

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 603 956**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2014** E 14182820 (2)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.10.2016** EP 2843060

54 Título: **Método y programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama**

30 Prioridad:

30.08.2013 JP 2013179877

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

02.03.2017

73 Titular/es:

SYSMEX CORPORATION (50.0%)
5-1, Wakinohama-Kaigandori 1-chome, Chuo-ku,
Kobe-shi,
Hyogo 651-0073, JP y
OSAKA UNIVERSITY (50.0%)

72 Inventor/es:

NOGUCHI, SHINZABUROU;
NAOI, YASUTO;
SOTA, YOSHIKI y
KISHI, KAZUKI

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 603 956 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método y programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama

5 **Campo de la técnica**

La presente invención se refiere a un método y a un programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama. Más específicamente, la presente invención se refiere a un método y a un programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama que es útil para proporcionar información de asistencia al diagnóstico de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

Antecedentes

15 Recientemente, un mayor número de pacientes que se someten a quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama no solo para mejorar la capacidad de adaptación a una cirugía de cáncer de mama avanzado local, sino también para mejorar la capacidad de adaptación a una cirugía conservadora de la mama para un paciente que tiene un tumor o tumores relativamente grandes. También se sabe que un paciente que ha tenido una respuesta patológica completa (en adelante en el presente documento, también denominada "RPC") por quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama tiene un buen pronóstico.

En la actualidad, con frecuencia se realiza una quimioterapia secuencial utilizando taxano y antraciclina en la práctica clínica. Sin embargo, la tasa de RPC (el número de casos que alcanzaron una ROC/el número total de casos que ha recibido quimioterapia) de la quimioterapia secuencial es del 10 al 30 %, que no es necesariamente alta. Además, se informa de que la tasa de RPC es mayor en los casos negativos para receptores de estrógenos (en adelante en el presente documento denominados "ER") cuando se comparan los casos positivos para ER y los casos negativos par ER. Sin embargo, en los casos negativos para ER, la RPC se logra necesariamente en todos los casos mediante una quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama, mientras que en los casos positivos para ER, en ocasiones se alcanza la RPC mediante una quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama. Por lo tanto, existe una demanda de un método capaz de determinar con precisión la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama independientemente de, por ejemplo, la clasificación basada en la positividad para ER y la negatividad para ER.

Como un método para predecir la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se propone, por ejemplo, un método de determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama mediante la medición y el análisis de los niveles de expresión de un grupo de genes especificado utilizando ARN extraído de una muestra recogida de un sujeto (véase, por ejemplo, el documento WO 2011/065533 A). Sin embargo, en el método descrito en el documento WO 2011/065533 A, se utiliza un grupo de genes que incluyen el gen de ER, como grupo de genes que se desea medir.

Por otro lado, Iwamoto T et al. (Gene pathways associated with prognosis and chemotherapy sensitivity in molecular subtypes of breast cancer, Journal of the National Cancer Institute, 2011, Vol. 103, pág. 264–272) divulgan que un grupo de genes implicado en la transducción de la señal del receptor 3 de quimiocinas, un grupo de genes implicado en la transducción de la señal del receptor 5 de quimiocinas, un grupo de genes implicado en la transducción de la señal de la interleucina 8 y similares están relacionados con la responsabilidad de la quimioterapia en el cáncer de mama positivo para ER, del perfil de expresión génica obtenido mediante un análisis exhaustivo de la expresión génica usando una micromatriz de ADN. Sin embargo, no se realiza la determinación predictiva de la sensibilidad utilizando un grupo de genes particularmente especificado.

Asimismo, Schmidt M et al. (The humoral immune system has a key prognostic impact in node–negative breast cancer, Cancer research, 2008, Vol. 68, pág. 5405–5413) divulgan que el metagén de las células B consistente en un grupo de genes asociado con u responsable de células B para el sistema inmunológico humoral es un factor pronóstico para la metástasis de los ganglios linfáticos negativa y cáncer de mama altamente proliferativo. Schmidt M et al. (A comprehensive analysis of human gene expression profiles identifies stromal immunoglobulin kappa C as a compatible prognostic marker in human solid tumors, Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703) divulga que un nivel de expresión del gen de la inmunoglobulina kC se correlaciona con el metagén de células B y es útil para predecir la sensibilidad a la quimioterapia con antraciclina en el cáncer de mama negativo para ER.

Adicionalmente, Teschendorff AE et al. (An immune response gene expression module identifies a good prognosis subtype in estrogen receptor negative breast cancer, Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157) divulga un grupo de genes que consiste en siete genes (genes respectivos de C1QA, XCL2, SPP1, TNFRSF17, LY9, IGLC2 y HLA–F) relacionados con la capacidad de respuesta inmunitaria como marcador pronóstico en los casos de cáncer de mama negativo para ER.

65 El documento WO 2013/014296 A1 divulga un método para predecir una respuesta a la quimioterapia, incluyendo la quimioterapia neoadyuvante, en un paciente que sufre o está en riesgo de desarrollar una enfermedad neoplásica

recurrente, en particular cáncer de mama. Este método se basa en la medición de los niveles de expresión génica (en particular de los genes UBE2C, RACGAP1, DHCR7, STC2, AZGP1, RBBP8, IL6ST y MGP) en muestras tumorales del paciente de cáncer. Sin embargo, esta firma de expresión génica pronóstica está limitada a clasificaciones particulares de cáncer de mama.

5

Sumario de la invención

Sin embargo, los presentes inventores han descubierto que a la hora de predecir, la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se predice utilizando genes o grupos de genes descritos en el documento
 10 WO 2011/065533 A, Schmidt M et al., (Cancer research, 2008, Vol. 68, pág. 5405–5413), Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703) y Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157), la fiabilidad de la determinación con respecto a la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama puede verse afectada en varios especímenes de un grupo de sujetos clasificados en función de la positividad a los ER y la negatividad a los ER o en especímenes de un grupo de sujetos clasificados en base al régimen de quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama, como se describe a
 15 continuación.

Es un objeto de la presente invención proporcionar un método y un programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama capaz de proporcionar información que ayude a un diagnóstico
 20 más preciso tanto de la presencia como la ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama independientemente de los antecedentes del sujeto, tal como la positividad o negatividad a los ER, el régimen de la quimioterapia y similares.

Un aspecto incluye un método para determinar la sensibilidad de un sujeto a la quimioterapia neoadyuvante para el
 25 cáncer de mama que comprende las etapas de:

- (1) preparar una muestra de medición que comprende ARN de un espécimen obtenido del sujeto,
- (2) medir un nivel de expresión de cada gen de (A1) a (A19) a continuación haciendo uso de una muestra de medición obtenida en la etapa (1),
- 30 (3) analizar un nivel de expresión de cada gen medido en la etapa (2), y
- (4) determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de un resultado del análisis obtenido en la etapa (3),
 donde:

- 35 (A1) es un gen de la familia de reclutamiento de la caspasa humana, miembro 9 (CARD9),
- (A2) es un gen de la indoleamina–2,3–dioxigenasa 1 (IDO1),
- (A3) es un gen del ligando 9 (CXCL9) de la quimiocina humana (motivo C-X-C),
- (A4) es un gen de la nucleósido purina fosforilasa (PNP) humana,
- (A5) es un gen del ligando 11 (CXC11) de la quimiocina humana (motivo C-X-C),
- 40 (A6) es un gen de la proteína de unión a CCAAT/potenciador (CEBPB) humana,
- (A7) es un gen de CD83 humano,
- (A8) es un gen del transductor de señal de la interleucina 6 (IL6ST) humana,
- (A9) es un gen del receptor 1 (CX3CR1) de la quimiocina humana (C–X3–C),
- (A10) es un gen de CD1D humano,
- 45 (A11) es un gen de la catepsina C (CTSC) humana,
- (A12) es un gen del ligando 10 (CXC10) de la quimiocina humana (motivo C-X-C),
- (A13) es un gen del isotipo G1 del locus genético de la cadena pesada de inmunoglobulina humana (IGHG1),
- (A14) es un gen de la homeocaja 1 de unión a la caja E del dedo de cinc humano (ZEB1),
- (A15) es un gen del factor A de crecimiento endotelial vascular humano (VEGFA),
- 50 (A16) es un gen del precursor de la semaforina-3C (SEMA3C) humana,
- (A17) es un gen del receptor del complemento humano (CR2),
- (A18) es un gen HFE humano, y
- (A19) es un gen de EDA humano.

55 Otro aspecto incluye un programa de ordenador que hace que un ordenador funcione como sección de control para el análisis de un nivel de expresión de cada ácido nucleico correspondiente a las sondas de (B1) a (B23) a continuación en una muestra de medición que comprende ARN preparado a partir de un espécimen obtenido de un sujeto y para la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de la información obtenida del nivel de expresión, estando la sección de control configurada para ejecutar:
 60

el cálculo de la solución D en base a un discriminante representado por la fórmula (I):

$$D = \sum_i (w_i \times y_i) - 3,327217 \quad (I)$$

(donde i representa un número asignado a cada ácido nucleico mostrado en la Tabla B de manera que corresponda a la SEQ ID NO del polinucleótido diana, w_i representa un factor de ponderación de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla B, y_i representa un nivel de expresión normalizado de ácido nucleico, obteniéndose el nivel de expresión normalizado mediante la normalización de un nivel de expresión de ácido nucleico de acuerdo con la fórmula representada por la fórmula (II):

$$y_i = x_i - m_i \quad (\text{II})$$

(donde, x_i representa un nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla B, y m_i representa un valor medio del nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla B sobre los especímenes) y Σ_i representa una suma total de los respectivos ácidos nucleicos), y la determinación de la sensibilidad que determina sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama cuando la solución D del discriminante es un valor positivo y determina insensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama cuando la solución D es 0 o un valor negativo, donde

(B1) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1,
 (B2) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2,
 (B3) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3,
 (B4) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4,
 (B5) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 5,
 (B6) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 6,
 (B7) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 7,
 (B8) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8,
 (B9) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 9,
 (B10) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 10,
 (B11) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 11,
 (B12) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 12,
 (B13) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 13,
 (B14) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 14,
 (B15) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 15,
 (B16) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 16,
 (B17) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 17,
 (B18) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 18,
 (B19) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 19,
 (B20) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 20,
 (B21) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 21,
 (B22) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 22 y
 (B23) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 23,
 donde la Tabla B es

TABLA B

Número i de ácido nucleico	SEQ ID NO del polinucleótido diana	Factor de ponderación
1	1	2,361579818
2	2	0,527535817
3	3	0,53572137
4	4	1,296736029
5	5	0,437766376
6	6	1,09614395
7	7	1,154132786
8	8	-0,997955474
9	9	-0,84645569
10	10	0,703499669
11	11	1,262066324
12	12	0,481709248
13	13	0,784677171
14	14	-1,056130291
15	15	-0,90152985
16	16	0,941011796
17	17	-0,580145259
18	18	0,797198448
19	19	-0,963860205
20	20	-1,352304026
21	21	-1,231365097
22	22	-0,637818166

Número i de ácido nucleico	SEQ ID NO del polinucleótido diana	Factor de ponderación
23	23	0,449217729

Efectos ventajosos de la invención

5 De acuerdo con el método y el programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama de la presente realización, se exhibe un efecto excelente, tal como la información que ayuda a un diagnóstico más preciso tanto de la presencia como la ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama independientemente de los antecedentes del sujeto, tal como la positividad o negatividad a los ER, el régimen de la quimioterapia y similares.

10 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una vista explicativa esquemática de un aparato para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

15 La figura 2 es un diagrama de bloques que ilustra una configuración funcional del aparato de determinación mostrado en la figura 1.

La figura 3 es un diagrama de bloques que ilustra una configuración de hardware del aparato de determinación mostrado en la figura 1.

La figura 4 es un diagrama de flujo de determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama utilizando el aparato de determinación mostrado en la figura 1.

20 La figura 5 ilustra el resultado del examen de la relación entre el número de conjuntos de sonda y la precisión en el Ejemplo 1.

La figura 6 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado del diagnóstico patológico de un conjunto de entrenamiento en el Ejemplo 1.

25 La figura 7 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado del diagnóstico patológico de un conjunto de validación en el Ejemplo 1.

La figura 8 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado del diagnóstico patológico adquirido en una base de datos en el Ejemplo 2.

30 La figura 9 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos en el Ejemplo 3.

La figura 10 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos en el Ejemplo 4.

35 La figura 11 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido utilizando el nivel de expresión del gen correspondiente a 70 conjuntos de sondas mostrados en las Tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A, y el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 1-1 a 1-6 en el Ejemplo Comparativo 1.

40 La figura 12 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido utilizando el nivel de expresión del gen correspondiente a 70 conjuntos de sondas mostrados en las Tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A, y el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3 en el Ejemplo Comparativo 1.

45 La figura 13 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido utilizando un nivel de expresión del gen correspondiente a 70 conjuntos de sondas mostrados en las Tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A, y el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 3-1 a 3-5 en el Ejemplo Comparativo 1.

50 La figura 14 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413), el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 1-1 a 1-6 en el Ejemplo Comparativo 2.

La figura 15 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413), el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3 en el Ejemplo Comparativo 2.

55 La figura 16 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413), el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 3-1 a 3-5 en el Ejemplo Comparativo 2.

60 La figura 17 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703), y el resultado de diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 1-1 a 1-6 en el Ejemplo Comparativo 3.

La figura 18 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703), y el resultado de diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3 en el Ejemplo Comparativo 3.

5 La figura 19 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 3-1 a 3-5 en el Ejemplo Comparativo 3.

10 La figura 20 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157), el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 1-1 a 1-6 en el Ejemplo Comparativo 4.

15 La figura 21 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157), el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3 en el Ejemplo Comparativo 4.

20 La figura 22 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157), el resultado del diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 3-1 a 3-5 en el Ejemplo Comparativo 4.

Descripción de las realizaciones

25 En un aspecto, el método para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama de acuerdo con la presente realización es un método para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama que comprende las etapas de:

- (1) preparar una muestra de medición que comprende ARN de un espécimen obtenido de un sujeto,
- (2) medir un nivel de expresión de cada gen de (A1) a (A19) a continuación haciendo uso de una muestra de medición obtenida en la etapa (1),
- (3) analizar un nivel de expresión de cada gen medido en la etapa (2), y
- (4) determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de un resultado del análisis obtenido en la etapa (3), donde

- (A1) es un gen de la familia de reclutamiento de la caspasa humana, miembro 9 (CARD9),
- (A2) es un gen de la indoleamina-2,3-dioxigenasa 1 (IDO1),
- (A3) es un gen del ligando 9 (CXCL9) de la quimiocina humana (motivo C-X-C),
- (A4) es un gen de la nucleósido purina fosforilasa (PNP) humana,
- (A5) es un gen del ligando 11 (CXC11) de la quimiocina humana (motivo C-X-C),
- (A6) es un gen de la proteína de unión a CCAAT/potenciador (CEBPB) humana,
- (A7) es un gen de CD83 humano,
- (A8) es un gen del transductor de señal de la interleucina 6 (IL6ST) humana,
- (A9) es un gen del receptor 1 (CX3CR1) de la quimiocina humana (C-X3-C),
- (A10) es un gen de CD1D humano,
- (A11) es un gen de la catepsina C (CTSC) humana,
- (A12) es un gen del ligando 10 (CXC10) de la quimiocina humana (motivo C-X-C),
- (A13) es un gen del isotipo G1 del locus genético de la cadena pesada de inmunoglobulina humana (IGHG1),
- (A14) es un gen de la homeocaja 1 de unión a la caja E del dedo de cinc humano (ZEB1),
- (A15) es un gen del factor A de crecimiento endotelial vascular humano (VEGFA),
- (A16) es un gen del precursor de la semaforina-3C (SEMA3C) humana,
- (A17) es un gen del receptor del complemento humano (CR2),
- (A18) es un gen HFE humano, y
- (A19) es un gen de EDA humano.

55 En una realización particular, el método para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama de acuerdo con la presente realización es un método que incluye las etapas de:

- (I-1) preparar una muestra de medición que incluye ARN de un espécimen obtenido de un sujeto;
- (I-2) medir un nivel de expresión de cada gen de (A1) a (A19) haciendo uso de una muestra de medición obtenida en la etapa (I-1);
- (I-3) analizar el nivel de expresión de cada gen medido en la etapa (I-2), y
- (I-4) determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base del resultado del análisis obtenido en la etapa (I-3) (en adelante en el presente documento también denominado "Método 1"). La etapa (I-2) corresponde a la etapa (1). La etapa (I-3) corresponde a la etapa (2). La etapa (I-4) corresponde a la etapa (3).

En otra realización en particular, el método para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama de acuerdo con la presente realización es un método que incluye las etapas de:

- (II-1) preparar una muestra de medición que incluye ARN de un espécimen obtenido de un sujeto;
 (II-2) medir un nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por las sondas (B1) to (B23) haciendo uso de una muestra de medición obtenida en la etapa (II-1);
 (II-3) analizar el nivel de expresión de cada ácido nucleico medido en la etapa (II-2), y
 (II-4) determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base del resultado del análisis obtenido en la etapa (II-3), donde

(B1) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1,
 (B2) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2,
 (B3) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3,
 (B4) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4,
 (B5) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 5,
 (B6) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 6,
 (B7) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 7,
 (B8) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8,
 (B9) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 9,
 (B10) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 10,
 (B11) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 11,
 (B12) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 12,
 (B13) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 13,
 (B14) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 14,
 (B15) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 15,
 (B16) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 16,
 (B17) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 17,
 (B18) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 18,
 (B19) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 19,
 (B20) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 20,
 (B21) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 21,
 (B22) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 22 y
 (B23) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 23
 (en lo sucesivo en el presente documento también denominado "Método 2"). La etapa (II-2) corresponde a la etapa (1). La etapa (II-3) corresponde a la etapa (2). La etapa (II-4) corresponde a la etapa (3).

En lo sucesivo en el presente documento, "ácido nucleico especificado" abarca cada ácido nucleico detectado por los genes de (A1) a (A19) y las sondas de (B1) a (B23). En lo sucesivo en el presente documento, "un nivel de expresión de un ácido nucleico especificado" abarca un nivel de expresión de cada uno de los genes de (A1) a (A19) y un nivel de expresión de cada uno de los ácidos nucleicos detectados por las sondas de (B1) a (B23).

De acuerdo con el método de acuerdo con la presente realización, tanto la presencia como la ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama en los casos positivos para el ER y la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama en los casos negativos para ER puede determinarse con precisión, ya que en el método, se emplea la operación de medición y análisis de un nivel de expresión de un ácido nucleico especificado. Por lo tanto, de acuerdo con el método de la presente realización, es posible ayudar a un diagnóstico de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama proporcionando a la persona que realiza el diagnóstico (por ejemplo, médico) el resultado de la determinación obtenido como información diagnóstica de ayuda.

Los presentes inventores descubrieron que es posible determinar con precisión la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama con independencia de la clasificación basada en la positividad para ER y la negatividad par ER, la clasificación basada en el régimen de la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama o similar, cuando la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se evalúa sobre la base de un resultado que se obtiene utilizando un conjunto de sondas mostrado en la Tabla 1, cada sonda dirigida a una respectiva de las SEQ ID NOs: 1 a 23 y midiendo un nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por el conjunto de sondas y analizando de forma global los niveles de expresión. La presente invención se ha conseguido sobre la base de este hallazgo.

La "sonda dirigida a polinucleótido" usada en el presente documento hace referencia a una sonda diseñada para el propósito de detectar el polinucleótido. Típicamente, la "sonda dirigida a un polinucleótido" tiene una secuencia parcial del polinucleótido o una secuencia de la secuencia parcial donde uno o varios nucleótidos son diferentes de los de la secuencia de nucleótidos del polinucleótido. La "condición rigurosa" usada en el presente documento hace referencia a la condición que usa habitualmente un experto en la técnica de realización de hibridación de polinucleótidos. La "condición rigurosa" no está particularmente limitada en la medida, en que permite la hibridación entre una sonda y un ácido nucleico que se va a detectar. Se sabe que la rigurosidad de la condición en la

realización de la hibridación es una función de la temperatura, la concentración de sal del tampón de hibridación, la longitud de la cadena de la sonda, el contenido de GC de la secuencia de nucleótidos de la sonda y la concentración del agente caotrópico en el tampón de hibridación y el experto en la técnica puede ajustarla de forma adecuada al considerar estas condiciones. Como condición rigurosa se puede usar, por ejemplo, la condición descrita en

5 Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2ª ed.) (Sambrook, J. et al., 1998, publicado por Cold Spring Harbor Laboratory Press).

La "quimioterapia neoadyuvante" que se utiliza en el presente documento hace referencia a un tratamiento con fármacos anticancerosos realizado en un paciente que sufre cáncer de mama con el fin de reducir el tamaño de los tejidos tumorales y similares antes de una cirugía. El agente utilizado para la quimioterapia neoadyuvante no está particularmente limitado en la medida en que tiene una acción anticancerosa. El agente incluye, por ejemplo, paclitaxel, docetaxel, epirubicina, ciclofosfamida, 5-fluorouracilo, adriamicina, ixabepilona, antraciclina y similares. En la quimioterapia neoadyuvante, se administra a un paciente uno o una combinación de dos o más de estos agentes de acuerdo con un programa de medicación prescrito.

10

15

En el método de acuerdo con la presente realización, primero se prepara una muestra de medición que incluye ARN a partir de un espécimen obtenido de un sujeto (etapa (I-1) del Método 1 y la etapa (II-2) del Método 2).

El espécimen es, preferentemente, un espécimen que incluye células de cáncer de mama obtenido de un sujeto mediante una biopsia preoperatoria. Como ejemplos concretos del espécimen se incluyen un tejido obtenido de un sujeto mediante una biopsia preoperatoria y similar. Como ejemplos de biopsia se incluyen una biopsia de aspiración con aguja fina, una biopsia con aguja gruesa y una biopsia que usa un instrumento de biopsia con aguja gruesa asistida por vacío (por ejemplo, producto de Johnson & Johnson KK, nombre comercial: Mammotome (nombre comercial registrado)) (denominada "biopsia de Mammotome"). Entre ellos, se prefiere la biopsia de Mammotome, ya que se puede obtener fácilmente un espécimen con carga baja. El ARN de un espécimen se puede extraer mediante un método conocido. La extracción de ARN de un espécimen puede llevarse a cabo utilizando un kit comercialmente disponible para la extracción de RNA. Los ejemplos del kit disponible comercialmente incluyen kit cuyo nombre comercial es Trizol (nombre comercial registrado) fabricado por Invitrogen, el kit cuyo nombre comercial es Qiagen RNeasy (nombre comercial registrado) fabricado por Qiagen, y similares.

20

25

30

A continuación, se prepara una muestra para medida adecuada para la medición de un nivel de expresión de un gen, es decir, una cantidad de producción de un transcrito (ARNm) correspondiente al gen o similar. Por ejemplo, cuando un nivel de expresión de un ácido nucleico especificado se cuantifica mediante RT-PCR, el ARNm que se purifica a partir del ARN extraído como se ha descrito anteriormente, o el propio ARN extraído como se ha descrito anteriormente, se puede usar como una muestra para medida. El ARNm se puede purificar mediante un método de purificación conocido. Para la purificación del ARNm, puede usarse un kit de purificación disponible en el mercado. Por otro lado, cuando un nivel de expresión de un ácido nucleico especificado se cuantifica mediante una micromatriz, una muestra de medida se puede adquirir mediante la preparación del ADNc o ARNc correspondiente con el uso del ARN extraído.

