(19)日本国特許庁(JP)　　(12)公表特許公報(A)　　(11)公表番号
特表2024-512156
(P2024-512156A)
(43)公表日　令和6年3月18日(2024.3.18)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｑ	*1/6876(2018.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/6876	Ｚ ＺＮＡ	４Ｂ０６３
Ｃ１２Ｑ	*1/686(2018.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/686	Ｚ	
Ｃ１２Ｑ	*1/6869(2018.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/6869	Ｚ	
Ｃ１２Ｎ	*15/09 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/09	Ｚ	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全291頁）

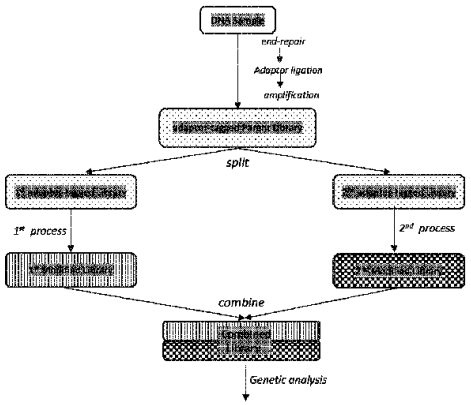
(21)出願番号　特願2023-560829(P2023-560829)
(86)(22)出願日　令和4年3月30日(2022.3.30)
(85)翻訳文提出日　令和5年12月1日(2023.12.1)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/022640
(87)国際公開番号　WO2022/212574
(87)国際公開日　令和4年10月6日(2022.10.6)
(31)優先権主張番号　63/167,914
(32)優先日　令和3年3月30日(2021.3.30)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/311,041
(32)優先日　令和4年2月16日(2022.2.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　515138791
レゾリューション バイオサイエンス，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 ワシントン ９８０３３，カークランド， カークランド ウェイ ５５０， スイート ２００
(74)代理人　110000338
弁理士法人 ＨＡＲＡＫＥＮＺＯ ＷＯＲＬＤ ＰＡＴＥＮＴ ＆ ＴＲＡＤＥＭＡＲＫ
(72)発明者　グォ，ジアンナ
アメリカ合衆国，９８０３３ ワシントン，カークランド，カークランド ウェイ ５５０，スイート ２００，シー／オー レゾリューション バイオサイエンス，
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　複数のライブラリーを同時に遺伝子解析するための組成物及び方法

(57)【要約】
本開示は、ＬＰＷＧライブラリー及び標的濃縮ライブラリー（ｔａｒｇｅｔ－ｅｎｒｉｃｈｅｄ ｌｉｂｒａｒｙ）を含む組み合わせライブラリーのような、異なるアプローチのために生成された異なるライブラリーの単一のプールに対して同時遺伝子解析を実施することによって異なる遺伝子解析方法の利益を組み合わせる組成物及び方法を提供する。

FIGURE 3



【特許請求の範囲】
【請求項１】
１以上の捕捉プローブモジュールを含むキットであって、
各捕捉プローブモジュールが、テール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み；
前記１以上の捕捉プローブモジュールがプローブ品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している、前記キット。
【請求項２】
アダプターのセットを含むキットであって、
各アダプターがアダプターモジュールを含み、
前記アダプターのセットがアダプター品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している、前記キット。
【請求項３】
アダプターのセットをさらに含み、各アダプターがアダプターモジュールを含む、請求項１に記載のキット。
【請求項４】
さらに、１以上の捕捉プローブモジュールを含み、
各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、請求項２に記載のキット。
【請求項５】
前記アダプターのセットがアダプター品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している、請求項３に記載のキット。
【請求項６】
前記アダプターＱＣプロセスが、アダプターライゲーション用試験を含み、前記アダプターライゲーション用試験が、
（ａ）前記アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；
（ｂ）前記ＬＩＢＳを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（Ｌｉｂｒａｒｙ　Ｐｏｓｔ　Ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ：ＬＰＡ）を生成することとを含み；
前記アダプターのセットは、前記ＬＰＡの濃度が所定の濃度よりも高ければ、前記アダプターライゲーション用試験に合格したとみなされる、請求項２～５のいずれか１項に記載のキット。
【請求項７】
前記アダプターＱＣプロセスが、アダプター分布用試験を含み、前記アダプター分布用試験が、
（ａ）前記アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；
（ｂ）インデックス配列を含む少なくとも１つのプライマーを含むプライマーペアを使用して前記ＬＩＢＳを増幅し、ライブラリーポストインデックスアンプリフィケーション（Ｌｉｂｒａｒｙ　Ｐｏｓｔ　Ｉｎｄｅｘ　Ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ：ＬＰＩＡ）を生成することと；
（ｃ）前記ＬＰＩＡに対して定量的遺伝子解析を行うこととを含み；
前記アダプターのセットは、前記定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば、前記アダプター分布用試験に合格したとみなされる、請求項２～６のいずれか１項に記載のキット。
【請求項８】
前記所定の合否判定基準が、
（ａ）バーコードクロストークがリードの０．０５％～５％以下に存在すること；
（ｂ）未知のアダプターがリードの１％～５０％以下に存在すること；
（ｃ）固有アダプター配列の１０％～８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リ

ード数の０％～５０％であるリード数を有すること；
（ｄ）固有のアダプター配列すべての少なくとも６０％～９９．９％が存在すること；及び
（ｅ）固有アダプター配列の５％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有すること；のうちの１以上を含む、請求項７に記載のキット。
【請求項９】
前記アダプターのセットは、それが前記アダプターライゲーション用試験及び／または前記アダプター分布用試験に合格していれば前記アダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、請求項６～８のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１０】
前記プローブＱＣプロセスが、
（ａ）アダプターセットを、末端修復されたＤＮＡ断片を含むＤＮＡ試料に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；
（ｂ）前記ＬＩＢＳを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することと；
（ｃ）前記ＬＰＡを分割して、または希釈して標的捕捉ＬＰＡ（ＴＣ　ＬＰＡ）及び全ゲノムＬＰＡ（ＷＧ　ＬＰＡ）を生成することと；
（ｄ）前記ＷＧ　ＬＰＡを増幅して増幅された全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を生成することと；
（ｅ）試験される前記１以上の捕捉プローブモジュールを前記ＴＣ　ＬＰＡとハイブリッド形成させて、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；
（ｆ）前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離して、単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；
（ｇ）前記単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を酵素処理してハイブリッド分子を生成すること、その際、各ハイブリッド分子は前記捕捉プローブモジュール及び前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体を含むことと；
（ｈ）前記ハイブリッド分子を増幅して増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を生成することと；
（ｉ）前記ＷＧＬＡと前記ＴＣＬＡとを合わせて配列対応ライブラリー（Ｓｅｑｕｅｎｃｅ－Ｒｅａｄｙ　Ｌｉｂｒａｒｙ：ＳＲＬ）を形成することと；
（ｊ）前記ＳＲＬに対して定量的遺伝子解析を行うこととを含む；
捕捉プローブ用試験を含み、
前記ＤＮＡ試料が複数の一塩基多型（ＳＮＰ）を含み、
前記１以上の捕捉プローブモジュールは、前記定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば、前記プローブＱＣプロセスに合格したとみなされる、請求項１～９のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１１】
前記所定の合否判定基準が、
（ａ）捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有すること；
（ｂ）捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が狙い通りの全リードを少なくとも１０～少なくとも２００有すること；及び
（ｃ）前記ＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％～９９．９％が検出されることのうち１以上を含む、請求項１０に記載のキット。
【請求項１２】
第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアを含み、
各アダプターモジュールが増幅領域を含み、

前記第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み、
前記第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、請求項１～１１のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１３】
第２のＦプライマーと第２のＲプライマーとを含む第２のプライマーペアを含み、
各アダプターモジュールが増幅領域を含み、
前記第２のＦプライマー及び前記第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、請求項１～１２のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１４】
各捕捉プローブモジュールの前記テール配列がライブラリータグを含む、請求項１～１３のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１５】
キットであって、
（ａ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと；
（ｂ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料における標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールの前記テール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；
（ｃ）第１のＦプライマー及び第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアであって、前記第１のＦプライマーが増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、前記第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、前記第１のプライマーペアと；
（ｄ）第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペアであって、前記第２のＦプライマー及び前記第２のＲプライマーがそれぞれ増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、前記第２のプライマーペアのプライマーのいずれも前記ライブラリータグに結合しない、前記第２のプライマーペアとを含む、前記キット。
【請求項１６】
前記ライブラリータグが核酸配列またはアミノ酸配列を含む、請求項１４または請求項１５に記載のキット。
【請求項１７】
前記第１のプライマーペアを使用して第１の修飾ライブラリーを生成し、前記第２のプライマーペアを使用して第２の修飾ライブラリーを生成し、
前記第１の修飾ライブラリー及び前記第２の修飾ライブラリーが配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）に結合されるように構成される、請求項１２～１６のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１８】
前記第１の修飾ライブラリー及び前記第２の修飾ライブラリーの双方が前記試験試料から生成される、請求項１７に記載のキット。
【請求項１９】
前記第１の修飾ライブラリーまたは前記第２の修飾ライブラリーが前記ライブラリータグを含み、前記ライブラリータグが前記第２の修飾ライブラリーから前記第１の修飾ライブラリーを区別するように構成される、請求項１７または請求項１８に記載のキット。
【請求項２０】
前記第１の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片が、アダプターと、捕捉プローブモジュールと、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むアダプタータグ付きＤＮＡ断片であり；
前記第２の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片が、アダプターと、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むアダプタータグ付きＤＮＡ断片であり；
前記第２の修飾ライブラリーの前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片のいずれも捕捉プロ

ーブモジュールを含まない、請求項１７～１９のいずれか１項に記載のキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２２年２月１６日に出願された米国仮特許出願第６３／３１１，０４１号及び２０２１年３月３０日に出願された米国仮特許出願第６３／１６７，９１４号に対する優先権を主張し、これらはいずれも、その全体があらゆる目的のために参照によって本明細書に組み込まれる。
【０００２】
本発明は遺伝子解析のための組成物及び方法に関する。
【０００３】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子的に提出された配列表を含有し、参照によってその全体が本明細書に組み込まれる。２０２２年３月２８日に作成された当該ＡＳＣＩＩコピーはＣＬＦＫ＿００７＿０２ＷＯ＿ＳｅｑＬｉｓｔ＿ＳＴ２５と名付けられており、サイズは約２１．４ＫＢである。
【背景技術】
【０００４】
次世代シーケンシング（ＮＧＳ）は遺伝子変化を特定するために臨床現場で急激に普及している。新薬の開発につながるような遺伝子異常及び予測バイオマーカーの数が増加するにつれて、ＮＧＳ技術では、幅広いゲノム変化を同時に分析しながら、単一遺伝子検査のような従来の技術の置き換えが増加している。ＮＧＳアプローチの現在の応用には、標的化遺伝子パネル及び全ゲノム配列決定が含まれ、ほとんどの応用で２つのアプローチのうちの一方のみを利用すること、または双方のアプローチを並行して進めることが選択されている。単一の配列決定分析にて異なるＮＧＳアプローチに特有のライブラリーを組み合わせることができることによって、各アプローチの利点が統合され、それによってデータの品質、コスト、及び所用時間が改善されるであろう。したがって、複数のライブラリーを同時に遺伝子解析するための組成物及び方法が強く望まれている。
【発明の概要】
【０００５】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、１以上の捕捉プローブモジュールを含み、各捕捉プローブモジュールは、テール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、１以上の捕捉プローブモジュールはプローブ品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している。本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットはさらに、アダプターのセットを含み、各アダプターはアダプターモジュールを含む。本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格している。
【０００６】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットはアダプターのセットを含み、各アダプターはアダプターモジュールを含み、アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格している。本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットはさらに１以上の捕捉プローブモジュールを含み、各捕捉プローブモジュールは、テール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む。
【０００７】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスは、アダプターライゲーション用試験を含み、その際、アダプターライゲーション用試験は、（ａ）アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；（ｂ）ＬＩＢＳを増幅し、ライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することとを含み；当該アダプタ

ーのセットはＬＰＡの濃度が所定の濃度よりも高ければ、アダプターライゲーション用試験に合格したとみなされる。

【０００８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスは、（ａ）アダプターのセットを、所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；（ｂ）インデックス配列を含む少なくとも１つのプライマーを含むプライマーペアを使用してＬＩＢＳを増幅し、ライブラリーポストインデックスアンプリフィケーション（ＬＰＩＡ）を生成することと；（ｃ）ＬＰＩＡについて定量的遺伝子解析を実施することとを含むアダプター分布用試験を含み、その際、当該アダプターのセットは定量的遺伝子解析についての１以上の合否判定基準が満たされていればアダプター分布用試験に合格したとみなされる。

【０００９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は：（ａ）バーコードクロストークはリードの０．０５％～５％以下に存在すること；（ｂ）未知のアダプターはリードの１％～５０％以下に存在すること；（ｃ）固有のアダプター配列の１０％～８０％以下は全ての固有のアダプター配列のリードの平均数の０％～５０％であるリード数を有すること；（ｄ）固有のアダプター配列すべてのうち少なくとも６０％～９９．９％が存在すること；及び（ｅ）固有のアダプター配列の５％～５０％以下が固有のアダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有すること、の１以上を含む。

【００１０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプターライゲーション用試験及び／またはアダプター分布用試験に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプターライゲーション用試験に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプター分布用試験に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプターライゲーション用試験及びアダプター分布用試験に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【００１１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスは：（ａ）アダプターのセットを、末端修復されたＤＮＡ断片を含むＤＮＡ試料に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；（ｂ）ＬＩＢＳを増幅して、ライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することと；（ｃ）ＬＰＡを分割してまたは希釈して標的捕捉ＬＰＡ（ＴＣ　ＬＰＡ）及び全ゲノムＬＰＡ（ＷＧ　ＬＰＡ）を生成することと；（ｄ）ＷＧ　ＬＰＡを増幅して増幅全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を生成することと；（ｅ）試験される１以上の捕捉プローブモジュールをＴＣ　ＬＰＡとハイブリッド形成させ、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；（ｆ）アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離して、単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；（ｇ）単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を酵素処理してハイブリッド分子を生成し、その際、各ハイブリッド分子が捕捉プローブモジュールとアダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体を含むことと；（ｈ）前記ハイブリッド分子を増幅させて増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を生成することと、（ｉ）ＷＧＬＡとＴＣＬＡとを組み合わせて配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）を形成することと；（ｊ）ＳＲＬに関して定量的遺伝子解析を行うこととを含む捕捉プローブモジュール試験を含み；その際、当該ＤＮＡ試料は複数の一塩基多型（ＳＮＰ）を含み、且つ当該定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば当該１以上の捕捉プローブモジュールはプローブＱＣプロ

セスに合格したとみなされる。
【００１２】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスについての所定の合否判定基準は、（ａ）少なくとも６０％～９９．９％の捕捉プローブが少なくとも１回の全リードを有すること、（ｂ）少なくとも６０％～９９．９％の捕捉プローブが少なくとも１０～少なくとも２００回の狙い通りの全リードを有すること、及び（ｃ）ＤＮＡ試料内で予想ＳＮＰのうちの少なくとも６０％～９９．９％が検出されることのうちの１以上を含む。
【００１３】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは第１のＦプライマー及び第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアを含み、その際、各アダプターモジュールは増幅領域を含み；第１のＦプライマーは増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み；第１のＲプライマーはテール配列結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む。
【００１４】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペアを含み、その際、各アダプターモジュールは増幅領域を含み；第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーのそれぞれは、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む。
【００１５】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールのテール配列はライブラリータグを含む。
【００１６】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと；（ｂ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない第２のプライマーペアと；を含む。
【００１７】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、ライブラリータグは核酸配列またはアミノ酸配列を含む。
【００１８】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１のプライマーペアを使用して第１の修飾ライブラリーを生成し、第２のプライマーペアを使用して第２の修飾ライブラリーを生成し、その際、第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーは、配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）に結合されるように構成される。
【００１９】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーの双方が試験試料から生成される。
【００２０】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーまたは第２の修飾ライブラリーはライブラリータグを含み、その際、当該ライブラリータグは第２の修飾ライブラリーから第１の修飾ライブラリーを区別するように構成される。
【００２１】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーの各ライブラリー

断片は、アダプターと、捕捉プローブモジュールと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むアダプタータグ付きＤＮＡ断片であり；且つ第２の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片はアダプターと試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むアダプタータグ付きＤＮＡ断片であり、その際、第２の修飾ライブラリーのアダプタータグ付きＤＮＡ断片のいずれも捕捉プローブモジュールを含まない。

【００２２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは１以上の捕捉プローブモジュールを含み、その際、各捕捉プローブモジュールは、テール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む。

【００２３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは１以上の捕捉プローブモジュールを含み、その際、各捕捉プローブモジュールは、テール配列と試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、１以上の捕捉プローブモジュールはプローブ品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している。

【００２４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットはアダプターのセットを含み、各アダプターはアダプターモジュールを含む。

【００２５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットはアダプターのセットを含み、各アダプターはアダプターモジュールを含み、アダプターのセットはアダプター品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している。

【００２６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットとを含む。

【００２７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットとを含み、その際、アダプターのセットはアダプター品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している。

【００２８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、１以上の捕捉プローブモジュールがプローブ品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットとを含む。

【００２９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、１以上の捕捉プローブモジュールがプローブ品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターがアダプターモジュールを含み、アダプターのセットがアダプター品質管理（ＱＣ）プロセスに合格しているアダプターのセットとを含む。

【００３０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスは、アダプターライゲーション用試験を含み、その際、アダプターライゲーション用試験は、（ａ）アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；（ｂ）ＬＩＢＳを増幅し、ライブ

ラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することとを含み；アダプターのセットはＬＰＡの濃度が所定の濃度よりも高ければアダプターライゲーション用試験に合格したとみなされる。

【００３１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターライゲーション用試験の工程（ａ）の末端修復されたＤＮＡ断片はＤＮＡ試料から生成される。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は少なくとも２つの異なる細胞株のブレンドＤＮＡ試料である。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は２つの異なる細胞株のブレンドＤＮＡ試料である。いくつかの実施形態では、２つの異なる細胞株は５０：５０の比でブレンドされる。いくつかの実施形態では、２つの異なる細胞株はＮＡ０９５９６及びＮＡ１２８７８である。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は実施例１５に記載されている５０：５０のブレンド試料である。

【００３２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターライゲーション用試験で使用されるＤＮＡ試料はアダプター分布用試験で使用されるＤＮＡ試料とは異なる。

【００３３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約５ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１５ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２５ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約３０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約３５ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約４０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約５０ｎｇである。

【００３４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は５ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１５ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２５ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は３０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は３５ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、所定量は４０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は５０ｎｇである。

【００３５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１ｎｇ～約１００ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１ｎｇ～約５０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約５０ｎｇ～約１００ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約５ｎｇ～約９０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１０ｎｇ～約８０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇ～約６０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇ～約５０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇ～約４０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復

されたＤＮＡ断片の所定量は約３０ｎｇ～約５０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約４０ｎｇ～約５０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約３０ｎｇ～約４０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇ～約３０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１００ｎｇを超える。

【００３６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１ｎｇ～１００ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１ｎｇ～５０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は５０ｎｇ～１００ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は５ｎｇ～９０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１０ｎｇ～８０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇ～６０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇ～５０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇ～４０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は３０ｎｇ～５０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は４０ｎｇ～５０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は３０ｎｇ～４０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇ～３０ｎｇである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１００ｎｇを超える。

【００３７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約９０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２００ｎｇ／μＬである。

【００３８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は７０ｎ

ｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は９０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は２００ｎｇ／μＬである。

【００３９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２００ｎｇ／μＬを超える。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１０ｎｇ／μＬ～約１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１０ｎｇ／μＬ～約９０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約３０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約４０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５０ｎｇ／μＬ～約７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約６０ｎｇ／μＬ～約７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５０ｎｇ／μＬ～約６０ｎｇ／μＬである。

【００４０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１０ｎｇ／μＬ～１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１０ｎｇ／μＬ～９０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は２０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は３０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は４０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５０ｎｇ／μＬ～７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は６０ｎｇ／μＬ～７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５０ｎｇ／μＬ～６０ｎｇ／μＬである。

【００４１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２００ｎｇ／μＬを超える。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は２００ｎｇ／μＬを超える。

【００４２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプターライゲーション用試験に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【００４３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスは、（ａ）アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；（ｂ）インデックス配列を含む少なくとも１つのプライマーを含むプライマーペアを使用してＬＩＢＳを増幅し、ライブラリ

ーポストインデックスアンプリフィケーション（ＬＰＩＡ）を生成することと；（ｃ）ＬＰＩＡについて定量的遺伝子解析を実施することとを含むアダプター分布用試験を含み、その際、アダプターのセットは定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていればアダプター分布用試験に合格したとみなされる。

【００４４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプター分布用試験の工程（ａ）の末端修復されたＤＮＡ断片はＤＮＡ試料から生成される。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は野生型（ｗｔ）無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）を含む。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料はｗｔ　ｃｆＤＮＡから成る。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は健康なヒトから得られるｗｔ　ｃｆＤＮＡを含む。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は実施例１６に記載されているｗｔ　ｃｆＤＮＡ試料である。

【００４５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプター分布用試験で使用されるＤＮＡ試料はアダプターライゲーション用試験で使用されるＤＮＡ試料とは異なる。

【００４６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）をむ。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．０５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．６％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．７％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．８％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．９％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約５％以下に存在することである。

【００４７】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．０５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．６％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．７％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．８％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．９％以下に存在することである。いくつかの実施形

態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの５％以下に存在することである。

【００４８】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．０５％～約１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．０５％～約５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．０５％～約２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．０５％～約１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約０．５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約０．４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約０．３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．２％～約０．３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約０．２％以下に存在することである。

【００４９】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．０５％～１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．０５％～５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．０５％～２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．０５％～１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～０．５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～０．４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～０．３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．２％～０．３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～０．２％以下に存在することである。

【００５０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１５％以下に存在するこ

とである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約２５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約３０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約３５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約４０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約４５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５０％以下に存在することである。

【００５１】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの２５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの３０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの３５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの４０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの４５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５０％以下に存在することである。

【００５２】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％～約５０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％～約２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％～約１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％～約１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５％～約２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５％～約１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５％～約１０％以下に存在することである。

【００５３】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％～５０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％～２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％～１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％～１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５％～２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５％～１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５％～１０％以下に存在することである。

【００５４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｃ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約１０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約２０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリ

ード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約３０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約４０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約５０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約６０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約７０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約８０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約９０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。

【００５５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｃ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、１０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、２０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、３０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、４０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、５０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、６０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、７０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、８０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、９０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。

【００５６】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約１０％～約９０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約１０％～約８０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約２０％～約８０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約３０～約７０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約４０％～約６０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約４０％～約５０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、約５０％～約６０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均

リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。

【００５７】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、１０％～９０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、１０％～８０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、２０％～８０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、３０％～７０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、４０％～６０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、４０％～５０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、５０％～６０％以下の固有アダプター配列が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。

【００５８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｄ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約６０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約６５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約７０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約７５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約８０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約８５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９６％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９７％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９８％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９９．５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての約１００％が存在することである。

【００５９】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも６０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも６５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも７０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも７５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも８０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも８５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９５％が存

在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９６％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９７％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９８％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９９．５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての１００％が存在することである。

【００６０】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約６０％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約７０％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約８０％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９０％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９５％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９６％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９７％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９８％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９９％～約９９．９％が存在することである。

【００６１】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約６０％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約７０％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約８０％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９０％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９５％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９６％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９７％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９８％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９９％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも約９９．９％～約１００％が存在することである。

【００６２】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも６０％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも７０％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも８０％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９０％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９５％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少な

くとも９６％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９７％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９８％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９９％～９９．９％が存在することである。

【００６３】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも６０％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも７０％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも８０％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９０％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９５％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９６％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９７％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９８％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９９％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９９．９％～１００％が存在することである。

【００６４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約１％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約１０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約１５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約２５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約３５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約４５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。

【００６５】

いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の１％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基

準（ｅ）は、固有アダプター配列の１０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の１５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の２５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の３５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の４５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。

【００６６】

いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約１０％～約５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約５％～約５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約５％～約４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約１０％～約３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約１０％～約２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約２０％～約４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約２０％～約３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約１５％～約２５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の約１５％～約２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。

【００６７】

いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の１％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の５％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の５％～４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の１０％～３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の１０％～２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の２０％～４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の２０％～３０％以下が固有アダプター配列すべての平均

リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の１５％～２５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は、固有アダプター配列の１５％～２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。

【００６８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）及び基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ｃ）、基準（ｄ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）及び基準（ｃ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）及び基準（ｄ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）、基準（ｃ）及び基準（ｄ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）、基準（ｃ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）、基準（ｄ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）、基準（ｃ）、基準（ｄ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、（ｂ）、（ｃ）、（ｄ）及び（ｅ）から選択される少なくとも１つの基準を含む。

【００６９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプター分布用試験に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【００７０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプターライゲーション用試験及びアダプター分布用試験の双方に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【００７１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスは、（ａ）アダプターのセットを、末端修復されたＤＮＡ断片を含むＤＮＡ試料に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；（ｂ）ＬＩＢＳを増幅して、ライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することと；（ｃ）ＬＰＡを分割してまたは希釈して標的捕捉ＬＰＡ（ＴＣ　ＬＰＡ）及び全ゲノムＬＰＡ（ＷＧ　ＬＰＡ）を生成することと；（ｄ）ＷＧ　ＬＰＡを増幅して増幅全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を生成することと；（ｅ）試験される１以上の捕捉プローブモジュールをＴＣ　ＬＰＡとハイブリッド形成させ、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；（ｆ）アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離して、単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；（ｇ）単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を酵素処理してハイブリッド分子を生成し、その際、各ハイブリッド分子が捕捉プローブモジュールとアダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体を含むことと；（ｈ）ハイブリッド分子を増幅させて増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を生成することと；（ｉ）ＷＧＬＡとＴＣＬＡとを組み合わせて配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）を形成することと；（ｊ）ＳＲＬについて定量的遺伝子解析を実施することとを含む捕捉プローブモジュール試験を含む。

【００７２】

いくつかの実施形態では、ＬＰＡという用語及びアダプタータグ付き親ライブラリーという用語は相互交換可能に使用される。いくつかの実施形態では、ＷＧＬＡ及びＬＰＷＧライブラリーという用語は相互交換可能に使用される。いくつかの実施形態では、ＳＲＬ及び組み合わせライブラリーという用語は相互交換可能に使用される。

【００７３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬである　本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬである　本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約３５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約４５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約５５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約６５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約７５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約８０ｎｇ／μＬである。

【００７４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも３５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも４５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも５５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも６５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも７５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも８０ｎｇ／μＬである。

【００７５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬ～約７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬ～約６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬ～約６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬ～約５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少な

くとも約２０ｎｇ／μＬ～約４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬ～約５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬ～約４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬ～約３０ｎｇ／μＬである。

【００７６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬ～７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬ～６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬ～６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬ～５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬ～４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬ～５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬ～４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬ～３０ｎｇ／μＬである。

【００７７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約０．１ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約０．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約１．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約３ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約３．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約４ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約４．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約５．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約６ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約６．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約７ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約７．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約８ｎｇ／μＬである。

【００７８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも０．１ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも０．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも１．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも３ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも３．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの

実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも４ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも４．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも５．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも６ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも６．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも７ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも７．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも８ｎｇ／μＬである。

【００７９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約０．１ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約０．１ｎｇ／μＬ～約８ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態ではＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２ｎｇ／μＬ～約６ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約３ｎｇ／μＬ～約５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約３ｎｇ／μＬ～約４ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２ｎｇ／μＬ～約３ｎｇ／μＬである。

【００８０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～８ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２ｎｇ／μＬ～６ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも３ｎｇ／μＬ～５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも３ｎｇ／μＬ～４ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２ｎｇ／μＬ～３ｎｇ／μＬである。

【００８１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約２．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約２．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約３．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約３．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約４．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約４．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約５．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約５．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約６．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約６．５ｎｇ／μＬである。本開示

のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約７．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約７．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約８．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約８．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約９．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約９．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約２５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約３５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約４５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約６５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約７５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約８０ｎｇ／μＬである。

【００８２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも２．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも２．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも３．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも３．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも４．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約４．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも６．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも６．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも７．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも７．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも８．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも８．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも９．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも９．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも２５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも３５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも４０ｎｇ／μ

Ｌである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも４５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも６５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも７５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも８０ｎｇ／μＬである。

【００８３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１００ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約５ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。

【００８４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１００ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。

【００８５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約２．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約２．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約３．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約３．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約４．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約４．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約５．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約５．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約６．０ｎｇ／μＬである。本開示のキッ

トのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約６．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約７．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約７．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約８．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約８．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約９．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約９．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約２５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約３５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約４５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約５５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約６５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約７５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約８０ｎｇ／μＬである。

【００８６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも２．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも２．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも３．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも３．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも４．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約４．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも６．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも６．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも７．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも７．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも８．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも８．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも９．０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも９．５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも２５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも３５ｎｇ／μＬ

である。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも４５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも６０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも６５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも７０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも７５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも８０ｎｇ／μＬである。

【００８７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１００ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約５ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。

【００８８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１００ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～５０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～４０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～３０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。

【００８９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、１以上の捕捉プローブモジュールは定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば、プローブＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【００９０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、１以上の捕捉プローブモジュールは定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば、プローブＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【００９１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）をむ。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準

（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．６％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．４％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．３％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．２％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．１％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．６％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．４％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．３％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．２％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．１％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は、捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は、捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は、捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は、捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【００９２】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態

では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．６％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．４％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．３％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．２％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．１％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．６％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．４％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．３％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．２％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．１％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【００９３】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約９９．９％が少なくとも

１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【００９４】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９６％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９７％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【００９５】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【００９６】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することで

ある。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９６％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９７％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【００９７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【００９８】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【００９９】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リー

ドを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１００】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１０１】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が

少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１０２】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも６０の狙い通りの全

リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１０３】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１０４】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを

有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１０５】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が

少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１０６】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１０７】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０１０８】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～９９．９％が少なくとも１０～

２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０１０９】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０１１０】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０１１１】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１１２】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。い

くつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１１３】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１１４】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１１５】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。

【０１１６】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくと

も９９％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。
【０１１７】
いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。
【０１１８】
いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。
【０１１９】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｃ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９．５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９８％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９７％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９６％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約８５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約８０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約７５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約７０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約６５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約６０％が検出されることである。
【０１２０】
いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９９．５％が検出されることである。いくつかの実施

形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９８％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９７％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９６％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも８５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも８０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも７５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも７０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％が検出されることである。

【０１２１】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約６０％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約７０％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約８０％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９０％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９５％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９６％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９７％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９８％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約１００％が検出されることである。

【０１２２】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも７０％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも８０％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９０％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９５％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９６％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９７％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９８％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも１００％が検出されることである。

【０１２３】
いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約６０％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約７０％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約８０％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９０％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９５％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９６％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９７％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９８％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの約１００％が検出されることである。

【０１２４】
いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも７０％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも８０％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９０％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９５％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９６％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９７％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９８％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの１００％が検出されることである。

【０１２５】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）及び基準（ｂ）を含む。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）及び基準（ｃ）を含む。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｂ）及び基準（ｃ）を含む。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）及び基準（ｃ）を含む。

【０１２６】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスで使用されるＤＮＡ試料はヒト野生型ＤＮＡを含む。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスで使用されるＤＮＡ試料は複数の一塩基多型（ＳＮＰ）を含む。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスで使用されるＤＮＡ試料は任意の好適なＤＮＡを含む。

【０１２７】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは同じキットの捕捉プローブモジュールに特異的な陽性対照試料として使用されるＤＮＡ試料を含む。いくつかの実施形態で

は、陽性対照試料はヒト野生型ＤＮＡを含む。いくつかの実施形態では、陽性対照試料は複数のＳＮＰを含む。いくつかの実施形態では、陽性対照試料は、キットの捕捉プローブモジュールのプローブＱＣプロセスで使用されたＤＮＡ試料を含む。いくつかの実施形態では、陽性対照試料は任意の好適なＤＮＡを含む。

【０１２８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスは本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のうちのいずれか１つに従って実行される。

【０１２９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスは本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のうちのいずれか１つに従って実行される。

【０１３０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと、（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアとを含む。

【０１３１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと、（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアとを含み；その際、当該捕捉プローブモジュールはプローブＱＣプロセスに合格している。

【０１３２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと、（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアとを含み；その際、当該アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格している。

【０１３３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと、（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアとを含み；その際、当該アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格しており、且つ当該捕捉プローブモジュールはプローブＱＣプロセスに合格している。

【０１３４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは（ａ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと、（ｂ）第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペアとを含み、その際、第２のＦプライマ

ー及び第２のＲプライマーのそれぞれは増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む。

【０１３５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは（ａ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと、（ｂ）第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペアとを含み、その際、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーのそれぞれは増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み；その際、当該アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格している。

【０１３６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペア；とを含む。

【０１３７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペア；とを含み；その際、当該捕捉プローブモジュールはプローブＱＣプロセスに合格している。

【０１３８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペア；とを含み；その際、当該アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格している。

【０１３９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペア；とを含み；その際、当該アダプ

ターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格しており、且つ当該捕捉プローブモジュールはプローブＱＣプロセスに合格している。

【０１４０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと、（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットとを含む。

【０１４１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと、（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットとを含み；当該アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格している。

【０１４２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと、（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットとを含み；当該１以上の捕捉プローブモジュールはプローブＱＣプロセスに合格している。

【０１４３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと、（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットとを含み；１以上の当該捕捉プローブモジュールはプローブＱＣプロセスに合格しており、且つ当該アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格している。

【０１４４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のＦプライマーと第２のＲプライマーとを含む第２のプライマーペアと；を含む。

【０１４５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第

１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のＦプライマーと第２のＲプライマーとを含む第２のプライマーペアとを含み；その際、当該１以上の捕捉プローブモジュールはプローブＱＣプロセスに合格している。

【０１４６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のＦプライマーと第２のＲプライマーとを含む第２のプライマーペアとを含み；その際、当該アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格している。

【０１４７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のＦプライマーと第２のＲプライマーとを含む第２のプライマーペアとを含み；その際、当該１以上の捕捉プローブモジュールはプローブＱＣプロセスに合格しており、且つ当該アダプターのセットはアダプターＱＣプロセスに合格している。

【０１４８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１のプライマーペアを使用して第１の修飾ライブラリーを生成する。

【０１４９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第２のプライマーペアを使用して第２の修飾ライブラリーを生成する。

【０１５０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１のプライマーペアを使用して第１の修飾ライブラリーを生成し、第２のプライマーペアを使用して第２の修飾ライブラリーを生成する。いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーは配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）に結合されるように構成される。

【０１５１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールのテール配列はライブラリータグを含む。

【０１５２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ライブラリータグは核酸配列またはアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ライブラリータグは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＰＮＡ、または天然に存在しない核酸、合成核酸、修飾核酸、天然に存在しないアミノ酸、合成

アミノ酸、及び修飾アミノ酸のうちの１以上を含む。
【０１５３】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、ライブラリータグは検出可能な標識を含む。いくつかの実施形態では、検出可能な標識は、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む。
【０１５４】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、ライブラリータグは検出可能な部分に選択的にまたは特異的に結合する。いくつかの実施形態では、検出可能な部分は、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む。
【０１５５】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、ライブラリータグは固有のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、当該固有のポリヌクレオチド配列は、試験試料の任意のＤＮＡ断片に対して７０％以下の配列同一性を有する。
【０１５６】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、（ａ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターセットと；（ｂ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のＦプライマーと第２のＲプライマーとを含む第２のプライマーペアとを含む。
【０１５７】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーを生成するのに使用され、その際、当該キットは、（ａ）各アダプターがアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと；（ｂ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールとを含む。いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーはアダプターと、捕捉プローブモジュールと、捕捉プローブモジュールの標的配列とを含むＤＮＡ断片を含む。いくつかの実施形態では、第２の修飾ライブラリーはアダプターと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むＤＮＡ断片を含む。いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーの双方が同じ試験試料から生成される。
【０１５８】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１のプライマーペアを使用して第１の修飾ライブラリーを生成し、第２のプライマーペアを使用して第２の修飾ライブラリーを生成する。
【０１５９】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーはアダプターと、捕捉プローブモジュールと、捕捉プローブモジュールの標的配列とを含む第１のＤＮＡ断片を含む。
【０１６０】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、第２の修飾ライブラリーはアダプターと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含む第２のＤＮＡ断片を含む。
【０１６１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーは配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）に結合されるように構成される。いくつかの実施形態では、ＳＲＬは組み合わせライブラリーとも呼ばれる。

【０１６２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片は、アダプターと、捕捉プローブモジュールと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むアダプタータグ付きＤＮＡ断片である。

【０１６３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第２の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片は、アダプターと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むアダプタータグ付きＤＮＡ断片である。

【０１６４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第２の修飾ライブラリーのアダプタータグ付きＤＮＡ断片はいずれも捕捉プローブモジュールを含まない。

【０１６５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬ）または増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）である。

【０１６６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第２の修飾ライブラリーは全ゲノムライブラリー（ＷＧＬ）または増幅された全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）である。

【０１６７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーまたは第２の修飾ライブラリーはライブラリータグを含み、その際、当該ライブラリータグは第２の修飾ライブラリーから第１の修飾ライブラリーを区別するように構成される。

【０１６８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは第１のライブラリータグを含み、第２の修飾ライブラリーは第２のライブラリータグを含み、第１のライブラリータグ及び第２のライブラリータグは同一ではない。

【０１６９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片は５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含み、または５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含み；その際、第２の修飾ライブラリーの各断片は５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む。いくつかの実施形態では、Ａ１、Ａ２、Ｂ１及びＢ２のうちの少なくとも１つは少なくとも１つのライブラリータグを含有する。いくつかの実施形態では、ライブラリータグは固有のポリヌクレオチド配列を含み、その際、当該固有のポリヌクレオチド配列は、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、第１の５’アダプターモジュール、標的配列、第１の３’アダプターモジュール、第２の５’アダプターモジュール、試験試料の任意のＤＮＡ断片、及び第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する。

【０１７０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片は５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含み、または５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを

含み；その際、第２の修飾ライブラリーの各断片は５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含み；その際、Ａ１、Ａ２、Ｂ１及びＢ２のうちの少なくとも１つはライブラリータグを含み、当該ライブラリータグは固有のポリヌクレオチド配列を含み、当該固有のポリヌクレオチド配列は、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、第１の５’アダプターモジュール、標的配列、第１の３’アダプターモジュール、第２の５’アダプターモジュール、試験試料の任意のＤＮＡ断片、及び第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の配列同一性を有する。

【０１７１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターは連結鎖オリゴヌクレオチド及び非連結鎖オリゴヌクレオチドを含む。

【０１７２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは、連結鎖オリゴヌクレオチドの３’末端の領域とハイブリッド形成することができ、それと二本鎖を形成することができる。

【０１７３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドはアダプターモジュールを含む。

【０１７４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは、３’末端にｄＴ、ｄＡ、ｄＣまたはｄＧのオーバーハングを含む。

【０１７５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドはｄｓＤＮＡ断片の５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を防止する修飾をその３’末端に含み、その際、非連結鎖は二本鎖から置き換えられるように構成される。

【０１７６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターは、固有のＩＤ領域のプールから選択されるＩＤ領域を含み、その際、当該プールは複数のプールから選択され、選択されたプールは試験試料に対して固有である。

【０１７７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターモジュールは、（ａ）プライマー結合部位を含む増幅領域と；（ｂ）ＩＤ領域と；（ｃ）アンカー領域とを含む。

【０１７８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、増幅領域はプライマー結合部位を含み、その際、当該プライマー結合部位は、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する増幅を可能にする。

【０１７９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、増幅領域は１０～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は２０～３０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０１８０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、増幅領域は約１０～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は約２０～約３０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０１８１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アンカー領域は３’末端にオーバーハングを含む。

【０１８２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アンカー領域は１～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は５～２５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は１０ヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０１８３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アンカー領域は約１０～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は約５～約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は約１０ヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０１８４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域は３～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は３～１５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０１８５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約３～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約３～約１５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０１８６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターモジュールはさらに、固有分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子を含む。

【０１８７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子はＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有される。

【０１８８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は１～５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０１８９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は約１～約５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０１９０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり、６４の固有のヌクレオチド配列の群から選択される核酸配列を含む。

【０１９１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは２～１０，０００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは１０～５００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは５０～３００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは６０の固有のＩＤ領域配列を含む。

【０１９２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約２～約１０，０００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約１０～約３００の固有のＩＤ領域配列を含む。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約５０～約３００の固有のＩＤ領域配列を含む。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約６０の固有のＩＤ領域配列を含む。

【０１９３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域は８ヌクレオチド長である。

【０１９４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域は約８ヌクレオチド長である。

【０１９５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、各ＩＤ領域配列は、任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。

【０１９６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、各ＩＤ領域はそこに結合したＤＮＡ断片を特定するように構成される。

【０１９７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは６４～２，５６０，０００個の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０１９８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは約６４～約２，５６０，０００の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０１９９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、その際、３８４０の固有のヌクレオチド配列の各配列は任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。

【０２００】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターのアンカー領域は、４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域は所与の配列の４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する。

【０２０１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターの増幅領域は同一のプライマー結合部位を含む。

【０２０２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域は８ヌクレオチド長であり、各ＩＤ領域配列は任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れており；アダプターのセットの各アダプターはＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、アダプターのセットの各アダプターのＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり；所与の配列のＵＭＩ乗算因子は所与の配列の１つのＩＤ領域に対合し；アダプターのセットの各アダプターのアンカー領域は４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域は所与の配列の４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合し；アダプターのセットの各アダプターの増幅領域は同一のプライマー結合部位を含む。

【０２０３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットはアダプターセット１つを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの１を超えるセットを含む。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの２～１０００の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの２～５００の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの２～１００の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの２～５０の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの５０～１

００の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの５～５０の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの１０～５０の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの１５～５０の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの２０～５０の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの３０～５０の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの４０～５０の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの４５～５０の間のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの４８のセットを含む。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約２～約１０００のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約２～約５００のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約２～約１００のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約２～約５０のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約５０～約１００のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約５～約５０のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約１０～約５０のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約１５～約５０のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約２０～約５０のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約３０～約５０のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約４０～約５０のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約４５～約５０のセットを含む。いくつかの実施形態では、キットはアダプターモジュールの約４８のセットを含む。

【０２０６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターモジュールの各セットは所与の試験試料に対して固有である。

【０２０７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは試験試料のＤＮＡ断片にアダプターセットのアダプターを連結してアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを生成するための１以上の試薬を含む。いくつかの実施形態では、アダプターを連結するための１以上の試薬はＤＮＡリガーゼを含む。いくつかの実施形態では、ＤＮＡリガーゼはＴ４　ＤＮＡリガーゼである。

【０２０８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、（ａ）アダプターのセットをＤＮＡ断片と連結させて、複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を生成すること；及び（ｂ）複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を１以上の酵素と接触させて、複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片を含むアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを形成することを含む方法を使用して、試験試料のＤＮＡ断片に連結するように構成される。いくつかの実施形態では、各アダプター／ＤＮＡ断片の複合体は、ＤＮＡ断片の各末端に連結された連結鎖オリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは工程（ｂ）にてアダプター／ＤＮＡ断片の複合体から置き換えられる。

【０２０９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を作り出すための１以上の試薬を含む。いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを増幅するための１以上の試薬はＤＮＡポリメラーゼを含む。いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを増幅するための１以上の試薬はＰＣＲのための１以上のプライマーを含む。いくつかの実施形態では、１以上のプライマーは、アダプター増幅領域のプライマー結合部位に対して相補性である単一のプライマー配列を含む

。

【０２１０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットはＬＰＡから増幅された全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を作り出すための１以上の試薬を含む。いくつかの実施形態では、ＷＧＬＡを作り出すための１以上の試薬はアダプター増幅領域のプライマー結合部位とハイブリッド形成する１以上のプライマーを含む。いくつかの実施形態では、１種以上のプライマーは、フローセルに結合することができる配列決定アダプターを含む。いくつかの実施形態では、配列決定アダプターは配列決定プライマー結合部位を含む。いくつかの実施形態では、ＷＧＬＡを作り出すための１以上の試薬はＤＮＡポリメラーゼを含む。

【０２１１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは配列対応である。

【０２１２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールのテール配列はプライマー結合部位を含む。

【０２１３】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、テール配列は配列決定プライマー結合部位を含む。

【０２１４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、テール配列はパートナーオリゴヌクレオチドとハイブリッド形成するように構成される。

【０２１５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは、複数の捕捉プローブモジュールを含む捕捉プローブパネルから選択される。

【０２１６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、少なくとも１つの捕捉プローブモジュールは特定のＤＮＡ標的領域の下流でハイブリッド形成するように構成され、少なくとも１つの捕捉プローブモジュールは特定のＤＮＡ標的領域の上流でハイブリッド形成するように構成される。

【０２１７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、複数の捕捉プローブモジュールの各捕捉プローブは、任意の他の捕捉プローブの約２００ｂｐ以内でその標的配列とハイブリッド形成するように構成される。

【０２１８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、捕捉プローブパネルの各捕捉プローブモジュールはアダプタータグ付きＤＮＡ断片とハイブリッド形成して、複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成する。

【０２１９】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、パートナーオリゴヌクレオチドは、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の単離を可能にする結合ペアの特定のメンバーを含む。

【０２２０】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、パートナーオリゴヌクレオチドはビオチン分子を含む。

【０２２１】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の単離を可能にする結合ペアの特定のメンバーを含む。

【０２２２】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールはビオチン分子を含む。

【０２２３】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは約６０未満のヌクレオチド長の捕捉プローブを含む。
【０２２４】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは６０未満のヌクレオチド長の捕捉プローブを含む。
【０２２５】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは約４０未満のヌクレオチド長の捕捉プローブを含む。
【０２２６】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは４０ヌクレオチド長の捕捉プローブを含む。
【０２２７】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離するための構成成分を含む。いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離するための構成成分はストレプトアビジンを含む。
【０２２８】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を酵素処理するための１以上の酵素を含む。いくつかの実施形態では、１以上の酵素は、複数のハイブリッド分子（標的捕捉ライブラリー）を作り出すための鋳型としてアダプタータグ付きＤＮＡ断片を使用して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体のそれぞれの捕捉プローブを伸長するように構成された５’－３’ポリメラーゼを含み、その際、各ハイブリッド分子は捕捉プローブモジュールとアダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体とを含む。
【０２２９】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは、ハイブリッド分子を増幅させて増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を作り出すための１以上の試薬を含み、その際、第１の修飾ライブラリーはＴＣＬＡである。いくつかの実施形態では、ハイブリッド分子を増幅するための１以上の試薬は、フローセルに結合することができる配列決定アダプターを含む１以上のプライマーを含む。いくつかの実施形態では、配列決定アダプターは配列決定プライマー結合部位を含む。いくつかの実施形態では、ハイブリッド分子を増幅するための１以上の試薬はＤＮＡポリメラーゼを含む。
【０２３０】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＳＲＬは配列解読装置の単一フローセルで配列決定されるように構成される。
【０２３１】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットはＳＲＬについて定量的遺伝子解析を実行するための構成成分を含む。いくつかの実施形態では、定量的遺伝子解析を実行するための構成成分は１以上の配列決定プライマーを含む。いくつかの実施形態では、定量的遺伝子解析を使用して、試験試料ＤＮＡ断片におけるヌクレオチドの移行もしくは塩基転換、ヌクレオチドの挿入もしくは欠失、ゲノムの再構成、またはコピー数の変化を検出する。
【０２３２】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、試験試料は組織生検から得られる。いくつかの実施形態では、組織生検は腫瘍、または腫瘍であると疑われる組織から得られる。いくつかの実施形態では、組織生検は悪性腫瘍または悪性腫瘍が疑われる腫瘍から得られる。
【０２３３】
本開示のキットのいくつかの実施形態では、試験試料のＤＮＡ断片は、無細胞ＤＮＡ（

ｃｆＤＮＡ）、ゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）、相補性ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）、ミトコンドリアＤＮＡ、メチル化ＤＮＡ、脱メチル化ＤＮＡ、またはそれらの組み合わせを含む。

【０２３４】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、試験試料のＤＮＡ断片はエピジェネティックマークを含む。

【０２３５】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、試験試料のＤＮＡ断片は、全ゲノムライブラリー、アンプリコンライブラリー、全エキソームライブラリー、ｃＤＮＡライブラリー、またはメチル化ＤＮＡライブラリーから成るリストから選択されるライブラリーから得られる。

【０２３６】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、試験試料は、羊水試料、血液試料、皮膚試料、体毛試料、毛包試料、唾液試料、粘液試料、汗試料、涙液試料、上皮組織試料、尿試料、精液試料、精漿試料、血清試料、前立腺液試料、前射精液（Ｃｏｗｐｅｒ’ｓ液）試料、眼液試料、排泄物試料、生検試料、腹水試料、脳脊髄液試料、リンパ液試料、組織抽出物試料、糞便試料、及びホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）試料から成る群から選択される生体試料から得られる。

【０２３７】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、試験試料のＤＮＡ断片はアダプターへの連結の前に末端修復されている。

【０２３８】

本開示のキットのいくつかの実施形態では、キットは末端修復を実行するための１以上の試薬を含む。いくつかの実施形態では、末端修復を行うための１以上の試薬はＤＮＡポリメラーゼ、キナーゼ、及びクレノウ断片から選択される１以上の酵素を含む。いくつかの実施形態では、末端修復を行うための１以上の試薬はＤＮＡポリメラーゼＩ、Ｔ４　ＤＮＡポリメラーゼ、Ｔ４ポリヌクレオチドキナーゼ、及びクレノウ断片を含む。いくつかの実施形態では、末端修復を行うための１以上の試薬は末端修復緩衝液を含む。いくつかの実施形態では、末端修復緩衝液はＭｇＣｌ２、ＮａＣｌ、Ｔｒｉｓ－ＨＣＬ、ＤＴＴ、ＫＣＬ、及びｄＮＴＰを含む。

【０２３９】

本開示のいくつかの実施形態は、アダプターのセットにてアダプター品質管理（ＱＣ）プロセスを実行する方法を提供し、その際、各アダプターはアダプターモジュールを含む。

【０２４０】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスはアダプターライゲーション用試験を含み、その際、アダプターライゲーション用試験は、（ａ）アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；（ｂ）ＬＩＢＳを増幅し、ライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することとを含み；その際、当該アダプターのセットはＬＰＡの濃度が所定の濃度よりも高ければ、アダプターライゲーション用試験に合格したとみなされる。

【０２４１】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターライゲーション用試験の工程（ａ）の末端修復されたＤＮＡ断片はＤＮＡ試料から生成される。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は少なくとも２つの異なる細胞株のブレンドＤＮＡ試料である。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は２つの異なる細胞株のブレンドＤＮＡ試料である。いくつかの実施形態では、２つの異なる細胞株は５０：５０の比でブレンドされる。いくつかの実施形態では、２つの異なる細胞株はＮＡ０９５９６及びＮＡ１２８７８である。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は実施例１５に記載されている５０：５０のブレンド試料である。

【０２４２】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターライゲーション用試験で使用されるＤＮＡ試料はアダプター分布用試験で使用されるＤＮＡ試料とは異なる。
【０２４３】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約５ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１５ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２５ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約３０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約３５ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約４０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約５０ｎｇである。
【０２４４】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は５ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１５ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２５ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は３０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は３５ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は４０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は５０ｎｇである。
【０２４５】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１ｎｇ～約１００ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１ｎｇ～約５０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約５０ｎｇ～約１００ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約５ｎｇ～約９０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１０ｎｇ～約８０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇ～約６０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇ～約５０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇ～約４０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約３０ｎｇ～約５０ｎｇで

ある。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約４０ｎｇ～約５０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約３０ｎｇ～約４０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約２０ｎｇ～約３０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は約１００ｎｇを超える。

【０２４６】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１ｎｇ～１００ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１ｎｇ～５０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は５０ｎｇ～１００ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は５ｎｇ～９０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１０ｎｇ～８０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇ～６０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇ～５０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇ～４０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は３０ｎｇ～５０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は４０ｎｇ～５０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は３０ｎｇ～４０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は２０ｎｇ～３０ｎｇである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、末端修復されたＤＮＡ断片の所定量は１００ｎｇを超える。

【０２４７】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約３０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約４０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約６０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約７０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約９０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１００ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１５０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行

する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２００ｎｇ／μＬである。

【０２４８】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は２０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は３０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は４０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は６０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は７０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は９０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１００ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１５０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は２００ｎｇ／μＬである。

【０２４９】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２００ｎｇ／μＬを超える。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１０ｎｇ／μＬ～約１００ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１０ｎｇ／μＬ～約９０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約１０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約３０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約４０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５０ｎｇ／μＬ～約７０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約６０ｎｇ／μＬ～約７０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約５０ｎｇ／μＬ～約６０ｎｇ／μＬである。

【０２５０】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１０ｎｇ／μＬ～１００ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１０ｎｇ／μＬ～９０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は２

０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は１０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は３０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は４０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５０ｎｇ／μＬ～７０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は６０ｎｇ／μＬ～７０ｎｇ／μＬである。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は５０ｎｇ／μＬ～６０ｎｇ／μＬである。

【０２５１】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は約２００ｎｇ／μＬを超える。本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＬＰＡの所定の濃度は２００ｎｇ／μＬを超える。

【０２５２】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプターライゲーション用試験に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【０２５３】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスは、（ａ）アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；（ｂ）インデックス配列を含む少なくとも１つのプライマーを使用してＬＩＢＳを増幅し、ライブラリーポストインデックスアンプリフィケーション（ＬＰＩＡ）を生成することと；（ｃ）ＬＰＩＡについて定量的遺伝子解析を実施することとを含むアダプター分布用試験を含み、その際、当該アダプターのセットは、定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていればアダプター分布用試験に合格したとみなされる。

【０２５４】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプター分布用試験の工程（ａ）の末端修復されたＤＮＡ断片はＤＮＡ試料から生成される。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は野生型（ｗｔ）無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）を含む。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料はｗｔ　ｃｆＤＮＡから成る。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は健康なヒトから得られたｗｔ　ｃｆＤＮＡを含む。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は実施例１６に記載されているｗｔ　ｃｆＤＮＡ試料である。

【０２５５】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプター分布用試験で使用されるＤＮＡ試料はアダプターライゲーション用試験で使用されるＤＮＡ試料とは異なる。

【０２５６】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．０５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．４％以下

に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．６％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．７％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．８％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．９％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約５％以下に存在することである。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．０５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．６％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．７％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．８％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．９％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの３％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの５％以下に存在することである。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．０５％～約１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．０５％～約５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．０５％～約２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約０．５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約０．４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの約０．１％～約０．２％以下に存在することである。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．０５％～１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコード

クロストークがリードの０．０５％～５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．０５％～２％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～０．５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～０．４％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）はバーコードクロストークがリードの０．１％～０．２％以下に存在することである。

【０２６０】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約２５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約３０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約３５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約４０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約４５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５０％以下に存在することである。

【０２６１】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの２５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの３０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの３５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの４０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの４５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５０％以下に存在することである。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％～約５０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％～約２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％～約１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約１％～約１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５％～約２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５％～約１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの約５％～約１０％以下に存在するこ

とである。

【０２６３】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％～５０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％～２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％～１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの１％～１０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５％～２０％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５％～１５％以下に存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は未知のアダプターがリードの５％～１０％以下に存在することである。

【０２６４】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｃ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約１０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプターの配列約５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約６０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約７０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約９０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。

【０２６５】

いくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｃ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の１０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の６０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の７０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態

では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の９０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。

【０２６６】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約１０～約９０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約１０％～約８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約２０％～約８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約３０～約７０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約４０％～約６０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約４０％～約５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の約５０％～約６０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の１０％～９０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の１０％～８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の２０％～８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプターの配列３０％～７０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の４０％～６０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプターの配列４０％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）は、固有アダプター配列の５０％～６０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有することである。

【０２６８】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｄ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約６０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約６５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約７０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約７５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約８０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約８５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９６％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９７％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有

アダプター配列すべての少なくとも約９８％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９９．５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての約１００％が存在することである。

【０２６９】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも６０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも６５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも７０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも７５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも８０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも８５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９０％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９６％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９７％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９８％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は、固有アダプター配列すべての少なくとも９９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９９．５％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての１００％が存在することである。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約６０％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約７０％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約８０％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９０％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９５％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９６％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９７％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９８％～約９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９９％～約９９．９％が存在することである。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも６０％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも７０％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも８０％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９０％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９５％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９６％

～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９７％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９８％～９９．９％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９９％～９９．９％が存在することである。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約６０％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約７０％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約８０％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９０％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９５％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９６％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９７％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９８％～約１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも約９９％～約１００％が存在することである。

【０２７３】

いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも６０％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも７０％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも８０％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９０％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９５％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９６％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９７％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９８％～１００％が存在することである。いくつかの実施形態では、基準（ｄ）は固有アダプター配列すべての少なくとも９９％～１００％が存在することである。

