施例の1 - 1および1 - 2に記載の方法を利用して被験者の血液から標的DNAを単離し、蛍光物質で標識した。蛍光標識した標的DNAを、実施例2で調製したマイクロアレイと、UniHybハイブリダイゼーション溶液 (Telchem社製) 中で、42℃で4時間ハイブリダイズさせた。スライドを2回、室温で5分間2 x SSCで洗浄した後、空気中で乾燥させた。乾燥させたスライドをScanArray 5000 (GSI Lumonics社製) を用いてスキャンした。スキャン結果をQuantArray (GSI Lumonics社製) およびImageソフトウェア (BioDiscover社製) を用いて解析した。心筋梗塞の発生の可能性およびそれに対する感受性を、本発明の一実施形態によるSNPを被験者が有しているか否かを同定することによって測定した。

40

## 【0156】

本発明は特にその典型的な実施形態を参照して説明され、記載されてきたが、当業者であれば、以下の特許請求の範囲によって定められた本発明の趣旨および技術的範囲から逸脱することなく、多様な変更および変形が可能であるということを理解することができる



50

であろう。

【配列表】

2008545377000001.app

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/KR2006/001812
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
<i>C12Q 1/68(2006.01)i</i>		
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)		
IPC8 C12Q 1/68		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
NCBI PubMed, NCBI SNP, eKIPASS "myocardial infarction, SNP, etc."		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	NCBI Single Nucleotide Polymorphism, RefSNP ID: rs2148582, NCBI Assay ID: ss20420713 (25 Feb. 2004)	1-20, 34-38
A	NCBI Single Nucleotide Polymorphism, RefSNP ID: rs5050, NCBI Assay ID: ss6494 (29 Jun. 1999)	1-20, 34-38
A	NCBI Single Nucleotide Polymorphism, RefSNP ID: rs7079, NCBI Assay ID: ss16264527 (18 Nov. 2003)	1-20, 34-38
A	NCBI Single Nucleotide Polymorphism, RefSNP ID: rs699, NCBI Assay ID: ss16338660 (12 Dec. 2004)	1-20, 34-38
A	HAGA H, et al., 'Gene-based SNP discovery as part of the Japanese Millennium Genome Project', In: Journal of Human Genetics, Nov. 2002, Vol.47(11), pp.605-610	1-20, 34-38
A	Ranjith N., et al., 'Renin-angiotensin system and associated gene polymorphisms in myocardial infarction', In: Cardiovascular Journal of Southern Africa, Jan.-Feb. 2004, Vol.15(1), pp.22-27	1-20, 34-38
A	Halushka MK, et al., 'Patterns of SNPs in candidate genes for blood-pressure homeostasis', In: Nature Genetics, Jul. 1999, Vol.22(3), 239-247	1-20, 34-38
A	WO 2004/001037 A1 (Nagoya Industrial Science Research Institute, JP) 31 Dec. 2003	1-20, 34-38
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* 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 citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 28 AUGUST 2006 (28.08.2006)		Date of mailing of the international search report <b>28 AUGUST 2006 (28.08.2006)</b>
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office 920 Dunsan-dong, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer SHIN, Kyeong A Telephone No. 82-42-481-5589 

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2006/001812

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material

- a sequence listing  
 table(s) related to the sequence listing

b. format of material

- on paper  
 in electronic form

c. time of filing/furnishing

- contained in the international application as filed  
 filed together with the international application in electronic form  
 furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2006/001812

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: 21-33  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
Claims 21-33 of the present invention pertain to diagnostic methods of the human or animal body. Thus this International Search Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2006/001812

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004/001037 A1	31/12/2003	AU 2003221195 A1 CN 1662651 A EP 1531180 A1 JP 16024036 A2 KR 20050024365 A US 20050260124 A1	06/01/2004 31/08/2005 18/05/2005 29/01/2004 10/03/2005 24/11/2005

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
<b>G 0 1 N 33/15 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/53	D
<b>G 0 1 N 33/50 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/53	M
	G 0 1 N 33/15	Z
	G 0 1 N 33/50	Z

(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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, 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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