35

40

El "ADNc" usado en el presente documento incluye no solo el ADN generado mediante transcripción inversa a partir del ARNm, sino también una cadena complementaria del ADN, y el ADN de doble cadena del ADNc y una cadena complementaria de ADNc. La amplificación del ADNc puede llevarse a cabo mediante un método conocido. Para la amplificación del ADNc, se pueden usar un kit disponible en el mercado para la amplificación del ADNc y un dispositivo de amplificación de ácido nucleico. Aquí, entre los ejemplos del kit disponible en el mercado se incluyen el kit cuyo nombre comercial se WT-Ovation™ FFPE System V2 fabricado por NuGEN Technologies.

45

El ARNc se puede sintetizar a partir de ADNc que sufre transcripción inversa a partir de ARNm, mediante reacción de transcripción *in vitro* (IVT) utilizando ARN polimerasa dependiente de ADN. La ARN polimerasa dependiente de ADN incluye, por ejemplo, la ARN polimerasa de T7 y similares, pero la presente invención no se limita a tales ejemplos. Antes de la aplicación a una micromatriz, el ARNc sintetizado puede purificar según sea necesario. Para la purificación ARNc se puede usar un método conocido en la técnica, tal como precipitación con etanol, o un kit de purificación de ácido nucleico disponible en el mercado. Adicionalmente, para facilitar la hibridación entre un ARNc y una sonda en una micromatriz, el ARNc se puede fragmentar. La fragmentación del ARNc puede llevarse a cabo mediante un método conocido en la técnica. Tal método incluye, por ejemplo, un método de calentamiento en presencia de ion metálico, un método de uso de enzimas, tal como la ribonucleasa, y similares, pero la presente invención no está limitada a estos ejemplos.

50

55

En el método descrito a continuación para la detección de ácido nucleico mediante una micromatriz, cuando se miden la formación de un híbrido entre ADNc o ARNc en la muestra para medida y una sonda mediante la detección de fluorescencia, color, radiación o similares, se prefiere marcar el ADNc o ARNc con una sustancia de marcaje, tal como una sustancia que genera una señal detectable, o una sustancia capaz de unirse a una sustancia que genera una señal detectable. La sustancia de marcaje puede ser cualquier sustancia usada de forma habitual en la técnica, e incluye, por ejemplo, sustancias fluorescentes tales como Cy3, Cy5, Alexa Fluor (nombre comercial registrado), e isotiocianato de fluoresceína (FITC); haptenos tales como biotina; sustancias radiactivas, y similares, pero la presente invención no está limitada a estos ejemplos. El método para el marcaje del ADNc o el ARNc con la

60

65

sustancia de marcaje se conoce en la técnica. Por ejemplo, mediante la mezcla de ribonucleótido biotinilado o desoxirribonucleótido biotinilado como sustrato en el líquido de reacción en la etapa de síntesis de ARNc o ARNc, es posible sintetizar ADNc marcado con biotina o ARNc marcado con biotina.

- 5 A continuación, se mide un nivel de expresión de un ácido nucleico especificado utilizando la muestra para la medida resultante (etapa (I-2) del Método 1 y la etapa (II-2) del Método 2).

10 En la etapa (I-2) del Método 1 y la etapa (II-2) del Método 2, se puede medir un nivel de expresión de un ácido nucleico especificado mediante, por ejemplo, una micromatriz, RT-PCR cuantitativa, PCR cuantitativa, análisis de transferencia de tipo Northern o similares. Entre ellos, se prefiere medir utilizando una micromatriz, ya que permite la medición rápida y sencilla de un nivel de expresión de un ácido nucleico especificado. Aquí, el "nivel de expresión de un ácido nucleico especificado" incluye el número de copias del ácido nucleico especificado contenido en la muestra para medida, la concentración del ácido nucleico especificada en la muestra para medida o un valor que indica el número de copias del ácido nucleico especificado o la concentración del ácido nucleico especificado. El valor que indica el número de copias del ácido nucleico especificado o la concentración del ácido nucleico especificado incluye, por ejemplo, la intensidad de la fluorescencia que se mide después de aplicar la muestra para medida en la micromatriz y permitir después que el ácido nucleico especificado y la sonda en la micromatriz hibriden con ellas, y similares, pero la presente invención no está limitada a estos ejemplos.

20 La medición del nivel de expresión del ácido nucleico especificado mediante una micromatriz puede llevarse a cabo utilizando un método conocido. En concreto, utilizando, por ejemplo, Human Genome U133 Plus 2.0 Array (nombre comercial) fabricado por Affymetrix, Inc., que es una micromatriz capaz de analizar la expresión de genoma humano, es posible medir el nivel de expresión del ácido nucleico especificado en una vez. En concreto, el ácido nucleico especificado puede detectarse poniendo la muestra para medida en contacto con la micromatriz e hibridando el ARNc o ARNc en la muestra para medida con la sonda en la micromatriz.

30 La micromatriz usada en el método de acuerdo con la presente realización no está particularmente limitada en cuanto a que las sondas de (B1) a (B23) descritas a continuación están dispuestas sobre un material de base. La micromatriz es, preferentemente, una micromatriz de ADN (chip de ADN). Como tal micromatriz, son ejemplos las micromatrices preparadas mediante un método conocido en la técnica y las micromatrices comercialmente disponibles.

35 El contacto entre la muestra para medida y la micromatriz se puede lograr mediante la adición de la muestra para medida a la micromatriz. En este caso, la muestra para medida puede usarse como dilución obtenida mediante la cuantificación de la concentración de ácido nucleico en la muestra para medida y la dilución de la muestra para medida de manera que la concentración de ácido nucleico sea una concentración adecuada para la detección mediante la micromatriz. El contacto entre la muestra para medida y la micromatriz puede realizarse, por lo general, a aproximadamente 10 a 70 °C durante de 2 a 20 horas, dependiendo del tipo de micromatriz que se esté usando. Para el contacto entre la muestra para medida y la micromatriz, se puede usar Hybridization Oven 640 (nombre comercial) fabricado por Affymetrix, Inc. o similares.

45 Adicionalmente, después del contacto con la muestra para medida, se pueden realizar tinción de ADNc o ARNc que está inmovilizado sobre el material de base de la micromatriz a través de la sonda y lavado de la micromatriz. Por ejemplo, cuando el ADNc o ARNc correspondiente al ácido nucleico especificada en la muestra para medida se marca con biotina, es posible teñir el ADNc o ARNc hibridado con la sonda de la micromatriz mediante la unión de una sustancia fluorescente o similar marcada con avidina o estreptavidina a la biotina. La sustancia fluorescente incluye, por ejemplo, FITC, Alexa Fluor (marca comercial), proteína verde fluorescente (GFP), luciferina, ficoeritrina, y similares, pero la presente invención no está limitada a estos ejemplos. En la presente realización, después de unir la avidina o la estreptavidina con biotina, se pone en contacto un anticuerpo capaz de unirse con la avidina o estreptavidina, que está marcado con una sustancia fluorescente o similar con la micromatriz y, por lo tanto, se puede teñir el ácido nucleico hibridado con la sonda, que se va a medir. La tinción y el lavado de la micromatriz puede llevarse a cabo utilizando un aparato de lavado y tinción, de micromatriz, nombre comercial: Fluidic Station 450, fabricado por Affymetrix, Inc. o similares.

55 La familia del dominio de reclutamiento de la caspasa humana, gen miembro 9 (CARD9) de (A1) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: NM_022352.

60 El gen de la indoleamina-2,3-dioxigenasa humana 1 (IDO1) de (A2) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: M34455.

El gen del ligando 9 de la quimiocina humana (motivo C-X-C) (CXCL9) de (A3) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: NM_002416.

65 El gen de la purina nucleósido fosforilasa (PNP) humana de (A4) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: NM_000270.

ES 2 603 956 T3

- El gen del ligando 11 de la quimiocina humana (motivo C-X-C) (CXCL11) de (A5) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: AF002985 o AF030514.
- 5 El gen de la proteína de unión a CCAAT/potenciador humana (CEBPBP) de (A6) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: AL564683.
- El gen de CD83 humana de (A7) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: NM_004233.
- 10 El gen transductor de la señal de la interleucina 6 humana (IL6ST) de (A8) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: NM_002184, AB015706 o BE856546.
- El gen del receptor 1 de la quimiocina humana (motivo C-X3-C) (CXCR1) de (A9) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: U20350.
- 15 El gen de CD1D humana de (A10) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: NM_001766.
- El gen de la catepsina (CTSC) humana de (A11) tiene secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: NM_001814.
- 20 El gen del ligando 10 de la quimiocina humana (motivo C-X-C) (CXCL10) de (A12) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: NM_001565.
- 25 El gen del isotipo G1 del locus genético de la cadena pesada de la inmunoglobulina humana (IGHG1) de (A13) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: AJ275397.
- El gen de la homeocaja 1 de unión a la caja E del dedo de cinc (ZEB1) humano de (A14) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: AI373166 o U12170.
- 30 El gen del factor A de crecimiento endotelial vascular (VEGFA) humano de (A15) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: AF022375.
- El gen del precursor de la semaforina-3c (SEMA3C) humana de (A16) tiene secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: AI962897.
- 35 El gen del receptor del complemento humano (CR2) de (A17) tiene una secuencia correspondiente al gen del receptor del complemento humano (CR2) (GenBank número de acceso: NM_001877).
- 40 El gen de HFE humana de (A18) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: AF144243.
- El gen de EDA humana de (A19) tiene una secuencia correspondiente al número de acceso en GenBank: NM_001399.
- 45 El gen (A1) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1.
- El gen (A2) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2.
- 50 El gen (A3) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3.
- El gen (A4) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4.
- 55 El gen (A5) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 5 o SEC ID N° 23.
- 60 El gen (A6) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 6.
- El gen (A7) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 7.
- 65

ES 2 603 956 T3

- El gen (A8) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8, SEC ID N° 14 o SEC ID N° 19.
- 5 El gen (A9) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 9.
- El gen (A10) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 10.
- 10 El gen (A11) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 11.
- El gen (A12) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 12.
- 15 El gen (A13) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 13.
- El gen (A14) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 15 o SEC ID N° 22.
- 20 El gen (A15) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 16.
- 25 El gen (A16) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 17.
- El gen (A17) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 18.
- 30 El gen (A18) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 20.
- El gen (A19) incluye un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 21.
- 35 La sonda de (B1) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 1 o una secuencia complementaria de la misma.
- 40 La sonda de (B2) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 2 o una secuencia complementaria de la misma.
- 45 La sonda de (B3) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 3 o una secuencia complementaria de la misma.
- La sonda de (B4) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 4 o una secuencia complementaria de la misma.
- 50 La sonda de (B5) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 5. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 5 o una secuencia complementaria de la misma.
- 55 La sonda de (B6) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 6. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 6 o una secuencia complementaria de la misma.
- 60 La sonda de (B7) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 7. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 7 o una secuencia complementaria de la misma.
- 65 La sonda de (B8) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 8 o una secuencia

complementaria de la misma.

La sonda de (B9) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 9. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 9 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B10) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 10. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 10 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B11) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 11. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 11 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B12) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 12. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 12 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B13) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 13. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 13 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B14) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 14. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 14 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B15) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 15. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 15 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B16) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 16. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 16 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B17) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 17. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 17 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B18) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 18. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 18 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B19) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 19. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 19 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B20) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 20. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 20 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B21) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 21. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 21 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B22) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 22. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 22 o una secuencia complementaria de la misma.

La sonda de (B23) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 23. La sonda tiene una secuencia parcial de una secuencia de nucleótidos de Q ID NO: 23 o una secuencia complementaria de la misma.

La longitud de las sondas de (B1) a (B23), normalmente tiene una longitud de 10 a 60 nucleótidos y tiene una longitud de 15 a 50 nucleótidos desde el punto de vista de la determinación de la presencia o ausencia de la insensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama con más precisión.

En la presente invención, se prefiere medir un nivel de expresión del ácido nucleico especificado utilizando un conjunto de sondas mostrada en la Tabla 1 desde el punto de vista de la determinación de la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama con precisión.

5

TABLA 1

Número de ácido nucleico que se va a medir	ID del conjunto de sondas	Secuencia de nucleótidos del polinucleótido al que está dirigida la sonda	Secuencia de nucleótidos de la sonda
1	220162_s_at	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:24~34
2	210029_at	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:35~45
3	203915_at	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:46~56
4	201695_s_at	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:57~67
5	211122_s_at	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:68~78
6	212501_at	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:79~89
7	204440_at	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:90~100
8	204864_s_at	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:101~111
9	205898_at	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:112~122
10	205789_at	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:123~133
11	201487_at	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:134~144
12	204533_at	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:145~155
13	216541_x_at	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:156~166
14	211000_s_at	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:167~177
15	212758_s_at	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:178~188
16	210512_s_at	SEQ ID NO:16	SEQ ID NO:189~199
17	203788_s_at	SEQ ID NO:17	SEQ ID NO:200~210
18	205544_s_at	SEQ ID NO:18	SEQ ID NO:211~221,
19	204863_s_at	SEQ ID NO:19	SEQ ID NO:222~232
20	211331_x_at	SEQ ID NO:20	SEQ ID NO:233~243
21	206217_at	SEQ ID NO:21	SEQ ID NO:244~254
22	210875_s_at	SEQ ID NO:22	SEQ ID NO:255~265
23	210163_at	SEQ ID NO:23	SEQ ID NO:266~276

En la Tabla 1, "ID del conjunto de sondas" representa un número de identificación asignado a cada conjunto de sondas compuestos por de 11 a 20 sondas inmovilizadas sobre el material de base en una matriz de análisis de la expresión del genoma humano (nombre comercial: Human Genome U133 Plus 2.0 Array) fabricado por Affymetrix, Inc. Cada conjunto de sondas incluye sondas que tienen secuencias de nucleótidos de las SEQ ID NOs mostradas en la Tabla 1.

10

A continuación, un nivel de expresión del ácido nucleico especificado se analiza (etapa (I-3) del Método 1 y etapa (II-3) del Método 2). A continuación, basándose en el resultado del análisis obtenido, se determina la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama (etapa (I-3) del Método 1 y etapa (II-3) del Método 2).

15

En la etapa (I-3) del Método 1 y la etapa (II-3) del Método 2, un nivel de expresión del ácido nucleico especificado se puede analizar mediante, por ejemplo, una técnica de clasificación, una técnica de puntuación, una técnica de análisis de grupos y similares.

20

Como la técnica de clasificación se puede usar un método conocido. Entre los ejemplos de tal técnica de clasificación se incluyen el análisis discriminante lineal diagonal (DLDA), análisis de grupos (BGA), máquina de vectores de soporte (SVM), clasificación k de vecinos más cercanos (kNN), árbol de decisiones, selvas aleatorias, red neural y similares. Entre ellos, desde el punto de vista de la capacidad para determinar la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama con una simple operación de vista, se prefiere el DLDA. Cuando se analiza un nivel de expresión mediante una técnica de clasificación de este tipo, los especímenes se clasifican en especímenes que son sensibles a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama y los especímenes que son insensibles sobre la base del nivel de expresión. Por lo tanto, en este caso, en la etapa (1-3) del Método 1 y la etapa (II-3) del Método 2, la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el

25

30

cáncer de mama se puede determinar de acuerdo con el resultado de la clasificación. Cuando el análisis de un nivel de expresión del ácido nucleico especificado se lleva a cabo mediante DLDA, que es una técnica de clasificación en la etapa (I-3) del Método 1 y la etapa (II-3) del Método 2, se puede usar un discriminante construido utilizando DLDA. Como discriminante, se pueden citar un discriminante representado por la fórmula (I):

35

$$D = \sum_i (w_i \times y_i) - 3,327217 \quad (I)$$

(donde i representa un número asignado a cada ácido nucleico mostrado en la Tabla 2, w_i representa un factor de ponderación de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla 2, y_i representa un nivel de expresión normalizado de ácido nucleico, obteniéndose el nivel de expresión normalizado mediante la normalización de un nivel de expresión de ácido nucleico de acuerdo con la fórmula representada por la fórmula (II):

5

$$y_i = x_i - m_i \quad (\text{II})$$

(donde, x_i representa un nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla 2, y m_i representa un valor medio del nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla 2 sobre los especímenes) y Σ_i representa la suma total de los respectivos ácidos nucleicos).

10

TABLA 2

Número de ácido nucleico que se va a medir	Factor de ponderación
1	2,36157982
2	0,52753582
3	0,53572137
4	1,29673603
5	0,43776638
6	1,09614395
7	1,15413279
8	-0,9979555
9	-0,8464557
10	0,0349967
11	1,26206632
12	0,48170925
13	0,78467717
14	-1,0561303
15	-0,9015298
16	0,9410118
17	-0,5801453
18	0,79719845
19	-0,9638602
20	-1,352304
21	-1,2313651
22	-0,6378182
23	0,44921773

15

En el análisis de un nivel de expresión de cada ácido nucleico con un uso del discriminante representado por la fórmula (I), un valor de nivel de expresión del ácido nucleico en un espécimen se sustituye de forma secuencial para x_i ($i = 1, 2, \dots, 23$) en el discriminante representado por la fórmula (I), para encontrar de esta manera la solución D. En este caso, en la etapa (D), se puede realizar una determinación de ser sensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama cuando la solución D es un valor positivo, y se puede realizar una determinación de ser insensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama cuando la solución D es cero o un valor negativo.

20

Como se ha descrito anteriormente, de acuerdo con el método de la presente realización, puesto que se usa la operación de medición y análisis de un nivel de expresión del ácido nucleico especificado, es posible determinar con precisión tanto la presencia como la ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama en los casos positivos para ER y la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama en los casos negativo para ER. Por lo tanto, el método de acuerdo con la presente realización es capaz de determinar la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama con independencia de la clasificación del sujeto, y, por lo tanto, es adecuado para proporcionar información para ayudar a la decisión de si la ejecución de quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama es información adaptable y más apropiada para la optimización de la terapia.

25

30

La determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama como se ha descrito anteriormente se puede realizar, por ejemplo, mediante un aparato de determinación 1 mostrado en la figura. 1. De aquí en adelante, un aparato de determinación que se puede usar para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se describirá con más detalle con referencia a los dibujos adjuntos, sin embargo, cabe señalar que los métodos de la presente invención no se limitan a dicha realización. La figura 1 es un diagrama esquemático de un aparato de determinación a modo de ejemplo para la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama. El aparato de determinación 1 ilustra en la figura 1 incluye un dispositivo de medición 2 y un sistema de ordenador 3 conectado con el dispositivo de medición 2.

35

El dispositivo de medición 2 puede ser un escáner de micromatriz que detecta una señal basada en el ácido nucleico especificado unido a una sonda en una micromatriz. La señal puede ser información óptica. La información óptica incluye, por ejemplo, una señal fluorescente, y similares. En este caso, como la micromatriz después del contacto con la muestra para medida se encuentra en el dispositivo de medición 2, el dispositivo de medición 2 adquiere información óptica basada en el ácido nucleico especificado unido a la sonda en la micromatriz y transmite la información óptica resultante al sistema de ordenador 3.

El escáner de micromatriz solo es necesario para ser capaz de detectar una señal basada en el ácido nucleico especificado. Puesto que la señal basada en el ácido nucleico especificado difiere dependiendo de la sustancia de marcaje utilizada para marcar el ADNc o el ARNc en la muestra para medida, como el escáner de micromatriz, el apropiado para detectar una señal derivada de una cierta sustancia de marcaje se puede seleccionar apropiadamente dependiendo del tipo de sustancia de marcaje. Por ejemplo, cuando la sustancia de marcaje es una sustancia radiactiva, se puede un escáner de micromatriz capaz de detectar la radiación resultante de la sustancia radiactiva se como dispositivo de medición 2.

Cuando se detecta un nivel de expresión del gen mediante un método de amplificación de ácido nucleico, el dispositivo de medición 2 puede ser un dispositivo de detección de amplificación del ácido nucleico. En este caso, un líquido de reacción que incluye una muestra para medida, la enzima para la amplificación de ácido nucleico, los cebadores y similares se fijan en el dispositivo de medición 2. A continuación, el ácido nucleico en el líquido de reacción se amplifica mediante el método de amplificación de ácido nucleico. El dispositivo de medición 2 adquiere información óptica, tal como fluorescencia derivada del líquido de reacción mediante reacción de amplificación, y la turbidez del líquido de reacción, y transmite la información óptica al sistema de ordenador 3.

El sistema de ordenador 3 incluye un ordenador principal 3a, un dispositivo de entrada 3b y una sección de visualización 3c para visualizar la información del espécimen, el resultado de la determinación y similares. El sistema de ordenador 3 recibe información óptica desde el dispositivo de medición 2. A continuación, un procesador del sistema de ordenador 3 ejecuta un programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de la información óptica.

La figura 2 es un diagrama de bloques que muestra una configuración funcional del aparato de determinación mostrado en la figura 1.

Como se muestra en la figura. 2, el sistema de ordenador 3 incluye una sección de adquisición 301, una sección de almacenamiento 302, una sección de cálculo 303, una sección de determinación 304, y una sección de salida 305. La sección de adquisición 301 está conectada en comunicación con el dispositivo de medición 2 a través de una red. La sección de cálculo 303 y la sección de determinación 304 forman una sección de control 306.

La sección de adquisición de 301 adquiere información transmitida desde el dispositivo de medición 2. La sección de almacenamiento 302 almacena el discriminantes representado por la fórmula (I) y un criterio de determinación. La sección de cálculo 303 calcula la solución D del discriminante de acuerdo con el discriminante almacenado en la sección de almacenamiento 302 utilizando la información adquirida en la sección de adquisición de 301. La sección de determinación 304 determina la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de la solución D calculado por la sección de cálculo 303 y el criterio de determinación almacenado en la sección de almacenamiento 302. La sección de salida 305 proporciona un resultado de la determinación a través de la sección de determinación 304.

La figura 3 es un diagrama de bloques que ilustra una configuración de hardware del aparato de determinación mostrado en la figura 1.

Como se muestra en la figura 3, el ordenador principal 3a incluye una CPU (unidad central de procesamiento) 30, una memoria ROM (memoria de solo lectura) 31, una memoria RAM (memoria de acceso aleatorio) 32, un disco duro 33, una interfaz de I/O 34, un dispositivo de lectura 35, una interfaz de comunicación 36 y una interfaz de salida de imagen 37. La CPU 30, la ROM 31, la RAM 32, el disco duro 33, la interfaz E/S 34, el dispositivo de lectura 35, la interfaz de comunicación 36 y la interfaz de salida de imagen 37 están conectados por un bus 38 de un modo de comunicación de datos.

La CPU 30 es capaz de ejecutar un programa de ordenador almacenado en la ROM 31 y un programa de ordenador cargado en la memoria RAM 32. La CPU 30 ejecuta un programa de aplicación para realizar cada bloque funcional como se ha descrito anteriormente. Como resultado, el sistema de ordenador funciona como terminal del dispositivo para determinar la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

La ROM 31 está formada por una ROM de máscara, una PROM, una EPROM, una EEPROM o similar. La ROM 31 almacena un programa de ordenador para su ejecución por la CPU 30 y los datos utilizados para ello.