【０２７４】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約１０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約１５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約２５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約３５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード

数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約４５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。

【０２７５】

いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の１０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の１５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の２５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の３５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の４５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。

【０２７６】

いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約１０％～約５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約５％～約５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約５～約４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約１０％～約３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約１０％～約２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約２０％～約４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約２０％～約３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約１５％～約２５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の約１５％～約２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。

【０２７７】

いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の１％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の５％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の５％～４０％以下が固有アダプター配列す

べての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の１０％～３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の１０％～２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の２０％～４０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の２０％～３０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の１５％～２５％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｅ）は固有アダプター配列の１５％～２０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有することである。

【０２７８】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）及び基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ｃ）、基準（ｄ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）及び基準（ｃ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）及び基準（ｄ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）、基準（ｃ）及び基準（ｄ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）、基準（ｃ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）、基準（ｄ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）、基準（ｃ）、基準（ｄ）及び基準（ｅ）を含む。いくつかの実施形態では、所定の合否判定基準は基準（ａ）、（ｂ）、（ｃ）、（ｄ）及び（ｅ）から選択される少なくとも１つの基準を含む。

【０２７９】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプター分布用試験に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【０２８０】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターのセットは、アダプターライゲーション用試験及びアダプター分布用試験に合格していればアダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【０２８１】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターは連結鎖オリゴヌクレオチド及び非連結鎖オリゴヌクレオチドを含む。

【０２８２】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは、連結鎖オリゴヌクレオチドの３’末端の領域とハイブリッド形成することができ、それと二本鎖を形成することができる。

【０２８３】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドはアダプターモジュールを含む。

【０２８４】

本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは３’末端にｄＴ、ｄＡ、ｄＣまたはｄＧのオーバーハングを含む。

【０２８５】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドはｄｓＤＮＡ断片の５’末端への連結及び／またはアダプターダイマーの形成を防止する修飾をその３’末端に含み、その際、非連結鎖は二本鎖から置き換えられるように構成される。
【０２８６】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターは、固有のＩＤ領域のプールから選択されるＩＤ領域を含み、その際、当該プールは複数のプールから選択され、選択されたプールが試験試料に対して固有である。
【０２８７】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールは、（ａ）プライマー結合部位を含む増幅領域と；（ｂ）ＩＤ領域と；（ｃ）アンカー領域とを含む。
【０２８８】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、増幅領域はプライマー結合部位を含み、その際、当該プライマー結合部位は、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する増幅を可能にする。
【０２８９】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、増幅領域は１０～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は２０～３０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。
【０２９０】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、増幅領域は約１０～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は約２０～約３０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。
【０２９１】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アンカー領域は３’末端にオーバーハングを含む。
【０２９２】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アンカー領域は１～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は５～２５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は１０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。
【０２９３】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アンカー領域は約１～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は約５～約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は約１０ヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。
【０２９４】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域は３～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は３～１５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０２９５】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約３～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約３～約１５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。
【０２９６】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールはさらに、固有分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子を含む。
【０２９７】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子はＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有される。
【０２９８】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は１～５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。
【０２９９】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は約１～約５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。
【０３００】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり、６４の固有のヌクレオチド配列の群から選択される核酸配列を含む。
【０３０１】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは２～１０，０００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは１０～５００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは５０～３００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは６０の固有のＩＤ領域配列を含む。
【０３０２】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約２～約１０，０００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約１０～約５００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約５０～約３００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約６０の固有のＩＤ領域配列を含む。
【０３０３】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域は８ヌクレオチド長である。
【０３０４】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、各ＩＤ領域配列は任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。
【０３０５】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、各ＩＤ領域はそれらに結合したＤＮＡ断片を特定するように構成される。
【０３０６】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。
【０３０７】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュール約６４～約２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０３０８】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、その際、３８４０の固有のヌクレオチド配列の各配列は任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。
【０３０９】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターのアンカー領域は４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域は所与の配列の４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する。
【０３１０】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターの増幅領域は同一のプライマー結合部位を含む。
【０３１１】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域は８ヌクレオチド長であり、各ＩＤ領域配列は任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れており；アダプターのセットの各アダプターはＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、アダプターのセットの各アダプターのＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり；所与の配列のＵＭＩ乗算因子は所与の配列の１つのＩＤ領域と対合し；アダプターのセットの各アダプターのアンカー領域は４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域は所与の配列の４つのアンカー領域のうちの１つのみと対合し；アダプターのセットの各アダプターの増幅領域は同一のプライマー結合部位を含む。
【０３１２】
本開示のアダプターＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、方法は、（ａ）アダプターのセットを試験試料のＤＮＡ断片と連結させて、複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を生成すること；及び（ｂ）複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を１以上の酵素と接触させて、複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片を含むアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを形成することを含む。いくつかの実施形態では、各アダプター／ＤＮＡ断片の複合体はＤＮＡ断片の各末端に連結された連結鎖オリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは工程（ｂ）にてアダプター／ＤＮＡ断片の複合体から置き換えられる。いくつかの実施形態では、アダプターのセットは本開示の任意のアダプターセットである。
【０３１３】
本開示のいくつかの実施形態は、１以上の捕捉プローブモジュールについてプローブ品質管理（ＱＣ）プロセスを実行する方法を提供する。
【０３１４】
本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、当該方法は、（ａ）アダプターのセットを、末端修復されたＤＮＡ断片を含むＤＮＡ試料に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；（ｂ）ＬＩＢＳを増幅して、ライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することと；（ｃ）ＬＰＡを分割してまたは希釈して標的捕捉ＬＰＡ（ＴＣ　ＬＰＡ）及び全ゲノムＬＰＡ（ＷＧ　ＬＰＡ）を生成することと；（ｄ）ＷＧ　ＬＰＡを増幅して増幅全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を生成することと；（ｅ）試験される１以上の捕捉プローブモジュールをＴＣ　ＬＰＡとハイブリッド形成させて、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；（ｆ）アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離して、単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；（ｇ）単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を酵素処理してハイブリッド分子を生成し、その際、各ハイブリッド分子が捕捉プローブモジュールとアダプタータグ

付きＤＮＡ断片の相補体を含むことと；（ｈ）ハイブリッド分子を増幅させて増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を生成することと；（ｉ）ＷＧＬＡとＴＣＬＡとを組み合わせて配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）を形成することと；（ｊ）ＳＲＬについて定量的遺伝子解析を実行することとを含む捕捉プローブモジュール試験を含む。

【０３１５】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約３５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約４５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約５５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約６５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約７０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約７５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約８０ｎｇ／μＬである。

【０３１６】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも３５ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも４０ｎｇ／μＬである　本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも４５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも５５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、Ｔ

ＣＬＰＡは少なくとも６５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも７０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも７５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも８０ｎｇ／μＬである。

【０３１７】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬ～約７０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬ～約６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬ～約６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬ～約５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬ～約４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬ～約５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬ～約４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬ～約３０ｎｇ／μＬである。

【０３１８】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬ～７０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬ～６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬ～６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬ～５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬ～約４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬ～５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬ～４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬ～３０ｎｇ／μＬである。

【０３１９】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約０．１ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約０．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいく

つかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約１．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約３ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約３．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約４ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約４．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約５．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約６ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約６．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約７ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約７．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約８ｎｇ／μＬである。

【０３２０】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも０．１ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも０．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも１．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも３ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも３．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも４ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも４．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも５．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも６ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも６．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも７ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも７．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも８ｎｇ／μＬである。

【０３２１】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約０．１ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約０．１ｎ

ｇ／μＬ～約８ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２ｎｇ／μＬ～約６ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約３ｎｇ／μＬ～約５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約３ｎｇ／μＬ～約４ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも約２ｎｇ／μＬ～約３ｎｇ／μＬである。

【０３２２】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～８ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２ｎｇ／μＬ～６ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも３ｎｇ／μＬ～５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも３ｎｇ／μＬ～４ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ　ＬＰＡは少なくとも２ｎｇ／μＬ～３ｎｇ／μＬである。

【０３２３】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約２．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約２．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約３．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約３．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約４．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約４．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約５．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約５．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約６．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約６．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約７．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約７．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少な

くとも約８．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約８．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約９．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約９．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約２５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約３５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約４５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約５５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約６５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約７０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約７５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約８０ｎｇ／μＬである。

【０３２４】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも２．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも２．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも３．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも３．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも４．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも４．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも６．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも６．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも７．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも７．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも８．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも８．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のい

くつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも９．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも９．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも２５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも３５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも４５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも６５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも７０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも７５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも８０ｎｇ／μＬである。

【０３２５】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１００ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約２０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも約５ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。

【０３２６】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１００ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～４０ｎｇ／μＬ

である。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～２０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＴＣＬＡは少なくとも５ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。

【０３２７】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約２．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約２．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約３．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約３．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約４．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも４．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約５．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約５．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約６．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約６．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約７．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約７．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約８．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約８．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約９．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約９．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約１５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約２０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約２５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約３５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約４５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約５５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約６

５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約７０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約７５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態ではＷＧＬＡは少なくとも約８０ｎｇ／μＬである。

【０３２８】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも２．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも２．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも３．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも３．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも４．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも４．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも６．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも６．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも７．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも７．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも８．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも８．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも９．０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも９．５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも２０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも２５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも３５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも４５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも６０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも６５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも７０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧ

ＬＡは少なくとも７５ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも８０ｎｇ／μＬである。

【０３２９】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１００ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約８０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約２０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約１ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも約５ｎｇ／μＬ～約１０ｎｇ／μＬである。

【０３３０】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１００ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１００ｎｇ／μＬである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～８０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～５０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～４０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～３０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～２０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＷＧＬＡは少なくとも５ｎｇ／μＬ～１０ｎｇ／μＬである。

【０３３１】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、１以上の捕捉プローブモジュールは定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば、プローブＱＣプロセスに合格したとみなされる。

【０３３２】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．６％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつ

かの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．４％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．３％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．２％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．１％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．６％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．４％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．３％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．２％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．１％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【０３３３】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．６％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）

は捕捉プローブの少なくとも９９．４％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．３％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．２％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．１％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．６％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．４％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．３％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．２％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８．１％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも１回の全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【０３３４】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約

９８％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【０３３５】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９６％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９７％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【０３３６】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％～約１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【０３３７】

いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９６％～１００％が少なくとも１回の全リードを有す

ることである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９７％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９８％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ａ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％～１００％が少なくとも１回の全リードを有することである。

【０３３８】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０３３９】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも１０～２０

０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４０】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プ

ローブの少なくとも約８０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４１】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４２】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの

少なくとも約９７．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４３】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも６０の狙い

通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４４】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４５】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．９％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも７０の狙い

通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４６】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．９％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９８％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９７％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９６％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも約９０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４７】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プロ

ーブの少なくとも９９．９％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９８％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９７％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９６％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５．５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。本開示のキットのいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は、捕捉プローブの少なくとも９０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有する基準（ｂ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６５％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４８】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０３４９】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつか

の実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～９９．９％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５０】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５１】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも１０～２００の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５２】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５３】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも５０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５４】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５５】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも６０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５６】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５７】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも７０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５８】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約６０％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約７０％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プロー

ブの少なくとも約８０％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９０％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９５％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも約９９％～約１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３５９】

いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも６０％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも７０％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも８０％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９０％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９５％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。いくつかの実施形態では、基準（ｂ）は捕捉プローブの少なくとも９９％～１００％が少なくとも８０の狙い通りの全リードを有することである。

【０３６０】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｃ）を含む。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９．５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９８％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９７％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９６％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約８５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約８０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約７５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約７０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約６５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約６０％が検出されることである。

【０３６１】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９９．５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９８％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９７％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９６％が検出

されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも８５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも８０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも７５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも７０％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６５％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％が検出されることである。

【０３６２】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約６０％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約７０％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約８０％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９０％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９５％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９６％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９７％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９８％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％～約９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの約１００％が検出されることである。

【０３６３】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも７０％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも８０％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９０％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９５％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９６％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９７％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９８％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％～９９．９％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの１００％が検出されることである。

【０３６４】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約６０％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約７０％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なく

とも約８０％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９０％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９５％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９６％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９７％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９８％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％～約１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの約１００％が検出されることである。

【０３６５】

いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも７０％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも８０％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９０％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９５％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９６％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９７％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも９８％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも約９９％～１００％が検出されることである。いくつかの実施形態では、基準（ｃ）はＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの１００％が検出されることである。

【０３６６】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）及び基準（ｂ）を含む。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）及び基準（ｃ）を含む。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ｂ）及び基準（ｃ）を含む。本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスに関する所定の合否判定基準は基準（ａ）、基準（ｂ）及び基準（ｃ）を含む。

【０３６７】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスで使用されるＤＮＡ試料はヒトの野生型ＤＮＡを含む。

【０３６８】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスで使用されるＤＮＡ試料は複数の一塩基多型（ＳＮＰ）を含む。

【０３６９】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、プローブＱＣプロセスで使用されるＤＮＡ試料は任意の好適なＤＮＡを含む。

【０３７０】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールのテール配列はプライマー結合部位を含む。

【０３７１】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、テール配は配列決定プライマー結合部位を含む。

【０３７２】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、テール配列はパートナーのオリゴヌクレオチドとハイブリッド形成するように構成される。

【０３７３】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは、複数の捕捉プローブモジュールを含む捕捉プローブパネルから選択される。

【０３７４】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、少なくとも１つの捕捉プローブモジュールは特定のＤＮＡ標的領域の下流でハイブリッド形成するように構成され、少なくとも１つの捕捉プローブモジュールは特定のＤＮＡ標的領域の上流でハイブリッド形成するように構成される。

【０３７５】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、複数の捕捉プローブモジュールの各捕捉プローブは、任意の他の捕捉プローブの約２００ｂｐ以内でその標的配列とハイブリッド形成するように構成される。

【０３７６】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、捕捉プローブパネルの各捕捉プローブモジュールはアダプタータグ付きＤＮＡ断片とハイブリッド形成して、複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成する。

【０３７７】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、パートナーオリゴヌクレオチドは、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の単離を可能にする結合ペアの特定のメンバーを含む。

【０３７８】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、パートナーオリゴヌクレオチドはビオチン分子を含む。

【０３７９】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の単離を可能にする結合ペアの特定のメンバーを含む。

【０３８０】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールはビオチン分子を含む。

【０３８１】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは約６０未満のヌクレオチド長の捕捉プローブを含む。

【０３８２】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは６０未満のヌクレオチド長の捕捉プローブを含む。

【０３８３】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは約４０未満のヌクレオチド長である捕捉プローブを含む。

【０３８４】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、各捕捉プローブモジュールは４０のヌクレオチド長である捕捉プローブを含む。

【０３８５】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ストレプトアビジンはアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離するのに使用される。

【０３８６】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を酵素処理してハイブリッド分子を生成する工程は、鋳型としてアダプタータグ付きＤＮＡ断片を使用してアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の各捕捉プローブにて５’－３’ポリメラーゼ伸長を実施し、複数のハイブリッド分子（標的捕捉ライブラリー）を作り出すことを含み、その際、各ハイブリッド分子は捕捉プローブモジュールとアダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体とを含む。

【０３８７】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＳＲＬは配列解読装置の単一フローセルにて配列決定される。

【０３８８】

本開示のプローブＱＣプロセスを実行する方法のいくつかの実施形態では、ＳＲＬでの定量的遺伝子解析は１以上の配列決定プライマーの使用を含む。いくつかの実施形態では、定量的遺伝子解析を使用して、試験試料ＤＮＡ断片におけるヌクレオチドの移行もしくは塩基転換、ヌクレオチドの挿入もしくは欠失、ゲノムの再構成、またはコピー数の変化を検出する。

【０３８９】

本開示のいくつかの実施形態は、（ａ）第１の遺伝子座を含む第１のアダプタータグ付きライブラリーに対して第１の処理を実行して第１の修飾ライブラリーを生成することと；（ｂ）第２の遺伝子座を含む第２のアダプタータグ付きライブラリーに対して第２の処理を実行して第２の修飾ライブラリーを生成し、その際、第１の処理及び第２の処理は同一ではないことと；（ｃ）第１の修飾ライブラリーと第２の修飾ライブラリーを接触させて組み合わせライブラリーを生成することとを含む同時ＤＮＡ解析のための方法を提供し、その際、第１のアダプタータグ付きライブラリー及び第２のアダプタータグ付きライブラリーは同一のアダプタータグ付き親ライブラリーに由来する。

【０３９０】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、当該方法は、アダプタータグ付き親ライブラリーを少なくとも２つの区分に分割する最初の工程を含み、その際、第１の区分が第１のアダプタータグ付きライブラリーであり、第２の区分が第２のアダプタータグ付きライブラリーである。

【０３９１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子を含み；その際、第１の遺伝子座はＤＮＡ領域を含み；第１の試験試料は第１の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を有するＤＮＡ分子を含み；第１の５’アダプターモジュール、第１の３’アダプターモジュール、またはその双方は第１のアダプタータグ付きライブラリーにおける第１の遺伝子座に結合され；第２の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって　５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の遺伝子座の

配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって　５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子を含み；その際、第２の遺伝子座の配列はＤＮＡ領域を含み；第２の試験試料は第２の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を含み；第２の５’アダプターモジュール、第２の３’アダプターモジュール、またはその双方が、第２のアダプタータグ付きライブラリー内の第２の遺伝子座に結合され；第１の修飾ライブラリーがライブラリータグを含む。

【０３９２】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子を含み；その際、第１の遺伝子座はＤＮＡ領域を含み；第１の試験試料は第１の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を有するＤＮＡ分子を含み；第１の５’アダプターモジュール、第１の３’アダプターモジュール、またはその双方は第１のアダプタータグ付きライブラリーにおける第１の遺伝子座に結合され；第２の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって　５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって　５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子を含み；その際、第２の遺伝子座はＤＮＡ領域を含み；第２の試験試料は第２の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を有するＤＮＡ分子を含み；第２の５’アダプターモジュール、第２の３’アダプターモジュール、またはその双方は第２のアダプタータグ付きライブラリーにおける第２の遺伝子座に結合され、第２の修飾ライブラリーはライブラリータグを含む。

【０３９３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子を含み；その際、第１の遺伝子座はＤＮＡ領域を含み；第１の試験試料は第１の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を有するＤＮＡ分子を含み；第１の５’アダプターモジュール、第１の３’アダプターモジュール、またはその双方は第１のアダプタータグ付きライブラリーにおける第１の遺伝子座に結合され；第２の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって　５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第

２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって　５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子を含み；その際、第２の遺伝子座はＤＮＡ領域を含み；第２の試験試料は第２の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を有するＤＮＡ分子を含み；第２の５’アダプターモジュール、第２の３’アダプターモジュール、またはその双方は第２のアダプタータグ付きライブラリーにおける第２の遺伝子座に結合され；第１の修飾ライブラリーは第１のライブラリータグを含み、第２の修飾ライブラリーは第２のライブラリータグを含み、第１及び第２のライブラリータグは同一ではない。

【０３９４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の試験試料と第２の試験試料とは同じ試料である。

【０３９５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の試験試料と第２の試験試料とは同じ試料ではない。

【０３９６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の遺伝子座と第２の遺伝子座とは同一である。

【０３９７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の遺伝子座と第２の遺伝子座とは同一ではない。

【０３９８】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは、第１の修飾ライブラリーの第１のＤＮＡ配列を第２の修飾ライブラリーの第２のＤＮＡ配列から区別する。

【０３９９】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、Ａ１、Ａ２、Ｂ１及びＢ２の少なくとも１つは少なくとも１つのライブラリータグを含む。

【０４００】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは核酸配列またはアミノ酸配列を含む。

【０４０１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＰＮＡ、または天然に存在しない核酸、合成核酸、修飾核酸、天然に存在しないアミノ酸、合成アミノ酸、及び修飾アミノ酸のうちの１以上を含む。

【０４０２】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは検出可能な標識を含む。

【０４０３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、検出可能な標識は、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む。

【０４０４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは検出可能な部分に選択的にまたは特異的に結合する。

【０４０５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、検出可能な部分は、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む。

【０４０６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは固有のポリヌクレオチド配列を含む。

【０４０７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、固有のポリヌクレオチド配列は、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、第１の５’アダプターモジュール、第１の遺伝子座、第１の３’アダプターモジュール、第２の５’アダプターモジュール、第２の遺伝子座及び第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する配列を含む。

【０４０８】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の試験試料及び第２の試験試料は同じ試料ではなく、Ａ１、Ａ２、Ｂ１またはＢ２はライブラリータグを含み；ライブラリータグは第１の修飾ライブラリーの第１のＤＮＡ配列を第２の修飾ライブラリーの第２のＤＮＡ配列から区別することができ；ライブラリータグは固有ポリヌクレオチド配列を含み；固有ポリヌクレオチド配列はＡ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、第１の５’アダプターモジュール、第１の遺伝子座、第１の３’アダプターモジュール、第２の５’アダプターモジュール、第２の遺伝子座及び第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する配列を含む。

【０４０９】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１のアダプタータグ付きライブラリー及び第２のアダプタータグ付きライブラリーはそれぞれ、アダプターモジュールを含む。

【０４１０】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、各アダプターは連結鎖オリゴヌクレオチド及び非連結鎖オリゴヌクレオチドを含む。

【０４１１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは、連結鎖オリゴヌクレオチドの３’末端の領域とハイブリッド形成することができ、それと二本鎖を形成することができる。

【０４１２】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドはアダプターモジュールを含む。

【０４１３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは３’末端にｄＴ、ｄＡ、ｄＣまたはｄＧのオーバーハングを含む。

【０４１４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドはｄｓＤＮＡ断片の５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を防止する修飾をその３’末端に含み、その際、非連結鎖は二本鎖から置き換えられるように構成される。

【０４１５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、各アダプターはアダプターのセットから選択され、その際、アダプターのセットの各アダプターは固有のＩＤ領域のプールから選択されるＩＤ領域を含み、当該プールは複数のプールから選択され、選択されたプールは試験試料に対して固有である。

【０４１６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールは、（ａ）プライマー結合部位を含む増幅領域と；（ｂ）ＩＤ領域と；（ｃ）アンカー領域とを含む。

【０４１７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュー

ルは、（ａ）プライマー結合部位を含むポリヌクレオチドを含む増幅領域と；（ｂ）ＩＤ領域と；（ｃ）アンカー領域とを含む。

【０４１８】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、増幅領域はプライマー結合部位を含み、その際、当該プライマー結合部位は、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する増幅を可能にする。

【０４１９】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、増幅領域はプライマー結合部位を含むポリヌクレオチド配列を含み、その際、当該プライマー結合部位は、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する、第１及び／または第２のアダプタータグ付きライブラリーの核酸の増幅を可能にする。

【０４２０】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、増幅領域は１０～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は２０から３０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０４２１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、増幅領域は約１０～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は約２０～約３０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０４２２】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アンカー領域は３’末端にオーバーハングを含む。

【０４２３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アンカー領域は１～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は５～２５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は１０ヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０４２４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アンカー領域は約１０～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は約５～約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は約１０ヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０４２５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域は３～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は３～１５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０４２６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約３～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約３～約１５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０４２７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュー

ルはさらに、固有分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子を含む。
【０４２８】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子はＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有される。
【０４２９】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は１～５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。
【０４３０】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は約１～約５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。
【０４３１】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり、６４の固有のヌクレオチド配列の群から選択される核酸配列を含む。
【０４３２】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールがアダプター分子を含む。
【０４３３】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールは、固有のものである。
【０４３４】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの増幅領域はカスタムプライマー結合部位を含む。
【０４３５】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、カスタムプライマー結合部位は、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのカスタムプライマー結合部位の配列に対して１００％の配列同一性を有する配列を含む。
【０４３６】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールは第１の細区画及び第２の細区画を含む。
【０４３７】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、各アダプターモジュールは、任意の他のアダプターモジュールのＩＤ領域のポリヌクレオチド配列とは異なるポリヌクレオチド配列を含むＩＤ領域を含む。
【０４３８】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは２～１０，０００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは１０～５００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは５０～３００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは６０の固有のＩＤ領域配列を含む。
【０４３９】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約２～約１０，０００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約１０～約５００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約５０～約３００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約６０の固有のＩＤ領域配列を含む。
【０４４０】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域は８ヌクレオチド長である。
【０４４１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、各ＩＤ領域配列は任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。

【０４４２】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、各ＩＤ領域はそこに結合したＤＮＡ断片を特定するように構成される。

【０４４３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０４４４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは約６４～約２，５６０，０００の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０４４５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、その際、３８４０の固有のヌクレオチド配列の各配列は任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。

【０４４６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターのアンカー領域は４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、その際、所与の配列の各ＩＤ領域は所与の配列の４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する。

【０４４７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターの増幅領域は同一のプライマー結合部位を含む。

【０４４８】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域は８ヌクレオチド長であり、各ＩＤ領域配列は任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れており；アダプターのセットの各アダプターはＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、アダプターのセットの各アダプターのＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり；所与の配列のＵＭＩ乗算因子は所与の配列の１つのＩＤ領域と対合し；アダプターのセットの各アダプターのアンカー領域は４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域は所与の配列の４つのアンカー領域のうちの１つのみと対合し；アダプターのセットの各アダプターの増幅領域は同一のプライマー結合部位を含む。

【０４４９】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の細区画は固有ＩＤ領域の第１のセットを含み、第２の細区画は固有ＩＤ領域の第２のセットを含む。

【０４５０】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、各アダプターモジュールはさらに、ＩＤ領域のポリヌクレオチド配列と同一ではないポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含む。

【０４５１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の細区画内の各アダプターモジュールは第１のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み；第２の細区画内の各アダプターモジュールは第２のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み、第１及び第２のポリヌクレオチド配列は互いに同一ではない。

【０４５２】

本開示の同時のＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、アダプターモジュ

ールの第１の細区画は第１の試験試料内の各ＤＮＡ分子を特定し、アダプターモジュールの第２の細区画は第２の試験試料内の各ＤＮＡ分子を特定する。

【０４５３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は２～１０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０４５４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は５０～５００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０４５５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は１００～４００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０４５６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は６０の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０４５７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は８ヌクレオチド長である

【０４５８】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールは６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０４５９】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールは３８４０の固有のヌクレオチド配列のうちの１つを含み、その際、各ヌクレオチド配列は３８４０の固有のヌクレオチド配列の任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。

【０４６０】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのアンカー領域は４つのヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０４６１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの増幅領域はユニバーサルプライマー配列を含み；複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は８ヌクレオチドを含み、またはそれから成り；複数のアダプターモジュールは２以上の細区画に分割され、その際、アダプターモジュールの各細区画は固有ＩＤ領域のセットを含み；各ＩＤ領域のポリヌクレオチド配列は複数のアダプターモジュールの任意の他のＩＤ領域のヌクレオチド配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れており；複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールはＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、その際、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチドを含む、またはそれから成る。

【０４６２】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、方法は、（ａ）アダプターのセットを試験試料のＤＮＡ断片と連結させて複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を生成すること；及び（ｂ）複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を１以上の酵素と接触させて複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片を含むアダプタータグ付きＤＮＡライ

ブラリーを形成することを含む。いくつかの実施形態では、各アダプター／ＤＮＡ断片の複合体はＤＮＡ断片の各末端に連結された連結鎖オリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは工程（ｂ）にてアダプター／ＤＮＡ断片の複合体から置き換えられる。いくつかの実施形態では、アダプターのセットは本開示の任意のアダプターセットである。

【０４６３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１のプロセスは、（ａ）ハイブリッド形成に好適な条件下で第１のアダプタータグ付きライブラリーを１以上の捕捉プローブと接触させて、１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を形成し、その際、各捕捉プローブは、プライマー結合部位を含む第１の領域と、第１のアダプタータグ付きライブラリーの第１の遺伝子座における標的領域とハイブリッド形成することができる第２の領域とを含むことと；（ｂ）工程（ａ）からの１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を単離し、その際、単離された各捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体が捕捉プローブとアダプタータグ付きＤＮＡ分子とを含むことと；（ｃ）工程（６）からの１以上の単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を酵素処理して１以上のアダプタータグ付きハイブリッド核酸分子（ハイブリッド分子）を生成することとを含み、その際、各ハイブリッド分子は、捕捉プローブまたはその相補体の少なくとも一部と、アダプタータグ付きＤＮＡ分子またはその相補体の少なくとも一部とを含む。

【０４６４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、捕捉プローブの第１の領域はさらに、パートナーオリゴヌクレオチドに対して相補性を有する配列を含む。

【０４６５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、１以上のアダプタータグ付きハイブリッド分子を生成するための１以上の単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体の酵素処理は、複合体中のアダプタータグ付きＤＮＡ分子を鋳型として使用して捕捉プローブの５’－３’ＤＮＡポリメラーゼ伸長を実行することを含む。