- (72)発明者 イ, ヨン - ス  
大韓民国, キョンギ - ド 4 1 1 - 7 0 4, ゴヤン - シ, イルサン - グ, デウ - ドン, ゲンヨン  
ピラ, 1 0 0 3 - 1 0 2 ソンジョ マウル 1 3 - ダンジ
- (72)発明者 キム, ミン - スン  
大韓民国, キョンギ - ド 4 4 5 - 7 6 3, ワソン - シ, ビョンジヨム - ドン, 4 0 3 - 4 0 3  
ジュゴン アパート
- (72)発明者 ソン, オク - キョン  
大韓民国, ソウル 1 3 6 - 0 9 0, ジョンガム - ドン, 1 0 1 - 6 0 5 ククドン アパート
- (72)発明者 イ, モン - ス  
大韓民国, ソウル 1 3 3 - 0 7 0, ソンドン - グ, ヘンダン - ドン, 1 1 0 - 2 1 0 1 ハンシ  
ン ヒュウ アパート
- (72)発明者 キム, キ - エウン  
大韓民国, ソウル 1 3 7 - 7 8 6, セオチョ - グ, セオチョ 4 - ドン, 7 - 1 0 4 サムホ  
アパート
- (72)発明者 ソン, オク - リュウル  
大韓民国, ソウル 1 5 0 - 9 6 6, ヨンデンポ - グ, ヤンピョンドン 4 - ガ, 1 - 8 0 5 ス  
ンウォン アパート
- (72)発明者 ジョン, ヒョ - ジョン  
大韓民国, キョンギ - ド 4 3 0 - 7 5 0, アンヤン - シ, マンナン - グ, アンヤン 9 - ドン,  
2 0 3 - 1 1 0 1 プラザ アパート
- (72)発明者 パク, キュン - ヘ  
大韓民国, ソウル 1 3 5 - 2 8 0, ガンナム - グ, 9 2 7 - 2 8 デチ - ドン
- (72)発明者 アン, テ - ジン  
大韓民国, ソウル 1 3 5 - 2 7 0, ガンナム - グ, 9 5 1 - 7 ドゴク - ドン, 2 0 1 ナクヨ  
ン ジュテク
- (72)発明者 キム, ジェ - ヒュー  
大韓民国, ソウル 1 5 6 - 7 7 5, ドンジャク - グ, サダン 3 - ドン, 2 - 1 3 0 7 デリム  
アパート

Fターム(参考) 2G045 AA25 AA40 BA11 DA12 DA36 DA77 FB02 FB03 FB15  
4B024 AA01 AA11 BA80 CA09 CA11 HA12 HA17  
4B029 AA07 BB20 CC08 FA15  
4B063 QA12 QA18 QA19 QQ43 QR32 QR55 QS34 QX02

专利名称(译)	遗传多态性与心肌梗死的关系及其应用		
公开(公告)号	<a href="#">JP2008545377A</a>	公开(公告)日	2008-12-18
申请号	JP2008511059	申请日	2006-05-15
[标]申请(专利权)人(译)	三星电子株式会社		
申请(专利权)人(译)	三星电子有限公司		
[标]发明人	キムビユンチュル イヨンス キムミンスン ソンオクキョン イモンス キムキエウン ソンオクリュウル ジョンヒョジョン パクキュンヘ アンテジン キムジェヒュー		
发明人	キム,ビユン-チュル イ,ヨンス キム,ミン-スン ソン,オク-キョン イ,モン-ス キム,キ-エウン ソン,オク-リュウル ジョン,ヒョ-ジョン パク,キュン-ヘ アン,テ-ジン キム,ジェ-ヒュー		
IPC分类号	C12N15/09 C12M1/00 C12Q1/68 G01N37/00 G01N33/53 G01N33/15 G01N33/50		
CPC分类号	C12Q1/6883 C12Q2600/136 C12Q2600/156 C12Q2600/172		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N15/00.F C12M1/00.A C12Q1/68.A G01N37/00.102 G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/15.Z G01N33/50.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BA11 2G045/DA12 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB15 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/HA12 4B024/HA17 4B029/AA07 4B029/BB20 4B029/CC08 4B029/FA15 4B063/QA12 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ43 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QS34 4B063/QX02		
优先权	1020050040163 2005-05-13 KR 1020050047195 2005-06-02 KR		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

提供了与心肌梗塞相关的遗传多态性。更具体地，提供了包含与心肌梗塞相关的单核苷酸多态性 ( SNP ) ，与多核苷酸杂交的多核苷酸，由多核苷酸之一编码的多肽，与多肽结合的抗体，微阵列和包括一个的多核苷酸的多核苷酸。多核苷酸，心肌梗塞诊断方法，SNP检测方法和筛选用于心肌梗塞的药物组合物的方法。

(5) 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>C 1 2 M 1/00 (2006.01)</b>	C 1 2 M 15/00 F	4 B O 2 4
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	C 1 2 M 1/00 A	4 B O 2 9
<b>G O 1 N 37/00 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/68 A	4 B O 6 3
	G O 1 N 37/00 I O 2	
	審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 31 頁) 最終頁	

(21) 出願番号	特願2008-511059 (P2008-511059)	(71) 出願人	503447036
(86) (22) 出願日	平成18年5月15日 (2006.5.15)		サムスン エレクトロニクス カンパニー リミテッド
(86) 翻訳文提出日	平成20年1月15日 (2008.1.15)		大韓民国キョンギド、スウォンシントンク、マエタンドン 4 1 6
(86) 国際出願番号	PCT/KR2006/001812	(74) 代理人	110000671
(87) 国際公開番号	W02006/121312		八田国際特許業務法人
(87) 国際公開日	平成18年11月16日 (2006.11.16)		キム、ビュンチュル
(31) 優先権主張番号	10-2005-0040163	(72) 発明者	大韓民国、キョンギド 4 4 5 - 7
(32) 優先日	平成17年5月13日 (2005.5.13)		, ワソンス、ビョンジョムドン、2-1202 ウナム、ファーストヒ
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		
(31) 優先権主張番号	10-2005-0047195		
(32) 優先日	平成17年6月2日 (2005.6.2)		
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		