La RAM 32 está formada por una SRAM, una DRAM o similares. La RAM 32 se utiliza para la lectura de un programa de ordenador almacenado en la ROM 31 y el disco duro 33. La RAM 32 también se utiliza como espacio

de trabajo para la CPU 30 en la ejecución de estos programas de ordenador.

En el disco duro 33 se instalan un sistema de operación para su ejecución por la CPU 30, programas de ordenador, tales como un programa de aplicación (programa de ordenador para determinar la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama), y los datos utilizados para la ejecución del equipo.

El dispositivo de lectura 35 está formado por una unidad de disco flexible, una unidad de CD-ROM, una unidad de DVD-ROM o similar. El dispositivo de lectura 35 puede leer un programa de ordenador o los datos almacenados en un medio de grabación portátil 40.

La interfaz E/S 34 está compuesta por, por ejemplo, interfaces en serie, tales como USB, IEEE1394, y RS-232C, interfaces paralelas, tales como SCSI, IDE, y IEEE1284, e interfaces analógicas formadas por un convertidor D/A, una convertidor A/D o similar. A la interfaz de I/O 34 se conecta el dispositivo de entrada 3b, tal como un teclado o un ratón. Un operador puede introducir datos en el ordenador principal 3a usando el dispositivo de entrada 3b.

La interfaz de comunicación 36 es, por ejemplo, una red Ethernet (nombre comercial registrado). La interfaz de comunicación 36 permite que el sistema de ordenador 3 transmita los datos de impresión a una impresora.

La interfaz de salida de imagen 37 está conectada a la sección de visualización 3c formada por un LCD, un CRT o similar. Como resultado, la sección de visualización 3c es capaz de emitir una señal de vídeo correspondiente a los datos de imagen dadas desde la CPU 30. La sección de visualización 3c muestra una imagen (pantalla) de acuerdo con la señal de vídeo de entrada.

A continuación, se describirá un procedimiento de procesamiento para la determinación de la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama por el aparato de determinación 1. La figura 4 es un diagrama de flujo de la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama utilizando el aparato de determinación mostrado en la figura. 1. Aquí, se realizará la descripción, con el caso de la realización de la determinación utilizando la información de fluorescencia basada en un ácido nucleico que se va a medir unido a una sonda en una micromatriz que se pone en contacto con una muestra para medida como ejemplo, pero la presente invención no está limitada únicamente a esta realización.

En primer lugar, en la etapa S1-1, la sección de adquisición 301 del aparato de determinación 1 adquiere información de fluorescencia desde el dispositivo de medición 2. Después, en la etapa S1-2, la sección de cálculo 303 calcula la intensidad de la fluorescencia a partir de la información de fluorescencia adquirida por la sección de adquisición de 301 y la transmite a la sección de almacenamiento 302.

A continuación, en la etapa S1-3, la sección de cálculo 303 calcula la solución D de fórmula (I) sobre la base de la intensidad de fluorescencia almacenada en la sección de almacenamiento 302 según el discriminante (I) representado por la fórmula (I) almacenada en el sección de almacenamiento 302.

A continuación, en la etapa S1-4, la sección de determinación 304 determina la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama (es decir, la sensibilidad y la insensibilidad) utilizando el valor de la solución D calculado en la sección de cálculo 303 y el criterio de determinación almacenado en la sección de almacenamiento 302.

En el presente documento, cuando la solución D es un número positivo, el proceso avanza a la etapa S1-4, y la sección de determinación 304 transmite un resultado de determinación indicativo de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama a la sección de salida 305. Por otro lado, cuando la solución D es 0 o un número negativo, se transmite un resultado de la determinación indicativo de insensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama a la sección de salida 305.

Después, en la etapa S1-7, la sección de salida 305 da salida a un resultado de la determinación que la sección de visualización 3c muestre el resultado o para hacer que una impresora imprima el resultado. Como resultado, es posible proporcionar información que ayude a un médico a decidir si el sujeto es sensible o insensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

Estas etapas pueden llevarse a cabo utilizando un programa de ordenador haciendo que un ordenador funcione como sección de control para el análisis de un nivel de expresión de cada ácido nucleico correspondiente a las sondas de (B1) a (B23) descritas anteriormente en una muestra para medida que comprende ARN preparado a partir de un espécimen obtenido de un sujeto y la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de la información obtenida del nivel de expresión, estando la sección de control configurada para ejecutar el cálculo de la solución D en base a un discriminante representado por la fórmula (I) anterior y la determinación de la sensibilidad que efectúa una determinación de ser sensible a quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama cuando la solución D del discriminante es un valor positivo y efectúa una determinación de ser insensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama cuando la solución D es 0

o un valor negativo. El programa de ordenador se proporciona como medio de grabación que almacena el programa de ordenador o datos.

5 El método y el programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama previstos en el presente documento implican la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de un análisis del nivel de expresión de al menos cada uno de los genes (A1) a (A19) descritos en el presente documento. En realizaciones concretas, el método y el programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama previstos en el presente documento implican la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de un análisis del nivel de expresión de solo los genes (A1) a (A19) descritos en el presente documento. En realizaciones concretas adicionales, el método y el programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama previstos en el presente documento implican la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de un análisis del nivel de expresión de los genes que solo usan las sondas (B1) a (B23) descritas en el presente documento. En realizaciones concretas, el método y el programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama previstos en el presente documento implican la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de un análisis del nivel de expresión de solo los genes usando las sondas de SEQ ID NO: 24 a 272 descritas en el presente documento. En realizaciones concretas adicionales, el método y el programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama previstos en el presente documento implican la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de un análisis del nivel de expresión de solo los genes usando únicamente las sondas correspondientes a las SEQ ID NO: 24 a 272 descritas en el presente documento.

25 Ejemplos

25 En lo sucesivo, la presente invención se describirá con detalle a modo de ejemplos que no limitarán la presente invención. En los siguientes ejemplos y similares, un procesamiento previo (normalización) de los datos de un archivo CEL se llevó a cabo utilizando un algoritmo estadístico de RMA de software de análisis (nombre comercial: Software Affymetrix Expression Console, fabricado por Affymetrix, Inc.) a menos que se especifique lo contrario. 30 Cualquier otro análisis se realizó utilizando el software de análisis estadístico R (<http://www.r-project.org/>) y el software de análisis estadístico Bioconductor (<http://www.bioconductor.org/>).

Ejemplo 1

35 (1) Obtención de especímenes de los sujetos

De cada uno de los 117 pacientes con cáncer de mama que recibieron quimioterapia neoadyuvante en el Hospital Universitario de Osaka, en el período del 2002 a 2010, se obtuvo un espécimen que incluía una célula de cáncer de mama utilizando un instrumento biopsia con aguja gruesa asistida por vacío conectado con una aguja de obtención (tamaño 8G) (fabricado por Johnson & Johnson KK, nombre comercial: Mammotome (nombre comercial registrado)). Inmediatamente después de la obtención de un espécimen, el espécimen se introdujo en nitrógeno líquido y se almacenó a -80 °C hasta su uso.

45 (2) Clasificación de los sujetos

Después de la obtención de los especímenes anteriores (1), los 117 pacientes recibieron, como quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama, la administración de 80 mg/m² de paclitaxel una vez a la semana durante 12 semanas, seguido de un total de cuatro veces las administraciones de 75 mg/m² de epirubicina, 500 mg/m² de ciclofosfamida y 500 mg/m² de 5-fluorouracilo (5-FU) cada tres semanas.

50 A continuación, el diagnóstico de la enfermedad y la determinación del efecto de los agentes anticancerosos se llevaron a cabo mediante un análisis histopatológico y los 117 pacientes se clasificaron en un grupo de respuesta patológica completa (grupo RPC) y un grupo de respuesta no completa (grupo RPNC). La "RPC" hace referencia al estado en que un tumor desaparece por completo o un tumor permanece solo en un conducto mamario sin sitio de la infiltración y sin metástasis en los ganglios linfáticos. La "RPNC" hace referencia a otros estados distintos de la RPC.

(3) Extracción de ARN a partir de un espécimen y preparación de ADNc

60 De un espécimen obtenido en el punto (1) anterior (aproximadamente 20 mg), se extrajo el ARN utilizando un reactivo de extracción del ARN (nombre comercial: TRIzol (nombre comercial registrado) fabricado por Invitrogen, o nombre comercial: RNeasy mini kit fabricado por QIAGEN Sciences), dando de este modo una muestra de ARN.

65 Usando la muestra de de ARN (equivalente a 50 ng de ARN) y un cebador aleatorio unido a un kit de amplificación del transcrito (nombre comercial: WT-Ovation FFPE System V2, fabricado por NuGEN Technologies), se sintetizaron el ADNc de primera cadena y el ADN de segunda cadena y, después, se amplificó el ADNc mediante la técnica de amplificación Ribo-SPIA™. De esta manera, se obtuvieron 117 tipos de ADNc correspondientes a los

especímenes de 117 casos.

(4) Análisis de la expresión génica

- 5 Usando un reactivo para la fragmentación y marcaje (nombre comercial: FL-Ovation™ cDNA Biotin Module V2, fabricado por NuGEN Technologies), el ADNc obtenido en el punto (3) anterior se marcó con biotina y se fragmentó.

10 El ADNc marcado con biotina fragmentado resultante se dejó hibridar con ácido nucleico (conjunto de sondas) en una matriz para el análisis de la expresión del genoma humano (nombre comercial: Human Genome U133 Plus 2,0 Array) fabricado por Affymetrix, Inc.) durante la noche. La hibridación entre el ADNc fragmentado marcado con biotina y el ácido nucleico (conjunto de sondas) en la matriz se llevó a cabo de acuerdo con las condiciones recomendadas por el fabricante (Affymetrix, Inc.).

15 A continuación, la matriz después de someter la hibridación a una máquina especializada para un tratamiento de lavado y tinción de micromatriz (nombre comercial: GeneChip (nombre comercial registrado) Fluidics Station 450, fabricado por Affymetrix, para teñir con fluorescencia el ADNc hibridado con ácido nucleico (conjunto de sondas) en la matriz y lavar la misma.

20 A continuación, la matriz se sometió a un escáner de micromatriz (nombre comercial: GeneChip (nombre comercial registrado) Scanner 3000, fabricado por Affymetrix, Inc.) para leer una señal sobre la base de una sustancia marcadora fluorescente del ADNc hibridado con el ácido nucleico (conjunto de sondas) sobre la matriz para cuantificar la intensidad de la fluorescencia. Los datos resultantes de la intensidad de fluorescencia se procesaron con el software (nombre comercial: GeneChip (nombre comercial registrado), fabricado por Affymetrix, Inc.), dando así un archivo CEL. El archivo CEL se usó para el análisis de la expresión génica. De esta manera, se obtuvieron
25 archivos CEL para los datos de intensidad de fluorescencia a partir de los ácidos nucleicos que corresponden a las sondas del conjunto de sondas en cada uno de los especímenes de 117 casos. (5) La selección del conjunto de sondas y construcción del discriminante para la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante del cáncer de mama

30 Entre los datos que corresponden a un total de 54.675 conjuntos de sondas montadas con el nombre comercial: Human Genome U133 Plus 2,0 Array fabricado por Affymetrix, Inc., se usaron los de 22.283 conjuntos de sondas que son habituales con el nombre comercial: Human Genome U133A Array fabricado por Affymetrix, Inc. en el siguiente análisis.

35 Adicionalmente, entre los 22.283 conjuntos de sondas, se seleccionaron 934 conjuntos de sondas que se clasifican como "respuesta inmunitaria" en el proceso biológico ontológico de los genes mediante remisión de la información de cada conjunto de sonda fijado publicado de Affymetrix, Inc. (versión na32, <http://www.Affymetrix.com/>).

40 En los datos de los respectivos archivos CEL de los 117 casos adquiridos, para cada uno de los 934 conjuntos de sondas, desde un nivel de expresión del ácido nucleico detectado mediante el conjunto de sondas, un valor medio del nivel de expresión del ácido nucleico en 117 casos se restó para normalizar de este modo el nivel de expresión (media-centrado).

45 A continuación, los respectivos datos de la intensidad de la fluorescencia de los especímenes de 117 casos se agruparon de forma aleatoria en 58 casos de un conjunto de entrenamiento y 59 casos de un conjunto de validación. En este momento, la agrupación se llevó a cabo de manera que el número de casos de RPC en el conjunto de entrenamiento es aproximadamente dos veces el número de casos de RPC en el conjunto de validación a fin de aumentar la capacidad de detección del gen correspondiente al conjunto de sondas cuyo nivel de expresión difiere entre los casos de RPC y de RPNC. Cada posterior análisis distinto de los descritos por separado SE APLICÓ a los
50 datos del conjunto de entrenamiento.

El hecho de que el nivel de expresión del gen correspondiente al conjunto de sondas difiere entre RPC y NPCR se evaluó mediante la prueba t de Welch y, a continuación, se seleccionó un conjunto de sondas donde el valor p es menor que 0,01.

55 Después, se construyeron los discriminantes mediante el aumento del número de conjuntos de sondas seleccionados uno por uno en orden creciente de valor de p en la prueba t de Welch usando un análisis de discriminante lineal diagonal (DLDA) como algoritmo del discriminante.

60 Después, el número de conjuntos de sondas con el que se maximiza la precisión se determinó utilizando un método de validación cruzada dejando uno fuera. En el método de validación cruzada dejando uno fuera, utilizando un discriminante construido con datos del conjunto de entrenamiento con exclusión de un caso, se predijo un resultado del caso excluido y esta operación se repitió 58 veces, al tiempo que se variaron los datos de un caso que se ha excluido, y se agregaron los resultados del diagnóstico patológico de 58 casos y los resultados de 58 casos predichos por los discriminantes. La precisión se determinó dividiendo una suma "del número de especímenes que exhiben RPC como resultado diagnóstico patológico y predicho como RPC", y "el número de especímenes que
65

exhiben RPNC como resultado diagnóstico patológico y predicho como RPNC" por el total número de especímenes. La figura 5 ilustra el resultado de examinar la relación entre el número del conjunto de sondas y la precisión en el Ejemplo 1.

- 5 El resultado mostrado en la figura 5 revela que la precisión es máxima cuando se usan 23 conjuntos de sondas, incluyendo los primeros 23 conjuntos de sonda en orden creciente del valor de p en la prueba t de Welch (véase la Tabla 3). Estos 23 conjuntos de sondas están dirigidos, respectivamente, a los polinucleótidos representados por las SEQ ID NO: 1 a 23. Para estos 23 conjuntos de sonda, se construyó un discriminante final utilizando todos los datos del conjunto de entrenamiento.

TABLA 3

Número de ácido nucleico que se va a medir	ID del conjunto de sondas	Secuencia de nucleótidos del polinucleótido al que está dirigida la sonda	Símbolo del gen	Secuencia de nucleótidos de la sonda	Factor de ponderación	Prueba t de Student	Valor p	Expresión alta
1	220162_s_at	SEQ ID NO:1	CARD9	SEQ ID NO:24~34	2,36157982	4,323	0,0001	RPC
2	210029_at	SEQ ID NO:2	ID01	SEQ ID NO:35~45	0,52753582	3,835	0,0004	RPC
3	203915_at	SEQ ID NO:3	CXCL9	SEQ ID NO:46~56	0,53572137	3,760	0,0005	RPC
4	201695_s_at	SEQ ID NO:4	PNP	SEQ ID NO:57~67	1,29673603	3,804	0,0006	RPC
5	211122_s_at	SEQ ID NO:5	CXCL11	SEQ ID NO:68~78	0,43776638	3,686	0,0007	RPC
6	212501_at	SEQ ID NO:6	CEBPB	SEQ ID NO:79~89	1,09614395	3,631	0,0009	RPC
7	204440_at	SEQ ID NO:7	CD83	SEQ ID NO:90~100	1,15413279	3,397	0,0013	RPC
8	204864_s_at	SEQ ID NO:8	IL6ST	SEQ ID NO:101~111	-0,9979555	-3,444	0,0015	RPNC
9	205898_at	SEQ ID NO:9	CX3CR1	SEQ ID NO:112~122	-0,8464557	-3,327	0,0020	RPNC
10	205789_at	SEQ ID NO:10	CD1D	SEQ ID NO:123~133	0,70349967	3,263	0,0021	RPC
11	201487_at	SEQ ID NO:11	CTSC	SEQ ID NO:134~144	1,26206632	3,314	0,0022	RPC
12	204533_at	SEQ ID NO:12	CXCL10	SEQ ID NO:145~155	0,48170925	3,165	0,0030	RPC
13	216541_x_at	SEQ ID NO:13	IGHG1	SEQ ID NO:156~166	0,78467717	3,158	0,0031	RPC
14	211000_s_at	SEQ ID NO:14	IL6ST	SEQ ID NO:167~177	-1,0561303	-3,189	0,0031	RPNC
15	212758_s_at	SEQ ID NO:15	ZEB1	SEQ ID NO:178~188	-0,9015298	-3,130	0,0034	RPNC
16	210512_s_at	SEQ ID NO:16	VEGFA	SEQ ID NO:189~199	0,9410118	3,102	0,0036	RPC
17	203788_s_at	SEQ ID NO:17	SEMA3C	SEQ ID NO:200~210	-0,5801453	-3,133	0,0040	RPNC
18	205544_s_at	SEQ ID NO:18	CR2	SEQ ID NO:211~221	0,79719845	3,149	0,0040	RPC
19	204863_s_at	SEQ ID NO:19	IL6ST	SEQ ID NO:222~232	-0,9638602	-3,083	0,0043	RPNC
20	211331_x_at	SEQ ID NO:20	HFE	SEQ ID NO:233~243	-1,352304	-2,993	0,0047	RPNC
21	206217_at	SEQ ID NO:21	EDA	SEQ ID NO:244~254	-1,2313651	-3,001	0,0049	RPNC
22	210875_s_at	SEQ ID NO:22	ZEB1	SEQ ID NO:255~265	-0,6378182	-2,930	0,0054	RPNC
23	210163_at	SEQ ID NO:23	CXCL11	SEQ ID NO:266~276	0,44921773	2,919	0,0061	RPC

El discriminante resultante es un discriminante representado por la fórmula (I):

$$D = \sum_i (w_i \times y_i) - 3,327217 \quad (I)$$

5 (donde i representa un número asignado a cada ácido nucleico mostrado en la Tabla 2, w_i representa un factor de ponderación de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla 2, y_i representa un nivel de expresión normalizado de ácido nucleico, obteniéndose el nivel de expresión normalizado mediante la normalización de un nivel de expresión de ácido nucleico de acuerdo con la fórmula representada por la fórmula (II):

$$10 \quad y_i = x_i - m_i \quad (II)$$

(donde, x_i representa un nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla 2, y m_i representa un valor medio del nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla 2 sobre los especímenes) y Σ_i representa la suma total de los respectivos ácidos nucleicos). Cuando la solución D del discriminante representado por la fórmula (I) es un valor positivo, se puede determinar que el espécimen es sensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama y cuando la solución D es 0 o un valor negativo, se puede determinar que el espécimen es insensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

20 (6) Comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante y el resultado del diagnóstico patológico

Utilizando los datos del nivel de expresión medido para los especímenes de 58 casos agrupados en el conjunto de entrenamiento (datos de la intensidad de la fluorescencia) y el discriminante representado por la fórmula (I), se determinó a cual de los grupos de RPC y el grupo de RPCM de especímenes del paciente con cáncer de mama de los 58 casos corresponde. El rendimiento del discriminante se evaluó mediante la comparación del resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado de diagnóstico patológico con un uso del resultado del diagnóstico patológico como un valor verdadero. La figura 6 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado del diagnóstico patológico para el conjunto de entrenamiento en el Ejemplo 1. En la figura, "Gp-R" indica un espécimen determinado como "un espécimen de un sujeto sensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama" por el discriminante, y "Gp-NR" indica un espécimen determinado como "un espécimen de un sujeto insensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama" por el discriminante.

35 A continuación, utilizando los datos de los niveles de expresión medidos para los especímenes de 59 casos agrupados en el conjunto de validación (datos de la intensidad de la fluorescencia) y el discriminante, la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se determinó mediante la determinación a cual del grupo de RPC y del grupo de RPNC de especímenes del pacientes de cáncer de mama se asigna cada muestra de los 59 casos. Mediante la comparación del resultado del diagnóstico patológico y el resultado de la determinación por el discriminante usando el resultado de diagnóstico patológico como un valor verdadero, se evaluó el rendimiento del discriminante. La figura 7 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado del diagnóstico patológico para la validación indicada en el Ejemplo 1. En la figura, "Gp-R" indica un espécimen determinado como "un espécimen de un sujeto sensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama" por el discriminante, y "Gp-NR" indica un espécimen determinado como "un espécimen de un sujeto insensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama" por el discriminante.

45 El resultado mostrado en la figura 6 revela que entre los especímenes de 58 casos agrupados en el conjunto de entrenamiento, se determinan 26 casos como Gp-R y se determinan 32 casos como Gp-NR por el discriminante representado por la fórmula (I). Asimismo, el resultado mostrado en la figura 6 revela que entre los especímenes determinados como Gp-R, 16 casos son especímenes de pacientes de cáncer de mama del grupo RPC, y entre los especímenes determinados como Gp-NR, 30 casos son especímenes de pacientes de cáncer de mama del grupo RPNC. Por lo tanto, estos resultados demuestran que los especímenes sensibles a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama y los especímenes insensibles a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se pueden discriminar en el conjunto de entrenamiento de acuerdo con el discriminante representado por la fórmula (I). Adicionalmente, el resultado mostrado en la figura 7 revela que entre los especímenes de 59 casos agrupados en el conjunto de entrenamiento, se determinan 24 casos como Gp-R y se determinan 35 casos como Gp-NR por el discriminante representado por la fórmula (I). Asimismo, el resultado mostrado en la figura 7 revela que entre los especímenes determinados como Gp-R, 9 casos son especímenes de pacientes de cáncer de mama del grupo RPC, y todos los especímenes determinados como Gp-NR, son especímenes de pacientes de cáncer de mama del grupo RPNC. Por lo tanto, estos resultados demuestran que los especímenes sensibles a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama y los especímenes insensibles a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se pueden discriminar en el conjunto de validación de acuerdo con el discriminante representado por la fórmula (I).

Estos resultados sugieren que la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se pueden determinar con precisión utilizando el nivel de expresión de cada ácido nucleico

detectado por las sondas de (1) a (23) en un espécimen obtenido de un sujeto.

Ejemplo 2

5 A partir de conjuntos de datos de seis grupos de sujetos de números de acceso: GSE16446 (grupos de sujetos 1–1), GSE20194 (grupos de sujetos 1–2), GSE20271 (grupos de sujetos 1–3), GSE22093 (grupos de sujetos 1–4), GSE23988 (grupos de sujetos 1–5) y GSE41998 (grupos de sujetos 1–6) en la base de datos de información de la expresión génica de los experimentos de micromatriz (NCBI Gene Expression Omnibus (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)), se extrajeron datos de 901 casos de cáncer de mama que han recibido
10 quimioterapia neoadyuvante. Para los datos extraídos, se realizaron la normalización de RMA y el centrado de la media para cada conjunto de datos. Usando el nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado mediante las sondas de (1) a (23) en los datos resultantes y el discriminante representado por la fórmula (I), se determinó la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

15 A continuación, para cada conjunto de datos, el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 8 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos en el Ejemplo 2.