【０４６６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、少なくとも１つの捕捉プローブは標的領域内の特定領域の下流でハイブリッド形成し、少なくとも１つの捕捉プローブは標的領域内の特定領域の上流でハイブリッド形成する。

【０４６７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、捕捉プローブは配列決定プライマー結合部位を含む。

【０４６８】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ハイブリッド分子は少なくとも１つのライブラリータグを含む。

【０４６９】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、捕捉プローブの第１の領域はライブラリータグを含む。

【０４７０】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは配列決定プライマー結合部位を含む。

【０４７１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、方法は、（ａ）ハイブリッド形成に好適な条件下で第１のアダプタータグ付きライブラリーを１以上の捕捉プローブと接触させて、１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を形成し、その際、各捕捉プローブはプライマー結合部位を含む第１の領域と、第１のアダプタータグ付きライブラリーの第１の遺伝子座における標的領域とハイブリッド形成すること

ができる第２の領域とを含むことと；（ｂ）工程（ａ）からの１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を単離し、その際、単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体が捕捉プローブとアダプタータグ付きＤＮＡ分子とを含むことと；（ｃ）工程（ｂ）からの単離された１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を酵素処理して１以上のアダプタータグ付きハイブリッド核酸分子（ハイブリッド分子）を生成することと；（ｄ）１以上のハイブリッド分子を増幅することとを含み；その際、各ハイブリッド分子は、捕捉プローブまたはその相補体の少なくとも一部と、アダプタータグ付きＤＮＡ分子またはその相補体の少なくとも一部とを含む。

【０４７２】

本開示の同時のＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、増幅することは、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）を含む第１のプライマーと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）を含む第２のプライマーとを含み、増幅されたハイブリッド分子（複数可）のそれぞれはＡ１及びＡ２を含む。

【０４７３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、標的領域は遺伝子損傷を含む。

【０４７４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、標的領域はエピジェネティックマークを含む。

【０４７５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、捕捉プローブはエピジェネティックマークに結合する。

【０４７６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、エピジェネティックマークはメチル化マークを含む。

【０４７７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１のプロセスは、（ａ）ハイブリッド形成に好適な条件下で第１のアダプタータグ付きライブラリーを１以上の捕捉プローブと接触させて１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を形成し、その際、各捕捉プローブは、配列決定プライマー結合部位を含むライブラリータグ及びパートナーオリゴヌクレオチドに対して相補性を有する配列を含む第１の領域と、第１のアダプタータグ付きライブラリーの第１の遺伝子座における標的領域とハイブリッド形成することができる第２の領域とを含むことと；（ｂ）工程（ａ）からの１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡ複合体を単離し、その際、各単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡ複合体は捕捉プローブとアダプタータグ付きＤＮＡ分子とを含むことと；（ｃ）工程（ｂ）からの１以上の単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を酵素処理して１以上のアダプタータグ付きハイブリッド核酸分子（ハイブリッド分子）を生成し、その際、酵素処理は複合体中のアダプタータグ付きＤＮＡ分子を鋳型として使用して捕捉プローブを５’－３’ＤＮＡポリメラーゼ伸長させることを含み、各ハイブリッド分子は捕捉プローブと、各ハイブリッド分子は、捕捉プローブと、捕捉プローブが第１のアダプタータグ付きライブラリーの標的領域とハイブリッド形成した位置から３’にあるアダプタータグ付きＤＮＡ分子の相補体とを含むことと；（ｄ）工程（ｃ）にて１以上のハイブリッド分子を増幅することとを含み、その際、増幅することは５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）を含む第１のプライマーと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）を含む第２のプライマーとをハイブリッド分子とハイブリッド形成させることを含み、増幅されたハイブリッド分子（複数可）はそれぞれＡ１及びＡ２を含む。

【０４７８】

本開示の同時のＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第２のプロセスは、第２のアダプタータグ付きライブラリーの第２の遺伝子座を増幅する、または伸長することを含む。

【０４７９】
本開示の同時のＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、増幅することまたは伸長することは、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）を含む第１のプライマーと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）を含む第２のプライマーとをアダプタータグ付きＤＮＡ分子とハイブリッド形成させることを含み、その際、増幅されたまたは伸長された第２の遺伝子座はＢ１及びＢ２を含む。
【０４８０】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、Ｂ１及びＢ２の少なくとも１つはライブラリータグを含む。
【０４８１】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第２のプロセスは、第２のアダプタータグ付きライブラリーの第２の遺伝子座を増幅する、または伸長することを含み、その際、増幅することまたは伸長することは、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）を含む第１のプライマーと３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）を含む第２のプライマーとをアダプタータグ付きＤＮＡ分子とハイブリッド形成させることを含み、その際、Ｂ１及びＢ２の少なくとも１つはライブラリータグを含み、増幅されたまたは伸長された遺伝子座はＢ１及びＢ２を含む。
【０４８２】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、当該方法はさらに、遺伝子解析の工程を含む。
【０４８３】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、遺伝子解析は、少なくとも１つの修飾ライブラリーにて少なくとも１つのライブラリータグの存在を検出することを含む。
【０４８４】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、遺伝子解析は、組み合わせたライブラリーを配列決定して複数の配列決定リードを生成し、複数の配列決定リードについてバイオインフォマティクス解析を行うことを含む。
【０４８５】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは第１のライブラリータグを含み、第２の修飾ライブラリーは第２のライブラリータグを含む。
【０４８６】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１のライブラリータグは第１のシグナルを生成し、第２のライブラリータグは第２のシグナルを生成する。
【０４８７】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１及び第２のシグナルの双方が検出される、または検出可能である。
【０４８８】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１のシグナルと第２のシグナルは同一ではない。
【０４８９】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１のシグナルは検出される、または検出可能であり、第２のシグナルは検出されない、または検出可能ではない。
【０４９０】
本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第２のシグナルは検出される、または検出可能であり、第１のシグナルは検出されない、または検出可能ではない。
【０４９１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーの一方のみがライブラリータグを含む。

【０４９２】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは第１のシグナルを生成し、ライブラリータグの欠如は第２のシグナルを生成する。

【０４９３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１及び第２のシグナルの双方が検出される、または検出可能である。

【０４９４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１のシグナルと第２のシグナルは同一ではない。

【０４９５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１のシグナルは検出される、または検出可能であり、第２のシグナルは検出されない、または検出可能ではない。

【０４９６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第２のシグナルは検出される、または検出可能であり、第１のシグナルは検出されない、または検出可能ではない。

【０４９７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１のシグナルは配列決定リードであり、第２のシグナルは空の配列決定リードである。

【０４９８】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、空の配列決定リード（第２のシグナル）は一連の２以上のＧヌクレオチドとして検出される。

【０４９９】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、検出される第１のシグナル及び検出される第２のシグナルを互いに区別することができる。

【０５００】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、検出される第１のシグナル及び検出されない第２のシグナルを互いに区別することができる。

【０５０１】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、検出されない第１のシグナル及び検出される第２のシグナルを互いに区別することができる。

【０５０２】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、遺伝子解析を使用して１以上の遺伝子損傷を特定する。

【０５０３】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、１以上の遺伝子損傷は、ヌクレオチドの移行、ヌクレオチドの塩基転換、ヌクレオチドの挿入、ヌクレオチドの欠失、ゲノムの再構成、またはコピー数の変化を含む。

【０５０４】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、遺伝子解析を使用して、遺伝性疾患を引き起こす、または遺伝性疾患に関連する１以上の遺伝子損傷を検出する。

【０５０５】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、遺伝性疾患はがんである。

【０５０６】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、１以上の遺伝子損傷

は染色体再配置である。

【０５０７】

本開示の同時ＤＮＡ解析のための方法のいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーは少なくとも１つのライブラリータグまたはその一部の特定による配列決定の後に逆多重化される。

【０５０８】

本開示のいくつかの実施形態は、第１の修飾ライブラリーと第２の修飾ライブラリーとを含む組成物を提供し、その際、第１の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子を含み；その際、第１の遺伝子座はＤＮＡ領域を含み；第１の試験試料は第１の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を有するＤＮＡ分子を含み；第１の５’アダプターモジュール、第１の３’アダプターモジュール、またはその双方は第１のアダプタータグ付きライブラリーにおける第１の遺伝子座に結合され；第２の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子を含み；その際、第２の遺伝子座はＤＮＡ領域を含み；第２の試験試料は第２の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を有するＤＮＡ分子を含み；第２の５’アダプターモジュール、第２の３’アダプターモジュール、またはその双方は第２のアダプタータグ付きライブラリーにおける第２の遺伝子座に結合され、第１の修飾ライブラリーまたは第２の修飾ライブラリーのいずれかがライブラリータグを含む。

【０５０９】

本開示のいくつかの実施形態は、第１の修飾ライブラリーと第２の修飾ライブラリーとを含む組成物を提供し、その際、第１の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子を含み；その際、第１の遺伝子座はＤＮＡ領域を含み；第１の試験試料は第１の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を有するＤＮＡ分子を含み；第１の５’アダプターモジュール、第１の３’アダプターモジュール、またはその双方は第１のアダプタータグ付きライブラリーにおける第１の遺伝子座に結合され；第２の修飾ライブラリーは、５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、第２の

遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子を含み；その際、第２の遺伝子座はＤＮＡ領域を含み；第２の試験試料は第２の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補性の配列を有するＤＮＡ分子を含み；第２の５’アダプターモジュール、第２の３’アダプターモジュール、またはその双方は第２のアダプタータグ付きライブラリーにおける第２の遺伝子座に結合され、第１の修飾ライブラリーは第１のライブラリータグを含み、第２の修飾ライブラリーは第２のライブラリータグを含み、第１及び第２のライブラリータグは同一ではない。

【０５１０】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、第１の試験試料及び第２の試験試料は同じ試料である。

【０５１１】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、第１の試験試料及び第２の試験試料は同じ試料ではない。

【０５１２】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、第１の遺伝子座と第２の遺伝子座とは同一である。

【０５１３】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、第１の遺伝子座と第２の遺伝子座とは同一ではない。

【０５１４】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは第１の修飾ライブラリーの第１のＤＮＡ配列を第２の修飾ライブラリーの第２のＤＮＡ配列から区別する。

【０５１５】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、Ａ１、Ａ２、Ｂ１及びＢ２のうちの少なくとも１つは少なくとも１つのライブラリータグを含有する。

【０５１６】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは核酸配列またはアミノ酸配列を含む。

【０５１７】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＰＮＡ、または天然に存在しない核酸、合成核酸、修飾核酸、天然に存在しないアミノ酸、合成アミノ酸、及び修飾アミノ酸のうちの１以上を含む。

【０５１８】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは検出可能な標識を含む。

【０５１９】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、検出可能な標識は、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む。

【０５２０】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは検出可能な部分に選択的にまたは特異的に結合する。

【０５２１】

いくつかの実施形態では、検出可能な部分は、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む。

【０５２２】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ライブラリータグは固有のポリヌクレオチド配列を含む。

【０５２３】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、固有のポリヌクレオチド配列は、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、第１の５’アダプターモジュール、第１の遺伝子座、第１の３’アダプタ

ーモジュール、第２の５’アダプターモジュール、第２の遺伝子座及び第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する配列を含む。

【０５２４】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、第１の試験試料及び第２の試験試料は同じ試料ではなく；Ａ１、Ａ２、Ｂ１またはＢ２はライブラリータグを含有し；ライブラリータグは第１の修飾ライブラリーの第１のＤＮＡ配列を第２の修飾ライブラリーの第２のＤＮＡ配列から区別することができ；ライブラリータグは固有のポリヌクレオチド配列を含み；固有のポリヌクレオチド配列はＡ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、第１の５’アダプターモジュール、第１の遺伝子座、第１の３’アダプターモジュール、第２の５’アダプターモジュール、第２の遺伝子座及び第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する配列を含む。

【０５２５】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターは連結鎖オリゴヌクレオチド及び非連結鎖オリゴヌクレオチドを含む。

【０５２６】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは、連結鎖オリゴヌクレオチドの３’末端の領域とハイブリッド形成することができ、それと二本鎖を形成することができる。

【０５２７】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドはアダプターモジュールを含む。

【０５２８】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは３’末端にｄＴ、ｄＡ、ｄＣまたはｄＧのオーバーハングを含む。

【０５２９】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドはｄｓＤＮＡ断片の５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を防止する修飾をその３’末端に含み、その際、非連結鎖は二本鎖から置き換えられるように構成される。

【０５３０】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターは、固有のＩＤ領域のプールから選択されるＩＤ領域を含み、その際、当該プールは複数のプールから選択され、選択されたプールは試験試料に対して固有である。

【０５３１】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールは、（ａ）プライマー結合部位を含む増幅領域と；（ｂ）ＩＤ領域と；（ｃ）アンカー領域とを含む。

【０５３２】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールは、（ａ）プライマー結合部位を含むポリヌクレオチド配列を含む増幅領域と；（ｂ）ＩＤ領域と；（ｃ）アンカー領域とを含む。

【０５３３】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、増幅領域はプライマー結合部位を含み、その際、当該プライマー結合部位は、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する増幅を可能にする。

【０５３４】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、増幅領域はプライマー結合部位を含むポリヌクレオチド配列を含み、その際、当該プライマー結合部位は、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、

ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する、第１及び第２のアダプタータグ付きライブラリーの核酸の増幅を可能にする。

【０５３５】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、増幅領域は１０～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は２０～３０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５３６】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、増幅領域は約１０～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は約２０～約３０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、増幅領域は約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５３７】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アンカー領域は３’末端にオーバーハングを含む。

【０５３８】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アンカー領域は１～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は５～２５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は１０ヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５３９】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アンカー領域は約１～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は約５～約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、アンカー領域は約１０ヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５４０】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域は３～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は３～１５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５４１】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約３～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約３～約１５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は約８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５４２】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールはさらに、固有分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子を含む。

【０５４３】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子はＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有される。

【０５４４】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は１～５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５４５】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は約１～約５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５４６】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり

、６４の固有のヌクレオチド配列の群から選択される核酸配列を含む。
【０５４７】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは２～１０，０００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは１０～５００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは５０～３００の間の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは６０の固有のＩＤ領域配列を含む。
【０５４８】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約２～約１０，０００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約１０～約５００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約５０～約３００の固有のＩＤ領域配列を含む。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールは約６０の固有のＩＤ領域配列を含む。
【０５４９】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域は８ヌクレオチド長である。
【０５５０】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、各ＩＤ領域配列は、任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。
【０５５１】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、各ＩＤ領域はそこに結合したＤＮＡ断片を特定するように構成される。
【０５５２】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。
【０５５３】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは約６４～約２，５６０，０００の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。
【０５５４】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールは３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、その際、３８４０の固有のヌクレオチド配列の各配列は任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。
【０５５５】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターのアンカー領域は、４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域は所与の配列の４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する。
【０５５６】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターのセットの各アダプターの増幅領域は同一のプライマー結合部位を含む。
【０５５７】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域は８ヌクレオチド長であり、各ＩＤ領域配列は任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れており；アダプターのセットの各アダプターはＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、アダプターのセットの各アダプターのＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり；所与の配列のＵＭＩ乗算因子は所与の配列の１つのＩＤ領域と対合し；アダプターのセットの各アダプターのアンカー領域は４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域は所与の配列の４つのアンカ

ー領域のうちの１つのみと対合し；アダプターのセットの各アダプターの増幅領域は同一のプライマー結合部位を含む。

【０５５８】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールはアダプターモジュールを含む。

【０５５９】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールは固有である。

【０５６０】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの増幅領域はカスタムプライマー結合部位を含む。

【０５６１】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、カスタムプライマー結合部位は、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのカスタムプライマー結合部位の配列に対して１００％の配列同一性を有する配列を含む。

【０５６２】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールは第１の細区画及び第２の細区画を含む。

【０５６３】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、各アダプターモジュールは、任意の他のアダプターモジュールのＩＤ領域のポリヌクレオチド配列とは異なるポリヌクレオチド配列を含むＩＤ領域を含む。

【０５６４】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、第１の細区画は固有ＩＤ領域の第１のセットを含み、第２の細区画は固有ＩＤ領域の第２のセットを含む。

【０５６５】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、各アダプターモジュールはさらに、ＩＤ領域のポリヌクレオチド配列と同一ではないポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含む。

【０５６６】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、第１の細区画内の各アダプターモジュールは第１のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み；第２の細区画内の各アダプターモジュールは第２のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み、第１及び第２のポリヌクレオチド配列は互いに同一ではない。

【０５６７】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールの第１の細区画は第１の試験試料内の各ＤＮＡ分子を特定し、アダプターモジュールの第２の細区画は第２の試験試料内の各ＤＮＡ分子を特定する。

【０５６８】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、アダプターモジュールの第１の細区画は第１の試験試料を特定し、アダプターモジュールの第２の細区画は第２の試験試料を特定する。

【０５６９】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は２～１０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０５７０】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は５０～５００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０５７１】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は１００～４００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０５７２】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は６０の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０５７３】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５７４】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールは６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０５７５】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールは３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、その際、３８４０の固有のヌクレオチド配列の各ヌクレオチド配列は任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。

【０５７６】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのアンカー領域は４つのヌクレオチド配列から成る群から選択される。

【０５７７】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの増幅領域はユニバーサルプライマー配列を含み；複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域は８ヌクレオチドを含み、またはそれらから成り；複数のアダプターモジュールは２以上の細区画に分割され、その際、アダプターモジュールの各細区画は固有ＩＤ領域のセットを含み；各ＩＤ領域のポリヌクレオチド配列は複数のアダプターモジュールの任意の他のＩＤ領域のヌクレオチド配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れており；複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールはＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、その際、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチドを含む、またはそれらから成る。

【０５７８】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、試験試料は組織生検である。

【０５７９】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、組織生検は腫瘍または腫瘍が疑われる組織から得られる。

【０５８０】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、組織生検は悪性腫瘍または悪性腫瘍が疑われる腫瘍から得られる。

【０５８１】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＤＮＡ分子は、無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）、ゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）、相補性ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）、ミトコンドリアＤＮＡ、メチル化ＤＮＡ、または脱メチル化ＤＮＡである。

【０５８２】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＤＮＡ分子はエピジェネティックマークを含む。

【０５８３】

本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＤＮＡ分子は、全ゲノムライブラリー、アンプリコンライブラリー、全エキソームライブラリー、ｃＤＮＡライブラリー、またはメ

チル化ＤＮＡライブラリーから成るリストから選択されるライブラリーから得られる。
【０５８４】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＤＮＡ分子は試験試料から単離される、または生成される。
【０５８５】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、試験試料は、羊水試料、血液試料、皮膚試料、体毛試料、毛包試料、唾液試料、粘液試料、汗試料、涙液試料、上皮組織試料、尿試料、精液試料、精漿試料、血清試料、前立腺液試料、前射精液（Ｃｏｗｐｅｒ’ｓ液）試料、眼液試料、排泄物試料、生検試料、腹水試料、脳脊髄液試料、リンパ液試料、組織抽出物試料、糞便試料、及びホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）試料から成る群から選択される生体試料を含む。
【０５８６】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、ＤＮＡ分子は、（ａ）試験試料から細胞ＤＮＡを単離すること；または（ｂ）細胞ＤＮＡを断片化してゲノムＤＮＡ断片を得ることを含む工程によって得られる。
【０５８７】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、細胞ＤＮＡを断片化する工程（ｂ）は細胞ＤＮＡを少なくとも１つの消化酵素と接触させることによって実行される。
【０５８８】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、細胞ＤＮＡを断片化する工程（ｂ）は細胞ＤＮＡに機械的ストレスを加えることによって実行される。
【０５８９】
本開示の組成物のいくつかの実施形態では、細胞ＤＮＡを断片化する工程（ｂ）は、細胞ＤＮＡを１以上の化合物と接触させて、細胞ＤＮＡの１以上の結合を化学的に破壊することによって実行される。
【０５９０】
本開示の種々の目的及び利点、ならびにさらに完全な理解は、添付の図面と併せて解釈されるとき以下の詳細な説明及び添付の特許請求の範囲を参照することによって明らかになり、さらに容易に理解される。
【図面の簡単な説明】
【０５９１】
【図１】３つの異なる種類のアダプターモジュールを示す概略図である。
【図２】アンカー領域をアダプターのＩＤ領域に適合させるための（アダプター要素は例示であり、長さは縮尺通りではない）例示的なプロセス、ならびに異なる試料に割り当てられたアダプターセットの生成を示す概略図である。この実施形態では、黒色ボックスは同一の増幅領域を表し、パターン化されたボックスは別個のＩＤ領域を表し、各パターンは異なるＩＤ領域を表す。灰色ボックスはアンカー領域を表し、各種のアンカー領域配列はそれぞれ異なる灰色の濃淡によって表される。
【図３】本開示の方法の一実施形態を示す概略図である。パターンはライブラリーの組成を示し、その際、同じパターンは同一組成（例えば、第１のアダプタータグ付きライブラリー及び第２のアダプタータグ付きライブラリー）を示し、２つのパターンは異なる組成（例えば、組み合わせライブラリー）の混合物を示す。
【図４】本開示の方法のいくつかの実施形態の例示的なワークフローを示す概略図である。この実施形態では、増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）及びＬＰＷＧライブラリーを別々に生成し、次いで、配列決定のために組み合わせる。
【図５】アダプタータグ付き親ライブラリーを生成するための例示的なプロセスを示す概略図である。いくつかの実施形態では、親ライブラリーは、以下の順序で生成される：第１の工程にて、ｄｓＤＮＡ断片を末端修復し、５’リン酸基及び３’－ｄＡ（デオキシリボ核酸アデニン）テールを両鎖末端に持つ断片を提供し；第２の工程にて、アダプターの連結鎖を断片の５’末端に連結し、ＩＤ領域及びＰＣＲプライマー結合部位を持つ断片をタ

グ付けし；第３の工程にて、タグ付きＤＮＡを満たし（すなわち、伸長し）、非連結鎖をアダプターから切り離してアダプタータグ付きＤＮＡ断片を含むアダプタータグ付き親ライブラリーを生成する。いくつかの実施形態では、アダプタータグ付き親ライブラリー及び／またはアダプタータグ付きＤＮＡ断片の集まりはＬＩＢまたはＬＩＢＳと呼ばれる。いくつかの実施形態では、第４の工程にて、伸長されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片はＰＣＲにより増幅されて増幅されたライブラリーを生成する。いくつかの実施形態では、増幅されたライブラリーはライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）と呼ばれる。いくつかの実施形態では、第３及び第４の工程は、反応混合物に追加の試薬を添加することなく、サーマルサイクラーにて連続的に（すなわち、追加の試薬を添加することなく）実行されてもよい。

【図６】標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬ）を生成するための例示的なプロセスを示す概略図である。いくつかの実施形態では、第１の工程にて、捕捉プローブモジュールを変性したアダプタータグ付きＤＮＡ断片（例えば、ＬＩＢＳ断片またはＬＰＡ断片）とハイブリッド形成させる。捕捉プローブモジュールはテール配列（緑色）及び捕捉プローブ配列（暗青色）を含む。いくつかの実施形態では、テール配列を、パートナーオリゴヌクレオチドの３’末端にビオチン標識を含むパートナーオリゴヌクレオチド（灰色）とハイブリッド形成させる。いくつかの実施形態では、第２の工程にて、アダプタータグの付されたＤＮＡ断片を鋳型として使用して捕捉プローブモジュールをその３’末端で伸長し、標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬ）を生成する。いくつかの実施形態では、第３の工程にて、プライマーＦＰとＲＰとを使用してＴＣＬを増幅し、その際、ＦＰはアダプターの増幅領域の少なくとも一部に結合し、ＲＰは捕捉プローブモジュールのテール配列の少なくとも一部に結合する。いくつかの実施形態では、ＦＰは第１の配列決定プライマーの結合部位（赤色）を含み、ＲＰは第２の配列決定プライマーの結合部位（緑色）を含む。いくつかの実施形態では、ライブラリータグは捕捉プローブ（緑色）のテール領域に埋め込まれる。結果として生じる増幅されたライブラリーは、増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）と呼ばれ、配列決定の準備が出来ている。

【図７】ローパス全ゲノム（ＬＰＷＧ）ライブラリーを生成するための方法の例示的な実施形態を示す概略図である。いくつかの実施形態では、ＬＰＷＧは増幅された全ゲノムライブラリーまたは増幅全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）と呼ばれる。いくつかの実施形態では、アダプタータグ付き親ライブラリー、増幅されたアダプタータグ付き親ライブラリー、ＬＩＢＳ、またはＬＰＡのアダプタータグ付きＤＮＡ断片は、配列決定アダプター（例えば、オリゴ１（赤色）及びオリゴ２（青色））と増幅領域結合領域（黄色）とを含むプライマーで増幅される。いくつかの実施形態では、増幅領域結合領域はＡＣＡ配列と呼ばれる。いくつかの実施形態では、オリゴ１及びオリゴ２は、Ｉｌｌｕｍｉｎａ（登録商標）Ｐ５及びＰ７配列であってもよく；これらのプライマーで増幅すると、配列決定の準備が出来ている、両端にオリゴ１及びオリゴ２の配列を持つＤＮＡ断片のライブラリーが生成される。いくつかの実施形態では、ＬＰＷＧライブラリー（ＷＧＬＡ）はリード２配列決定プライマー結合ドメイン所有しない。いくつかの実施形態では、ＷＧＬＡはライブラリータグを所有しない。

【図８】ＬＩＢまたはＬＰＡの投入のいずれかを使用したＬＰＷＧ増幅の８サイクル後、１２サイクル後または１６サイクル後のライブラリー濃度を示すグラフである。

【図９】ｑＰＣＲによって、または５８℃もしくは６９℃のいずれかのアニーリング温度で８サイクル、１２サイクルもしくは１６サイクル増幅されたＤＮＡの濃度（アッセイ）を測定するために使用される標準的アッセイによって測定されたＬＰＷＧライブラリーの濃度を示すグラフである。

【図１０】４サイクル、６サイクル、８サイクル、１２サイクル、１４サイクル、もしくは１６サイクル後に、オリゴ１及び／もしくはオリゴ２のプライマーを使用したｑＰＣＲによる、またはプライマーミックス１Ｓ（「ＡＣＡ」）を使用したｑＰＣＲによるアッセイによって測定したライブラリー濃度を示すグラフである。エラーバーは標準偏差を表す。

【図１１】８、１２、１４または１８の増幅サイクル後のオリゴ１／オリゴ２プライマーを使用したｑＰＣＲによる測定濃度に対する、アッセイによる測定濃度の比を示すグラフである。
【図１２Ａ】４（青色）、６（緑色）、または８（赤色）のサイクルにわたって増幅されたＬＰＷＧライブラリーのバイオアナライザートレースの重ね合わせを示すグラフである。
【図１２Ｂ】８（青色）、１２（緑色）、１４（青緑色）または１６（赤色）のサイクルにわたって増幅されたＬＰＷＧライブラリーのバイオアナライザートレースの重ね合わせを示すグラフである。
【図１３】０（青色）、６（緑色）、８（青緑色）、１２（ピンク色）または１６（赤色）のサイクルにわたって１４５ｂｐのサイズ選択断片から増幅されたＬＰＷＧライブラリーのバイオアナライザートレースの重ね合わせを示すグラフである。
【図１４】アッセイまたはｑＰＣＲのいずれかによって測定した５ｎｇ、１０ｎｇ、２５ｎｇ、５０ｎｇ、７５ｎｇ、または１００ｎｇの野生型ＬＰＡから８サイクルにわたって増幅されたＬＰＷＧライブラリーの濃度を示すグラフである。
【図１５】アッセイまたはｑＰＣＲのいずれかによって測定した１０ｎｇ、２０ｎｇ、５０ｎｇ、１００ｎｇ、または２００ｎｇの野生型ＬＰＡから１６サイクルにわたって増幅されたＬＰＷＧライブラリーの濃度を示すグラフである。
【図１６】フローセルに負荷する前に基準化した、１０ｎｇ、２０ｎｇ、５０ｎｇ、１００ｎｇまたは２００ｎｇの野生型ＬＰＡから１６サイクルにわたって増幅されたＬＰＷＧライブラリーについての配列決定リードの数を示すグラフである。（配列決定実行番号１６）
【図１７】ＬＰＷＧ　ＰＣＲへの投入量が変化する２つの反復試料からのリードの平均数を示すグラフである。エラーバーは反復間の標準偏差を示す。
【図１８】０．５倍（５０μＬ）、１倍（１００μＬ）または２倍（２００μＬ）の反応体積のいずれかで１６サイクルにわたって増幅されたＬＰＷＧライブラリーの濃度を示すグラフである。
【図１９】０．５倍、１倍または２倍の反応体積で増幅されたＬＰＷＧライブラリーのバイオアナライザートレースの重ね合わせを示すグラフである。
【図２０】０．５倍（０．５μＭ）、１倍（１μＭ）または２倍（２μＭ）のプライマーのいずれかにて１６サイクルにわたって増幅されたＬＰＷＧライブラリーの濃度を示すグラフである。
【図２１】０．５倍、１倍または２倍のプライマー濃度で増幅されたＬＰＷＧライブラリーのバイオアナライザートレースの重ね合わせを示すグラフである。
【図２２】酵素１または酵素２で８サイクル、１２サイクル、１４サイクルまたは１６サイクルにわたって増幅されたＬＰＷＧライブラリーの濃度を示すグラフである。
【図２３】酵素１で増幅されたＬＰＷＧライブラリーのバイオアナライザートレースの重ね合わせを示すグラフである。
【０５９２】
【図２４】同時負荷されたＬＰＷＧ及び増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）の分布を示すグラフである。
【図２５】ＬＰＷＧライブラリーと共に同時負荷された２つの捕捉ライブラリーの平均深度を示すグラフである。ＬＰＷＧライブラリーの目標カバー率及び数はｘ軸に沿って記載されている。
【図２６】１６の臨床試料及び野生型試料のカバー率を示すグラフである。
【図２７】標的捕捉ライブラリーと同時負荷された野生型ＬＰＷＧライブラリーに関して計算されたカバー率を示すグラフである。対角のストライプ・ボックス・プロットは０．５倍のカバー率の目標に負荷されたライブラリーを示し、一方、垂直のストライプ・ボックス・プロットは１倍のカバー率を目標としたライブラリーを示す。
【図２８】リード２の配列を使用する、ＴＣＬＡとＷＧＬＡライブラリーとの逆多重化（

すなわち、それらの間の区別）の例示的な実施形態を示す概略図である。いくつかの実施形態では、ライブラリータグはリード２の配列を含む、またはリード２の配列から成る。ＦＣ配列は配列解読装置のフローセルに結合できる配列を表す。この図では、配列決定されるＤＮＡ分子に結合するリード１及びリード２の配列は配列決定プライマーを表し；バーコード配列は固有の配列を含むアダプターモジュールの少なくとも一部を表す。

【図２９】ＬＰＷＧライブラリーの追加の有無にかかわらずＴＣＬＡライブラリーに対するバリアントコールを示す図である。

【発明を実施するための形態】

【０５９３】

本開示のいくつかの実施形態は、異なるライブラリーのそれぞれが異なる遺伝子解析アプローチに対して特有である、異なるライブラリーの単一プールで同時遺伝子解析を実行することによって、異なる遺伝子解析アプローチの利点を組み合わせる組成物及び方法を提供する。当該技術分野で現在使用されている次世代シーケンシング（ＮＧＳ）法を利用する遺伝子解析アプローチには、標的濃縮ライブラリーの標的化配列決定、全ゲノムライブラリーの全ゲノム配列決定、及び化学的形質転換ライブラリーのエピジェネティック解析が含まれるが、これらに限定されない。遺伝子解析アプローチは各アプローチの利点及び欠点も考慮に入れながら、一般に、最終用途（例えば、臨床ｖｓ研究）、必要とされる結果の質、技術的な効率、及びコストを含むいくつかの因子に基づいて選択される。例えば、いくつかの実施形態では、標的化遺伝子解析アプローチは、所定のＤＮＡ標的領域に焦点を当てるので、ゲノムの他の領域（非標的領域）における追加のＤＮＡ異常を特定しない場合がある。逆に、いくつかの実施形態では、ＬＰＷＧ配列決定は、ゲノム全体をカバーし、さらに低い配列決定深度で実行されてもよいが、目的の特定のＤＮＡ領域に対する感度が低くなる場合がある。

【０５９４】

本開示のいくつかの実施形態は、異なる遺伝子解析アプローチに特異的なライブラリーを単一の配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）に組み合わせる際に使用されてもよい組成物及び方法を提供し、ＳＲＬ内の異なるライブラリーは、単一の配列決定解析実験で（例えば、配列解読装置の単一のフローセルで）同時に解析されてもよい。本開示のいくつかの実施形態では、このアプローチは配列決定効率を高め、配列決定カバー率を拡大し、必要な感度を維持する。いくつかの実施形態では、特定の遺伝子座における標的化遺伝子解析を高重複度配列決定によって実行して低頻度の遺伝的変異型を検出してもよく、同時全ゲノム配列決定はコピー数の変動のさらに正確な評価を提供してもよい。

【０５９５】

本開示の組成物及び方法は、多数の利点を提供するが、そのいくつかを以下に記載する：

【０５９６】

バイアスの減少：いくつかの実施形態では、試験試料から生成されるアダプタータグ付き親ライブラリーまたはライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）は、各アダプタータグ付きライブラリーが異なる修飾プロセスを受ける前に２つの部分、すなわち、第１のアダプタータグ付きライブラリー及び第２のアダプタータグ付きライブラリーに分割される。それぞれの修飾プロセスが実行されると、第１のアダプタータグ付きライブラリーは第１の修飾ライブラリーを生成してもよく、第２のアダプタータグ付きライブラリーは第２の修飾ライブラリーを生成してもよい。同じアダプタータグ付き親ライブラリーまたは同じＬＰＡ由来の第１及び第２の修飾ライブラリーを生成することによって、第１及び第２の修飾ＤＮＡライブラリーは、それぞれの修飾プロセスの前に同じ開始点（すなわち、共通の親ライブラリー）を有することになる。これとは対照的に、最初に共通の親ライブラリーを生成することなく並行して生成された２つの修飾ライブラリーは同一の開始点を有さない、なぜならば、各修飾ライブラリーは、それらの各修飾プロセスに先立ってアダプター連結中に導入されるバイアスの影響を受けるからである。したがって、共通の親ライブラリーから第１及び第２の修飾ライブラリーを生成することは、こうしたラ

イブラリーを別個のプロセス（例えば、異なる試料から）または並列プロセス（例えば、同じ試料であるが、異なる中間ライブラリーから）にて生成することによって別の方法で導入されていてもよいバイアスを減らす。このバイアスの減少は、下流の遺伝子解析からの得られたデータにおけるノイズを大幅に低減し、感度を高めてもよい。

【０５９７】

包括的な遺伝子プロファイリング：本明細書に記載されている組成物及び方法のいくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬ）または増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）であり、第２の修飾ライブラリーは全ゲノムライブラリー（ＷＧＬ）または増幅された全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）である。ＷＧＬＡ及びローパス全ゲノム（ＬＰＷＧ）ライブラリーは本開示にて相互交換可能に使用されてもよい。ＴＣＬまたはＴＣＬＡでの標的化遺伝子解析は、標的領域に対してさらに高い特異性及び感度を提供してもよく、染色体の１セクションに及んでもよいさらに大きなゲノム変異を特定することにはあまり頑強でなくてもよい。ＴＣＬまたはＴＣＬＡをＷＧＬまたはＷＧＬＡと組み合わせて１つの組み合わせライブラリーとすることによって、１回の配列決定の実行の結果で、標的化遺伝子解析と広域カバー率全ゲノム分析との双方を実行してもよい。

【０５９８】

試料含量の定量の改善：いくつかの実施形態では、本開示の方法及び組成物を使用して、がんに関連する１以上の遺伝子損傷の頻度を決定する。そのような実施形態では、腫瘍に存在するが個体の生殖系列内には存在しない体細胞突然変異を使用して腫瘍から排出される循環ＤＮＡの量を定量してもよい。例えば、ＴＣＬＡとＷＧＬＡライブラリーとの組み合わせは、焦点が合っている目的領域を調べる能力を保持しながら、腫瘍に由来する突然変異の発見を促進するであろう。生物学的重要性にもかかわらず、新たな突然変異の発見によって、混成ｃｆＤＮＡ中の腫瘍含有量の定量も改善される。

【０５９９】

コストの削減：いくつかの実施形態では、本開示の組成物及び方法を使用して実施される遺伝子解析によってコストが削減されてもよい。例えば、遺伝子解析は、配列決定によって行われてよく、これは個々の配列決定実行について高価な場合がある。複数のライブラリー（例えば、標的捕捉ライブラリー及びＬＰＷＧライブラリー）を組み合わせて単一のライブラリーとし、この単一のライブラリーで配列決定を実行することによって、試薬の使用量の削減、設備コストの削減、及び作業時間の短縮のため、コストが削減されてもよい。

【０６００】

例示的で非限定的な実施形態と添付図面の参照とを使用して、以後本発明をさらに完全に説明する。しかしながら、本発明は、多くの異なる形態で具現化されてもよく、以下に示されている実施形態に限定されると解釈されるべきではない。むしろ、これらの実施形態は、本開示が十分であり、且つ当業者に本発明の範囲を伝えるように提供される。

【０６０１】

組成物

本開示のいくつかの実施形態は、遺伝子解析用のＤＮＡライブラリー、例えば、標的化遺伝子解析で使用される標的捕捉型ライブラリーを生成するのに使用されてもよいキットを提供する。本開示のいくつかの実施形態は、ＳＲＬに組み合わせてもよい異なるライブラリー、例えば、標的捕捉型ライブラリー及び全ゲノムライブラリーを含む組み合わせライブラリーを生成するのに使用されてもよいキットを提供する。いくつかの実施形態では、本開示のキットによって生成されたＳＲＬは単一の配列決定解析実験で使用されてもよい。いくつかの実施形態では、本開示のキットは、単一の配列決定解析実験にて標的化遺伝子解析と全ゲノム解析の双方で使用されてもよく、その際、特定の遺伝子座での標的化遺伝子解析は、低頻度の遺伝子変異型を検出し、同時の全ゲノム配列決定はコピー数の変動の評価を提供する。いくつかの実施形態では、本開示のキットは、配列決定効率を高め、配列決定カバー率を拡大し、及び／または感受性を維持してもよい。いくつかの実施形

態では、本開示のキットは配列決定効率を高めてもよい。いくつかの実施形態では、本開示のキットは配列カバー率を拡大してもよい。いくつかの実施形態では、本開示のキットは感度を維持してもよい。

【０６０２】

いくつかの実施形態では、本開示のキットの少なくとも１つの構成成分は本開示のＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、本開示のキットの少なくとも１つの構成成分は本開示の複数のＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、本開示のキットの複数の構成成分は、本開示のＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、本開示のキットの複数の構成成分は本開示の複数のＱＣプロセスに合格している。

【０６０３】

いくつかの実施形態では、本開示のキットのアダプターは本開示のアダプターＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、本開示のキットのアダプターセットは、本開示のアダプターＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、本開示のキットのアダプターは実施例１６に記載されているようなアダプターＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、本開示のキットのアダプターセットは、実施例１６に記載されているようなアダプターＱＣプロセスに合格している。

【０６０４】

いくつかの実施形態では、本開示のキットの捕捉プローブモジュールは本開示のプローブＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、本開示のキットの捕捉プローブモジュールは実施例１８に記載されているようなプローブＱＣプロセスに合格している。

【０６０５】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、末端修復緩衝液、末端修復酵素、連結ミックス、ライブラリーＰＣＲミックス、ライブラリープライマー、ポストＡｍｐＰＣＲミックス、ポストＨｙｂプライマーミックス、ゲノムミックス、ＦＷＤ配列プライマー及びＲＥＶ配列プライマーから選択される１以上の試薬及び／またはプライマーを含む。これらの試薬及びプライマーはそれぞれ、本開示の他の箇所に記載されている、または実施例１１～１９に記載されている対応する組成物であってもよい。いくつかの実施形態では、本開示のキットの１以上の試薬及び／またはプライマーは本開示のＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、本開示のキットの１以上の試薬及び／またはプライマーは実施例１５に記載されているようなＱＣプロセスに合格している。

【０６０６】

いくつかの実施形態では、本開示のキットの陽性対照ＤＮＡ試料は本開示のＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、本開示のキットの陽性対照ＤＮＡ試料は実施例１７に記載されているようなＱＣプロセスに合格している。

【０６０７】

アダプター

いくつかの実施形態では、本開示はアダプターまたはアダプターモジュールを含む組成物及び方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示はアダプターのセットを含むキットを提供する。いくつかの実施形態では、アダプターのセットは、それぞれがアダプターモジュールを含む２以上のアダプターの集まりを指す。いくつかの実施形態では、「アダプターモジュール」という用語はアダプタータグ付きＤＮＡ分子を形成するためにＤＮＡ断片に結合するポリヌクレオチド配列を指す。

【０６０８】

いくつかの実施形態では、「アダプターモジュール」という用語は、少なくとも３つの要素：（ｉ）プライマー結合部位を含む増幅領域；（ｉｉ）ＩＤ領域；及び（ｉｉｉ）アンカー領域を含むポリヌクレオチドを指す。「アダプター」という用語は、アダプターモジュールまたはその相補体を含むＤＮＡ分子を指してもよい。いくつかの実施形態では、「アダプター」という用語はアダプターモジュールを含む部分的に２本鎖のＤＮＡ構造を

指す。いくつかの実施形態では、「アダプター」という用語はアダプターモジュール、例えば、連結鎖オリゴヌクレオチドを含む一本鎖ＤＮＡ分子を指す。

【０６０９】

図１は３つの異なる種類のアダプターを含む、本開示のアダプターモジュールの例示的な組成を提供する。図１に示されているように、第１の種類のアダプターモジュールは別個のセクションを含むＩＤ領域を含んでもよく、その際、１つのセクションは試料タグに対応し、別のセクションは断片タグに対応する。第２の種類のアダプターモジュールは、第１の種類のような別個のセクションを含まないＩＤ領域を含んでもよく、換言すれば、第２の種類のアダプターでは、試料タグはＩＤ領域全体から成り、断片タグもＩＤ領域の全体から成る。さらに、第２の種類のアダプターはＵＭＩ乗算因子を含んでもよい。第３の種類のアダプターモジュールは、ＩＤ領域、ＵＭＩ乗算因子、及びＴヌクレオチドオーバーハングを含んでもよい。

【０６１０】

いくつかの実施形態では、アダプターは１以上の増幅領域と、１以上のＩＤ領域と、１以上のＵＭＩ乗算因子と、１以上のアンカー領域とを含む。

【０６１１】

いくつかの実施形態では、アダプターは５’から３’の順に、増幅領域と、ＩＤ領域と、ＵＭＩ乗算因子と、アンカー領域とを含む。特定の実施形態では、ＵＭＩはＩＤ領域内に含有され、アダプターは５’から３’の順に、増幅領域と、組み込まれたＩＤ領域／ＵＭＩ乗算因子領域と、アンカー領域とを含む。

【０６１２】

いくつかの実施形態では、アダプターは１以上の増幅領域と、１以上のＩＤ領域と、１以上のＵＭＩ乗算因子と、１以上のアンカー領域と、効率的な連結基板である３’オーバーハング内の１以上のヌクレオチドとを含む。追加の実施形態では、アダプターモジュールはさらに、１以上の配列決定プライマー結合部位を含む。

【０６１３】

いくつかの実施形態では、部分的に二本鎖ＤＮＡのアダプター構造は連結前にＤＮＡ分子に結合されてアダプター／ＤＮＡの複合体を形成する。当該部分的二本鎖アダプター構造は、連結鎖オリゴヌクレオチドと非連結鎖オリゴヌクレオチドとを含む。

【０６１４】

いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドはアダプターモジュールを含み、且つ非連結鎖オリゴヌクレオチドは連結鎖オリゴヌクレオチドの３’末端の領域とハイブリッド形成して、それと二本鎖を形成することができる。そのような実施形態では、当該二本鎖を形成するために、非連結鎖は連結鎖の少なくとも一部に対して相補性である。

【０６１５】

いくつかの実施形態では、アダプターはさらに、３’末端オーバーハングを含み、ＤＮＡ分子はアダプターの３’末端オーバーハングに対して相補性である３’末端オーバーハングを含む。いくつかの実施形態では、３’末端オーバーハング（例えば、ｄＴテール）は、相補性のオーバーハングを有するＤＮＡ断片（例えば、ｄＡ　－　オーバーハング／テール）に対するアダプターの効率的な連結を駆動するために、ＤＮＡ断片の５’末端への連結鎖の連結に役立つ。

【０６１６】

本開示の組成物及び方法で使用されてもよい例示的なアダプターの構造は表９及び表１０に提供されている。

【０６１７】

いくつかの実施形態では、アダプターの１以上のセットが提供され、その際、アダプターの各セットは所与の試料に固有に割り当てられ、各アダプターは１以上のアダプターセットのいずれかにおける他のアダプターとは異なる。図２は、一実施形態におけるアダプターセットの概略図を提供し；この実施形態では、全部で１６の異なるアダプターが使用される。

【０６１８】
いくつかの実施形態では、本開示の組成物は１以上のアダプターセットを含むキットに構築される。
【０６１９】
本開示のいくつかの実施形態では、本開示のキットを使用して、組み合わせた配列対応ＤＮＡライブラリーを生成し、その際、組み合わせライブラリーは本開示に記載されている組み合せライブラリーのいずれかである。いくつかの実施形態では、キットはＴＣＬを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットはＴＣＬＡを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットはアダプタータグ付きＤＮＡ断片またはＬＩＢＳを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットはＬＰＡを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットはＬＰＷＧを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットはＷＧＬＡを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットはＬＩＢＳ及び／またはＬＰＡ及びＷＧＬＡを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットはＬＩＢＳ及び／またはＬＰＡ、ＷＧＬＡ及びＴＣＬを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットは、ＬＩＢＳ及び／またはＬＰＡ、ＷＧＬＡ及びＴＣＬＡを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットは、ＬＩＢＳ及び／またはＬＰＡ及びＴＣＬを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、キットは、ＬＩＢＳ及び／またはＬＰＡ及びＴＣＬＡを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、ＴＣＬ、ＴＣＬＡ、ＬＩＢＳ、ＬＰＡ、ＬＰＷＧ及びＷＧＬＡは本開示のＤＮＡライブラリーのいずれか１つである。いくつかの実施形態では、ＬＰＷＧを生成するのに使用されるキットは本開示のアダプターＱＣプロセスに合格しているアダプターを含む。いくつかの実施形態では、ＷＧＬＡを生成するのに使用されるキットは本開示のアダプターＱＣプロセスに合格しているアダプターを含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＬＡを生成するのに使用されるキットは、本開示のアダプターＱＣプロセスに合格したアダプターと、本開示の捕捉プローブＱＣプロセスに合格した捕捉プローブとを含む。いくつかの実施形態では、ＴＣＬを生成するのに使用されるキットは、本開示のアダプターＱＣプロセスに合格したアダプターと、本開示の捕捉プローブＱＣプロセスに合格した捕捉プローブとを含む。
【０６２０】
いくつかの実施形態では、キットはアダプターのセットを含む。いくつかの実施形態では、キットのアダプターセットは本開示に記載されているアダプターモジュールのいずれかを含んでいてもよい。キットの高い性能を保証するために、各アダプターセットはキットに含まれる前に品質管理（ＱＣ）プロセスの供されてもよい。
【０６２１】
いくつかの実施形態では、アダプターセットについてのＱＣプロセスはアダプターの連結効率を検査する。いくつかの実施形態では、アダプターセットについてのＱＣプロセスはアダプターの連結に対する検査を含む。上記のように、アダプターの結合の効率は、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリー分子に対する投入ＤＮＡ断片の変換率または変換割合を指す。
【０６２２】
いくつかの実施形態では、アダプター連結に関する試験はＤＮＡ試料を使用して実行される。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は少なくとも２つの異なる細胞株のブレンドＤＮＡ試料である。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は２つの異なる細胞株のブレンドＤＮＡ試料である。いくつかの実施形態では、２つの異なる細胞株は５０：５０の比でブレンドされる。いくつかの実施形態では、２つの異なる細胞株はＮＡ０９５９６及びＮＡ１２８７８である。いくつかの実施形態では、アダプター連結のための試験は、実施例１５に記載されている５０：５０のブレンド試料を使用して実行される。
【０６２３】
いくつかの実施形態では、アダプターライゲーション用試験で使用されるＤＮＡ試料はアダプター分布用試験で使用されるＤＮＡ試料とは異なる。

【０６２４】
いくつかの実施形態では、アダプター連結効率に関するＱＣプロセスにおける各試験試料について、固有のアダプターセットが割り当てられる。アダプター連結効率に関するＱＣプロセスは、ＬＰＡ（増幅後ラ）を生成するための本開示の末端修復法、アダプター連結法、及びライブラリー増幅法のいずれかを使用して実行されてもよい。いくつかの実施形態では、アダプター連結効率に関するＱＣプロセスは、ＬＰＡを生成するための実施例１１の方法に従って実行される。
【０６２５】
いくつかの実施形態では、１以上の合否判定基準がアダプター結合効率に関するＱＣプロセスについて設定され、その際、そのような基準に合格するアダプターセットだけが本開示のキット内に含まれるであろう。アダプター結合効率に関する例示的な合否判定基準は、ＬＰＡが、５ｎｇ～５０ｎｇの投入ＤＮＡと共に少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも２００ｎｇ／μＬの濃度を有することである。
【０６２６】
いくつかの実施形態では、アダプターセットについてのＱＣプロセスはアダプターの分布を検査する。本明細書で使用されるとき、アダプター分布は、あるアダプターセットの全アダプター配列の配列決定リードの平均数と比べて特定のアダプター配列に割り当てられた配列決定リードの数を指してもよい。
【０６２７】
一般に、当該技術分野で使用されている他のアダプターＱＣプロセスはアダプター分布を検査しない。当該技術分野の多くのアダプター連結プロセスでは、無作為なインデックス配列がアダプタータグとして一般的に使用されるので、アダプタータグの無作為性及び／または分布の均一性が想定されるが、ＱＣ中には検査されない。対照的に、本開示のアダプターＱＣプロセスは、本開示のアダプターの実際の分布を測定及び定量するように設計されており、それによって、本開示のアダプターの高品質及び高性能が保証される。本開示のいくつかの実施形態では、アダプターの分布は均一である。いくつかの実施形態では、アダプター分布は、１つの固有のアダプター配列についての配列決定リードの数が、全ての固有のアダプター配列についての配列決定リードの平均数と有意に異ならない場合に、均一であるとみなされる。いくつかの実施形態では、アダプター分布は実施例１６の方法に従って測定される。いくつかの実施形態では、アダプター分布は、固有のアダプター配列の１０％～８０％以下が、全ての固有のアダプター配列の平均リード数の０％～５０％であるリード数を有すれば合否判定基準に合格しているとみなされる。本開示のいくつかの実施形態では、アダプターの分布は、本開示のアダプターを使用しない方法またはキットの分布と比べて改善される。
【０６２８】
いくつかの実施形態では、アダプター分布を検査するためのＱＣプロセスはＤＮＡ試料を使用して実施されてもよい。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料はＷＴ　ｃｆＤＮＡを含む。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料はｗｔ　ｃｆＤＮＡから成る。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は健康なヒトから得られたｗｔ　ｃｆＤＮＡを含む。いくつかの実施形態では、当該ＤＮＡ試料は実施例１６に記載されているｗｔ　ｃｆＤＮＡ試料である。例示的なＷＴ　ｃｆＤＮＡ試料は、少なくとも約０．２ｎｇ／μＬの濃度を有し、１人の健康なヒトまたは多くの健康なヒトから得られる。
【０６２９】
いくつかの実施形態では、アダプター分布用試験で使用されるＤＮＡ試料はアダプターライゲーション用試験で使用されるＤＮＡ試料とは異なる。
【０６３０】
いくつかの実施形態では、アダプター分布に関するＱＣプロセスは、各試験試料を固有のアダプターセットに割り当てることを含む。アダプター連結効率に関するＱＣプロセスは、本開示の末端修復法及びアダプター連結法のいずれかを使用して実行し、各試験試料についてアダプタータグ付きＤＮＡ断片の集まり（ＬＩＢＳ）を生成してもよい。いくつ

かの実施形態では、末端修復及びアダプター連結は実施例１１の方法に従って実施され、各試験試料についてＬＩＢＳを生成する。

【０６３１】

いくつかの実施形態では、アダプター分布に関するＱＣプロセスはインデックスプライマーを使用する、各試験試料のＬＩＢＳの増幅を含み、１以上の固有のインデックスプライマーが各試験試料の各ＬＩＢＳに割り当てられる。いくつかの実施形態では、インデックスプライマーを含む１つのプライマーペアが各試験試料の各ＬＩＢＳに割り当てられる。いくつかの実施形態では、プライマーペアは、インデックスプライマー及びプライマーＦを含む。いくつかの実施形態では、プライマーＦは、配列番号７の配列を含む。いくつかの実施態様では、２つのインデックスプライマーが各試験試料の各ＬＩＢＳに割り当てられる。いくつかの実施形態では、インデックスプライマーはＩｌｌｕｍｉｎａ（登録商標）Ｐ５及びＰ７の配列を含む。いくつかの実施形態では、インデックスプライマーは配列番号１３及び配列番号１４の配列を含む。

【０６３２】

いくつかの実施形態では、アダプター分布に関するＱＣプロセスは本開示のライブラリー増幅法のいずれかに係るライブラリー増幅プロセスを含む。いくつかの実施形態では、アダプター分布に関するＱＣプロセスは実施例１６の方法に係るライブラリー増幅プロセスを含む。

【０６３３】

いくつかの実施形態では、アダプターの分布に関するＱＣプロセスは増幅されたライブラリーの単離または精製を含む。いくつかの実施形態では、単離または精製はＤＮＡ精製ビーズを使用して実施される。いくつかの実施形態では、単離または精製は実施例１６の方法に従って実施される。この段階（単離または精製の後）におけるライブラリーはライブラリーポストインデックスアンプリフィケーション（ＬＰＩＡ）と呼ばれてもよい。

【０６３４】

いくつかの実施形態では、アダプター分布に関するＱＣプロセスは各試験試料のＬＰＩＡを配列決定することを含む。いくつかの実施形態では、アダプター分布に関するＱＣプロセスは各試験試料からの特定量のＬＰＩＡを組み合わせることによる、組み合わせＬＰＩＡプールを配列決定することを含む。いくつかの実施形態では、組み合わせＬＰＩＡプールを実施例１６の方法に従って配列決定してもよい。いくつかの実施形態では、組み合せＬＰＩＡプールは以下の配列決定プライマーを使用して配列決定されてもよい：

ＦＷＤ配列プライマー：

ＣＡＡＧＣＡＧＡＡＧＡＣＧＧＣＡＴＡＣＧＡＧＡＴＧＴＧＡＣＴＧＧＣＡＣＧＧＡＣＣＡＧＡＡＴＣＧＡＡＴＡＣＡ（配列番号１０）；

ＲＥＶ配列プライマー：

ＧＴＧＡＣＴＧＧＣＡＣＧＧＧＡＣＣＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡ（配列番号１１）；

及び使用されるインデックスプライマーの配列を含むインデックス配列決定プライマー。

【０６３５】

いくつかの実施形態では、インデックス配列決定プライマーは

ＴＧＴＡＴＴＣＧＡＡＴＴＣＴＣＴＣＴＣＧＧＴＣＣＣＧＴＧＣＣＡＧＴＣＡＣ（配列番号８３）を含む。

【０６３６】

いくつかの実施形態では、１以上の合否判定基準がＱＣプロセスにて提供され、アダプターセットがキットの高性能を可能にする品質要件を満たすかどうかを判定する。いくつかの実施形態では、アダプターセットの交差汚染を分析する。アダプターセットの交差汚染は、所与の試料に割り当てられていないアダプターが、この試料の配列決定リードに現れた場合に発生し得る。いくつかの実施形態では、アダプターセットの交差汚染のＱＣプロセスに対する合否判定基準は、ａ．各試料について０．０５％～２％以下の「バーコードクロストーク」、及びｂ．各試料について１％～２０％以下のリードが未知のアダプター由来であること（すなわち、アダプターセットには含まれない）を含んでもよい。本明

細書で使用されるときバーコードクロストークは、１つのバーコード（アダプター）のリードが実際にアダプターＢから生成される場合に、そのリードをアダプターＡと誤って標識することを指す。

【０６３７】

いくつかの実施形態では、アダプター分布のＱＣプロセスに関する１以上の合否判定基準は表１３から選択される。

【０６３８】

いくつかの実施形態では、本開示のＱＣプロセスのうちの１以上に合格したアダプターのみが本開示のキット内に含まれる。

【０６３９】

アダプターの特徴の概要

いくつかの実施形態では、アダプターは以下の特徴、すなわち、（ｉ）一工程結合；（ｉｉ）高効率結合；（ｉｉｉ）均一なアダプター分布；（ｉｖ）試料多重化及び試料識別の適応；及び／または（ｖ）多数の固有の分子識別子（ＵＭＩ）を含む。例えば、本開示のキット及び方法のいくつかの実施形態は以下を提供する：