20 Dado que el cociente de posibilidades es superior a 1 (mayor que o igual a 3,09) y el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % es superior a 1 para todos los grupos de sujetos 1-1 a 1-6 como se puede ver a partir del resultado mostrado en la figura. 8, se puede reconocer que la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) no es un resultado accidental, sino que es un resultado significativo en todos los casos.

25 Por lo tanto, estos resultados sugieren que la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama puede determinarse con precisión utilizando el nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por las sondas de (1) a (23).

30 Ejemplo 3

Los datos de 901 casos extraídos en el Ejemplo 2 se clasifican en los siguientes tres conjuntos de datos, los grupos de sujetos 2-1 a 2-3, en base a la presencia o ausencia de cada uno de ER y HER2:

35 grupo de sujetos 2–1: grupo formado por sujetos que muestran positividad para ER y negatividad para HER2 (ER⁺, HER2⁻),
grupo de sujetos 2-2: grupo formado por sujetos que muestran positividad para ER o negatividad para ER y positividad para HER2 (ER⁺, HER2⁺), y
40 grupo de sujetos 2-3: grupo formado por sujetos que muestran negatividad para ER y negatividad para HER2 (ER⁻, HER2⁻). Dado que el "grupo formado por los sujetos que muestran positividad para ER y positividad para HER2 (ER⁺, HER2⁺)" y el "grupo formado por los sujetos que muestran negatividad para ER y positividad para HER2 (ER⁻, HER2⁺)" son comunes en cuanto a que son sensibles a Herceptin, se recogen en el grupo de sujetos 2-2.

45 A continuación, para cada conjunto de datos, el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 9 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos en el Ejemplo 3.

50 Dado que el cociente de posibilidades es superior a 1 (mayor que o igual a 3,41) y el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % es superior a 1 para todos los grupos de sujetos 2-1 a 2-3 como se puede ver a partir del resultado mostrado en la figura. 9, se puede reconocer que la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) no es un resultado accidental, sino que es un resultado significativo en todos los casos. Por tanto, estos
55 resultados sugieren que la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se pueden determinar con precisión utilizando el nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por las sondas de (1) a (23) también en los conjuntos de datos clasificados de acuerdo con la presencia o ausencia de cada uno de ER y HER2. Asimismo, estos resultados sugieren que la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se puede determinar con precisión con independencia de la
60 clasificación basada en la positividad para ER y la negatividad para ER usando el nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por las sondas de (1) a (23).

Ejemplo 4

65 Los datos de 901 casos extraídos en el Ejemplo 2 se clasificaron en cinco conjuntos de datos basados en el tipo de régimen de quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

A continuación, para cada conjunto de datos, el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 10 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos en el Ejemplo 4. En la figura, "epirubicina" indica un grupo que consiste en sujetos a los que se ha administrado epirubicina (grupo de sujetos 3-1), "FAC o FEC" indica un grupo formado por sujetos a los que se ha administrado una combinación de 5-fluorouracilo, adriamicina y ciclofosfamida, o una combinación de 5-fluorouracilo, epirubicina y ciclofosfamida (grupo de sujetos 3-2), "A. paclitaxel" indica un grupo que consiste en sujetos a los que se ha administrado antraciclina y paclitaxel (grupo de sujetos 3-3), "A. docetaxel" indica un grupo que consiste en sujetos a los que se ha administrado antraciclina y docetaxel (grupo de sujetos 3-4), y "A. ixabepilona" indica un grupo formado por sujetos a los que se ha administrado antraciclina e ixabepilona (grupo de sujetos 3-5).

Dado que el cociente de posibilidades es superior a 1 (mayor que o igual a 3,45) y el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % es superior a 1 para todos los grupos de sujetos 3-1 a 3-5 como se puede ver a partir del resultado mostrado en la figura. 10, se puede reconocer que la determinación por el discriminante representado por la fórmula (I) no es un resultado accidental, sino que es un resultado significativo en todos los casos. Por tanto, estos resultados sugieren que la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se pueden determinar con precisión utilizando el nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por las sondas de (1) a (23) también en los conjuntos de datos clasificados de acuerdo con el régimen usado de quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama. Asimismo, estos resultados sugieren que la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se pueden determinar con precisión con independencia de la clasificación basada en el régimen de quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama usando el nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por las sondas de (1) a (23).

Ejemplo comparativo 1

Utilizando los niveles de expresión de genes correspondientes a 70 conjuntos de sondas indicados en las Tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A en los datos de 901 casos extraídos en el Ejemplo 2, se determinó la presencia o ausencia de sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama de acuerdo con el método descrito en el documento WO 2011/065533 A.

A continuación, para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 1-1 a 1-6, el resultado de determinación obtenido utilizando los niveles de expresión de genes correspondientes a 70 conjuntos de sonda indicados en las tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 11 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido utilizando los niveles de expresión de genes correspondientes a 70 conjuntos de sondas indicados en las tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A y el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos para los grupos de sujetos 1-1 a 1-6 en el Ejemplo Comparativo 1.

Asimismo, para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3, el resultado de determinación obtenido utilizando los niveles de expresión de genes correspondientes a 70 conjuntos de sonda indicados en las tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 12 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido utilizando los niveles de expresión de genes correspondientes a 70 conjuntos de sondas indicados en las tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A y el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos para los grupos de sujetos 2-1 a 2-3 en el Ejemplo Comparativo 1.

Adicionalmente, para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 3-1 a 3-5, el resultado de determinación obtenido utilizando los niveles de expresión de genes correspondientes a 70 conjuntos de sonda indicados en las tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 13 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido utilizando los niveles de expresión de genes correspondientes a 70 conjuntos de sondas indicados en las tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A y el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos para los grupos de sujetos 3-1 a 3-5 en el Ejemplo Comparativo 1. En la figura, "epirubicina", "FAC o FEC", "A. paclitaxel", "A. docetaxel" y "A. ixabepilona" son idénticos a "epirubicina", "FAC o FEC", "A. paclitaxel", "A. docetaxel" y "A. ixabepilona" en la figura 10.

El resultado mostrado en la figura 11 revela que la fiabilidad del resultado de la determinación puede ser malo en función del tipo de población del grupo de sujetos, ya que hay un caso en que tanto el cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación y el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % son de menores o iguales a 1. Asimismo, el resultado mostrado en la figura. 12 revela que la fiabilidad del resultado de la determinación en cada uno de los casos positivos para ER y los casos negativos para ER es malo cuando se usan los niveles de expresión de los genes correspondientes a 70 conjuntos de sondas indicados en las tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A, ya que hay un caso en que el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % del

cociente de posibilidades con respecto al resultado de la determinación es menor que o igual a 1, también en el resultado de la determinación para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos clasificados de acuerdo con la presencia o ausencia de cada uno de ER y HER2. Adicionalmente, el resultado mostrado en la figura 13 revela que la fiabilidad del resultado de la determinación puede ser malo en función del tipo de agente anticanceroso administrado cuando se usan los niveles de expresión de los genes correspondientes a 70 conjuntos de sondas indicados en las tablas 1 y 2 del documento WO 2011/065533 A, ya que hay un caso en que tanto el cociente de posibilidades con respecto al resultado de la determinación y el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % son menores que o igual a 1, también en el resultado de la determinación para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos clasificados de acuerdo para el tipo de régimen utilizado de la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

Ejemplo comparativo 2

Usando el nivel de expresión del metagén de células B descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, pág. 5405–5413) en los datos de 901 casos extraídos en el Ejemplo 2, se determinó la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, pág. 5405–5413).

A continuación, para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 1-1 a 1-6, el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 14 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 1-1 a 1-6 en el Ejemplo Comparativo 2.

Para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3, el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 15 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3 en el Ejemplo Comparativo 2.

Adicionalmente, para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 3-1 a 3-5, el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 16 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research 2008, Vol. 68, pág. 5405–5413) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos para los grupos de sujetos 3–1 a 3–5 en el ejemplo comparativo 2. En la figura, "epirubicina", "FAC o FEC", "A. paclitaxel", "A. docetaxel" y "A. Ixabepilona" son idénticos a "Epirubicina", "FAC o FEC", "A. paclitaxel", "A. docetaxel" y "A. Ixabepilona" en la figura 10.

El resultado mostrado en la figura. 14 revela que la fiabilidad del resultado de la determinación puede ser malo en función del tipo de población del grupo de sujetos de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413), ya que hay un caso en que el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % del cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación es menor que o igual a 1. Asimismo, el resultado mostrado en la figura 15 revela que el método descrito en Schmidt M et al. (Cancer research, 2008, Vol. 68, p. 5405–5413) es malo en cuanto a la fiabilidad del resultado de la determinación en cada uno de los casos positivos para ER y los casos negativos para ER, ya que hay un caso en que el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % del cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación es menor que o igual a 1, también en el resultado de la determinación para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos clasificados de acuerdo con la presencia o ausencia de cada uno de ER y HER2. Adicionalmente, el resultado mostrado en la figura 16 revela que, de acuerdo con el método descrito en Iwamoto T et al. (Journal of the National Cancer Institute, 2011, Vol. 103, p. 264–272), la fiabilidad del resultado de la determinación puede ser mala en función del tipo del agente anticanceroso administrado, ya que hay un caso en que el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % del cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación es menor que o igual a 1, también en el resultado de la determinación para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos clasificados de acuerdo con el tipo de régimen usado de quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

Ejemplo comparativo 3

Usando el nivel de expresión del gen κC de inmunoglobulina descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703) en los datos de 901 casos extraídos en el Ejemplo 2, se determinó la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama de acuerdo con el método

descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703).

A continuación, para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 1-1 a 1-6, el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695-2703) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 17 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703), y el resultado de diagnóstico patológico adquirido en la base de datos para los grupos de sujetos 1-1 a 1-6 en el Ejemplo Comparativo 3.

Para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3, el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695-2703) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 18 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703), y el resultado de diagnóstico patológico adquirido en la base de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3 en el Ejemplo Comparativo 3.

Adicionalmente, para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 3-1 a 3-5, el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695-2703) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 19 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695-2703) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos para los grupos de sujetos 3-1 a 3-5 en el ejemplo comparativo 3. En la figura, "epirubicina", "FAC o FEC", "A. paclitaxel", "A. docetaxel" y "A. Ixabepilona" son idénticos a "Epirubicina", "FAC o FEC", "A. paclitaxel", "A. docetaxel" y "A. Ixabepilona" en la figura 10.

El resultado mostrado en la figura. 17 revela que la fiabilidad del resultado de la determinación puede ser malo en función del tipo de población del grupo de sujetos de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703), ya que hay un caso en que el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % del cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación es menor que o igual a 1. El resultado mostrado en la figura 18 revela que la fiabilidad del resultado de la determinación en cada uno de los casos positivos para ER y los casos negativos para ER es peor mediante el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703) que por el método de acuerdo con la presente realización usando el nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por las sondas de (1) a (23), ya que el cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación es menor en comparación con el caso en que la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se determina por el método de acuerdo con la presente realización usando un nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por las sondas (1) a (23). Adicionalmente, el resultado mostrado en la figura 19 revela que la fiabilidad del resultado de la determinación puede ser malo en función del tipo de agente anticanceroso administrado de acuerdo con el método descrito en Schmidt M et al. (Clinical Cancer Research, 2012, Vol. 18, pág. 2695–2703), ya que hay un caso en que el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % del cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación es menor que o igual a 1, también en el resultado de la determinación para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos clasificados de acuerdo con el tipo del régimen utilizado de quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.

Ejemplo comparativo 4

Usando el nivel de expresión de cada gen de C1QA, XCL2, SPP1, TNFRSF17, LY9, IGLC2 y HLA-F descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157) en los datos de 901 casos extraídos en el Ejemplo 2, se determinó la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157).

A continuación, para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 1-1 a 1-6, el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 20 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido en la base de datos para los grupos de sujetos 1-1 a 1-6 en el Ejemplo Comparativo 4.

Para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 2-1 a 2-3, el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 21 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de

acuerdo con el método descrito en Thechendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido en la base de datos para los grupos de sujetos 2-1 a 2-3 en el Ejemplo Comparativo 4.

- 5 Adicionalmente, para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos 3-1 a 3-5, el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157) se comparó con el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos, para evaluar de este modo el rendimiento del discriminante. La figura 22 ilustra el resultado de la comparación entre el resultado de la determinación obtenido de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157) y el resultado de diagnóstico patológico adquirido de la base de datos para los grupos de sujetos 3-1 a 3-5 en el ejemplo comparativo 4. En la figura, "epirubicina", "FAC o FEC", "A. paclitaxel", "A. docetaxel" y "A. Ixabepilona" son idénticos a "Epirubicina", "FAC o FEC", "A. paclitaxel", "A. docetaxel" y "A. Ixabepilona" en la figura 10.
- 10
- 15 El resultado mostrado en la figura. 20 revela que la fiabilidad del resultado de la determinación puede ser malo en función del tipo de población del grupo de sujetos de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157), ya que hay un caso en que el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % del cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación es menor que o igual a 1. Asimismo, el resultado mostrado en la figura 21 revela que el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157) es malo en cuanto a la fiabilidad del resultado de la determinación en cada uno de los casos positivos para ER y los casos negativos para ER, ya que hay un caso en que el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % del cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación es menor que o igual a 1, también en el resultado de la determinación para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos clasificados de acuerdo con la presencia o ausencia de cada uno de ER y HER2. Adicionalmente, el resultado mostrado en la figura 22 revela que, de acuerdo con el método descrito en Teschendorff AE et al. (Genome Biology, 2007, Vol. 8, R157), la fiabilidad del resultado de la determinación puede ser mala en función del tipo del agente anticanceroso administrado, ya que hay un caso en que el valor mínimo en el intervalo de confianza del 95 % del cociente de posibilidades en relación con el resultado de la determinación es menor que o igual a 1, también en el resultado de la determinación para cada conjunto de datos de los grupos de sujetos clasificados de acuerdo con el tipo de régimen usado de quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama.
- 20
- 25
- 30

Estos resultados sugieren que la presencia o ausencia de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se pueden determinar con mayor precisión con independencia de la clasificación basada en la positividad para ER y la negatividad para ER y la clasificación basada en el tipo de régimen de quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama usando el nivel de expresión de cada ácido nucleico detectado por las sondas de (1) a (23). Por lo tanto, el método de acuerdo con la presente realización es adecuado para proporcionar información para ayudar a la decisión de la capacidad de adaptación a la ejecución de la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama o información más adecuada para la optimización de la terapia.

- 40 Las SEQ ID NI: 24 a 272 son las secuencias contenidas en los conjuntos de sondas.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 45 <110> OSAKA UNIVERSITY SYSMEX CORPORATION
- <120> Método, aparato y programa para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama
- 50 <130> SYSM-083-EP
- <150> JP2013-179877
- <151> 30-08-2013
- <160> 276
- 55 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 473
- 60 <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 1

ES 2 603 956 T3

agctctcaga caaaggctgc cttgccggcg gggggagccc gaaacagccc tttgcagctc 60
 tgcaccagga gcaggttttg cggaaacccc atgacgcagg cctgagcagc ggggagccgc 120
 ccgagaagga gcggcggcgc ctcaaagaga gttttgagaa ctaccgcagg aagcgcgccc 180
 tcaggaagat gcagaaagga tggcggcagg gggaggagga ccgggagAAC accacgggca 240
 gcgacaacac cgacactgag ggctcctagc cgcagcagac ttccccgagc cgtcgtgac 300
 ttggcctgga acgaggaatc tggtgccctg aaaggcccag ccggactgcc gggcattggg 360
 gccgtttgtt aagcggcact cttttgctg aggccatgag ggtgctcacc acccccatgc 420
 acacgccatc tgtgtaactt caggatctgt tctgtttcac catgtaacac aca 473

<210> 2
 <211> 398
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 2

acccccagct atcagacggg ctgggtgatg aagggttctg ggaagacceca aaggagtgtg 60
 cagggggcag tgcaggccaa agcagcgtct ttcagtgtt tgacgtcctg ctgggcatcc 120
 agcagactgc tgggtggagga catgctgctc agttcctcca ggacatgaga agatatatgc 180
 caccagctca caggaacttc ctgtgctcat tagagtcaa tccctcagtc cgtgagtgtg 240
 tcttttcaa aggtgatgct ggctgcggg aagcttatga ccctgtgtg aaagctctgg 300
 tctcctgag gagctaccat ctgcaaactg tgactaagta catcctgatt cctgcaagcc 360
 agcagccaaa ggagaataag acctctgaag acccttca 398

10

<210> 3
 <211> 367
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 3

gattatcaat taccacacca tctcccatga agaaagggaa cgggtgaagta ctaagcgota 60
 gaggaagcag ccaagtcggg tagtggaagc atgattgggtg ccagttage ctctgcagga 120
 tgtggaacc tcttccagg ggaggttcag tgaattgtgt aggagagggt gtctgtggcc 180
 agaatttaa cctatactca ctttcccaa ttgaatcact gctcacactg ctgatgattt 240
 agagtgtgt ccggtggaga tcccaccga acgtcttacc taatcatgaa actccctagt 300
 tcttcatgt aacttccctg aaaaatctaa gtgtttcata aatttgagag tctgtgacct 360
 acttacc 367

20

<210> 4
 <211> 548
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

25

<400> 4

ES 2 603 956 T3

gcttctcact catcactaac aaggatcatca tggattatga aagcctggag aaggccaacc 60
 atgaagaagt cttagcagct ggcaacaag ctgcacagaa attggaacag tttgtctcca 120
 ttcttatggc cagcattcca ctccctgaca aagccagttg acctgccttg gagtcgtctg 180
 gcatctcca cacaagacce aagtagctgc taccttcttt ggccccttgc tggagtcatg 240
 tgcctctgtc cttaggttgt agcagaaag aaaagattcc tgtccttcac ctttcccact 300
 ttcttctacc agacccttct ggtgccagat cctcttctca aagctgggat tacaggtgtg 360
 agcatagtga gaccttggcg ctacaaaata aagctgttct cttcctgtt ctttcttaca 420
 caagagctgg agccogtgcc ctaccacaca tctgtggaga tgcccaggat ttgactcggg 480
 cottagaact ttgcatagca gctgctacta gctctttgag ataatacatt ccgaggggct 540
 cagttctg 548

5 <210> 5
 <211> 416
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 5

gagacttttc tatggttttg tgactttcaa cttttgtaca gttatgtgaa ggatgaaag 60
 tgggtgaaag gacaaaaaac agaaatacag tcttctgaa tgaatgaca tcagaattcc 120
 actgcccaaa ggagtccaac aattaaatgg atttctagga aaagctacct taagaaaggc 180
 tggttaccat cggagtttac aaagtgttt cacgttctta cttgttgtat tatacattca 240
 tgcatttcta ggctagagaa ccttctagat ttgatgctta caactattct gttgtgacta 300
 tgagaacatt tetgtctcta gaagttatct gtctgtattg atctttatgc tatattacta 360
 tctgtgggta cagtggagac attgacatta ttactggagt caagccetta taagtc 416

10
 15 <210> 6
 <211> 369
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 6

cgccggcaaa actttggcac tggggcactt ggcagcgcgg ggagcccgtc ggtaatttta 60
 atattttatt atatatat atctatatt ttgtccaaac caaccgcaca tgcagatggg 120
 gctcccgcc gtggtgttat ttaagaaga aagctctatg tgtacagatg aatgataaac 180
 tctctgcttc tccctctgac cctctccagg cgccggcggg ogggccggtt tcgaagttga 240
 tgcaatcggg ttaaaccatg ctgaacogct gtgtacacgg gactgacgca acccaogtgt 300
 aactgtcagc cggggccctga gtaatcgctt aaagatgttc ctacgggctt gttgctgttg 360
 atgttttgt 369

20
 25 <210> 7
 <211> 547
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 7

tccatttctc atgttttoca ttgtttgaaa caaagaaggt taccaagaag cctttcotgt 60
 agccttctgt aggaattctt ttggggaagt gaggaagcca ggtccacggt ctgttcttga 120
 agcagtagcc taacacactc caagatatgg acacacggga gccgctggca gaagggactt 180
 cacgaagtgt tgcattgatg ttttagocat tgttggcttt cccttatcaa acttgggccc 240
 ttcccttctt ggtttccaaa ggcatttatt gctgagttat atgttactg tccccctaat 300
 attagggagt aaaacggata ccaagttgat ttagtgttt tacctctgtc ttggtttca 360
 tgttattaaa cgtatgcatg tgaagaaggg tgtttttctg ttttatattc aactcataag 420
 actttgggat aggaaaaatg agtaatggtt actaggctta atacctgggt gattacataa 480
 tctgtacaac gaacccccat gatgtaagtt tacctatgta acaaacctgc acttataacc 540
 atgaact 547

5 <210> 8
 <211> 534
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 8

aacacttoga gcactgtcca gtattctacc gtggtacaca gtggctacag acaccaagtt 60
 ccgtcagtc aagtcttctc aagatccgag tctaccagc ccttggtaga ttcagaggag 120
 cggccagaag atctacaatt agtagatcat gtagatggcg gtgatggat tttgccagc 180
 caacagtact tcaaacagaa ctgcagtcag catgaatcca gtccagatat ttcacatfff 240
 gaaaggtcaa agcaagtttc atcagtcaat gaggaagatt ttgttagact taaacagcag 300
 atttcagatc atatttcaca atcctgtgga tctgggcaaa tgaaatggt tcaggaagtt 360
 tctgcagcag atgcttttgg tccaggtact gagggacaag tagaaagatt tgaacagtt 420
 ggcattggag ctgcactga tgaaggcatg cctaaaagtt acttaccaca gactgtacgg 480
 caaggggct acatgcctca gtgaaggact agtagttcct gctacaactt cagc 534

15 <210> 9
 <211> 503
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 9

agcccttccc catctgggaa aataccocat cattcatgct actgccaacc tggggagcca 60
 gggctatggg agcagctttt ttttccccc tagaaacggt tggaaacaatg taaaacttta 120
 aagctcgaaa acaattgtaa taatgctaaa gaaaaagtca tccaatctaa ccacatcaat 180
 attgtcattc ctgtattcac ccgtccagac cttgttcaca ctctcacatg tttagagttg 240
 caatcgtaat gtacagatgg ttttataatc tgatttggtt tcctcttaac gttagaccac 300
 aatagtgct cgctttctat gtagtttggg aattatcatt ttagaagact ctaccagact 360
 gtgtattcat tgaagtcaga tgtgtaact gttaaattgc tgtgtatctg atagctcttt 420
 ggcagtctat atgtttgtat aatgaatgag agaataagtc atgttctctc aagatcatgt 480
 accccaattt acttgccatt act 503

ES 2 603 956 T3

<210> 10
 <211> 462
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 10

```

gtcatgaggc agctttcacc acaccctttt aacatttacc taaaagaatt taaattcttt      60
ttcaaaaatt acactacaag tttataagcc caaatggctc tgtgaaatca gaagtgcaaa      120
gggtgtgcaaa cttgtatctg aagacctacc agggacaagc aggtaagagc tgatgtgagt      180
gtgtgtgatg ggatctgtaa ggaactggaa cacacatgtc ctatccaaag gaatcagctg      240
cagctgcttg ttgtcaagta taaagtcagg acctggcttg gotttaaccg tttttcaaga      300
aaactggaaa tctggatttt cagcgaacat gcctgatttt aaaaggttga ctcaagtttt      360
tacaaaatac tatgtgggac acctcaaata catacctact gactgatgac aaaccagga      420
gtttgtgtgt cttttataaa aagtttgccc tggatgtcat at                          462
    
```