【０６４０】

一工程結合：いくつかの実施形態では、完全長アダプターを一工程でＤＮＡ断片に結合させてもよい。「完全長」アダプターは、プライマー結合部位を含む増幅領域と、固有分子識別子（ＵＭＩ）を含むＩＤ領域と、ＵＭＩ乗算因子と、アンカー領域とを含む少なくとも４つの領域を含む。完全長アダプターを結合することによって、アンカーを最初に結合し、次いでアダプターの残りの領域を結合させる段階的なアダプター連結の必要性を除去する（例えば、以下に記載されているキナーゼ／リガーゼ連結法におけるアダプター連結の段階的な様式を参照のこと）。

【０６４１】

高効率の結合：いくつかの実施形態では、アダプターは高効率でＤＮＡ分子に結合されてもよい。本開示の目的で、アダプター結合の効率とは、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリー分子に対する投入ＤＮＡ断片の変換の比率または割合を指す。例えば、ＤＮＡ断片は、結合されたアダプターのＩＤ領域によって特定されてもよく、ＤＮＡ断片がアダプターに結合されていなければ、ＩＤ領域を使用してＤＮＡ断片を識別できない。したがって、アダプターの結合の効率が高いほど、ライブラリー変換プロセスで失われる投入ＤＮＡ断片の数が減ってもよい。これは、利用可能なＤＮＡの量が限られている状況または変異型ＤＮＡの頻度が非常に低い状況、例えば、多くの腫瘍学応用及び他の遺伝性疾患に関連して分析される試料（例えば、多発性硬化症、関節リウマチ、アルツハイマー病）において特に有用である。そのような状況では、ＤＮＡ改変（例えば、任意で腫瘍／がんに関連する、単一ヌクレオチド変異型（ＳＮＶ）、インデル、コピー数の変化、ＤＮＡ再構成）の発生は通常、頻度が低いので、検出するのが困難であり得る。本開示のアダプターをこれらのＤＮＡ分子に非常に効率的に結合することは、そのような頻度の低い変異の捕捉を容易にしてもよい。本開示のいくつかの実施形態では、アダプターの結合によって、投入ＤＮＡ分子の少なくとも５０％がＤＮＡライブラリー分子に変換される。

【０６４２】

均一なアダプター分布：バイオインフォマティクス解析によって、試料内のアダプターの性能及び試料間のアダプターの性能を解析してもよい。試料全体にわたるアダプターセット間の性能のばらつきは解析の感度に悪影響を及ぼす可能性がある。配列リードによって測定されるようなアダプタータグ付きＤＮＡライブラリー内の均一なアダプター分布が望ましい。いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーにおけるアダプターの分布にバイアスが存在する可能性があり、いくつかのアダプターは、アダプタープールにおける他のアダプターと比べてＤＮＡ分子に連結する効率がよりも低い、または効率的に増幅されない場合がある。その結果、配列決定中に、アンプリコンが少なくなり、それらの効率の低いアダプターのリードが少なくなり、それらの効率の低いアダプターに連結されたＤＮＡ断片のリードが少なくなる場合がある。アダプタープール内の効率

の低いアダプターの量を増加させて、タグ付きＤＮＡライブラリー内のアダプターのさらにバランスのとれた表現と配列決定リードとを提供することにより、アダプターのそのような偏向分布を許容または補償することができるが、本開示の組成物及び方法は、そのような補償を無くす選択肢を提供する。本開示の組成物および方法は、各アダプターが配列決定結果においてほぼ同じ比率で表される、均一なアダプター分布を達成するという利点を提供することができる。この均一なアダプター分布は向上した感度を提供する。

【０６４３】

いくつかの実施形態では、均一なアダプター分布は、全てアダプターの各セットに表される複数の種類のアンカー領域を有することによって達成されてもよい。

【０６４４】

いくつかの実施形態では、連結または増幅の性能が低いアダプターモジュール配列（例えば、Ｇヌクレオチドの列を含む配列）は、本開示の方法で使用される候補アダプターモジュール配列として選択されない。

【０６４５】

いくつかの実施形態では、アダプターの均一な分布は、アダプターの各セットに対して無作為に選択される固有のＩＤ領域（各ＩＤ領域は、試料及びそれに結合するＤＮＡ断片の双方を特定する）を有することによって達成されてもよい。

【０６４６】

試料多重化及び試料特定の適応：試料多重化（すなわち、異なる試料を同時に実行する能力）を達成するために、いくつかの実施形態では、各アダプターセットが１つの試料に固有に割り当てられるアダプターの１以上のセットが提供される。アダプタータグ付きＤＮＡ断片は、同じアダプターセット内の所与のアダプターが同じ試験試料のＤＮＡ分子に結合される場合に構築される。配列カウントの観点からは、アダプターの同じセットの各固有のアダプターが、このセットの他のすべてのアダプターと本質的に同一の挙動を持つことが有益である。これを達成するために、いくつかの実施形態では、各ＩＤ領域は任意の他のＩＤ領域との間で少なくとも２のハミング距離を有するので、リードが誤って間違った試料に割り当てられる機会を減らす。本開示で使用されるとき「ハミング距離」という用語は２つのヌクレオチド配列間で異なるヌクレオチドの数を指す。いくつかの実施形態では、アダプターの各セットを特異的なアンカー領域と対合させるさらなる群に分割し、試料の逆多重化におけるエラーの可能性のさらなる減少を可能にする。例えば、２のハミング距離がある８塩基長の配列にて、可能な配列の総数は１６，３８４である。２つの異なるポリヌクレオチド配列または異なるポリヌクレオチド配列を含むＤＮＡの領域に関連して使用されるとき、「対合される」または「釣り合う」という用語は、２つの異なるポリヌクレオチド配列または異なるポリヌクレオチド配列を含むＤＮＡの領域が同一の分子上に存在することを意味する。例えば、ＤＮＡの特定の試料ＩＤ領域がＤＮＡの特定の増幅領域に対合すると言われる場合に、ＩＤ領域及び増幅タグが同一のＤＮＡポリヌクレオチド分子上に存在することを意味する。

【０６４７】

多数の固有の分子識別子（ＵＭＩ）：アダプターは、分子生物学の観点から機能的に等価であることが一般的に有益である一方で、アダプターが固有のゲノム断片の特定を増強する非常に多数の固有の分子識別子（ＵＭＩ）（１０，０００）を所有することも望ましい。この文脈では、「増強」とは、固有に誘導される断片を特定する能力が向上することを意味する。いくつかの実施形態では、固有に由来する断片（固有のゲノムクローン）は、試験試料中の単一のＤＮＡ断片に由来するライブラリークローン断片を指す。各ゲノムクローン断片は、二本鎖ＤＮＡを切断したゲノム配列中の位置に対応する断片化部位の特定のペアを有する。いくつかの実施形態では、各クローンが異なる切断部位を持つ可能性が高いので、この切断部位を使用して固有のゲノムクローンを区別してもよい。しかしながら、数千の独立したクローンを持つライブラリーにて、固有に由来する断片は全く同一の切断部位を持つことが多くてもよい。同一の切断部位を共有するゲノムクローン（すなわち、断片）は、同一試料に由来する他のクローン配列に関して、固有または冗長（すな

わち、増幅を介して生成される）のいずれかとして分類されてもよい。非常に多様性である配列タグを導入するアダプターを結合させることによって、同一の切断部位を共有する異なるゲノムクローンは、固有として特定される可能性がさらに高い。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域はＵＭＩである。いくつかの実施形態では、ＵＭＩはＩＤ領域をアンカー領域と組み合わせることによって作り出される。いくつかの実施形態では、ＵＭＩはＩＤ領域をＵＭＩ乗算因子、と組み合わせることによって作り出される。いくつかの実施形態では、ＵＭＩはＩＤ領域、ＵＭＩ乗算因子、及びアンカー領域を組み合わせることによって作り出される。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ及び切断部位の組み合わせは、固有の分子識別子要素（ＵＭＩＥ）を作り出し、このＵＭＩＥは、冗長リードまたは固有リードとして配列リードの分類を円滑にする。いくつかの実施形態は、ＵＭＩ乗算因子がさらに長い配列、またはさらに短い配列を含み、全体的なＵＭＩ複雑性を増やしてもよい、または減らしてもよいことを企図する。

【０６４８】

連結鎖

「連結鎖オリゴヌクレオチド」及び「連結鎖」という用語は相互交換可能に使用されてもよい。

【０６４９】

本開示は、いくつかの実施形態では、（ｉ）３’末端オーバーハングと；（ｉｉ）プライマー結合部位を含む増幅領域と；（ｉｉｉ）固有のＩＤ領域と；（ｉｖ）固有の分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子と；（ｖ）非連結鎖オリゴヌクレオチドに対して少なくとも部分的に相補性であるポリヌクレオチド配列を含むアンカー領域とを含む、連結鎖オリゴヌクレオチドを提供する。

【０６５０】

いくつかの実施形態では、連結鎖は、（ｉ）３’末端オーバーハングと；（ｉｉ）プライマー結合部位を含む増幅領域と；（ｉｉｉ）固有ＩＤ領域と；（ｉｖ）非連結鎖オリゴヌクレオチドに対して少なくとも部分的に相補性であるポリヌクレオチド配列を含むアンカー領域とを含む。

【０６５１】

いくつかの実施形態では、アダプターの連結鎖は、以下の構造：ＡＭＰ－ＩＤ領域／ＵＭＩ乗算因子－ＡＣＧＴＡＴＧＣＣＡ－３’ｄＴ（配列番号１）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、アダプターの連結鎖は以下の構造：ＡＭＰ－ＩＤ領域／ＵＭＩ乗算因子－ＣＴＡＧＣＧＴＴＡＣ－３’ｄＴ（配列番号２）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、アダプターの連結鎖は、以下の構造：ＡＭＰ－ＩＤ領域／ＵＭＩ乗算因子－ＧＡＴＣＧＡＣＡＴＧ－３’ｄＴ（配列番号３）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、アダプターの連結鎖は、以下の構造：ＡＭＰ－ＩＤ領域／ＵＭＩ乗算因子－ＴＧＣＡＴＣＡＧＧＴ－３’ｄＴ（配列番号４）を含んでもよい。

【０６５２】

いくつかの実施形態では、アダプターは３’ｄＴオーバーハングを持つ連結鎖を含んでもよい。いくつかの実施形態では、３’ｄＴオーバーハングを持つ連結鎖は表９に示される配列のいずれか１つを含んでいてもよい。例えば、３’ｄＴオーバーハングを持つ連結鎖は配列番号２２から８１までのいずれか１つの配列を含んでいてもよい。これらの連結鎖配列内の「ＮＮＮ」は、３ヌクレオチドＵＭＩ乗算因子を表し、その際、各ＮはＡ、Ｇ、Ｃ、またはＴのいずれか１つから選択されてもよい。いくつかの実施形態では、３’ｄＴオーバーハングを持つ連結鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０またはそれより多くのヌクレオチド置換を持つ配列番号２２～８１のいずれか１つの配列を含んでもよい。

【０６５３】

いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは、ＤＮＡ分子との接触の際に、当該ＤＮＡ分子の各鎖の５’末端に連結することができる。

【０６５４】

いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは３’末端にｄＴオーバーハングを含み、ＤＮＡ分子は各鎖の３’末端にｄＡオーバーハングを含む。「３’末端オーバーハング」という用語はポリヌクレオチドの３’末端での１以上のヌクレオチドのオーバーハングまたはテールを指す。いくつかの実施形態では、３’末端オーバーハング（例えば、ｄＴテール）は相補性のオーバーハングを有するＤＮＡ断片（例えば、ｄＡ－オーバーハング／テール）に対する多機能アダプターの効率的な連結を駆動するために、ＤＮＡ断片の５’末端に連結する連結鎖の連結に役立つ。

【０６５５】

特定の実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは３’末端にｄＡオーバーハングを含み、ＤＮＡ分子は各鎖の３’末端にｄＴオーバーハングを含む。いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは３’末端にｄＣオーバーハングを含み、ＤＮＡ分子は各鎖の３’末端にｄＧオーバーハングを含む。特定の実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは３’末端にｄＧオーバーハングを含み、ＤＮＡ分子は各鎖の３’末端にｄＣオーバーハングを含む。

【０６５６】

いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは５’末端でリン酸化されない。

【０６５７】

いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドはアダプターモジュールを含み、その際、連結鎖オリゴヌクレオチドのアンカー領域は、非連結鎖オリゴヌクレオチドに少なくとも部分的に相補性であるポリヌクレオチド配列を含む。そのような実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは、連結鎖オリゴヌクレオチドの５’末端の領域とハイブリッド形成することができ、それと二本鎖を形成することができる。

【０６５８】

いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは約３０ヌクレオチド長～約７０ヌクレオチド長の間である。いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは約３５～約６５の間のヌクレオチド長、約４０～約６０の間のヌクレオチド長、または約４０～約５０の間のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは約４７ヌクレオチド長である。

【０６５９】

いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは約３０ヌクレオチド長～約７０ヌクレオチド長の間である。いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは３５～６５の間のヌクレオチド長、４０～６０の間のヌクレオチド長、または４０～５０の間のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは４７ヌクレオチド長である。

【０６６０】

非連結鎖

「非連結鎖オリゴヌクレオチド」及び「非連結鎖」という用語は相互交換可能に使用されてもよい。

【０６６１】

いくつかの実施形態では、アダプターの非連結鎖は配列ＴＧＧＣＡＴＡＣＧＴ（配列番号１８）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、アダプターの非連結鎖は配列ＧＴＡＡＣＧＣＴＡＧ（配列番号１９）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、アダプターの非連結鎖は配列ＣＡＴＧＴＣＧＡＴＣ（配列番号２０）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、アダプターの非連結鎖は配列ＡＣＣＴＧＡＴＧＣＡ（配列番号２１）を含んでもよい。

【０６６２】

いくつかの実施形態では、非連結鎖はリン酸化されない。非連結鎖のリン酸化の欠如は、非連結鎖がＤＮＡ断片の３’末端に結合するのを妨げてもよく、アダプターダイマーの形成を減らしてもよい。

【０６６３】

いくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドはＤＮＡ分子の５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を妨げる修飾をその３’末端に含む。いくつかの実施形態では、当該修飾は化学修飾である。

【０６６４】

増幅領域

「増幅領域」という用語はプライマー認識部位またはプライマー結合部位を含むアダプター分子の要素を指す。プライマー結合部位は、Ｆａｋｒｕｄｄｉｎ ｅｔ ａｌ．”Ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄ ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ：Ａｌｔｅｒｎａｔｉｖｅ ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ ｃｈａｉｎ ｒｅａｃｔｉｏｎ”Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｂｉｏａｌｌｉｅｄ．Ｓｃｉ．２０１３，Ｏｃｔ－Ｄｅｃ；５（４）：２４５－２５２に開示されている方法のような当該技術分野で知られている任意の増幅に好適な任意のプライマーとすることができる。例えば、そのような増幅法には、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列ベース増幅）、ＳＤＡ（鎖置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル増幅）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）が挙げられる。

【０６６５】

いくつかの実施形態では、アダプターは１以上のカスタムプライマー結合部位を含む増幅領域を含む。いくつかの実施形態では、カスタムプライマー結合部位は、複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのカスタムプライマー結合部位の配列に対して１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、カスタムプライマー結合部位はＤＮＡライブラリーの単一プライマー増幅を促進する。いくつかの実施形態では、増幅領域はＤＮＡライブラリーの単一プライマー増幅について１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、またはそれ以上のプライマー結合部位を含む。いくつかの実施形態では、増幅領域はライブラリープライマー（配列番号５）のためのＰＣＲプライマー結合部位を含む。ライブラリープライマーは本明細書ではＡＫＡプライマーとも呼ばれる単一の増幅プライマーであってもよい。

【０６６６】

いくつかの実施形態では、配列同一性は２つのポリヌクレオチド配列を整列させることによって決定される。配列を整列させ、全米バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）からのＢＬＡＳＴスイートの使用を含むが、これらに限定されない、配列同一性または配列パーセント同一性を決定するための種々の方法が当該技術分野にて存在する。いくつかの実施形態では、本明細書で使用されるとき「配列同一性」という用語は、初期設定パラメーターのもとでＢＬＡＳＴバージョン２．１２．０を使用して決定される配列同一性を指す。

【０６６７】

いくつかの実施形態では、増幅領域は約５～約５０の間のヌクレオチド長、約１０～約４５の間のヌクレオチド長、約１５～約４０の間のヌクレオチド長、または約２０～約３０の間のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、増幅領域は約１０ヌクレオチド長、約１１ヌクレオチド長、約１２ヌクレオチド長、約１３ヌクレオチド長、約１４ヌクレオチド長、約１５ヌクレオチド長、約１６ヌクレオチド長、約１７ヌクレオチド長、約１８ヌクレオチド長、約１９ヌクレオチド長、約２０ヌクレオチド長、約２１ヌクレオチド長、約２２ヌクレオチド長、約２３ヌクレオチド長、約２４ヌクレオチド長、約２５ヌクレオチド長、約２６ヌクレオチド長、約２７ヌクレオチド長、約２８ヌクレオチド長、約２９ヌクレオチド長、約３０ヌクレオチド長、約３１ヌクレオチド長、約３２ヌクレオチド長、約３３ヌクレオチド長、約３４ヌクレオチド長、約３５ヌクレオチド長、約３６ヌクレオチド長、約３７ヌクレオチド長、約３８ヌクレオチド長、約３９ヌクレオチド長、または約４０ヌクレオチド長、またはそれ以上のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、増幅領域は約２５ヌクレオチド長である。

【０６６８】

いくつかの実施形態では、増幅領域は５～５０の間のヌクレオチド長、１０～４５の間

のヌクレオチド長、１５～４０の間のヌクレオチド長、または２０～３０の間のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、増幅領域は１０ヌクレオチド長、１１ヌクレオチド長、１２ヌクレオチド長、１３ヌクレオチド長、１４ヌクレオチド長、１５ヌクレオチド長、１６ヌクレオチド長、１７ヌクレオチド長、１８ヌクレオチド長、１９ヌクレオチド長、２０ヌクレオチド長、２１ヌクレオチド長、２２ヌクレオチド長、２３ヌクレオチド長、２４ヌクレオチド長、２５ヌクレオチド長、２６ヌクレオチド長、２７ヌクレオチド長、２８ヌクレオチド長、２９ヌクレオチド長、３０ヌクレオチド長、３１ヌクレオチド長、３２ヌクレオチド長、３３ヌクレオチド長、３４ヌクレオチド長、３５ヌクレオチド長、３６ヌクレオチド長、３７ヌクレオチド長、３８ヌクレオチド長、３９ヌクレオチド長、または４０ヌクレオチド長、またはそれ以上のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、増幅領域は２５ヌクレオチド長である。

【０６６９】

ＩＤ領域

本開示で使用されるとき、「多機能ＩＤ領域」及び「ＩＤ領域」という用語は相互交換可能に使用されてもよく、特定のＤＮＡ断片及び／またはそれが由来する試料を固有に特定するポリヌクレオチド配列を含むアダプターの要素を指す。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域はＤＮＡ断片及びそれが由来する試料の双方を固有に特定する。

【０６７０】

いくつかの実施形態では、多機能ＩＤ領域は約３～約５０の間のヌクレオチド長、約３～約２５の間のヌクレオチド長、または約５～約１５の間のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、多機能ＩＤ領域は、約３ヌクレオチド長、４ヌクレオチド長、約５ヌクレオチド長、約６ヌクレオチド長、約７ヌクレオチド長、約８ヌクレオチド長、約９ヌクレオチド長、約１０ヌクレオチド長、約１１ヌクレオチド長、約１２ヌクレオチド長、約１３ヌクレオチド長、約１４ヌクレオチド長、約１５ヌクレオチド長、約１６ヌクレオチド長、約１７ヌクレオチド長、約１８ヌクレオチド長、約１９ヌクレオチド長、または約２０ヌクレオチド長、またはそれ以上である。いくつかの実施形態では、多機能ＩＤ領域は約８ヌクレオチド長である。

【０６７１】

いくつかの実施形態では、多機能ＩＤ領域は３～５０の間のヌクレオチド長、３～２５の間のヌクレオチド長、または５～１５の間のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、多機能ＩＤ領域は、３ヌクレオチド長、４ヌクレオチド長、５ヌクレオチド長、６ヌクレオチド長、７ヌクレオチド長、８ヌクレオチド長、９ヌクレオチド長、１０ヌクレオチド長、約１１ヌクレオチド長、１２ヌクレオチド長、１３ヌクレオチド長、１４ヌクレオチド長、１５ヌクレオチド長、１６ヌクレオチド長、１７ヌクレオチド長、１８ヌクレオチド長、１９ヌクレオチド長、または２０ヌクレオチド長、またはそれ以上である。いくつかの実施形態では、多機能ＩＤ領域は８ヌクレオチド長である。

【０６７２】

いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は、約２～約１０，０００の間の固有のヌクレオチド配列、約５０～約５００の間の固有のヌクレオチド配列、または約１００～約４００の間の固有のヌクレオチド配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、複数のアダプターの各アダプターのＩＤ領域は約６０の固有のヌクレオチド配列のうちの１つを含む。

【０６７３】

いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は２～１０，０００の間の固有のヌクレオチド配列、５０～５００の間の固有のヌクレオチド配列、または１００～４００の間の固有のヌクレオチド配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、複数のアダプターの各アダプターのＩＤ領域は６０の固有のヌクレオチド配列のうちの１つを含む。

【０６７４】

いくつかの実施形態では、アダプターは、６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列のうちの１つを含む。

【０６７５】
いくつかの実施形態では、アダプターの１以上のセットが提供され、その際、各アダプターセットは所与の試料に固有に割り当てられ、各アダプターは１以上のアダプターセットの任意の他のアダプターのＩＤ領域とは異なる固有のＩＤ領域を有する。
【０６７６】
いくつかの実施形態では、予め指定された第１のアダプターセットと予め指定された第２のアダプターセットとが提供される。そのような予め指定されたアダプターセットを使用して単一の試料を表す。いくつかの実施形態では、第１のアダプターセットは固有のＩＤ領域の第１のセットを含み、第２のアダプターセットは固有のＩＤ領域の第２のセットを含む。すなわち、第１のセット内の各アダプターモジュール配列は、第２のセット内の各アダプターモジュール配列とは異なり；さらに、セット内の各アダプターモジュール配列も同じセット内の他の全てのアダプターモジュール配列とは異なる。したがって、いくつかの実施形態では、各アダプターモジュール配列の固有性によって、それぞれの固有に導出されたライブラリー断片の特定が可能になる。
【０６７７】
当業者は、アダプターのオリゴヌクレオチドについて可能である所与のアダプターセットにおける異なるオリゴヌクレオチドの数がＩＤ領域及び／またはＵＭＩ乗算因子の長さに依存することを認識するであろう。
【０６７８】
一実施形態では、ＩＤ領域は、そこに結合されたＤＮＡ断片と、ＤＮＡ断片が由来する個々の試料、例えばゲノムライブラリー源との双方を特定するのに役立つ。いくつかの実施形態では、各試料には、約６４～約２５０万の間の複数の固有のアダプターを含むアダプターセットが割り当てられる。いくつかの実施形態では、各試料には、約６４～約２５０万の間の複数の固有のアダプターを含むアダプターセットが割り当てられる。いくつかの実施形態では、各試料には、約３，８４０の複数の固有アダプターを含むアダプターセットが割り当てられる。いくつかの実施形態では、各試料には、３，８４０の複数の固有アダプターを含むアダプターセットが割り当てられている。
【０６７９】
いくつかの実施形態では、各試料には、約１～約１００の間の複数の固有のＩＤ領域を含むアダプターセットが割り当てられる。いくつかの実施形態では、各試料には、約１～約６０の間の固有のＩＤ領域を含むアダプターセットが割り当てられる。いくつかの実施形態では、各試料には、１～６０の間の固有のＩＤ領域を含むアダプターセットが割り当てられる。いくつかの実施形態では、各試料には６０の固有ＩＤ領域を含むアダプターセットが割り当てられ、６０の固有ＩＤ領域の各セットは、さらに４つの群（各群は１５の固有アダプターを含む）に分割され、１つの群の各ＩＤ領域は４つのアンカー配列のうちの１つに対合する。したがって、そのような実施形態では、ＩＤ領域とアンカー領域との組み合わせによって試料を特定することができる。
【０６８０】
いくつかの実施形態では、各ＩＤ領域のヌクレオチド配列は、複数のアダプターモジュールの任意の他のＩＤ領域のヌクレオチド配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている（１つのＩＤ領域を別のＩＤ領域に変更するには少なくとも２つの塩基変更が必要であることを意味する）。
【０６８１】
特定の実施態様では、ＩＤ領域は８ヌクレオチド長であり、２４０の固有のヌクレオチド配列の１つを含み、ＵＭＩ乗算因子は長さ３のヌクレオチド配列であり、したがって固有アダプター配列の総数は$240 \times 4^3 = 15,360$となる。したがって、この実施形態では、各試料にはＤＮＡ断片の特定のための１～１５，３６０に及ぶ固有のアダプターのアダプターのセットが割り当てられてもよい。いくつかの実施形態では、各ヌクレオチド配列は１５，３６０の固有のヌクレオチド配列の任意の他の配列とは少なくとも２のハミング距離だけ離れている。

【０６８２】
いくつかの実施態様では、多機能ＩＤ領域は８ヌクレオチド長であり、６０の固有のヌクレオチド配列の１つを含み、ＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり、したがって固有のアダプター配列の総数は６０×４^{3}＝３８４０となる。したがって、この実施形態では、各試料にはＤＮＡ断片の特定のための１～３８４０に及ぶ固有のアダプターのアダプターのセットが割り当てられてもよい。いくつかの実施形態では、各ヌクレオチド配列は、３８４０の固有のヌクレオチド配列の任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている。
【０６８３】
いくつかの実施形態では、ＩＤ領域は試料及びＤＮＡ断片の双方を特定することができる。いくつかの実施形態では、ＩＤ領域を使用してそれに結合された個々のＤＮＡ断片を特定する。したがって、そのような実施形態では、ＩＤ領域は感度の高い変異型の検出のためにクローンの多様性を列挙することができる断片タグとしても役立つことができる。これは、当該技術分野で使用されている他のアダプターが、配列を特定するために無作為に生成されたバーコードを使用し、試料の特定（試料の逆多重化）を可能にするために別のバーコードまたはシーケンサーインデックス作成を使用しているのとは全く対照的である。別個のバーコード（タグ）を含むそのようなアダプターモジュールの一実施形態を図１（第１の種類）に示し、その際、ＩＤ領域は別個の試料タグ及び断片タグを含む。この文脈では、「別個の」とは、試料タグが試料を特定することができるが、それに結合したＤＮＡ断片を特定することはできない個々のセクションであり、且つ断片タグはＤＮＡ断片を特定することができる個々のセクションであることを意味する。対照的に、いくつかの実施形態では、例えば、図１の第２の種類及び第３の種類のアダプターモジュールでは、ＩＤ領域が全体として試料の特定に使用され、ＩＤ領域が全体としてＤＮＡ断片の特定に使用される。
【０６８４】
いくつかの実施形態では、各アダプターモジュールはさらに、ＩＤ領域のポリヌクレオチド配列と同一ではないポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含む。いくつかの実施形態では、第１のアダプターセットにおける各アダプターモジュールは第１のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み；第２のアダプターセットにおける各アダプターモジュールは第２のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み、第１及び第２のポリヌクレオチド配列は互いに同一ではない。
【０６８５】
ＵＭＩ乗算因子
いくつかの実施形態では、可能な配列タグ（ＵＭＩ）の多様性をさらに向上させ、固有のゲノム断片の特定を強化するために、ＵＭＩ乗算因子がアダプターモジュールに含まれる。ＵＭＩ乗算因子は、ＵＭＩと組み合わせると、アダプタープールにおけるアダプター配列の多様性と総数を増やす、塩基の短い配列である。いくつかの実施形態では、アダプターモジュールはＵＭＩ乗算因子を含み、その際、ＵＭＩ乗算因子はＩＤ領域に隣接する、またはこのＩＤ領域内に含有される。いくつかの実施形態では、アダプターは８ヌクレオチド長であるＩＤ領域と、３ヌクレオチド長であるＵＭＩ乗算因子とを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は６４の可能な配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子はＩＤ領域に隣接する、またはＩＤ領域内に含有される。
【０６８６】
いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子の各ヌクレオチド位置は、アデニン、グアニン、シトシン、またはチミンのいずれか１つを含むことができる。したがって、いくつかの実施形態では、ｎ個のヌクレオチドを含むＵＭＩ乗算因子は、ｎ４の可能なヌクレオチド配列のいずれかを含むことができる。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は１ヌクレオチド長であり、４つの可能な配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は２ヌクレオチド長であり、１６の可能な配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長であり、６４の可能な配列のう

ちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は４ヌクレオチド長であり、２５６個の可能な配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は５ヌクレオチド長であり、１，０２４の可能な配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は６ヌクレオチド長であり、４，０９６の可能な配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は７ヌクレオチド長であり、１６，３８４の可能な配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は８ヌクレオチド長であり、６５，５３６の可能な配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は９ヌクレオチド長であり、２６２，１４４の可能な配列のうちの１つを含む。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は１０以上のヌクレオチド長であり、１，０４８，５７６以上の可能な配列のうちの１つを含む。

【０６８７】

いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は、少なくとも１ヌクレオチド長、少なくとも２ヌクレオチド長、少なくとも３ヌクレオチド長、少なくとも４ヌクレオチド長、少なくとも５ヌクレオチド長、少なくとも６ヌクレオチド長、少なくとも７ヌクレオチド長、少なくとも８ヌクレオチド長、少なくとも９ヌクレオチド長、または少なくとも１０ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は１～５の間のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＵＭＩ乗算因子は３ヌクレオチド長である。

【０６８８】

アンカー領域

本開示で使用されるとき、「アンカー領域」及び「アンカー配列」という用語は相互交換可能に使用されてもよく、非連結鎖オリゴヌクレオチドに対して少なくとも部分的に相補性であるポリヌクレオチド配列を指す。いくつかの実施形態では、アンカー領域は以下の特性の１以上を含む：

（１）各アンカー配列は、伸長内の各部位における４つの可能なＤＮＡ塩基の各々をまとめて表す２以上の固有のアンカー型のセットの一部であってもよく；この特徴であるバランスのとれた塩基表現は、いくつかの実施形態では、配列決定リードにて適切な塩基コールを較正するのに有用である。アンカー配列の種類の総数は検出モードの総数と一致しなければならない。例えば、４つの色がＩｌｌｕｍｉｎａ（登録商標）シーケンシングで検出されるので、４つの種類のアンカー配列が使用されてもよい。最大感度を達成するために、各検出モードが利用されてもよい。本開示の方法及び組成物は、光に基づく検出、酵素に基づく検出、及び磁気検出を含むが、これらに限定されない、当該技術分野で既知の任意の検出モードで使用されてもよい。

（２）各アンカー配列は、同数のＡ＋Ｃまたは同数のＧ＋Ｔになるように具体的に選択される４つの可能な塩基のうちの２つのみから構成されてもよく；たった２塩基から形成されるアンカー配列は、適切なアダプター機能を妨げるような二次構造形成にアンカー配列が関与する可能性を減らす。

（３）各アンカー配列は、同数のＡ＋ＣまたはＧ＋Ｔで構成されてもよいので、各アンカー配列は、セット内の他のあらゆるアンカー配列とほぼ同じ溶融温度及び二重安定性を共有してもよい。

（４）各種のアンカー配列（Ａ／Ｔ／Ｇ／Ｃのいずれかで終了）は、配列決定リードにて、例えば、ほぼ等モル量で、ほぼ均等に分布してもよい（すなわち、セットの約２５％はＡで終了するアダプター配列を有する、Ｔで終了する約２５％、Ｇで終了する約２５％、及びＣで終了する約２５％）。

【０６８９】

いくつかの実施形態では、アダプターモジュールは、一層さらに均一なアダプター分布を提供するために、異なるアンカー型（例えば、等モル量のアンカー１、アンカー２、アンカー３、アンカー４）を含有する等モル量のアダプターにてＤＮＡ断片と混合される。例示的なアンカー配列には、アンカー１　ＡＣＧＴＡＴＧＣＣＡ（配列番号１）、アンカー２　ＣＴＡＧＣＧＴＴＡＣ（配列番号２）、アンカー３　ＧＡＴＣＧＡＣＡＴＧ（配列番号３）及びアンカー４　ＴＧＣＡＴＣＡＧＧＴ（配列番号４）が挙げられるが、これら

に限定されない。

【０６９０】

いくつかの実施形態では、アダプター配列は３’末端にてＴヌクレオチドで終結する（３’Ｔオーバーハング）。いくつかの実施形態では、いくつかのアダプターは３’末端の最後の２ヌクレオチドとしてＴＴを有するが、他のアダプターは３’末端の最後の２ヌクレオチドとしてＡＴ、ＣＴまたはＧＴを有してもよい。いくつかの実施形態では、アダプターセット内の複数のアダプターは非連結鎖とハイブリッド形成しない３’ｄＴオーバーハングを含む。

【０６９１】

一般に、アンカー型の理想的な分布は、各アンカー型が同一の分布の割合（すなわち、１００％をアンカー型の数で割ったもの）を有することになり、すべてのＤＮＡ断片間に異なるアンカーを含む異なるアダプターの「均一な」分布を生じることになる。いくつかの実施形態では、アンカー型の分布は、配列対応である、または配列決定されているＤＮＡライブラリーにおける異なるアンカー配列の分布を指す。いくつかの実施形態では、４つのアンカー型の理想的な分布は、結果として各アンカー型の約２５％の分布をもたらすことになる。いくつかの実施形態では、所与のアダプターセットのアンカー配列は、約５％～約７５％の間の分布割合を有する（すなわち、最も頻度の低いアンカー型の分布％は約５％であり、最も頻度の高いアンカー型の分布％は約７５％である）。いくつかの実施形態では、所与のセットの各アンカー配列は約５０％、約３４％、約２８％、約２７％、約２３％、約１４％、または約９％の分布％を有する。

【０６９２】

いくつかの実施形態では、特定の配列または型のアンカーを有するアダプターはさらに多量に存在していてよい。そのようなアダプターは、アダプターセットにおける他のアンカー型の量の１倍、２倍、４倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍または１０倍を超えてもよく、結果として、配列決定リードにてアダプターのさらに均一な分布がもたらされる。

【０６９３】

いくつかの実施形態では、アダプターセットは１を超えるアンカー配列を含むことができる。例えば、アダプターのセットは、同時に使用される４つの異なるアンカー配列を含有してもよい。また、エラーを減らすための試料の逆多重化の間に、これらのアンカー配列も使用されてもよい。いくつかの実施形態では、配列決定リードは下流での検討のために包含フィルターを通過する必要がある。そのような実施形態では、配列決定リード内の配列の位置は固定されているので、包含フィルターを通過させるために、ＩＤ領域及びアンカーは配列決定リード内で固定された位置を有するべきである。

【０６９４】

いくつかの実施形態では、アダプターの所与のセットの各アダプターのアンカー領域は４つの配列のうちの１つを含む。図２に示す実施形態では、合計１６の別個のＩＤ領域が４つのアンカー群（各ヌクレオチドＡ、Ｃ、Ｔ及びＧごとに１つの群）に分割され、各アンカー群は４つのＩＤ領域を含み、各ＩＤ領域は４つのアンカー配列の１つに適合する。いくつかの実施形態では、合計２４０のＩＤ領域が４つのアンカー群（各ヌクレオチドＡ、Ｃ、Ｔ及びＧごとに１つの群）に分割されてもよく、各アンカー群は６０のＩＤ領域を含み、各ＩＤ領域は４つのアンカー配列の１つに適合する。換言すれば、２４０のＩＤ領域は６０配列の４セットに分割され、各セットは特定のアンカー領域に対合する。いくつかの実施形態では、各アダプターセットは等モル量の各アンカー配列を有する。したがって、いくつかの実施形態では、特定には、ＩＤ領域からの配列情報だけでなく、関連するアンカー領域からの配列情報も含まれる。この結果、各アダプターが固有の配列を有し、各アダプターセット内の複数のアダプターはバランスの取れたアンカー組成を有する。いくつかの実施形態では、合計６０のＩＤ領域を４つのセットに分割してもよく、各セットは１５のＩＤ領域を含み、各ＩＤ領域は４つのアンカー配列の１つに適合する。

【０６９５】

いくつかの実施形態では、アンカー領域は１～５０の間のヌクレオチド長である。いく

つかの実施形態では、アンカー領域は４～４０の間のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、アンカー領域は５～２５の間のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、アンカー領域は、少なくとも４ヌクレオチド長、少なくとも６ヌクレオチド長、少なくとも８ヌクレオチド長、少なくとも１０ヌクレオチド長、少なくとも１２ヌクレオチド長、少なくとも１４ヌクレオチド長、または少なくとも１６ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、アンカー領域は１０ヌクレオチド長である。

【０６９６】

捕捉プローブモジュール

本開示のいくつかの実施形態は、１以上の捕捉プローブモジュールを含む組成物及び方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は１以上の捕捉プローブモジュールを含むキットを提供する。

【０６９７】

種々の実施形態では、本開示の組成物及び方法は、ＤＮＡライブラリークローンの１以上の標的遺伝子座の標的化遺伝子解析に使用することができる。いくつかの実施形態では、標的化遺伝子解析は、以下の工程：標的遺伝子座を含むＤＮＡクローンの捕捉及び／または単離；捕捉した標的化遺伝子座の増幅；増幅された捕捉標的化遺伝子座の配列決定；及び得られた配列リードのバイオインフォマティクス解析の１以上を含む。本開示に使用されるとき、「ＤＮＡライブラリークローン」という用語はＤＮＡライブラリー断片を指し、その際、アダプター及びゲノムＤＮＡ断片の組み合わせは固有のＤＮＡ配列（例えば、別のＤＮＡライブラリークローンのそれと区別されることが可能であるＤＮＡ配列）をもたらす。

【０６９８】

いくつかの実施形態では、本開示は、その一部として、さらに大きなプローブの効率及び信頼性を保持するように設計されるが、さらに小さなＤＮＡ断片を含むゲノムＤＮＡライブラリー、例えば、ｃｆＤＮＡクローンライブラリーにおける情報価値のない配列の生成を最小限にとどめる、捕捉プローブモジュールを提供する。

【０６９９】

いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールはテール配列と捕捉プローブ配列とを含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールは、テール配列を含む第１の領域と、タグ付きＤＮＡライブラリーにおける標的配列とハイブリッド形成することができる第２の領域とを含む。いくつかの実施形態では、テール配列はＰＣＲプライマー結合部位を含む。いくつかの実施形態では、第１の領域はテール領域またはテール配列と呼ばれる。

【０７００】

本開示で使用されるとき「テール配列」という用語は、いくつかの実施形態ではプライマー結合部位として役立つことができる、捕捉プローブモジュールの５’末端におけるポリヌクレオチドを指す。いくつかの実施形態では、テール配列はプライマー結合部位を含む。

【０７０１】

いくつかの実施形態では、テール配列はパートナーオリゴヌクレオチドとハイブリッド形成することができる。いくつかの実施形態では、例示的なパートナーオリゴヌクレオチドは、ＧＴＧＡＡＡＡＣＣＡＧＧＡＴＣＡＡＣＴＣＣＣＧＴＧＣＣＡＧＴＣＡＣＡＴＣＴＣＡＧＡＴＧＡＧＣＴ／３ＢｉｏＴＥＧ／（配列番号６）であることができる。「３ＢｉｏＴＥＧ」は、ストレプトアビジンでコーティングされた磁気ビーズに結合するビオチン－ＴＥＧ標識であってもよい。いくつかの実施形態では、「３ＢｉｏＴＥＧ」標識は、固体担体に結合することができる当該技術分野で知られている任意の種類の標識であってもよい。

【０７０２】

いくつかの実施形態では、テール配列は、約５～約１００ヌクレオチド、約１０～約１００ヌクレオチド、約５～約７５ヌクレオチド、約５～約５０ヌクレオチド、約５～約２

５ヌクレオチド、または約５～約２０ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、テール配列は、約３０ヌクレオチド、約３１ヌクレオチド、約３２ヌクレオチド、約３３ヌクレオチド、約３４ヌクレオチド、約３５ヌクレオチド、約３６ヌクレオチド、約３７ヌクレオチド、約３８ヌクレオチド、約３９ヌクレオチド、または約４０ヌクレオチドである。

【０７０３】

いくつかの実施形態では、テール配列は５～１００ヌクレオチド、１０～１００ヌクレオチド、５～７５ヌクレオチド、５～５０ヌクレオチド、５～２５ヌクレオチド、または５～２０ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、テール配列は３０ヌクレオチド、３１ヌクレオチド、３２ヌクレオチド、３３ヌクレオチド、３４ヌクレオチド、３５ヌクレオチド、３６ヌクレオチド、３７ヌクレオチド、３８ヌクレオチド、３９ヌクレオチド、または４０ヌクレオチドである。

【０７０４】

隣接するアダプタータグ付きＤＮＡ断片（増幅されていない）及びタグ付きＤＮＡライブラリー（増幅された）はそれぞれ、目的の１以上の遺伝子座について濃縮されたハイブリッド分子を含有するライブラリーの調製を含む、種々の配列決定に基づく遺伝子解析に有用であり、増幅されていないライブラリーであってもよく、または増幅されたライブラリーであってもよい。

【０７０５】

上記のように調製された、増幅されていないアダプタータグ付きＤＮＡ断片及び／または増幅されたタグ付きＤＮＡライブラリーは捕捉プローブモジュールとハイブリッド形成して、特定の遺伝子座に標的化ライブラリー、すなわち、標的化ライブラリーを生成することができる。アダプタータグ付きＤＮＡ断片は１以上の捕捉プローブとハイブリッド形成することができる。各捕捉プローブは、アダプタータグ付きＤＮＡ断片にて同じ遺伝子座を標的とすることができ、またはアダプタータグ付きＤＮＡ断片にて異なる遺伝子座を標的としてもよい。いくつかの実施形態では、増幅されたタグ付きＤＮＡライブラリー断片における複数の遺伝子座が標的とされる。

【０７０６】

いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールは、細胞ＤＮＡから構築されるゲノムＤＮＡライブラリーと共に使用される。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールはｃｆＤＮＡから構築されるゲノムＤＮＡライブラリーと共に使用される。ｃｆＤＮＡの平均サイズが約１５０～約１７０ｂｐであり、また高度に断片化されるので、本開示の特定の組成物及び方法は、高密度で比較的短い捕捉プローブを使用して目的のＤＮＡ標的領域を調べることを含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは、すべての染色体セグメントにわたって均一な密度で分布するＤＮＡ標的領域とハイブリッド形成することができる。そのような捕捉プローブのセットは「染色体安定性プローブ」と呼ばれてもよい。染色体安定性プローブを使用して、染色体コピー数（例えば、染色体倍数性）のゲノム規模での測定を提供するために、ゲノム規模のスケールでコピー数の変動を調べる。

【０７０７】

高密度捕捉プローブの使用に関する特定の関心事の１つは一般に、捕捉プローブが特定の「配列規則」を使用して設計されていることである。例えば、いくつかの実施形態では、冗長な配列の領域、または極端な塩基組成バイアスを示す領域を、捕捉プローブの設計にて除外してもよい。本開示で使用される「塩基組成」はＤＮＡ組成中の種々のプリン及びピリミジン（例えば、Ａ、Ｇ、Ｃ、Ｔ）の相対量を指す。しかしながら、捕捉プローブ設計規則の柔軟性の欠如は、本開示の捕捉プローブモジュールのプローブ性能に実質的な影響を与えなくてもよい。いくつかの実施形態では、塩基組成の制限を考慮せずに、位置の制約によって厳密に選択される本開示の捕捉プローブは、狙い通りの配列情報を提供してもよく；的外れの及び不適合なリードの捕捉がほとんどなく、均一で有用な狙い通りのリードが得られ、例外はわずかである。さらに、プローブ間隔が近くても冗長性が高いため、捕捉プローブの性能が低い可能性を補ってもよい。

【０７０８】
いくつかの実施形態では、本開示の捕捉プローブモジュールは、高密度捕捉プローブ戦略で使用されるように構成されており、その際、複数の捕捉プローブは、標的領域または標的遺伝子座とハイブリッド形成し、その際、複数のそれぞれ。いくつかの実施形態では、２以上の捕捉プローブは、互いの約５ヌクレオチド以内、互いの約１０ヌクレオチド以内、互いの約１５ヌクレオチド以内、互いの約２０ヌクレオチド以内、互いの約２５ヌクレオチド以内、互いの約３０ヌクレオチド以内、互いの約３５ヌクレオチド以内、互いの約４０ヌクレオチド以内、互いの約４５ヌクレオチド以内、互いの約５０ヌクレオチド以内、互いの約１００ヌクレオチド以内、互いの約２００以上以内の、と同様に介在するヌクレオチド長の標的領域に結合するように設計される。

【０７０９】
いくつかの実施形態では、標的領域は捕捉プローブがハイブリッド形成する標的配列を含む。いくつかの実施形態では、標的領域は複数の捕捉プローブがハイブリッド形成する複数の標的配列を含む。

【０７１０】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約２０ヌクレオチド、２０ヌクレオチド、２１ヌクレオチド、２２ヌクレオチド、２３ヌクレオチド、２４ヌクレオチド、２５ヌクレオチド、２６ヌクレオチド、２７ヌクレオチド、２８ヌクレオチド、２９ヌクレオチド、３０ヌクレオチド、３１ヌクレオチド、３２ヌクレオチド、３３ヌクレオチド、３４ヌクレオチド、３５ヌクレオチド、３６ヌクレオチド、３７ヌクレオチド、３８ヌクレオチド、３９ヌクレオチド、４０ヌクレオチド、４１ヌクレオチド、４２ヌクレオチド、４３ヌクレオチド、４４ヌクレオチド、４５ヌクレオチド、４６ヌクレオチド、４７ヌクレオチド、４８ヌクレオチド、４９ヌクレオチド、５０ヌクレオチド、５１ヌクレオチド、５２ヌクレオチド、５３ヌクレオチド、５４ヌクレオチド、５５ヌクレオチド、５６ヌクレオチド、５７ヌクレオチド、５８ヌクレオチド、５９ヌクレオチド、または６０ヌクレオチドである。

【０７１１】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約６０ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約６５ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約７０ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約７５ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約８０ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約８５ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約９０ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約９５ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは、約１００ヌクレオチド、約２００ヌクレオチド、約３００ヌクレオチド、約４００ヌクレオチド、または約１００ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約１０ヌクレオチド～約２０ヌクレオチド、約２０ヌクレオチド～約６０ヌクレオチド、約６０ヌクレオチド～約１００ヌクレオチド、約１００ヌクレオチド～約５００ヌクレオチド、約２００ヌクレオチド～約５００ヌクレオチド、約３００ヌクレオチド～約５００ヌクレオチド、または約４００ヌクレオチド～約５００ヌクレオチド、またはそれらの間にある任意の範囲である。

【０７１２】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブは６０ヌクレオチド、６５ヌクレオチド、７０ヌクレオチド、７５ヌクレオチド、８０ヌクレオチド、８５ヌクレオチド、９０ヌクレオチド、９５ヌクレオチド、１００ヌクレオチド、２００ヌクレオチド、３００ヌクレオチド、４００ヌクレオチドまたは１００ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは１０ヌクレオチド～２０ヌクレオチド、２０ヌクレオチド～６０ヌクレオチド、６０ヌクレオチド～１００ヌクレオチド、１００ヌクレオチド～５００ヌクレオチド、２００ヌクレオチド～５００ヌクレオチド、３００ヌクレオチド～５００ヌクレオチド、または４００ヌクレオチド～５００ヌクレオチド、またはそれらの間にある任意の範囲

である。
【０７１３】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブは実質的に６０ヌクレオチドより小さいが、同じＤＮＡ標的領域を標的とする６０ヌクレオチドの捕捉プローブと同等に、同様に、またはさらに良好とハイブリッド形成する。いくつかの実施形態では、捕捉プローブは４０ヌクレオチドである。
【０７１４】
種々の実施形態では、捕捉プローブモジュールは、捕捉プローブとハイブリッド形成するタグ付き及び／または増幅されたゲノムＤＮＡライブラリー（例えば、細胞またはｃｆＤＮＡのライブラリー）の１以上の捕捉された断片の単離及び／または精製を可能にする、結合ペアの特定のメンバーを含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールはビオチン分子を含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールはビオチンまたは他の好適なハプテン（例えば、ジニトロフェノール、ジゴキシゲニン）にコンジュゲートされる。
【０７１５】
いくつかの実施形態では、パートナーオリゴヌクレオチドは、捕捉プローブとハイブリッド形成するタグ付き及び／または増幅されたゲノムＤＮＡライブラリー（例えば、細胞またはｃｆＤＮＡのライブラリー）の１以上の捕捉された断片の単離及び／または精製を可能にする、結合ペアの特定のメンバーを含む。いくつかの実施形態では、パートナーオリゴヌクレオチドはビオチン分子を含む。いくつかの実施形態では、パートナーオリゴヌクレオチドはビオチンまたは他の好適なハプテン、例えば、ジニトロフェノール、ジゴキシゲニンにコンジュゲートされる。
【０７１６】
種々の実施形態では、捕捉プローブは、タグ付き且つ任意で増幅されたＤＮＡライブラリーとハイブリッド形成して複合体を形成する。いくつかの実施形態では、捕捉プローブはＤＮＡライブラリーにおける特定のゲノム標的領域または標的配列と実質的とハイブリッド形成する。
【０７１７】
ハイブリッド形成条件またはハイブリッド形成する条件には、２つのヌクレオチド配列が安定した複合体を形成する；例えば、いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリー断片及び捕捉プローブが安定したアダプタータグ付きＤＮＡライブラリー断片－捕捉プローブの複合体を形成する任意の反応条件が含まれ得る。そのような反応条件は当該技術分野にて周知であり、当業者は、そのような条件が適宜改変され得る、例えば、長さの短い捕捉プローブで且つ本発明の範囲内でアニーリング温度を低くすることを理解するであろう。捕捉プローブ複合体の第２の領域が、タグ付きＤＮＡライブラリーの領域に対して、１００％、９９％、９８％、９７％、９６％、９５％、９４％、９３％、９２％、９１％、９０％、８９％、８８％、８５％、８０％、７５％、または７０％の配列同一性、相同性、または相補性を示す場合、実質的なハイブリッド形成が起こり得る。
【０７１８】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブは約４０ヌクレオチドであり、約４４℃～約４７℃の最適アニーリング温度を有する。
【０７１９】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブは４０ヌクレオチドであり、４４℃～４７℃の最適アニーリング温度を有する。
【０７２０】
いくつかの実施形態では、本開示の組成物は１以上の捕捉プローブモジュールを含むキットに構築される。いくつかの実施形態では、本開示のキットを使用して、組み合わせた配列対応ＤＮＡライブラリーを生成してもよく、その際、組み合わせライブラリーは本開示に記載されている組み合せライブラリーのいずれかである。

【０７２１】
いくつかの実施形態では、本開示のキットは、遺伝子の特定の集まり、例えば、表１１に記載されているような肺癌遺伝子のセットを標的とするように設計された捕捉プローブモジュールのセットを含む。そのような捕捉プローブモジュールのセットは捕捉プローブパネルと呼ばれてもよい。これらの捕捉プローブモジュールまたは捕捉プローブパネルは本開示の任意の捕捉プローブモジュールを含んでもよい。キットの高い性能を保証するため、捕捉プローブモジュールまたは捕捉プローブパネルのそれぞれは、キットに含まれる前に品質管理（ＱＣ）プロセスに供されてもよい。
【０７２２】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスにおける各試験試料について、固有のアダプターセットが割り当てられる。捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、ＬＰＡを生成するための本開示の末端修復法、アダプター連結法、及びライブラリー増幅法のいずれかを使用して実施されてもよい。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、実施例１１の方法に従って末端修復、アダプター連結、及びライブラリー増幅を実行してＬＰＡを生成することを含む。
【０７２３】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、ＬＰＡからＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡを作り出すことを含む。いくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡは実施例１１の方法に従って作り出される。いくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡにおけるＱＣプロセスが実施されてもよく、ＱＣに合格したライブラリーが下流での使用のために選択される。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールのＱＣについては、少なくとも１～８０ｎｇ／μＬのＴＣ　ＬＰＡ及び少なくとも０．１～８ｎｇ／μＬのＷＧ　ＬＰＡが下流プロセスで使用される。
【０７２４】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、ＴＣＬＰＡを使用し、特定の捕捉プローブパネルを使用してＴＣＬを作り出すことを含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、本開示の方法のいずれかに従ってＴＣＬを作り出すことを含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは実施例１２の方法に従ってＴＣＬを作り出すことを含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、本開示の方法のいずれかに従ってＴＣＬからＴＣＬＡを作り出すことを含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、実施例１２の方法に従ってＴＣＬからＴＣＬＡを作り出すことを含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスで調べた捕捉プローブパネルは肺プローブのセットを含む。いくつかの実施形態では、肺プローブのセット内の各捕捉プローブモジュールは、肺癌に関連する遺伝子における特定の標的配列に結合する。いくつかの実施形態では、肺プローブのセット内の各捕捉プローブモジュールは、表１１に列挙される遺伝子における特定の標的配列に結合する。
【０７２５】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、本開示の方法のいずれかに従ってＷＧ　ＬＰＡを使用してＷＧＬＡを作り出すことを含む。いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、実施例１３の方法に従ってＷＧ　ＬＰＡを使用してＷＧＬＡを作り出すことを含む。いくつかの実施形態では、各ＴＣＬＡ及びＷＧＬＡは、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスの下流プロセスで使用するために、少なくとも１０ｎｇ／μＬの濃度を有する必要がある。
【０７２６】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、ＴＣＬＡ及びＷＧＬＡを組み合わせて配列対応ライブラリーを作り出すことを含む。いくつかの実施形態では、実施例１４の方法に従ってＴＣＬＡとＷＧＬＡとを組み合わせる。いくつ

かの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは、本開示の配列決定法のいずれかに従って、組み合わせたＴＣＬＡ及びＷＧＬＡライブラリーの配列決定を行うことを含む。

【０７２７】

いくつかの実施形態では、１以上の合否判定基準がＱＣプロセスにて提供され、捕捉プローブモジュールがキットの高性能を可能にする品質要件を満たすかどうかが判定する。

【０７２８】

いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスに関する１以上の合否判定基準は表１５から選択される。

【０７２９】

いくつかの実施形態では、本開示のＱＣプロセスのうちの１以上に合格した捕捉プローブモジュールのみが本開示のキット内に含まれる。

【０７３０】

いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュールについてのＱＣプロセスは陽性対照ＤＮＡ試料を使用して実施されてもよい。いくつかの実施形態では、陽性対照ＤＮＡ試料は少なくとも２つの異なる細胞株のブレンドＤＮＡ試料を含む。いくつかの実施形態では、陽性対照ＤＮＡ試料は、細胞株のブレンド：ＮＡ１２８７８における８％ＮＡ１８５１１（細胞株ｇＤＮＡはＣｏｒｉｅｌｌ研究所から調達されている）由来の剪断されたゲノムＤＮＡを含む。いくつかの実施形態では、陽性対照ＤＮＡ試料は実施例１７に記載されているＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、陽性対照ＤＮＡ試料は本開示のキット中に含まれる。

【０７３１】

ライブラリータグ

本開示のいくつかの実施形態は、第１の修飾ライブラリーを第２の修飾ライブラリーから区別するのに使用されてもよいライブラリータグを提供する。いくつかの実施形態では、本開示のキットを使用して生成されたライブラリーはライブラリータグを含む。いくつかの実施形態では、本開示のキットを使用して、第１の修飾ライブラリーと第２の修飾ライブラリーとを含む組み合わせライブラリーを生成してもよい。いくつかの実施形態では、組み合わせライブラリーは配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）である。

【０７３２】

いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは第１のライブラリータグを含み、第２の修飾ライブラリーは第２のライブラリータグを含む。いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーはライブラリータグを含み、第２の修飾ライブラリーはライブラリータグを含まない。いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーはライブラリータグを含まず、第２の修飾ライブラリーはライブラリータグを含む。

【０７３３】

いくつかの実施形態では、ライブラリータグは第１のシグナルを生成し、ライブラリータグの欠如は第２のシグナルを生成する。いくつかの実施形態では、第１のシグナルと第２のシグナルの双方が検出される、または検出可能である。いくつかの実施形態では、第１のシグナルと第２のシグナルとは同一ではない。いくつかの実施形態では、第１のシグナルは検出される、または検出可能であり、第２のシグナルは検出されない、または検出可能ではない。いくつかの実施形態では、第２のシグナルは検出される、または検出可能であり、第１のシグナルは検出されない、または検出可能ではない。