10 <210> 11
 <211> 334
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 11

```

gactcagcct ctgggatgga ttactggatt gttaaaaaca gctggggcac cggctgggggt      60
gagaatggct acttcoggat ccgcagagga actgatgagt gtgcaattga gagcatagca      120
gtggcagcca caccaattcc taaattgtag ggtatgcctt ccagtatttc ataatgatct      180
gcatcagttg taaaggggaa ttggtatatt cacagactgt agactttcag cagcaatctc      240
agaagcttac aaatagattt ccatgaagat atttgtcttc agaattaaaa ctgcocttaa      300
ttttaatata cctttcaatc ggcactggc catt                                  334
    
```

20 <210> 12
 <211> 544
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 12

taactctacc ctggcactat aatgtaagct ctactgaggt gctatgttct tagtggatgt 60
 tctgaccctg cttcaaatat ttccctcacc tttcccatct tccaaggga ctaaggaatc 120
 tttctgcttt ggggtttatc agaattctca gaatctcaaa taactaaaag gtatgcaatc 180
 aatctgctt tttaaagaat gctctttact tcatggactt ccaactgcat cctcccaagg 240
 ggcccaaatt ctttcagtgg ctacctacat acaattccaa acacatacag gaaggtagaa 300
 atatctgaaa atgtatgtgt aagtattctt atttaatgaa agactgtaca aagtataagt 360
 cttagatgta tatatttcct atattgtttt cagtgtacat ggaataacat gtaattaagt 420
 actatgtatc aatgagtaac aggaaaattt taaaaataca gatagatata tgctctgcat 480
 gttacataag ataatgtgc tgaatggtt tcaaataaaa atgaggtact ctctcgga 540
 tatt 544

<210> 13
 <211> 212
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 13

gcttctggag gcacctcag aaattatagt ctcaactgag tggacaggg cctgggaaa 60
 gggcttgagt ggatgggagg gatcgtccct atctttggta catcaaaacta cacacaaaag 120
 ttccagggga gagtcacgat taccgaggac ttatccacca gcacagccta catggagctg 180
 aacagcctga gatctgagga cacggccatg ca 212

10

<210> 14
 <211> 404
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 14

aagcaccctg tatcacagac tggcaacaag aagatggtac cgtgcatcgc acctatttaa 60
 gagggaaactt agcagagagc aaatgctatt tgataacagt tactccagta tatgctgatg 120
 gaccaggaag cctggaatcc ataaaggcat accttaaca agctccacct tocaaaggac 180
 ctactgttcg gacaaaaaaaa gtagggaaaa acgaagctgt cttagagtgg gaccaacttc 240
 ctgttgatgt tcagaatgga tttatcagaa attatactat attttataga accatcattg 300
 gaaatgaaac tgctgtgaat gtggattctt cccacacaga atatacattg tctctttga 360
 ctagtgcac atgtacatg gtacgaatgg cagcatacac agat 404

20

<210> 15
 <211> 539
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

25

<400> 15

ES 2 603 956 T3

```

aggactcaag acatctcagt gttcttcacc gtctctttca gcatcaccag gcagtcccac      60
acgaccacag atacggcaaa agatagagaa taaacccctt caagaacaac tttctgtaa      120
ccaaattaaa actgaacctg tggattatga attcaaacc atagtggttg cttcaggaat      180
caactgttca acccctttac aaaatggggt tttcactggt ggtggcccat tacaggcaac      240
cagttctcct cagggcatgg tgcaagctgt tgttctgcca acagttggtt tgggtgtctcc      300
cataagtatc aatttaagtg atattcagaa tgtacttaaa gtggcggtag atggtaatgt      360
aataaggcaa gtgttggaga ataatcaagc caatcttgca tccaaagaac aagaacaat      420
caatgcttca cccatacaac aaggtggcca ttctgttatt tcagccatca gtcttccttt      480
ggttgatcaa gatggaacaa ccaaaattat catcaactac agtcttgagc agcctagcc      539

```

<210> 16
 <211> 511
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 16

```

atgagatgta tcttttgctc tctcttgctc tcttatttgt accggttttt gtatataaaa      60
ttcatgtttc caatctctct ctccctgata ggtgacagtc actagcttat cttgaacaga      120
tatttaattt tgctaacact cagctctgcc ctcccgatc ccctggctcc ccagcacaca      180
ttcctttgaa agagggtttc aatatacatc tacatactat atatatattg ggcaacttgt      240
atgtgtgtgt atatatatat atatatgttt atgtatatat gtgatcctga aaaaataaac      300
atcgctattc tgttttttat atgttcaaac caacaagaa aaaatagaga attctacata      360
ctaaatctct ctctcttttt aattttaata tttgttatca tttatttatt ggtgctactg      420

tttatccgta ataattgtgg ggaaaagata ttaacatcac gtctttgtct ctagtgcagt      480
ttttcgagat attccgtagt acatatttat t                                     511

```

10

<210> 17
 <211> 552
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 17

aaagacactc ggcagcaaca tcagcagggg gatgaatcac agaaaatgag aggggactat 60
 ggcaagttaa aggcocctcat caatagtcgg aaaagtagaa acaggaggaa tcagttgccca 120
 gagtcataat attttcttat gtgggtotta tgcttcocatt aacaaatgct ctgtcttcaa 180
 tgatcaaatt ttgagcaaag aaacttgtgc tttaccaagg ggaattactg aaaaaggtga 240
 ttactcctga agtgagtttt acacgaactg aatgagcat gcattttctt gtatgatagt 300
 gactagcact agacatgtca tggcctcat ggtgcatata aatatattta acttaacca 360
 gattttattt atatctttat tcaccttttc ttcaaaatcg atatggtggc tgcaaaacta 420
 gaattgttgc atocctcaat tgaatgaggg ccatatccct gtggtattcc tttcctgctt 480
 tggggcttta gaattcctaat tgtcagtgat tttgtatatg aaaacaagtt ccaaatccac 540
 agcttttacg ta 552

5 <210> 18
 <211> 505
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 18

agcccagttt cactgccata tactcttcaa ggactttctg aagcctcact tatgagatgc 60
 ctgaagccag gccatggcta taaacaatta catggctcta aaaagttttg ccttttttaa 120
 ggaaggcact aaaaagagct gtccctggat ctagaccat cttctttttg aatcagcat 180
 actcaatggt actatctgct tttggttata atgtgtttt aattatctaa agtatgaagc 240
 attttctggg gttatgatgg ccttaccttt attaggaagt atggttttat tttgatagta 300
 gcttctcct ctggtggtgt taatcatttc atttttaacc ttactgtttg agtttctctc 360
 acattactgt atatactttg cctttccata atcactcagt gattgcaatt tgcacaagtt 420
 tttttaaatt atgggaatca agatttaatc ctagagattt ggtgtacaat tcaggctttg 480
 gatgtttctt tagcagtttt gtgat 505

10 <210> 19
 <211> 285
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 19

aagccatagt cgtgcctggt tgcttagcat tcctattgac aactcttctg ggagtgctgt 60
 tctgctttaa taagcgagac ctaattaaaa aacacatctg gcctaagtgt ccagatcctt 120
 caaagagtca tattgccag tggtcacctc acactcctcc aaggcacaat ttttaattcaa 180
 aagatcaaat gtattcagat ggcaatttca ctgatgtaag tgttgtggaa atagaagcaa 240
 atgacaaaaa gccttttcca gaagatctga aatcattgga cctgt 285

20 <210> 20
 <211> 519
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 20

```

ggcatotect gagcctaggc aatacctgta gggtgacttc tggagccatc cccgtttccc      60
cgccccccaa aagaagcggg gatttaacgg ggaogtgogg ccagagctgg ggaaatgggc      120
ccgagagcca ggcggggcgt tctcctcctg atgottttgc agaccggcgt cctgcagggg      180
cgcttgctgc gttcacactc tctgcactac ctcttcctgg gtgcctcaga gcaggacctt      240
ggtctttcct tgtttgaagc tttgggttac gtggatgacc agctgttcgt gttctatgat      300
catgagagtc accgtgtgga gccccgaact ccattgggtt ccagtagaat ttcaagccag      360
atgtggctgc agctgagtca gagtctgccc agcogtcaaa agagtcttcc tatatatatc      420
cagatggcat gtgtttactt tatgttaacta catgcacttg gctgcataaa tgtggtacaa      480
gcattctgtc ttgaaggcca ggtgcttcag gataccata                                519

```

5

<210> 21
<211> 491
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

10

<400> 21

```

tccaggettg aagtacttgg cccccctcag gagcctggcc aggcagggag agagtagctg      60
cagccttcat cagaactott cctcctccca aggcattctc ccagctctag cctctggact      120
ggaaagcaca agactggccc agtgccagca agtccttagg ctactgtaat gctgcctcag      180
gacccatccc tgctggagg ctctcttagg ccctgtgagc acaaagaaga aagctgattt      240
ttgtctttta atccatttca ggactctctc caggagggct cgggggtgtgt catttctata      300
ttcctccagc tgggattggg ggggtgggctt tgttgtgaga atggcctgga gcaggcccaa      360
tgctgctttt gggggctcagc atccagtgtg agatactgtg tatataaact atatataatg      420
tatataaact gggatgtaag tttgtgtaaa ttaatgtttt attctttgca aataaaacgc      480
tttccccgtc a                                                                491

```

15

<210> 22
<211> 267
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

20

<400> 22

```

gcctgaacct cagacctagt aatttttcat gcagttttca aagttaggaa caagtttgta      60
acatgcagca gattagaaaa octtaatgac tcagagagca acaatacaag aggttaaagg      120
aagetgatta attagatatg catctggcat tgttttatct taccagtatt atcactotta      180
tgttggttta ttcttaagct gtacaattgg gagaaatfff ataatttttt attggtaaac      240
atatgctaaa tccgcttcag tatttta                                            267

```

25

<210> 23
<211> 399
<212> ADN

ES 2 603 956 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 23

	ttttttcccc	aaatatcatg	tagcacatca	atatgtaggg	aacattcctt	atgcatcatt	60
	tggtttggtt	tataaccaat	tcattaaatg	taattcataa	aatgtactat	gaaaaaaatt	120
	atacgtatg	ggatactggc	aacagtgcac	atatttcata	accaaattag	cagcaccggt	180
	cttaatttga	tgtttttcaa	cttttattca	ttgagatggt	ttgaagcaat	taggatatgt	240
	gtgtttactg	tactttttgt	tttgatccgt	ttgtataaat	gatagcaata	tcttggacac	300
	atltgaaata	caaaatgttt	ttgtctacca	aagaaaaatg	ttgaaaaata	agcaaatgta	360
5	tacctagcaa	tcacttttac	tttttghtaat	tctgtctct			399

<210> 24

<211> 25

<212> ADN

10 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 24

agctctcaga caaaggctgc ctgc 25

<210> 25

<211> 25

20 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 25

gggagccgcc cgagaaggag cggcg 25

<210> 26

<211> 25

30 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 26

aagagagttt tgagaactac cgcag 25

<210> 27

<211> 25

40 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

45 <400> 27

gcagaaagga tggcggcagg gggag 25

50 <210> 28

<211> 25

<212> ADN

<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 28
tcgctgactt ggcctggaac gagga 25

<210> 29
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 29
gggcattggg gccgtttgtt aagcg 25

<210> 30
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 30
ggggccgttt gttaagcggc actca 25

30 <210> 31
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40 <400> 31
taagcggcac tcattttgcg gaggc 25

<210> 32
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 32
acgccatctg tgtaactca ggatc 25

<210> 33
<211> 25
<212> ADN
55 <213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 33
cttcaggatc tgttctgttt cacca 25

<210> 34
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 34
gttctgtttc accatgtaac acaca 25

<210> 35
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 35
acccccagct atcagacggt ctggt 25

<210> 36
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 36
aggccaaagcagcgtctttc agtgc 25

30 <210> 37
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40 <400> 37
gctggtggag gacatgctgc tcagt 25

<210> 38
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 38
tgctcagttc ctccaggaca tgaga 25

<210> 39
<211> 25
<212> ADN
55 <213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 39
ggaacttctt gtgctcatta gagtc 25

<210> 40
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 40
attagagtca aatccctcag tccgt 25

<210> 41
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 41
atgacgcctg tgtgaaagct ctggt 25

<210> 42
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 42
tggctccct gaggagctac catct 25

<210> 43
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 43
gagctacat ctgcaaatcg tgact 25

40 <210> 44
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 44
catcctgatt cctgcaagcc agcag 25

<210> 45
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 45
gaataagacc tctgaagacc ctca 25

<210> 46
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 46
gattatcaat taccacacca tctcc 25

<210> 47
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 47
gaagcatgat tggcgccag ttagc 25

<210> 48
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 48
cccagtagc ctctcagga tgtgg 25

<210> 49
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 49
gtaggagagg ttgtctgtgg ccaga 25

<210> 50
<211> 25
40 <212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 50
50 acctatactc acttcccaa attga 25

<210> 51
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 51
tgaatcact gctcacactg ctgat 25

<210> 52
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 52
tagagtgctg tccggtggag atccc 25

<210> 53
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 53
ccacccgaac gtcttatcta atcat 25

<210> 54
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 54
atcatgaaac tccttagttc ctca 25

<210> 55
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 55
gttcctcat gtaactccc tgaaa 25

<210> 56
<211> 25
40 <212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 56
50 ttgagagtc tggaccac ttacc 25

<210> 57
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 57
gcttctcact catcactaac aaggt 25

<210> 58
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 58
gaacagttg tctcattct tatgg 25

<210> 59
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 59
tccattctta tggccagcat tccac 25

<210> 60
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 60
actccctgac aaagccagtt gacct 25

<210> 61
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 61
tcccacacaa gacccaagta gctgc 25

40 <210> 62
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 62
50 ccaagtagct gctacctct ttggc 25

<210> 63
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 63
tctaccagac ccttctggtg ccaga 25

<210> 64
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 64
tcattcctgt tctttcttac acaag 25

<210> 65
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 65
gactcgggcc ttagaacttt gcata 25

<210> 66
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 66
atagcagctg ctactagctc ttga 25

<210> 67
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 67
atacattccg aggggctcag ttctg 25

40 <210> 68
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 68
gagactttc tatggtttg tgact 25

<210> 69
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 69
gtgactttca actttgtac agtta 25

<210> 70
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 70
gacaatcaga attccactgc ccaaa 25

<210> 71
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 71
ggctgggttac catcggagtt taaa 25

<210> 72
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 72
tgcttcacg ttctactg ttgta 25

<210> 73
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 73
tacattcatg catttctagg ctaga 25

40 <210> 74
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 74
agagaacctt ctgattgga tgctt 25

<210> 75
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 75
gtctctagaa gttatctgtc tgtat 25

<210> 76
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 76
ctgtctgtat tgatctttat gctat 25

<210> 77
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 77
gctatattac tatctgtggt tacag 25

<210> 78
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 78
tactggagtc aagcccttat aagtc 25

<210> 79
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 79
cgccggcaaa actttggcac tgggg 25

<210> 80
<211> 25
40 <212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 80
50 caaaccaacc gcacatgcag atggg 25

<210> 81
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 81
gaagaaacgt ctatgtgtac agatg 25

<210> 82
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 82
gcgggccggt ttcgaagttg atgca 25

<210> 83
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 83
gatgcaatcg gtttaaacad ggctg 25

<210> 84
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <900> 84
aacatggctg aacgcgtgtg tacac 25

30 <210> 85
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 85
gtgtgtacac gggactgacg caacc 25

40 <210> 86
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 86
50 tgacgcaacc cacgtgtaac tgta 25

<210> 87
<211> 25
<212> ADN
55 <213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 87
gggcctgag taatcgctta aagat 25

<210> 88
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 88
aaagatgttc ctacgggctt gttgc 25

<210> 89
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 89
gggcttggtg ctggtgatgt tttgt 25

<210> 90
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 90
tccatttctc atgtttcca ttgt 25

<210> 91
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 91
caagaagcct ttctgtagc ctct 25

40 <210> 92
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 92
gtccacggtc tgttctgaa gcagt 25

<210> 93
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 93
tgaagcagta gcctaacaca ctcca 25

<210> 94
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 94
aagatatgga cacacgggag ccgct 25

<210> 95
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 95
gttttagcca ttgtggctt tccct 25

<210> 96
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 96
tggcttccc ttatcaaact tgggc 25

<210> 97
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 97
ctgagtata tgtcactgt ccccc 25

40 <210> 98
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 98
50 gttcactgtc ccctaatat taggg 25

<210> 99
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 99
gaacecccat gatgtaagtt tacct 25

<210> 100
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 100
aaacctgcac ttataccat gaact 25

<210> 101
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 101
aacacttca gcaactgtcca gtatt 25

<210> 102
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 102
tgtccagtat tctaccgtgg tacac 25

<210> 103
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 103
tacagacacc aagttccgtc agtcc 25

40 <210> 104
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 104
gtcttctcaa gatccgagtc tacc 25

<210> 105
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 105
ctaccagcc ctgtagat tcaga 25

<210> 106
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 106
gcggtgatgg tatttgccc aggca 25

<210> 107
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 107
gcagatgctt ttgtccagg tactg 25

<210> 108
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 108
ggctgcgact gatgaaggca tgcct 25

<210> 109
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 109
accacagact gtacggcaag gcggc 25

40 <210> 110
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 110
ggcggctaca tgctcagtg aagga 25

<210> 111
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 111
tagtagtcc tgctacaact tcagc 25

<210> 112
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 112
agcccctgcc catctgggaa aatac 25

<210> 113
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 113
gaaaataccc catcattcat gctac 25

<210> 114
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 114
ggctatggga gcagctttt ttcc 25

<210> 115
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 115
gtcatccaat ctaaccacat caata 25

<210> 116
<211> 25
40 <212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 116
50 ctgttcaca ctctcacatg ttag 25

<210> 117
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 117
ttataatctg attgttttc ctctt 25

<210> 118
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 118
gaccacaaat agtgctcgct ttcta 25

<210> 119
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 119
gtgctcgctt tctatgtagt ttggt 25

<210> 120
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 120
gaagactcta ccagactgtg tattc 25

<210> 121
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 121
tgttcctca agatcatgta cccca 25

40 <210> 122
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 122
50 gtaccccaat ttacttgcca ttact 25

<210> 123
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 123
gtcatgaggc agctttcatc acacc 25

<210> 124
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 124
tcatcacacc cttttaacat ttatc 25

<210> 125
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 125
aaaggtgtgc aaactgtat ctgaa 25

<210> 126
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 126
gtatctgaag acetaccagg gacaa 25

<210> 127
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 127
ggaacacaca tgtcctatcc aaagg 25

40 <210> 128
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 128
ctatccaaag gaatcagctg cagct 25

<210> 129
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 129
taaagtcagg acctggcttg gcttt 25

<210> 130
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 130
tctggatttt cagcgaacat gcctg 25

<210> 131
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 131
ggacacctca aatacatacc tactg 25

<210> 132
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 132
actgactgat gacaaaccca ggagt 25

<210> 133
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 133
aaaaagtttg ccttgatgt catat 25

40 <210> 134
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 134
gactcagcct ctggatgga ttact 25

<210> 135
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 135
ggtgagaatg gctactccg gatcc 25

<210> 136
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 136
acttccggat ccgcagagga actga 25

<210> 137
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 137
gagagcatag cagtggcagc cacac 25

<210> 138
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 138
gcagccacac caattcctaa attgt 25

<210> 139
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 139
gtagggtatg ccttccagta ttca 25

40 <210> 140
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 140
gccttccagt attcataat gatct 25

<210> 141
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 141
gatctgcatc agttgtaaag gggaa 25

<210> 142
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 142
aatggtata ttcacagact gtaga 25

<210> 143
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 143
gactgtagac ttcagcagc aatct 25

<210> 144
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 144
accttcaat cggccactgg ccatt 25

<210> 145
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 145
taactctacc ctggcactat aatgt 25

40 <210> 146
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 146
gctctactga ggtgctatgt tctta 25

<210> 147
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 147
tcttagtga tgttctgacc ctgct 25

<210> 148
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 148
tctgaccctg cttcaaatat ttccc 25

<210> 149
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 149
ggtactaagg aatctttctg cttg 25

<210> 150
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 150
gctttgggg ttatcagaat tctca 25

<210> 151
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 151
aatgctcttt acttcatgga ctcc 25

40 <210> 152
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 152
50 ttacttcatg gactccact gccat 25

<210> 153
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 153
attctttcag tggctaccta catac 25

<210> 154
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 154
gctacctaca tacaattcca aacac 25

<210> 155
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 155
aatgaggtac tctcctggaa atatt 25

<210> 156
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 156
gcttctggag gcacctcag aaatt 25

<210> 157
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 157
atagtctcaa ctgctgcga caggc 25

40 <210> 158
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 158
gacaggcccc tggacaaggg ctgca 25

<210> 159
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 159
gagtggatgg gagggatcgt cccta 25

<210> 160
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 160
atcgtcccta tctttggtac atcaa 25

<210> 161
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 161
ttggtacatc aaactacaca caaaa 25

<210> 162
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 162
tacacacaaa agttccaggg gagag 25

<210> 163
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 163
ggagagtcac gattaccgcg gactt 25

40 <210> 164
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 164
caccagcaca gcctacatgg agctg 25

<210> 165
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 165
ggagctgaac agcctgagat ctgag 25

<210> 166
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas.

5 <400> 166
tgagatctga ggacacggcc atgca 25

<210> 167
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 167
aagcacctg tatcacagac tggca 25

<210> 168
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 168
aacagttact ccagtatatg ctgat 25

<210> 169
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 169
gatggaccag gaagccctga atcca 25

40 <210> 170
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 170
ggcatacctt aaacaagctc cacct 25

<210> 171
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 171
taaacaagct ccacctcca aagga 25

<210> 172
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 172
ttccaagga cctactgttc ggaca 25

<210> 173
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 173
acgaagctgt ctagagtgg gacca 25

<210> 174
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 174
gtgggaccaa cttcctgttg atgtt 25

<210> 175
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 175
gtgaatgtgg attcttccca cacag 25

40 <210> 176
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 176
tacattgtcc tcttgacta gtgac 25

<210> 177
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 177
ggtacgaatg gcagcataca cagat 25

<210> 178
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 178
aggactcaag acatctcagt gttct 25

<210> 179
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 179
cccacacgac cacagatcgc gcaaa 25

<210> 180
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 180
accatagtg gttgctcag gaac 25

<210> 181
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

35 <400> 181
tttctactgg tggaggccca ttaca 25

40 <210> 182
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 182
50 ggcccattac aggcaaccag ttctc 25

<210> 183
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 183
gttctcctca gggcatggtg caagc 25

<210> 184
<211> 25
65 <212> ADN
<213> Artificial

ES 2 603 956 T3

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5 <400> 184
ggtgcaagct gttgtctgc caaca 25

<210> 185
<211> 25
10 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15 <400> 185
aacagttggt ttggtctc ccata 25

<210> 186
<211> 25
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

25 <400> 186
gaaacaatca atgctcacc catac 25

<210> 187
<211> 25
30 <212> ADN
<213> Artificial

35 <220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 187
40 caagtggcc attctgtat tcag 25

<210> 188
<211> 25
<212> ADN
45 <213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50 <400> 188
aactacagtc ttgagcagcc tagcc 25

<210> 189
<211> 25
55 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60 <400> 189
atgagatgta tctttgctc tctct 25

<210> 190
<211> 25
65 <212> ADN

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<900> 190
ccctgatcgg tgacagtcac tagct 25

<210> 191
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 191
tgacagtcac tagcttatct tgaac 25

20

<210> 192
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 192
acagatattt aatttgcta acaact 25

<210> 193
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 193
gaattctaca tactaaatct ctctc 25

<210> 194
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 194
tctacatact aaatctctct ccttt 25

<210> 195
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 195
ggtgctactg ttatccgta ataata 25

<210> 196
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 196
cgtctttgtc tctagtcag tttt 25

<210> 197
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 197
agtcagttt ttcgagatat tccgt 25

20

<210> 198
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 198
gttttcgag atattccgta gtaca 25

<210> 199
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 199
agatattccg tagtacatat ttatt 25

<210> 200
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 200
aaagacactc ggcagcaaca tcagc 25

<210> 201
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 201
aaaggccctc atcaatagtc ggaaa 25

<210> 202
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 202
atgtgggtct tatgctcca ttaac 25

<210> 203
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 203
attaacaaat gctctgtctt caatg 25

20

<210> 204
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 204
atgagcatgc atttctgt atgat 25

<210> 205
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 205
attcacctt tctcaaaat cgata 25

<210> 206
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 206
aaatcgatat ggtggctgca aaact 25

<210> 207
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 207
aaactagaat tgtgcatcc ctcaa 25

<210> 208
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 208
gagggccata tcctgtggt attcc 25

<210> 209
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 209
tcctgcttg ggccttaga attct 25

20

<210> 210
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 210
gttccaaatc cacagctttt acgta 25

<210> 211
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 211
agcacagttt cactgccata tactc 25

<210> 212
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 212
aggacttct gaagcctcac ttatg 25

<210> 213
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 213
gaagcctcac ttatgagatg cctga 25

<210> 214
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 214
atgcctgaag ccaggccatg gctat 25

10

<210> 215
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<900> 215
agagctgtcc tggatctag accca 25

20

<210> 216
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 216
tatctagacc catctcttt ttgaa 25

30

<210> 217
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 217
atgttactat ctgctttgg ttata 25

40

<210> 218
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 218
tttctgggg ttatgatggc catac 25

55

<210> 219
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 219
gagtttctct cacattactg tatat 25

65

<210> 220
<211> 25
<212> ADN

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 220
aattcaggct ttggatgttt ctta 25

<210> 221
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 221
gatgtttctt tagcagtttt gtgat 25

20

<210> 222
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 222
aagccatagt cgtgcctggt tgctt 25

<210> 223
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 223
atagtcgtgc ctgtttgctt agcat 25

<210> 224
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 224
gtttgcttag cattcctatt gacaa 25

<210> 225
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 225
cattcctatt gacaactctt ctggg 25

<210> 226
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 226
gttctgcttt aataagcgag accta 25

<210> 227
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 227
aaaacacatc tggcctaatg ttcca 25

20

<210> 228
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 228
gcctaagtgt ccagatcctt caaag 25

<210> 229
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 229
agagtcatat tgcccagtg gcacc 25

<210> 230
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 230
tcagatggc aatttactg atgta 25

<210> 231
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 231
acaaaaagcc tttccagaa gatct 25

<210> 232
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 232
gaagatctga aatcattgga cctgt 25

<210> 233
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 233
ggcatctcct gagcctaggc aatac 25

20

<210> 234
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 234
gtagggtgac ttctggagcc atccc 25

<210> 235
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 235
agagctgggg aatgggccc gaga 25

<210> 236
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 236
tcatgggtgc ctgagagcag gacct 25

<210> 237
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 237
agcaggacct tggatttcc ttgtt 25

<210> 238
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 238
gctttgggct acgtggatga ccagc 25

<210> 239
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 239
atgaccagct gttcgtgttc tatga 25

20

<210> 240
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 240
cccgaactcc atgggttcc agtag 25

<210> 241
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 241
gcagctgagt cagagtctgc ccage 25

<210> 242
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 242
tctgcccagc cgtcaaaaga gtctt 25

<210> 243
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 243
agggcagggtg cttcaggata ccata 25

<210> 244
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5
<400> 244
tccaggctgg aagtacttgg ccccc 25

10
<210> 245
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

15
<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 245
gagagagtag ctgcagcctt catca 25

20
<210> 246
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25
<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30
<400> 246
gccagcaagt ccttaggcta ctgta 25

35
<210> 247
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

40
<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 247
gctactgtaa tgctgcctca ggacc 25

45
<210> 248
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50
<400> 248
tcctctaggc cctgtgagca caaag 25

55
<210> 249
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60
<400> 249
taatccatt caggactctc tccag 25

65
<210> 250
<211> 25
<212> ADN

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 250
gctcggggtg tgcattct atatt 25

<210> 251
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 251
atattcctcc agctgggatt ggggg 25

20

<210> 252
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 252
gcaggcccaa tgctgctttt ggggg 25

<210> 253
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 253
gggggtcagc atccagtgtg agata 25

<210> 254
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 254
tgcaataaaa acgcttccc cgta 25

<210> 255
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 255
gcctgaacct cagacctagt aattt 25

<210> 256
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 256
cagacctagt aattttcat gcagt 25

<210> 257
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 257
caagtttga acatgcagca gatta 25

20

<210> 258
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 258
gaaaacctta atgactcaga gagca 25

<210> 259
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 259
ggaagctgat taattagata tgcatt 25

<210> 260
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 260
gcatctggca ttgtttatc ttatc 25

<210> 261
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 261
atcttaccag tattatcact cttat 25

<210> 262
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 262
atcactctta tgttggtta ttctt 25

<210> 263
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 263
gttggttat tcttaagctg taca 25

20

<210> 264
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 264
aaacatatgc taaatccgct tcagt 25

<210> 265
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 265
atgctaaatc cgcttcagta ttta 25

<210> 266
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 266
ttcttcccc aaatatcatg tagca 25

<210> 267
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 267
gaaacattct tatgcatcat ttggt 25

<210> 268
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<900> 268
tacgctatgg gatactggca acagt 25

<210> 269
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

15

<400> 269
gcaacagtgc acatatttca taacc 25

20

<210> 270
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

30

<400> 270
tcataacca aattagcagc accgg 25

<210> 271
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

40

<400> 271
gcagcaccgg tcttaattg atgtt 25

<210> 272
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

50

<400> 272
ggatagtgt gttactgta cttt 25

<210> 273
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

60

<400> 273
tttgtttga tccgttga taaat 25

<210> 274
<211> 25
<212> ADN

65

ES 2 603 956 T3

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

5

<400> 274
gatagcaata tcttgacac attg 25

10

<210> 275
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

15

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 275
atacctagca atcacttta cttt 25

20

<210> 276
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<223> Una secuencia de una sonda contenida en un conjunto de sondas

<400> 276
tttactttt tgtaattctg tctct 25

30

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama, que comprende las etapas de:

- 5 (1) preparar una muestra de medición que comprende ARN de un espécimen obtenido del sujeto,
 (2) medir un nivel de expresión de cada gen de (A1) a (A19) a continuación haciendo uso de una muestra de medición obtenida en la etapa (1),
 (3) analizar un nivel de expresión de cada gen medido en la etapa (2), y
 10 (4) determinar la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de un resultado del análisis obtenido en la etapa (3), donde

- (A1) es un gen de la familia del dominio de reclutamiento de la caspasa humana, miembro 9 (CARD9),
 (A2) es un gen de la indoleammina-2,3-dioxigenasa 1 (IDO1),
 15 (A3) es un gen del ligando 9 (CXCL9) de la quimiocina humana (motivo C-X-C),
 (A4) es un gen de la nucleósido purina fosforilasa (PNP) humana,
 (A5) es un gen del ligando 11 (CXC11) de la quimiocina humana (motivo C-X-C),
 (A6) es un gen de la proteína de unión a CCAAT/potenciador (CEBPB) humana,
 (A7) es un gen de CD83 humano,
 20 (A8) es un gen del transductor de señal de la interleucina 6 (IL6ST) humana,
 (A9) es un gen del receptor 1 (CX3CR1) de la quimiocina humana (C-X3-C),
 (A10) es un gen de CD1D humano,
 (A11) es un gen de la catepsina C (CTSC) humana,
 (A12) es un gen del ligando 10 (CXC10) de la quimiocina humana (motivo C-X-C),
 25 (A13) es un gen del isotipo G1 del locus genético de la cadena pesada de inmunoglobulina humana (IGHG1),
 (A14) es un gen de la homeocaja 1 de unión a la caja E del dedo de cinc humano (ZEB1),
 (A15) es un gen del factor A de crecimiento endotelial vascular humano (VEGFA),
 (A16) es un gen del precursor de la semaforina-3C (SEMA3C) humana,
 (A17) es un gen del receptor del complemento humano (CR2),
 30 (A18) es un gen HFE humano, y
 (A19) es un gen de EDA humano.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, donde

- 35 el gen de (A1) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1,
 el gen de (A2) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2,
 el gen de (A3) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una
 40 secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3,
 el gen de (A4) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4,
 el gen de (A5) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 5 o SEC ID N° 23,
 45 el gen de (A6) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 6,
 el gen de (A7) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 7,
 el gen de (A8) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una
 50 secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8, SEC ID N° 14 o SEC ID N° 19,
 el gen de (A9) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 9,
 el gen de (A10) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 10,
 55 el gen de (A11) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 11,
 el gen de (A12) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 12,
 el gen de (A13) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una
 60 secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 13,
 el gen de (A14) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 15 o SEC ID N° 22,
 el gen de (A15) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 16,
 65 el gen de (A16) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 17,

el gen de (A17) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 18,
 el gen de (A18) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 20 y
 el gen de (A19) comprende un ácido nucleico detectado por una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 21.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 2, donde el nivel de expresión se mide utilizando un conjunto de sondas mostrado en la Tabla A.

TABLA A

SEQ ID NO del polinucleótido diana	SEQ ID NO de la sonda
1	24~34
2	35~45
3	46~56
4	57~67
5	68~78
6	79~89
7	90~100
8	101~111
9	112~122
10	123~133
11	134~144
12	145~155
13	156~166
14	167~177
15	178~188
16	189~199
17	200~210
18	211~221
19	222~232
20	233~243
21	244~254
22	255~265
23	266~276

4. El método de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, donde el análisis del nivel de expresión se lleva a cabo utilizando una técnica de clasificación, una técnica de puntuación o una técnica de análisis de grupos.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, donde el análisis del nivel de expresión se lleva a cabo utilizando una técnica de clasificación.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 4, donde la técnica de clasificación es un análisis discriminante lineal diagonal.

7. El método de acuerdo con la reivindicación 5, donde en el análisis del nivel de expresión se determina la solución D del discriminante usando el nivel de expresión y un discriminante representado por la fórmula (I):

$$D = \sum_i (w_i \times y_i) - 3,327217 \quad (I)$$

(donde i representa un número asignado a cada ácido nucleico mostrado en la Tabla B de manera que corresponda a la SEQ ID NO del polinucleótido diana, w_i representa un factor de ponderación de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla B, y_i representa un nivel de expresión normalizado de ácido nucleico, obteniéndose el nivel de expresión normalizado mediante la normalización de un nivel de expresión de ácido nucleico de acuerdo con la fórmula representada por la fórmula (II):

$$y_i = x_i - m_i \quad (II)$$

(donde, x_i representa un nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla B, y m_i representa un valor medio del nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla B sobre los especímenes) y Σ_i representa una suma total de los respectivos ácidos nucleicos), y

donde una determinación de ser sensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se realiza cuando la solución D del discriminante es un valor positivo y una determinación de ser insensible a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama se realiza cuando la solución D es 0 o un valor negativo en la etapa (4).

5

TABLA B

Número i de ácido nucleico	SEQ ID NO del polinucleótido diana	Factor de ponderación
1	1	2,361579818
2	2	0,527535817
3	3	0,53572137
4	4	1,296736029
5	5	0,437766376
6	6	1,09614395
7	7	1,154132786
8	8	-0,997955474
9	9	-0,84645569
10	10	0,703499669
11	11	1,262066324
12	12	0,481709248
13	13	0,784677171
14	14	-1,056130291
15	15	-0,90152985
16	16	0,941011796
17	17	-0,580145259
18	18	0,797198448
19	19	-0,963860205
20	20	-1,352304026
21	21	-1,231365097
22	22	-0,637818166
23	23	0,449217729

8. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el espécimen comprende una célula de cáncer de mama.

10 9. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el nivel de expresión se mide utilizando una micromatriz, un método de amplificación de ácido nucleico o un análisis de transferencia de tipo Northern.

15 10. El método de acuerdo con la reivindicación 9, donde el nivel de expresión se mide utilizando una micromatriz.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 10, donde la micromatriz es una micromatriz que tiene un conjunto de sondas mostrado en la Tabla A dispuesto sobre un material de base.

20 12. El método de acuerdo con la reivindicación 9, donde el nivel de expresión se mide utilizando un método de amplificación de ácido nucleico.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, donde el método de amplificación del ácido nucleico es RT-PCR o PCR cuantitativa.

25 14. Un programa de ordenador que hace que un ordenador funcione como sección de control para el análisis de un nivel de expresión de cada ácido nucleico correspondiente a las sondas de (B1) a (B23) a continuación en una muestra de medición que comprende ARN preparado a partir de un espécimen obtenido de un sujeto y para la determinación de la sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama sobre la base de la información obtenida del nivel de expresión, estando la sección de control configurada para ejecutar:

30 el cálculo de la solución D en base a un discriminante representado por la fórmula (I):

$$D = \sum_i (w_i \times y_i) - 3,327217 \quad (I)$$

35 (donde i representa un número asignado a cada ácido nucleico mostrado en la Tabla B de manera que corresponda a la SEQ ID NO del polinucleótido diana, w_i representa un factor de ponderación de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla B, y_i representa un nivel de expresión normalizado de ácido nucleico, obteniéndose el nivel de expresión normalizado mediante la normalización de un nivel de expresión de ácido nucleico de acuerdo con la fórmula representada por la fórmula (II):

$$y_i = x_i - m_i \quad (\text{II})$$

(donde, x_i representa un nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla B, y m_i representa un valor medio del nivel de expresión de ácido nucleico de número i mostrado en la Tabla B sobre los especímenes) y Σ_i representa una suma total de los respectivos ácidos nucleicos), y la determinación de la sensibilidad que determina sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama cuando la solución D del discriminante es un valor positivo y determina insensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante para el cáncer de mama cuando la solución D es 0 o un valor negativo, donde

- (B1) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1,
 - (B2) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2,
 - (B3) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3,
 - (B4) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4,
 - (B5) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 5,
 - (B6) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 6,
 - (B7) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 7,
 - (B8) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8,
 - (B9) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 9,
 - (B10) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 10,
 - (B11) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 11,
 - (B12) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 12,
 - (B13) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 13,
 - (B14) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 14,
 - (B15) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 15,
 - (B16) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 16,
 - (B17) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 17,
 - (B18) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 18,
 - (B19) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 19,
 - (B20) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 20,
 - (B21) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 21,
 - (B22) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 22 y
 - (B23) es una sonda dirigida a un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 23,
- donde la Tabla B es:

TABLA B

Número i de ácido nucleico	SEQ ID NO del polinucleótido diana	Factor de ponderación
1	1	2,361579818
2	2	0,527535817
3	3	0,53572137
4	4	1,296736029
5	5	0,437766376
6	6	1,09614395
7	7	1,154132786
8	8	-0,997955474
9	9	-0,84645569
10	10	0,703499669
11	11	1,262066324
12	12	0,481709248
13	13	0,784677171
14	14	-1,056130291
15	15	-0,90152985
16	16	0,941011796
17	17	-0,580145259
18	18	0,797198448
19	19	-0,963860205
20	20	-1,352304026
21	21	-1,231365097
22	22	-0,637818166
23	23	0,449217729

FIG. 1

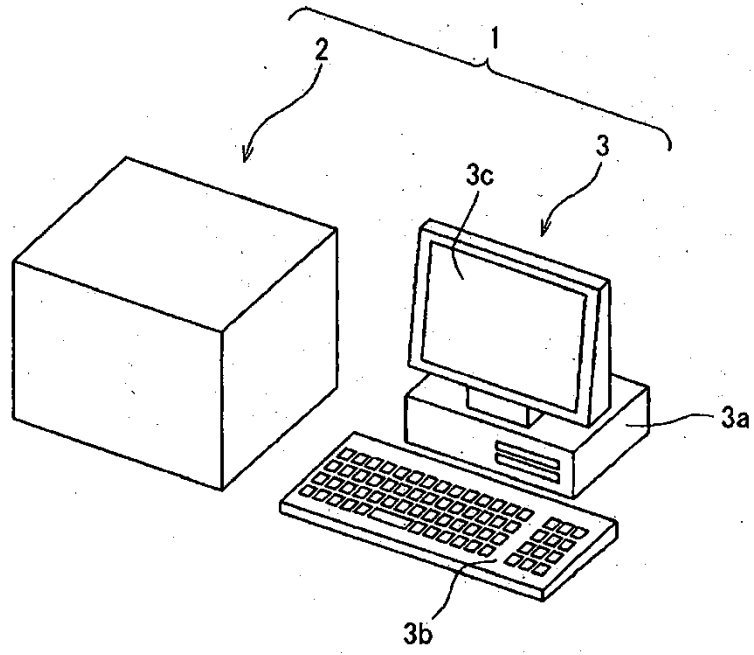


FIG. 2

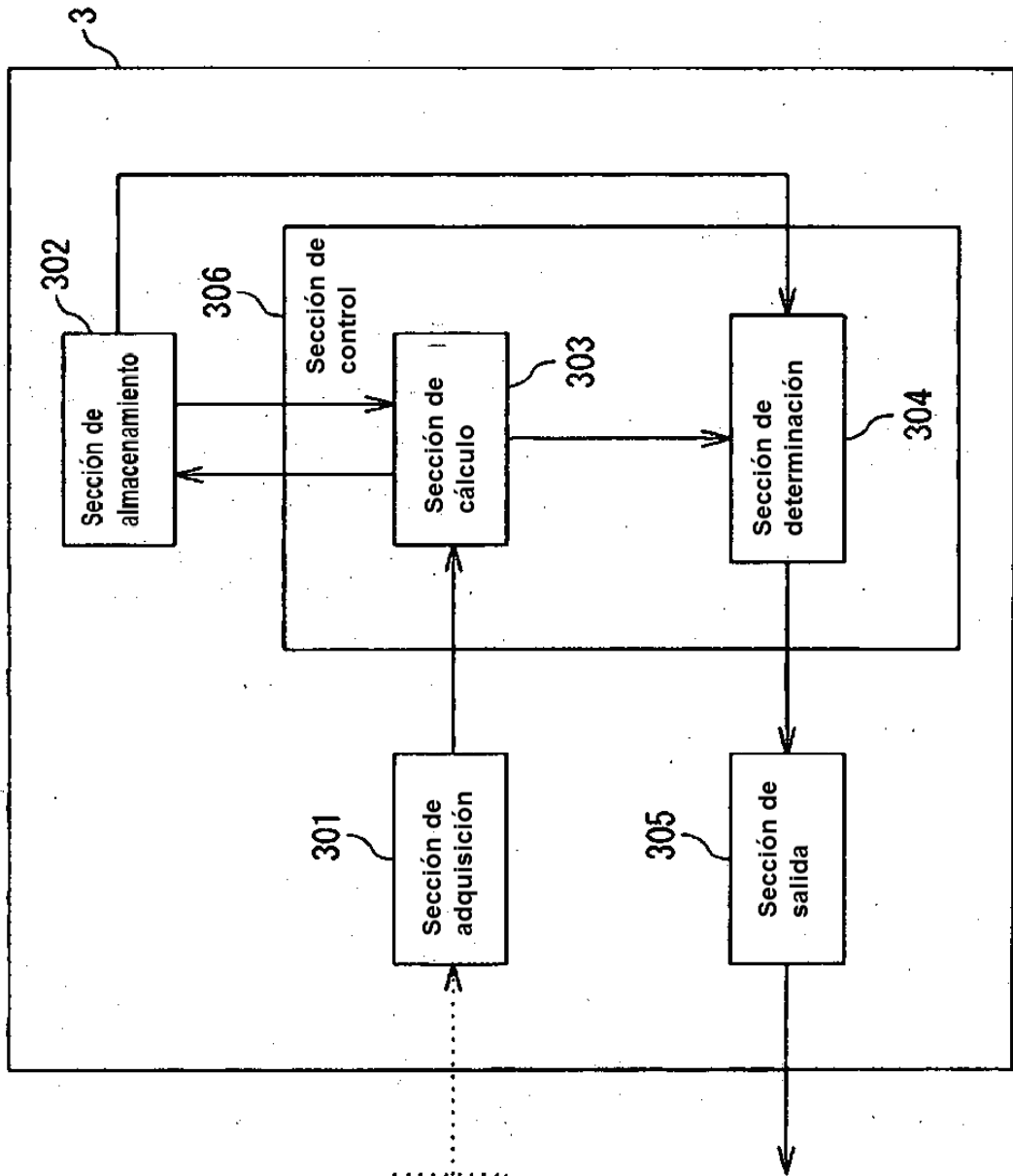


FIG. 3

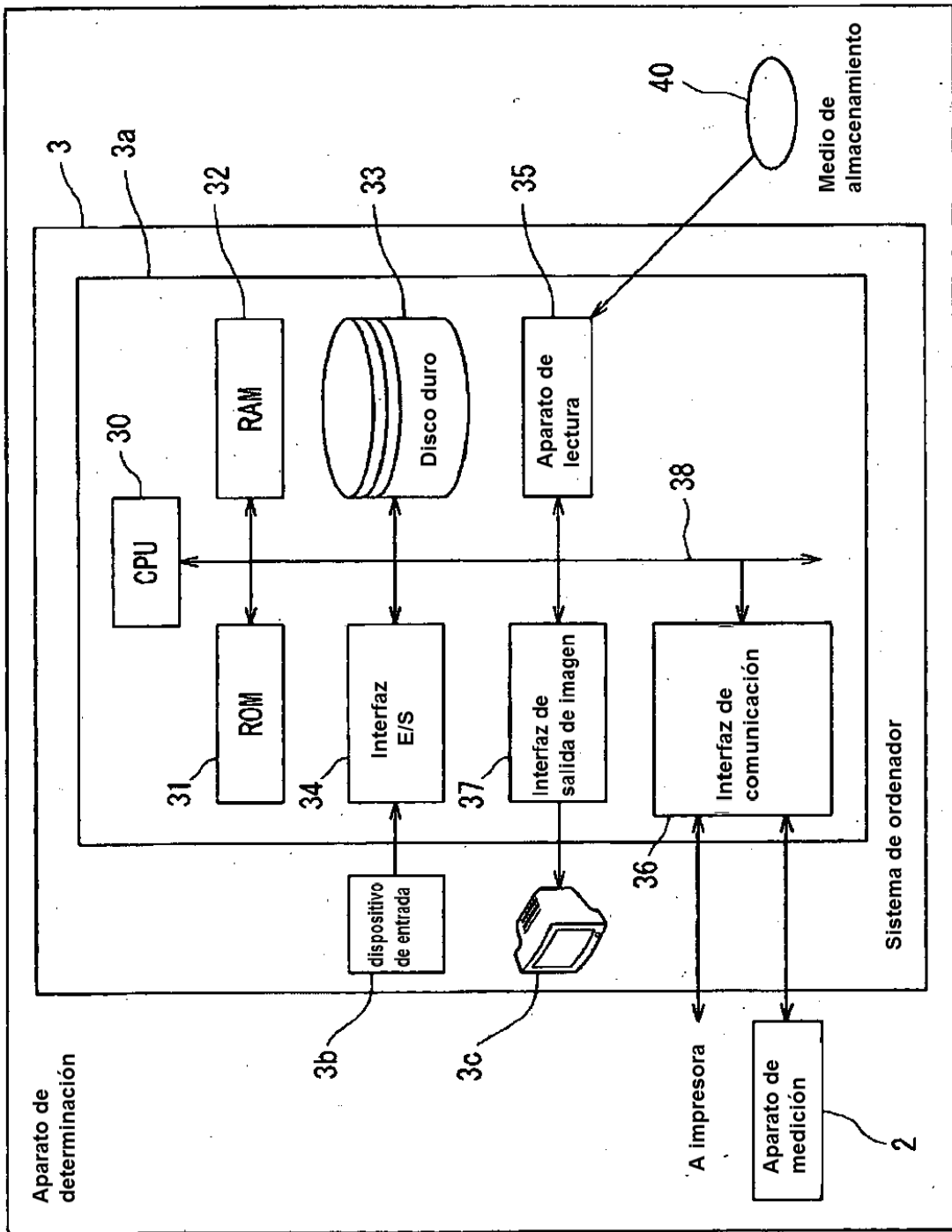


FIG. 4

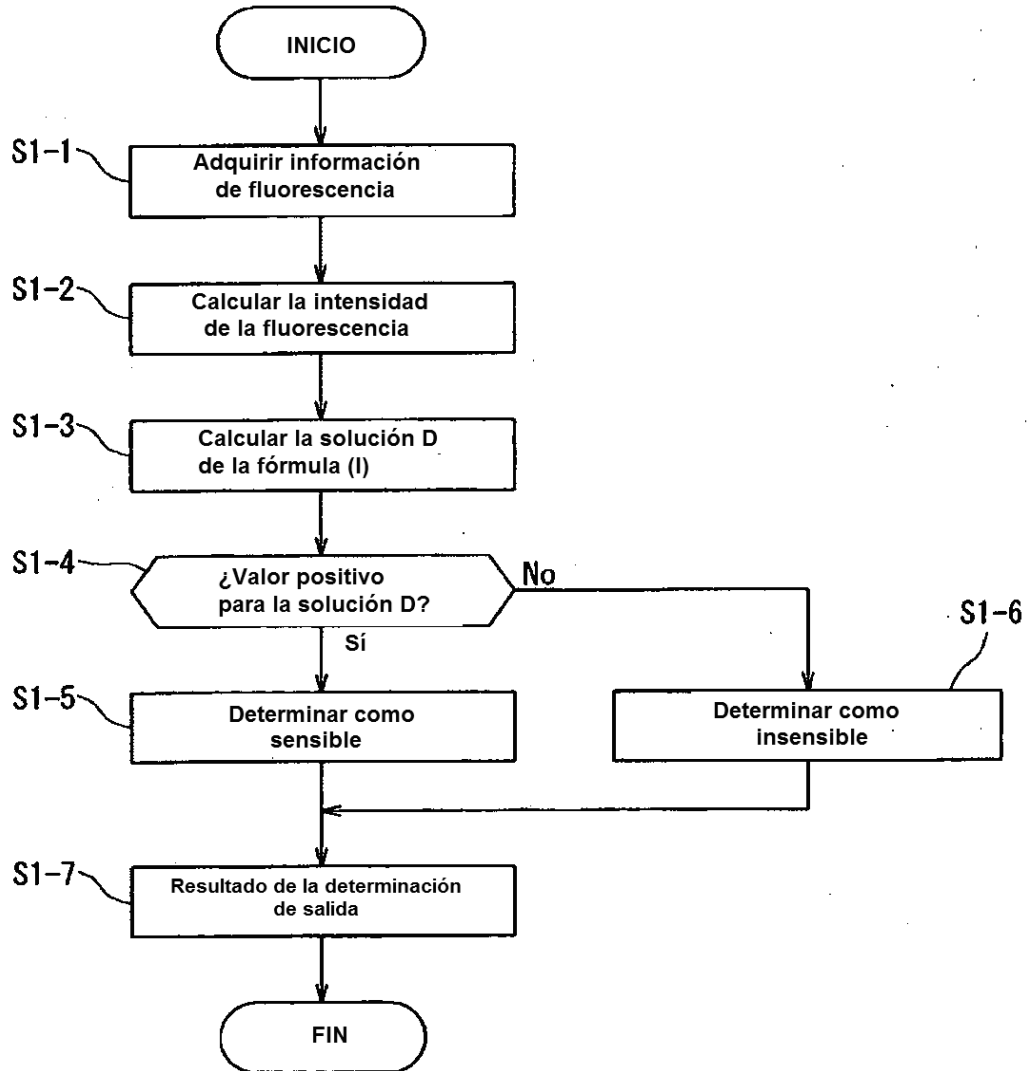


FIG. 5

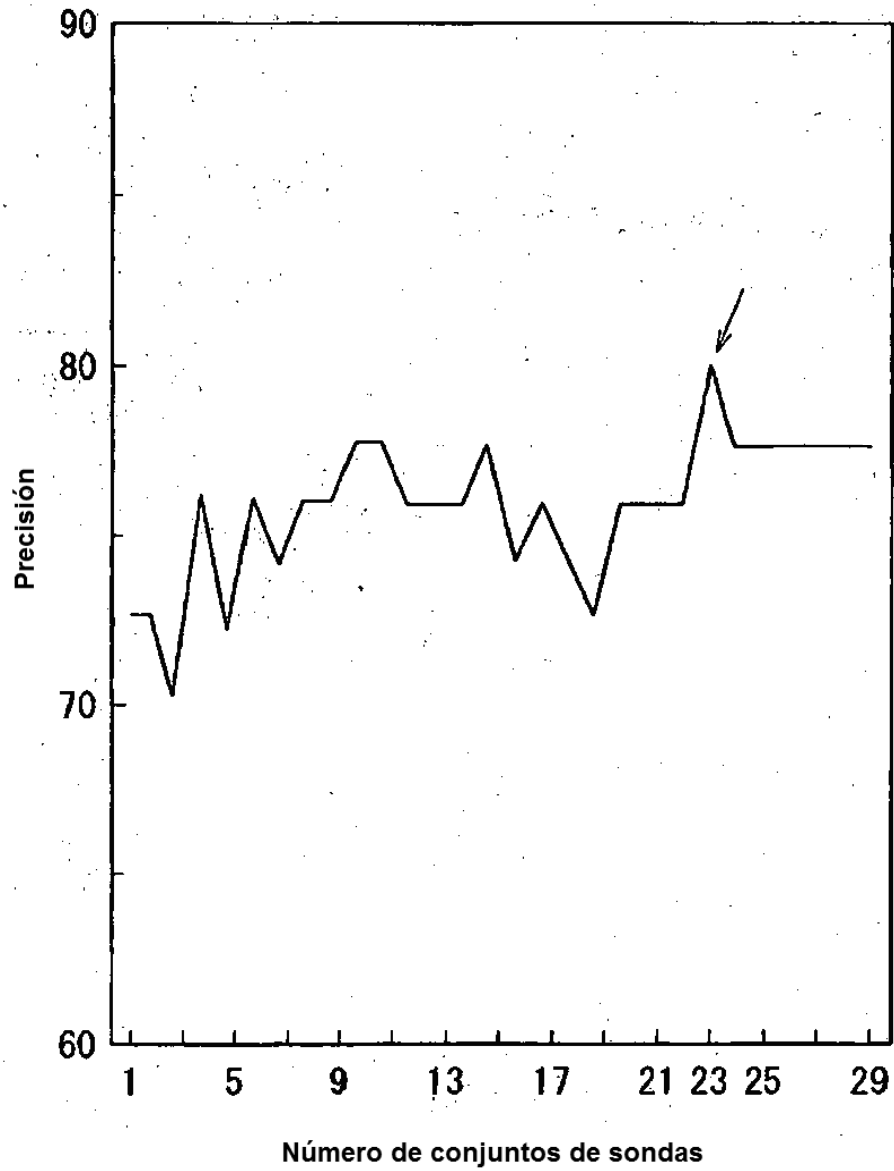


FIG. 6

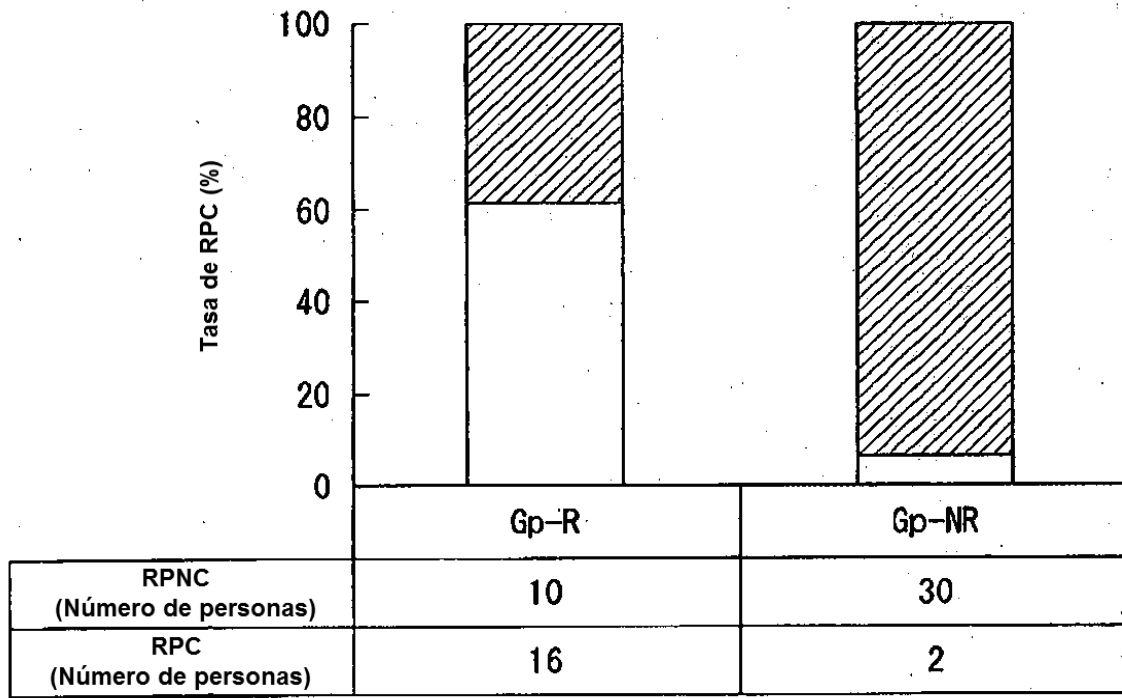


FIG. 7

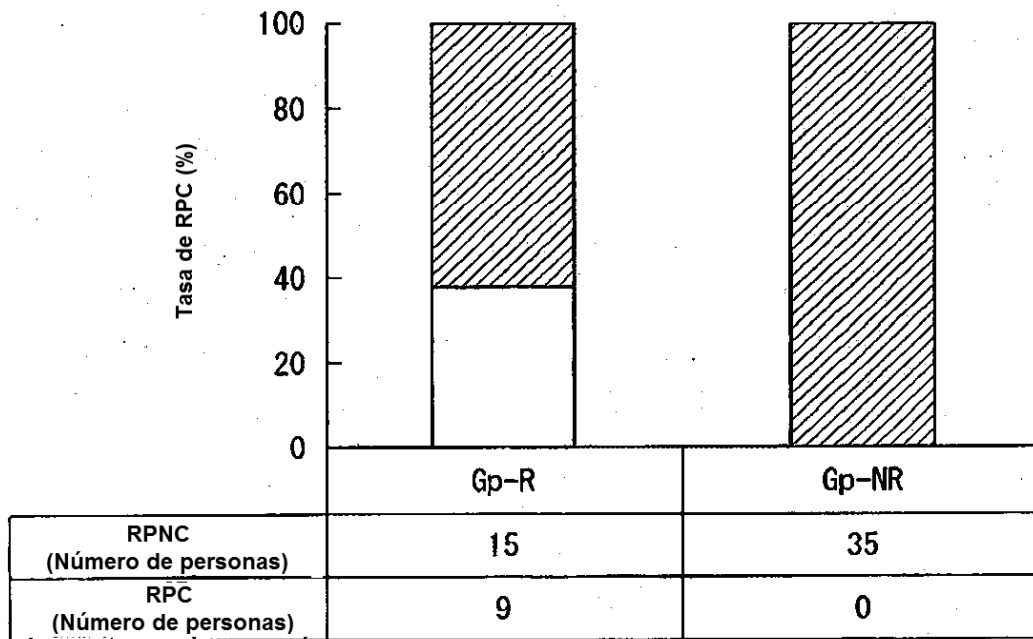


FIG. 8

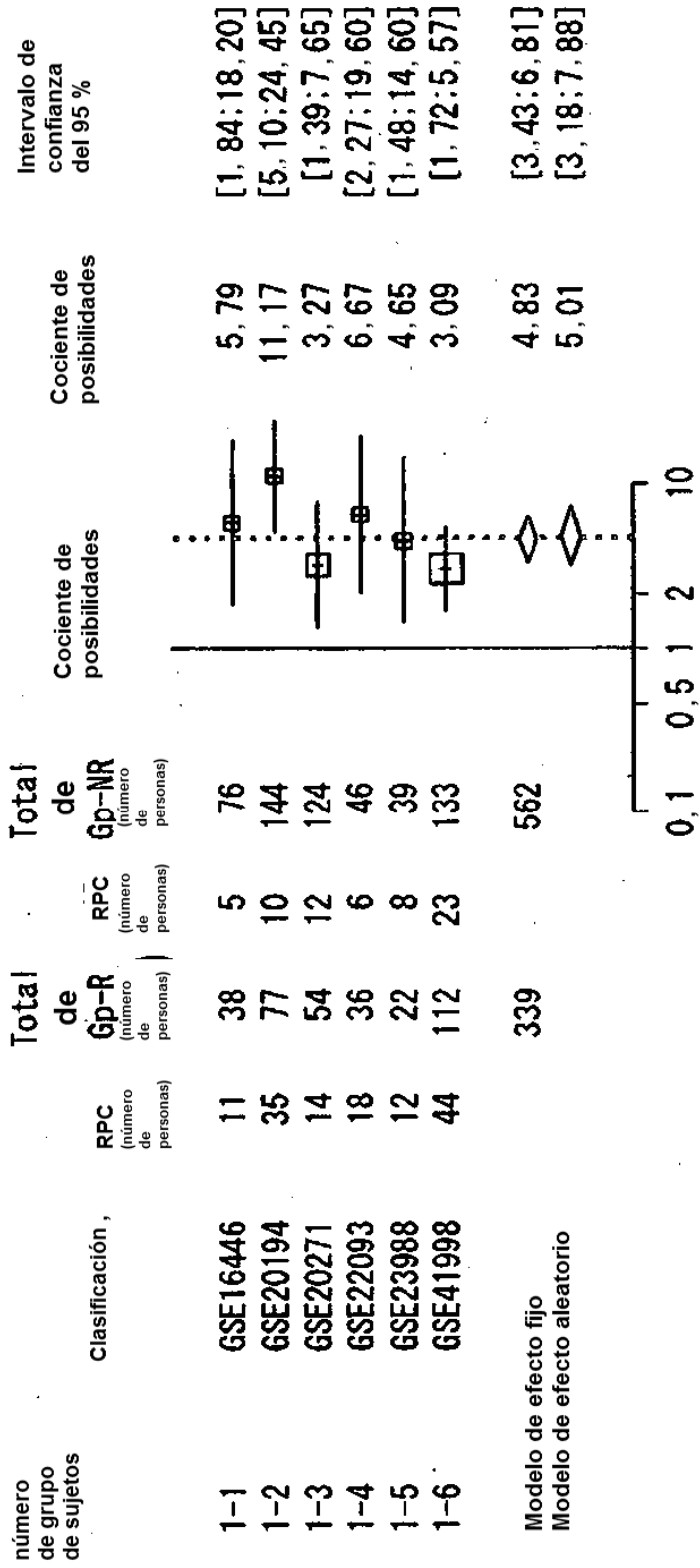


FIG. 9

número de grupo de sujetos	Clasificación	RPC (número de personas)	Total de Gp-R (número de personas)	RPC (número de personas)	Total de Gp-NR (número de personas)	Cociente de posibilidades	Cociente de posibilidades	Intervalo de confianza del 95 %
2-1	ER ⁺ , HER2 ⁻	12	45	26	330	4,25	[1,96; 9,21]	
2-2	ER ⁺⁻ , HER2 ⁺	21	40	14	74	4,74	[2,02; 11,09]	
2-3	ER ⁻ , HER2 ⁻	99	243	24	143	3,41	[2,05; 5,66]	

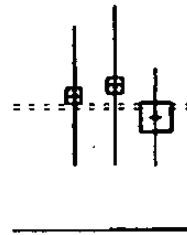


FIG. 10

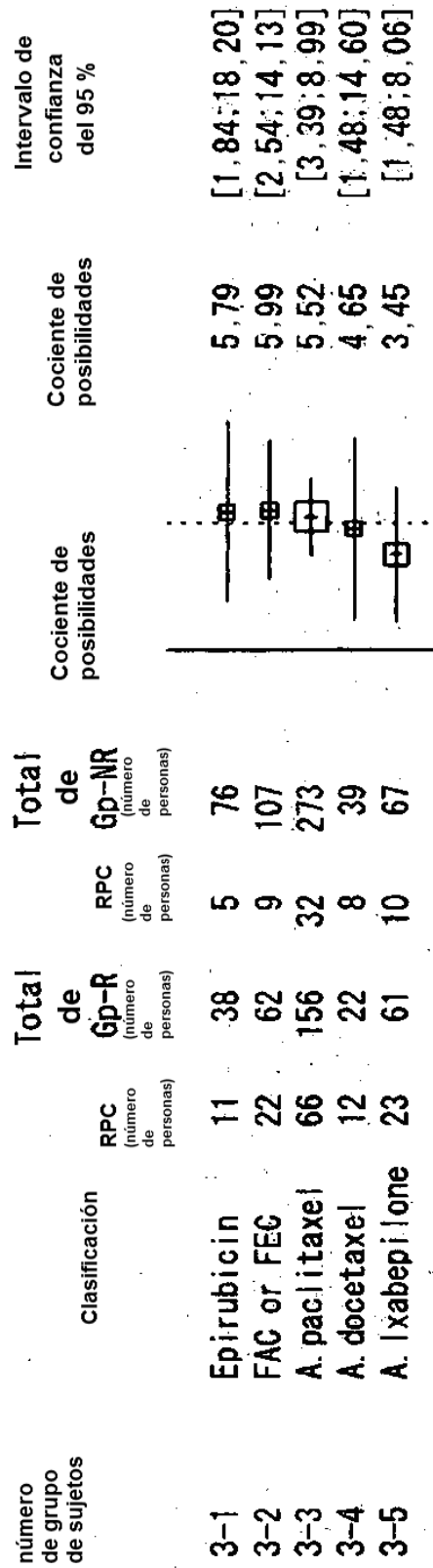


FIG.11

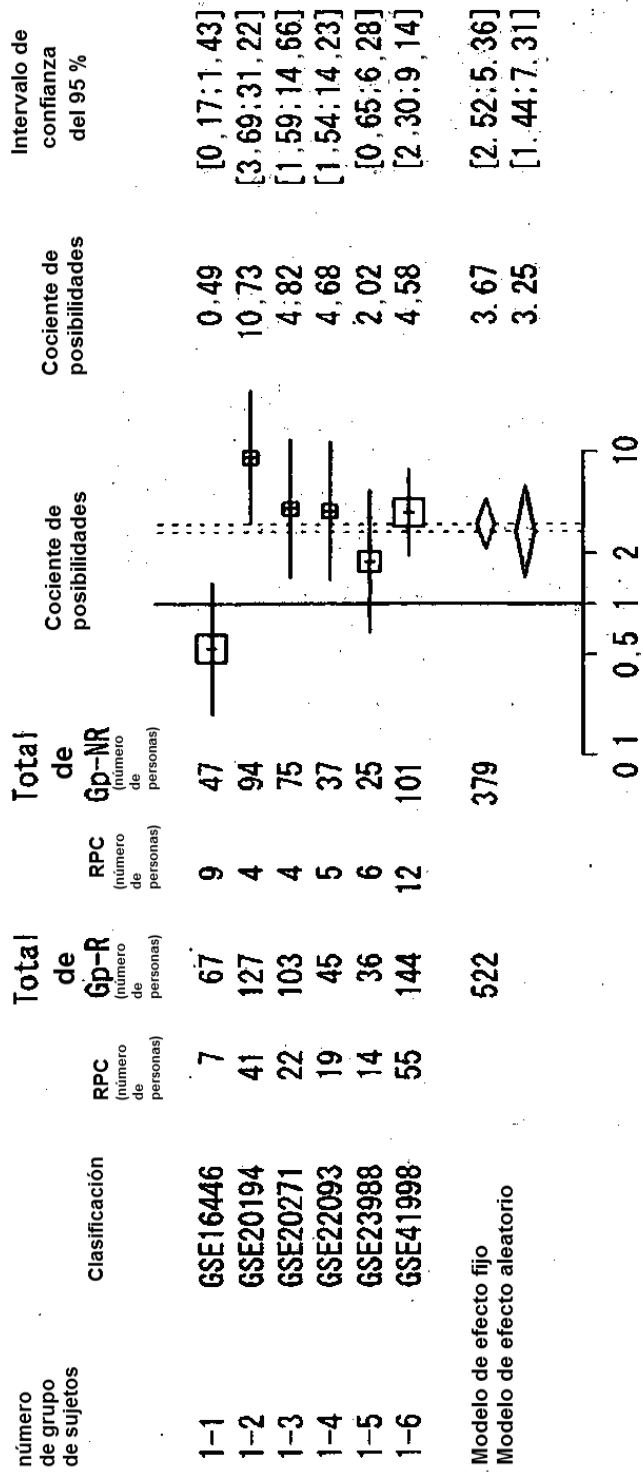


FIG. 12

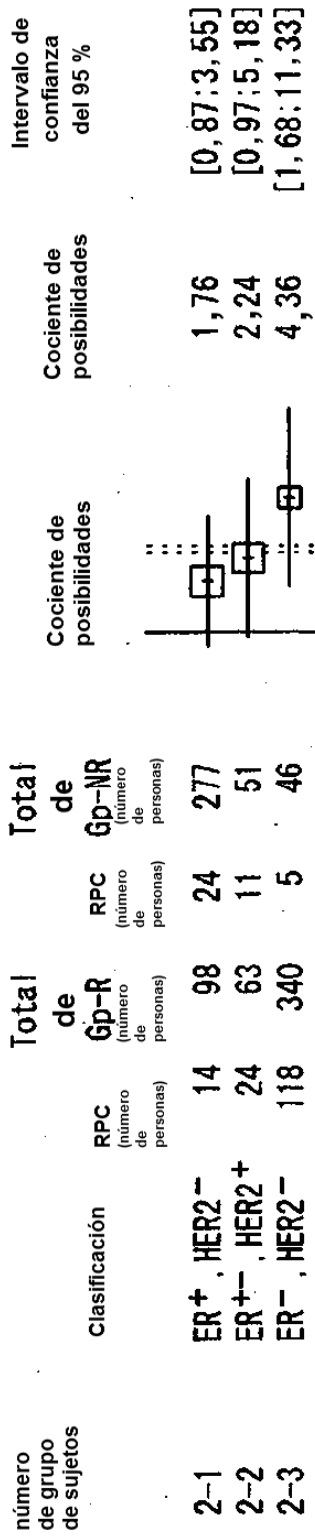


FIG. 13

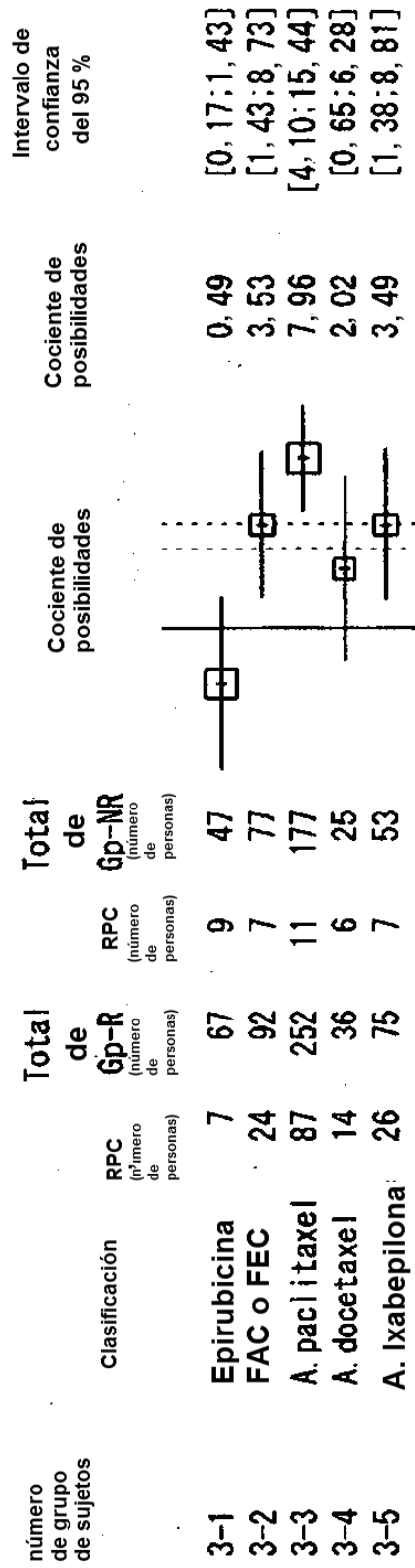


FIG. 14

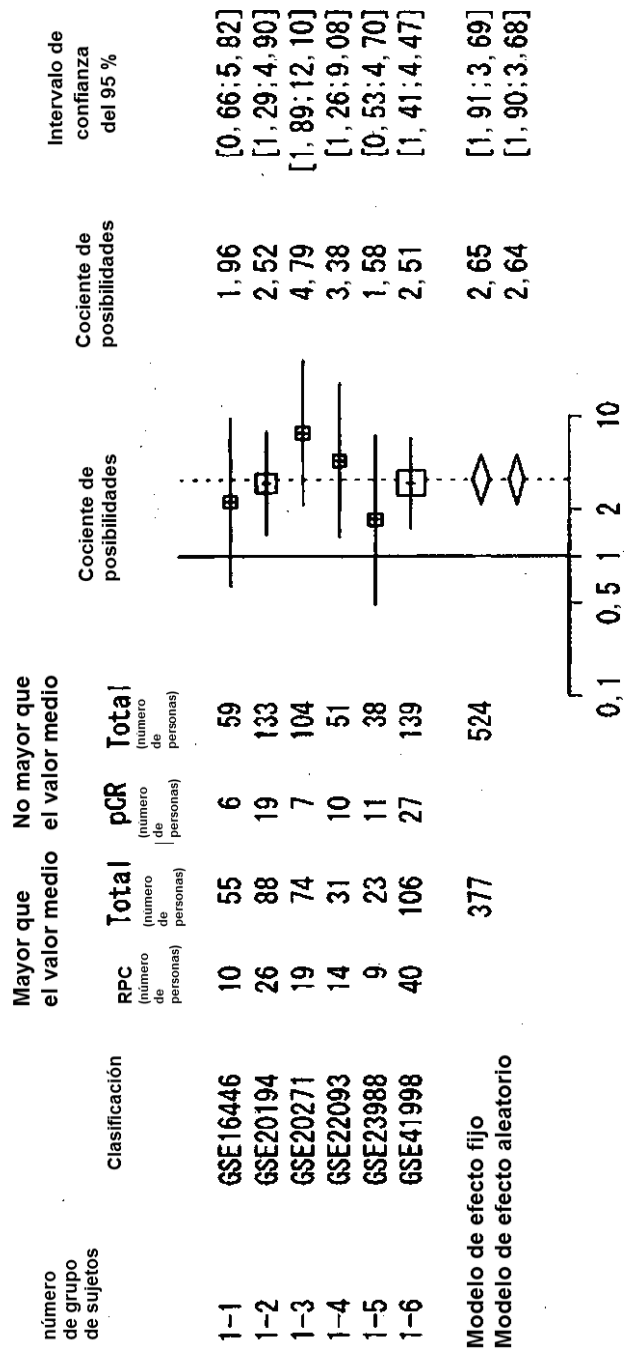


FIG. 15

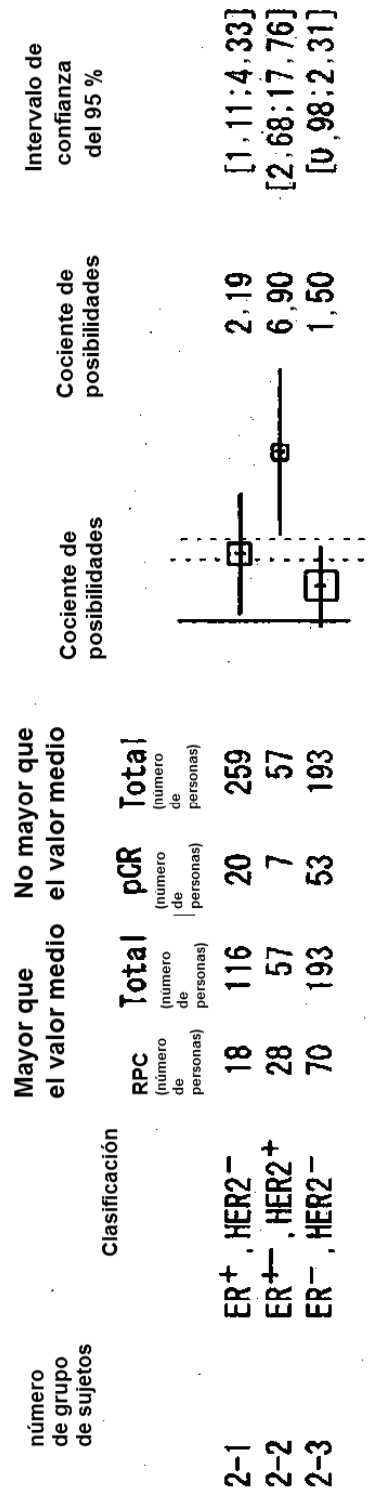


FIG. 16

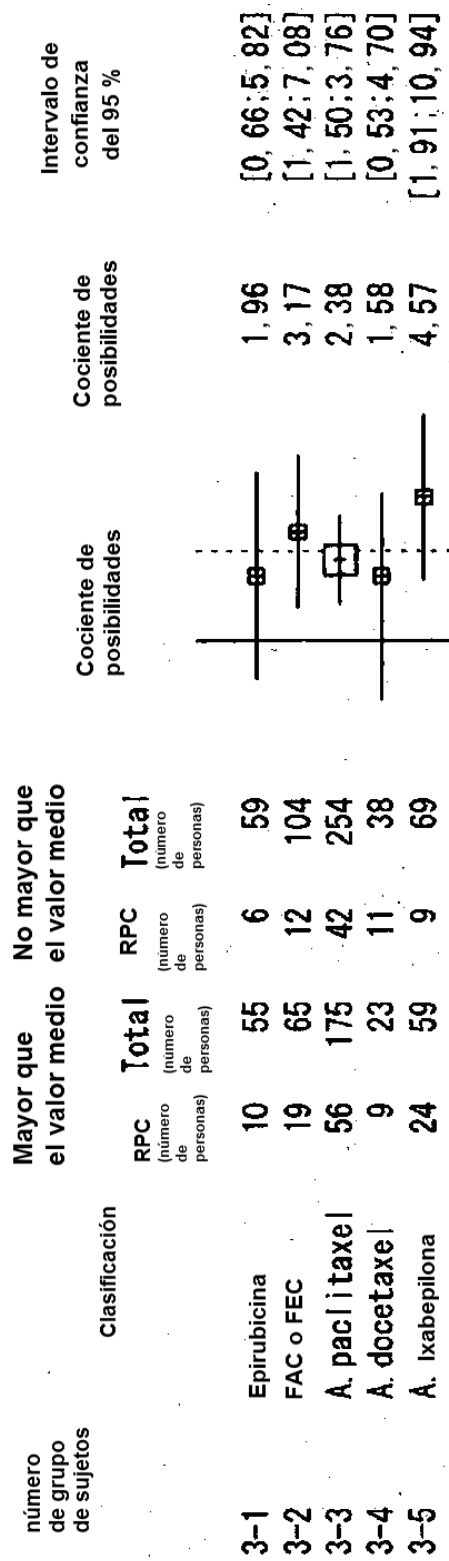


FIG. 17

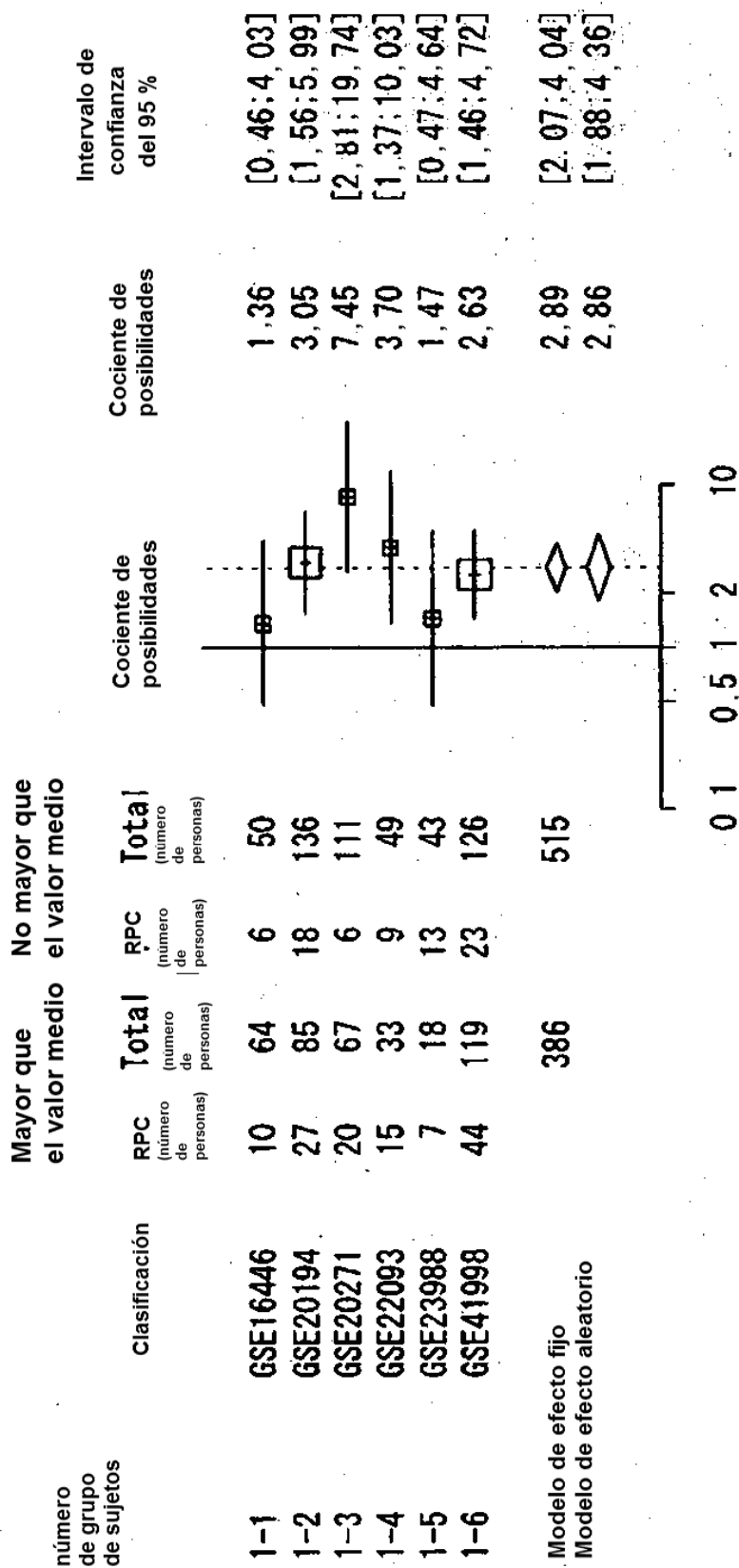


FIG. 18

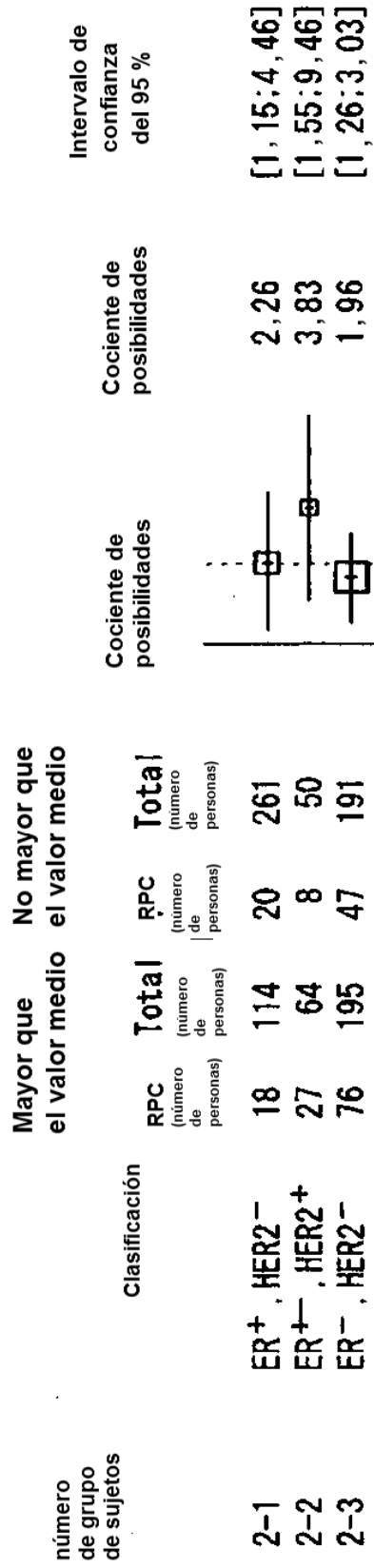


FIG. 19

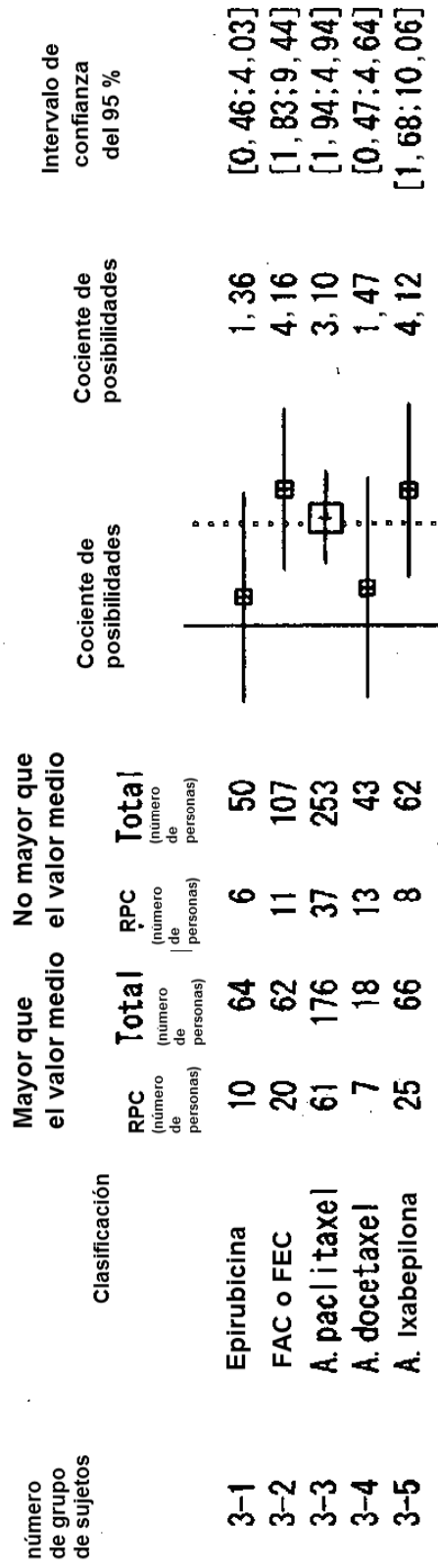


FIG. 20

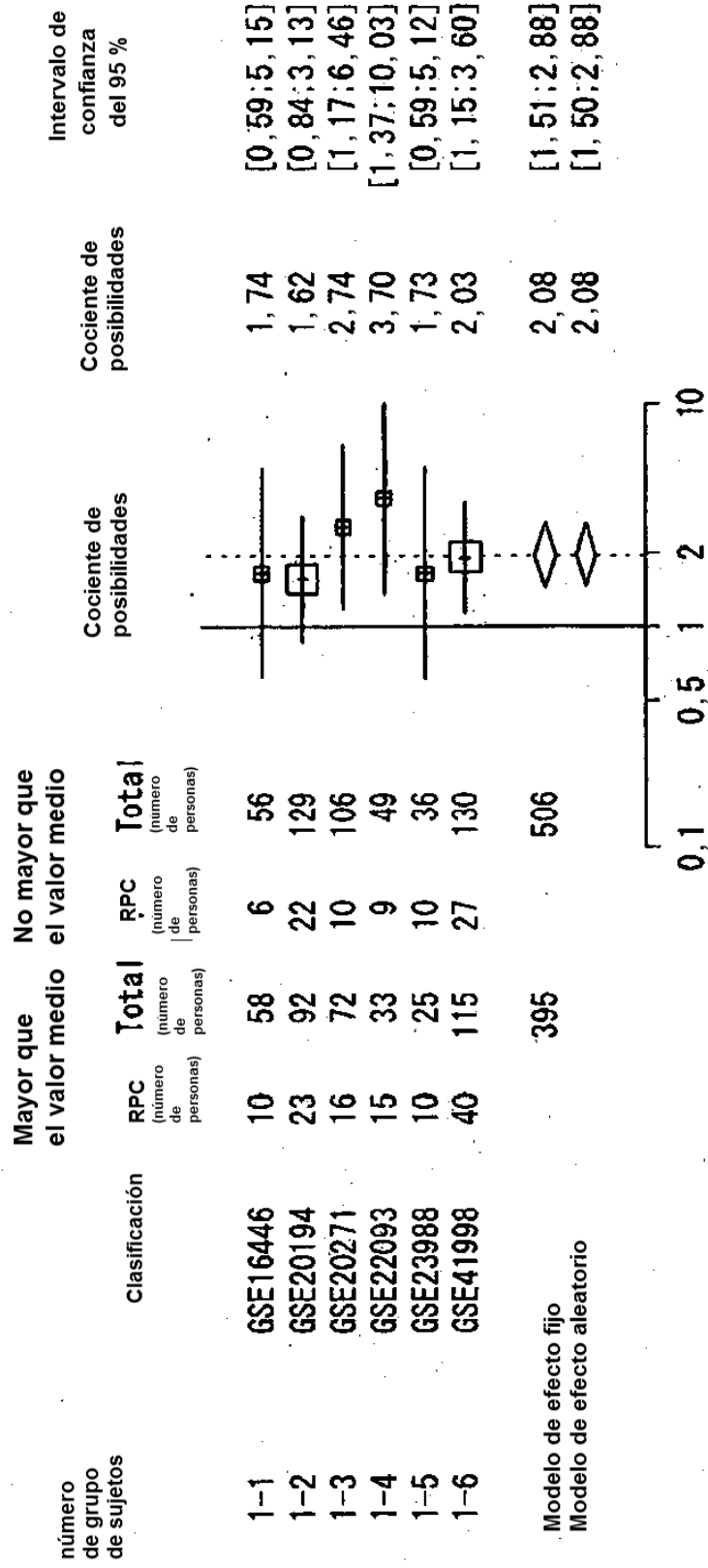


FIG. 21

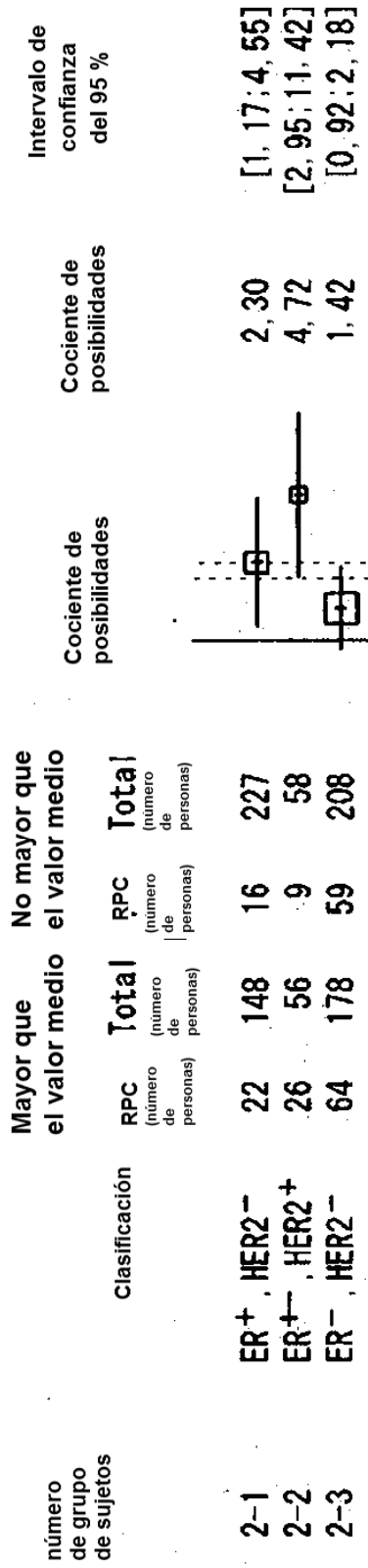


FIG. 22