【０７３４】

いくつかの実施形態では、第１のライブラリータグは第１のシグナルを生成し、第２のライブラリータグは第２のシグナルを生成する。いくつかの実施形態では、第１のシグナルと第２のシグナルの双方が検出される、または検出可能である。いくつかの実施形態では、第１のシグナルと第２のシグナルとは同一ではない。いくつかの実施形態では、第１のシグナルは検出される、または検出可能であり、第２のシグナルは検出されない、または検出可能ではない。いくつかの実施形態では、第２のシグナルは検出される、または検

出可能であり、第１のシグナルは検出されない、または検出可能ではない。
【０７３５】
いくつかの実施形態では、検出された第１のシグナルと検出された第２のシグナルとを互いに区別することができる。いくつかの実施形態では、検出された第１のシグナルと検出されない第２のシグナルとを互いに区別することができる。いくつかの実施形態では、検出されない第１のシグナルと検出された第２のシグナルとを互いに区別することができる。
【０７３６】
いくつかの実施形態では、ライブラリータグによって、同じ配列決定実行にて異なるライブラリーを多重化することが可能になり、また配列決定分析中にライブラリーを逆多重化することが可能になる。
【０７３７】
いくつかの実施形態では、同一の配列決定実行における異なるライブラリーの多重化は、第１のライブラリータグを含む第１の修飾ライブラリー及び第２のライブラリータグを含む第２の修飾ライブラリーを有することによって達成されてもよい。そのような実施形態では、第１のライブラリータグが第１のシグナルを生成し、第２のライブラリータグが第２のシグナルを生成する。
【０７３８】
いくつかの実施形態では、同一の配列決定実行における異なるライブラリーの多重化は、第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーの一方のみがライブラリータグを含むことによって達成されてもよい。いくつかの実施形態では、ライブラリータグは第１のシグナルを生成し、ライブラリータグの欠如は第２のシグナルを生成する。
【０７３９】
いくつかの実施形態では、配列決定分析中のライブラリーの逆多重化は、第１のシグナルと第２のシグナルとを区別することによって達成されてもよい。いくつかの実施形態では、検出された第１のシグナルと検出された第２のシグナルとを互いに区別することができる。いくつかの実施形態では、検出された第１のシグナルと検出されない第２のシグナルとを互いに区別することができる。いくつかの実施形態では、検出されない第１のシグナルと検出された第２のシグナルとを互いに区別することができる。
【０７４０】
いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは、捕捉プローブモジュールを使用してＤＮＡ標的を標的捕捉することによって生成され、その際、捕捉プローブモジュールはライブラリータグを含む。いくつかの実施形態では、第２の修飾ライブラリーは、第２のアダプタータグ付きライブラリーのＤＮＡ断片を増幅する、または伸長することによって生成されてもよい。
【０７４１】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブモジュール内のライブラリータグはさらに、配列決定プライマーのための結合部位を含んでもよい。捕捉プローブが第１の修飾ライブラリーを生成するためにのみ使用され、第２の修飾ライブラリーを生成するのに使用されない実施形態では、特定の配列決定プライマーは、第１の修飾ライブラリー内のその結合部位にアニーリングされるだけであり、第２の修飾ライブラリー内のいずれの標的にもアニーリングされない。そのような実施形態では、特定の配列決定プライマーが第２の修飾ライブラリーとハイブリッド形成しないことによって、第２の修飾ライブラリーにおけるこの特定のプライマーについての「空の配列決定リード」が生じる。
【０７４２】
いくつかの実施形態では、第１のシグナルは配列決定リードであり、第２のシグナルは「空の」配列決定リードである。いくつかの実施形態では、第１のシグナルは検出される、または検出可能であり、第２のシグナルは検出されない、または検出可能ではない。本開示の方法のいくつかの実施形態では、第１及び第２のシグナルの双方が検出される、または検出可能である。本開示の方法のいくつかの実施形態では、空の配列決定リード（第

２のシグナル）は一連の２以上のＧヌクレオチドとして検出される。例えば、図２８の「標的捕捉ライブラリー」パネルに示された一実施形態では、配列決定プライマーリード１のためのプライマー結合部位と配列決定プライマーリード２のためのプライマー結合部位との双方を含むＤＮＡ分子の配列決定を、配列決定プライマーリード１及びリード２を使用して行う場合、２つの配列決定リードが生成され、各配列決定リードは配列決定された分子の少なくとも一部に相当する。図２８の「全ゲノムライブラリー」パネルに示されたような一実施形態では、配列決定プライマーリード　１配列のためのプライマー結合部位のみを含み、配列決定プライマーリード２のためのプライマー結合部位を含まないＤＮＡ分子の配列決定が、配列決定プライマーリード１及びリード２を使用して行われる場合、配列決定プライマーリード１のみが、配列決定された分子の少なくとも一部に対応する配列決定リードを生成する一方で、配列決定プライマーリード２は一連の２以上のＧヌクレオチドであってもよい「空」の配列決定リードを生じるであろう。このようにして空の配列決定リードを検出することができる装置には、例えば、Ｉｌｌｕｍｉｎａ　ＮｅｘｔＳｅｑ　２色化学を使用したシーケンサーが挙げられてもよい。

【０７４３】

いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーはＴＣＬまたは増幅されたＴＣＬであり、第２の修飾ライブラリーはＷＧＬまたはＷＧＬＡである。いくつかの実施形態では、ＴＣＬまたはＴＣＬＡはライブラリータグを持つ。いくつかの実施形態では、ライブラリータグは特注の「リード２」配列決定プライマーのための結合ドメインである。いくつかの実施形態では、ライブラリータグは捕捉プローブのテール領域に埋め込まれる。いくつかの実施形態では、本開示のＷＧＬまたはＷＧＬＡライブラリーはリード２配列決定プライマー結合ドメインを持たないので、リード２配列決定リードを生成しない。いくつかの実施形態では、ライブラリータグは、標的捕捉ライブラリーまたはＴＣＬＡに対する捕捉プローブゲノム位置を示してもよい一方で、ＬＰＷＧライブラリーに関して結果的に生じるリード２配列は、Ｇ（グアニン）の列であり；これは、蛍光シグナルを示さないクラスターがＧ塩基として解釈されるＩｌｌｕｍｉｎａ２色シーケンシング方式の結果である。

【０７４４】

いくつかの実施形態では、ライブラリータグは検出標識を含む。当該検出標識は、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含んでもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば、ライブラリーの生体分子における官能基に化学的に結合された蛍光色素を含む蛍光部分である。蛍光検出標識は、当該技術分野で既知の蛍光画像化法を使用して可視化されてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば、ポリマーに封入された、または結合されたナノメートルサイズの酸化鉄粒子でできた磁気ビーズを含む磁性または常磁性の部分である。当該磁性部分または常磁性部分の検出方法には、磁気免疫測定法（ＭＩＡ）または当該技術分野で既知の任意の他の方法が挙げられてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば西洋わさびペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）及び／またはアルカリホスファターゼ（ＡＰ）を含む酵素部分である。当該酵素部分の検出方法には、例えば、発色法、化学発光法、蛍光法、または当該技術分野で既知の任意の他の方法が挙げられてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば、シグナル伝達部分と認識部分とを含む化学センサーを含む結合部分であり、その際、シグナル伝達部分は、認識部分が入力シグナルを認識すると、出力シグナルを生成することができる。当該結合部分の検出方法には、例えば、電磁放射線に基づく光学的方法、電気化学的検出方法、または当該技術分野で既知の任意の他の方法が挙げられてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば抗体によって認識されてもよいポリペプチドを含むエピトープである。当該エピトープの検出方法には、例えば、ＥＬＩＳＡ法、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）法、または当該技術分野で既知の他の方法が挙げられてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば、ガンマ、ベータ、アルファまたは複数の放射放出を放出することができる放射性核種を含む放射性部分である。当該放射性部分の検出方法は、例えば、イオン化チャンバー、写真フ

ィルム、または当該技術分野で既知の任意の他の方法を使用することを含んでもよい。

【０７４５】

いくつかの実施形態では、ライブラリータグは選択的にまたは特異的に検出可能な部分に結合する。当該検出標識は、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含んでもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば、ライブラリーの生体分子における官能基に化学的に結合された蛍光色素を含む蛍光部分である。蛍光検出標識は、当該技術分野で既知の蛍光画像化法を使用して可視化されてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば、ポリマーに封入された、または結合されたナノメートルサイズの酸化鉄粒子でできた磁気ビーズを含む磁性または常磁性の部分である。当該磁性部分または常磁性部分の検出方法には、磁気免疫測定法（ＭＩＡ）または当該技術分野で既知の任意の他の方法が挙げられてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば西洋わさびペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）及び／またはアルカリホスファターゼ（ＡＰ）を含む酵素部分である。当該酵素部分の検出方法には、例えば、発色法、化学発光法、蛍光法、または当該技術分野で既知の任意の他の方法が挙げられてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば、シグナル伝達部分と認識部分とを含む化学センサーを含む結合部分であり、その際、シグナル伝達部分は、認識部分が入力シグナルを認識すると、出力シグナルを生成することができる。当該結合部分の検出方法には、例えば、電磁放射線に基づく光学的方法、電気化学的検出方法、または当該技術分野で既知の任意の他の方法が挙げられてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば抗体によって認識されてもよいポリペプチドを含むエピトープである。当該エピトープの検出方法には、例えば、ＥＬＩＳＡ法、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）法、または当該技術分野で既知の他の方法が挙げられてもよい。いくつかの実施形態では、検出標識は、例えば、ガンマ、ベータ、アルファまたは複数の放射放出を放出することができる放射性核種を含む放射性部分である。当該放射性部分の検出方法は、例えば、イオン化チャンバー、写真フィルム、または当該技術分野で既知の任意の他の方法を使用することを含んでもよい。

【０７４６】

試験試料

本開示の組成物及び方法は、ＤＮＡを含む任意の好適な試験試料に使用されてもよい。本開示のキットはＤＮＡを含む任意の好適な試験試料と共に使用されてもよい。本明細書で使用されるとき「ＤＮＡ」という用語はデオキシリボ核酸を指す。種々の実施形態では、ＤＮＡという用語は、ｃｆＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、組換えＤＮＡ、合成ＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ミトコンドリアＤＮＡ、メチル化ＤＮＡ、または脱メチル化ＤＮＡを含むが、これらに限定されない、天然に存在する、または天然に存在しない任意の形態のＤＮＡを指す。いくつかの実施形態では、ＤＮＡはゲノムＤＮＡまたはｃｆＤＮＡ（無細胞ＤＮＡ）を指す。いくつかの実施形態では、ＤＮＡはエピジェネティックマークを含む。エピジェネティックマークは、ＤＮＡメチル化を含むが、これに限定されない当該技術分野にて知られている任意のエピジェネティックマークであってもよい。

【０７４７】

いくつかの実施形態では、ＤＮＡはＤＮＡ配列を含む。ＤＮＡ配列は、ｃｆＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、組換えＤＮＡ、合成ＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ミトコンドリアＤＮＡ、メチル化ＤＮＡ、または脱メチル化ＤＮＡを含むが、これらに限定されない、天然に存在する、または天然に存在しない任意の形態のＤＮＡであってもよい。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ配列はゲノムＤＮＡまたはｃｆＤＮＡである。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ配列はエピジェネティックマークを含む。エピジェネティックマークは、ＤＮＡメチル化を含むが、これに限定されない当該技術分野にて知られている任意のエピジェネティックマークであってもよい。

【０７４８】

いくつかの実施形態では、ＤＮＡ配列はＤＮＡ標的を含む。ＤＮＡ標的は、ｃｆＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、組換えＤＮＡ、合成ＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ミトコンドリアＤＮＡ、メチル

化ＤＮＡ、または脱メチル化ＤＮＡを含むが、これらに限定されない、天然に存在する、または天然に存在しない任意の形態のＤＮＡであってもよい。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ標的はゲノムＤＮＡまたはｃｆＤＮＡである。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ標的はエピジェネティックマークを含む。エピジェネティックマークは、ＤＮＡメチル化を含むが、これに限定されない当該技術分野にて知られている任意のエピジェネティックマークであってもよい。

【０７４９】

いくつかの実施形態では、本開示のＤＮＡライブラリーは、ゲノムＤＮＡライブラリー、ＲＮＡ、例えばＲＮＡ発現ライブラリーから構築されたｃＤＮＡライブラリー、アンプリコンライブラリー、全エキソームライブラリー、及びメチル化ライブラリーを含んでもよい。種々の実施形態では、ＤＮＡライブラリーは１以上の追加のＤＮＡ配列及び／またはＤＮＡタグを含む。

【０７５０】

本開示で使用されるとき「循環ＤＮＡ」、「循環無細胞ＤＮＡ」、及び「無細胞ＤＮＡ」という用語は、相互交換可能に使用されてもよく、細胞外ＤＮＡであるＤＮＡ、細胞から押し出されたＤＮＡ、または壊死性細胞もしくはアポトーシス性細胞から放出されたＤＮＡを指す。この用語は、本開示では相互交換可能に使用され、且つ細胞（すなわち、ヌクレアーゼ）内に含有され、細胞の完全性を溶解する、または別の方法で破壊することによって、本開示に記載されているもののような分子生物学的技術に唯一到達可能であるゲノムＤＮＡを指す「細胞ゲノムＤＮＡ」または「細胞ＤＮＡ」とは対照的に使用されることが多い。いくつかの実施形態では、ｃｆＤＮＡはＤＮＡの二本鎖細胞外分子である。いくつかの実施形態では、ｃｆＤＮＡは約７０ｂｐ～約２００ｂｐの長さを持つ小さなＤＮＡ断片を含んでもよい。

【０７５１】

いくつかの実施形態では、「ＤＮＡ断片」という用語はＤＮＡ分子の断片化小片を指してもよい。いくつかの実施形態では、断片化は、自然に発生してもよいし、機械的プロセス（例えば、超音波処理）によって発生してもよい。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ断片は末端修復されたＤＮＡ断片であってもよい。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ断片はアダプターモジュールに結合させてもよい。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ分子はＤＮＡ断片であってもよい。

【０７５２】

本明細書で使用されるとき、「試験試料」という用語は遺伝子解析に使用されるＤＮＡの供給源を指す。いくつかの実施形態では、試験試料は組織生検である。いくつかの実施形態では、組織試料は腫瘍または腫瘍であると疑われる組織の生検である。いくつかの実施形態では、試験試料は悪性腫瘍または悪性であると疑われる腫瘍から得られる生検である。いくつかの実施形態では、組織試料はがん細胞またはがん性であると疑われる細胞を含む。

【０７５３】

いくつかの実施形態では、ＤＮＡ分子またはＤＮＡ断片は試験試料から単離される、または生成される。

【０７５４】

いくつかの実施形態では、任意の好適な量のＤＮＡからライブラリーが製造されてもよい。いくつかの実施形態では、ＤＮＡの量は約１ｐｇ～約５００ｎｇの間、約１ｎｇ～約４００ｎｇの間、約５ｎｇ～約３００ｎｇの間、約１０ｎｇ～約２５０ｎｇの間、または約２０ｎｇ～約２００ｎｇの間である。いくつかの実施形態では、ＤＮＡの量は約５ｎｇ～約５０ｎｇの間である。いくつかの実施形態では、ＤＮＡの量は、１ｐｇ～５００ｎｇの間、１ｎｇ～４００ｎｇの間、５ｎｇ～３００ｎｇの間、１０ｎｇ～２５０ｎｇの間、または２０ｎｇ～２００ｎｇの間である。いくつかの実施形態では、ＤＮＡの量は約５ｎｇ～約５０ｎｇの間である。

【０７５５】

いくつかの実施形態では、本開示で企図される方法及び組成物は、二本鎖ＤＮＡ（ｄｓＤＮＡ）、例えば、無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）、ゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）、相補性ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）、ミトコンドリアＤＮＡ、メチル化ＤＮＡ、または脱メチル化ＤＮＡから選択されるｄｓＤＮＡを使用する。

【０７５６】

いくつかの実施形態では、ゲノムＤＮＡは、骨髄、食道、胃、十二指腸、直腸、結腸、回腸、膵臓、肺、肝臓、前立腺、脳、神経、髄膜組織、腎組織、子宮内膜組織、子宮頸部組織、乳房、リンパ節、筋肉、及び皮膚を含むが、これらに限定されない組織から採取される組織試料または生検から得られる。

【０７５７】

細胞からの、または細胞から構成される生体組織からのゲノムＤＮＡを精製する方法は当該技術分野にて周知であり、当業者は、組織、及び組織が得られる条件に応じて、最適な手順または市販のキットを認識するであろう。いくつかの実施形態は、組織由来の細胞ＤＮＡを精製することが、例えば、組織試料をブレンドする、粉砕する、または超音波処理することのような化学的方法及び物理的方法によって細胞を破砕し、または細胞を溶解して細胞ＤＮＡを曝露することと；細胞溶解にも役立つ洗剤または界面活性剤を加えることによって、膜脂質を除去すること、任意で、例えば、プロテアーゼを加えることによってタンパク質を除去することと；例えば、ＲＮＡ分解酵素を加えることによってＲＮＡを除去することと；例えば、細胞溶解工程中に使用される界面活性剤、タンパク質、塩類及び試薬類からのＤＮＡ精製とを必要とするであろうことを企図する。例えば、エタノールまたはイソプロパノールによる沈殿によって、またフェノール－クロロホルム抽出によってＤＮＡ精製が実行されてもよい。

【０７５８】

いくつかの実施形態では、本開示に記載されているようにゲノムＤＮＡライブラリーを取得する、生成する、作製する、形成する、及び／または生産するプロセスの前に、またはその間に組織及び／または細胞から得られた細胞ＤＮＡを断片化する。当業者は、ＤＮＡ断片化についていくつかの好適な技術があることを理解し、次世代シーケンシングを含むが、これに限定されない、ＤＮＡシーケンシングについてゲノムＤＮＡライブラリーを生成する目的で、細胞ＤＮＡを断片化するため好適な技術を認識し、特定することができる。いくつかの実施形態は、物理的断片化、酵素的断片化、及び化学的剪断を含むが、これらに限定されない方法によってライブラリーを生成するために、適切な、及び／または十分な長さの断片に細胞ＤＮＡを断片化することできることを企図する。

【０７５９】

物理的断片化には、音響学的剪断、超音波処理、及び流体力学的剪断を挙げることができるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、物理的断片化によって細胞ＤＮＡを断片化する。いくつかの実施形態では、音響学的剪断または超音波処理によって細胞ＤＮＡを断片化する。いくつかの実施形態は、音響学的剪断及び超音波処理が細胞ＤＮＡを剪断するのに使用される共通の物理的方法であることを企図する。Ｃｏｖａｒｉｓ（登録商標）機器（Ｗｏｂｕｒｎ，ＭＡ）は、ＤＮＡを１００～５ｋｂ　ｂｐに破壊するための音響装置である。Ｂｉｏｒｕｐｔｏｒ（登録商標）（Ｄｅｎｖｉｌｌｅ，ＮＪ）はクロマチン、ＤＮＡを剪断し、組織を撹乱するのに利用される超音波処理装置である。わずかな量のＤＮＡを１５０ｂｐ～１ｋｂの長さに剪断することができる。Ｄｉｇｉｌａｂ（Ｍａｒｌｂｏｒｏｕｇｈ，ＭＡ）からのＨｙｄｒｏｓｈｅａｒはＤＮＡを剪断するために流体力を利用する。またＮｅｂｕｌｉｚｅｒ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈ，Ｇｒａｎｄ　Ｉｓｌａｎｄ，ＮＹ）を使用し、圧縮空気を使用して液体を微粒化し、ＤＮＡを１００ｂｐ～３ｋｂ断片に数秒で剪断することができる。噴霧化は低コストであるが、このプロセスは、元の試料からの細胞ＤＮＡの約３０％の損失を引き起こすことがある。特定の実施形態では、超音波処理によって細胞ＤＮＡを断片化する。

【０７６０】

酵素的断片化は、制限エンドヌクレアーゼ、例えば、ＤＮＡ分解酵素Ｉによる処理、ま

たは非特異的ヌクレアーゼによる処理を含むことができるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、酵素的断片化によって細胞ＤＮＡを断片化する。いくつかの実施形態では、制限エンドヌクレアーゼによる処理によって細胞ＤＮＡを断片化する。いくつかの実施形態では、非特異的ヌクレアーゼによる処理によって細胞ＤＮＡを断片化する。いくつかの実施形態では、トランスポサーゼによる処理によって細胞ＤＮＡを断片化する。いくつかの実施形態は、細胞ＤＮＡを小片に剪断する酵素的方法がＤＮＡ分解酵素Ｉ、マルトース結合タンパク質（ＭＢＰ）－Ｔ７　Ｅｎｄｏ　Ｉと非特異的ヌクレアーゼＶｉｂｒｉｏ　ｖｕｌｎｉｆｉｃｕｓ（Ｖｖｎ）Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ’ｓ　（Ｉｐｓｗｉｃｈ，ＭＡ）フラグメンターゼとの組み合わせ及びＮｅｘｔｅｒａタグメンテーション技術（Ｉｌｌｕｍｉｎａ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）を含むことを企図する。非特異的ヌクレアーゼ及びＴ７Ｅｎｄｏの組み合わせは相乗的に機能し、非特異的ニック及び逆ニックを産生し、ニック部位から８ヌクレオチド以下を解離する断片を生成する。タグメンテーションは、トランスポザーゼを使って二本鎖ＤＮＡにアダプターを断片化し、同時に挿入する。

【０７６１】

化学的断片化は、熱及び二価の金属カチオンによる処理を含むことができる。いくつかの実施形態では、化学的断片化によってゲノムＤＮＡを断片化する。いくつかの実施形態は、ゲノムＤＮＡに対向するように長いＲＮＡ断片の粉砕のために化学的剪断をさらに一般的に使用することを企図する。化学的断片化は通常、二価の金属カチオン（マグネシウムまたは亜鉛）によるＤＮＡの加温消化を介して実施される。インキュベート時間を増やす、または減らすことによって、ＤＮＡ断片の長さを調整することができる。

【０７６２】

いくつかの実施形態では、ゲノムＤＮＡは、２００ｂｐの断片を生成するための好適な設定で超音波処理器（Ｃｏｖａｒｉｓ）を使用して超音波処理によって断片化されてもよい。

【０７６３】

いくつかの実施形態では、生成された断片はさらに、常磁性ＡＭＰｕｒｅ　ＸＰビーズ（Ｂｅｃｋｍａｎ）を使用する「両面」ビーズ精製を使用して精製し、サイズ選択してもよい。

【０７６４】

いくつかの実施形態では、剪断細胞株ＤＮＡの混合物は、試験の目的に好適な種々の比率であることができ、女性及び／または男性対象由来の野生型（ＷＴ）ｃｆＤＮＡとブレンドされ（Ｘ及び／またはＹ染色体上の遺伝子を考慮）、単一遺伝子変異多型（ＳＮＰ）のような単一ヌクレオチド変異型、挿入及び／または欠失（インデル）、遺伝子配置、例えば転座、融合、逆位、重複（コピー数の変化）及び定義された対立遺伝子頻度（ＡＦ）での他の変異型を持つ実験室で生成される試料を作り出すことができる。

【０７６５】

いくつかの実施形態では、本開示で企図される方法及び組成物は、ローパス全ゲノムライブラリー、アンプリコンライブラリー、全エキソームライブラリー、ｃＤＮＡライブラリー、またはメチル化ＤＮＡライブラリーから得られるｄｓＤＮＡを使用する。

【０７６６】

いくつかの実施形態では、本開示で企図される方法及び組成物は検体として無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）を使用する。いくつかの実施形態では、ｃｆＤＮＡのサイズ分布は約１５０ｂｐから約１８０ｂｐの断片に及ぶ。いくつかの実施形態では、ｃｆＤＮＡのサイズ分布は１５０ｂｐから１８０ｂｐの断片に及ぶ。ｃｆＤＮＡの小さな断片化された性質は、エンドヌクレアーゼ及び／またはエキソヌクレアーゼ活性の結果であってもよく、ｃｆＤＮＡの正確で信頼性の高いロバストな解析に対する困難な課題を提示する。ｃｆＤＮＡ解析に関するもう１つの課題は、血流における半減期が約１５分程度と短いことである。特定の理論に束縛されることを望まないで、本開示は、その一部として、ｃｆＤＮＡの解析が「リキッドバイオプシー」に類似するものであり、現在の生体プロセスのリアルタイ

ムスナップショットであることを企図している。
【０７６７】
さらに、ｃｆＤＮＡは、細胞内に見いだされず、生物学的流体及び糞便試料を含むが、これらに限定されない、多数の好適な供給源から得られてもよいので、解析される組織への直接アクセスのような、腫瘍の次世代シーケンシング解析を困難にする既存の制限を受けない。
【０７６８】
いくつかの実施形態では、本開示の遺伝子解析の方法は、ｃｆＤＮＡを１以上の末端修復酵素で処理して末端修復されたｃｆＤＮＡを生成することと、末端修復されたｃｆＤＮＡの各末端に１以上のアダプターを連結してアダプタータグ付きｃｆＤＮＡライブラリーを生成することとを含む、ｃｆＤＮＡライブラリーを生成することを含む。
【０７６９】
いくつかの実施形態ではｃｆＤＮＡを単離するための好適な供給源となる生物学的流体の例示的な例には、羊水、血液、血漿、血清、精液、リンパ液、脳脊髄液、眼液、尿、唾液、粘液、及び汗が挙げられるが、これらに限定されない。
【０７７０】
いくつかの実施形態では、生物学的流体は血液または血漿である。
【０７７１】
特定の実施形態では、市販されているキット及び当業者に知られた他の方法を使用して、例えば、凍結及び／または、ＥＤＴＡ、ＥＧＴＡ、または２価カチオンに特異的な他のキレート剤を含むが、これに限定されない酵素キレート剤の添加によって、対象の生物学的流体から、または過去に得られ、任意で安定化された生物学的試料から直接ｃｆＤＮＡを単離することができる。
【０７７２】
いくつかの実施形態では、遺伝子変異型（Ｃｏｒｉｅｌｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｆｏｒ Ｍｅｄｉｃａｌ ＲｅｓｅａｒｃｈまたはＳｅｒａＣａｒｅ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．）を抱く不死化細胞から単離された無細胞ＤＮＡまたはゲノムＤＮＡ（例えば、ｃｆＤＮＡまたはｇＤＮＡ）を、ＮＧＳライブラリー構築に使用することができる。
【０７７３】
いくつかの実施形態では、無細胞ＤＮＡは、ＱＩＡｍｐ ＤＳＰ Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｎｇ ＮＡキット（ＱＩＡＧＥＮ）を使用して血漿試料から抽出されてもよい。
【０７７４】
いくつかの実施形態では、本開示のキットは陽性対照ＤＮＡ試料を含む。いくつかの実施形態では、陽性対照試料は少なくとも２つの異なる細胞株のブレンドＤＮＡ試料を含む。いくつかの実施形態では、陽性対照試料は、細胞株のブレンド：ＮＡ１２８７８における８％ＮＡ１８５１１（細胞株ｇＤＮＡはＣｏｒｉｅｌｌ研究所から調達されている）由来の剪断されたゲノムＤＮＡを含む。いくつかの実施形態では、陽性対照ＤＮＡ試料は実施例１７に記載されているＱＣプロセスに合格している。いくつかの実施形態では、陽性対照ＤＮＡ試料は本開示の捕捉プローブモジュールと共に使用されるように構成される。
【０７７５】
詳細な方法
いくつかの実施形態では、本開示の組成物、キット及び方法を、標的化遺伝子解析に使用する。本開示の組成物、キットまたは方法のいずれか１つを使用する例示的なプロセスを図３に示す。組成物、キットまたは方法のうちのいずれか１つを使用する具体例を示す例示的なワークフローを図４に示し、以下で論じる。本開示の方法のいくつかの実施形態は、キット構成成分を生成するための品質管理（ＱＣ）プロセスにて使用されてもよい。
【０７７６】
ＤＮＡ末端修復
いくつかの実施形態では、投入ＤＮＡ分子（例えば、無細胞ＤＮＡ断片）は、末端修復

されたＤＮＡ断片が単一の反応混合物にて５’リン酸基及び３’ｄＡヌクレオチドのオーバーハングを持つように末端修復ＤＮＡ分子に変換される。市販のキット（例えば、ＮＥＢＵｌｔｒａ　ＩＩ　Ｅｎｄ　Ｒｅｐａｉｒ／ｄＡテーリングモジュールＥ７５４６Ｌ）を使用してＤＮＡ断片を末端修復してもよく、または開示されているような個々の酵素及び緩衝液の１以上を、５’リン酸基及び３’ｄＡヌクレオチドのオーバーハングを持つ末端修復されたＤＮＡ断片の調製のために組み合わせてもよい。いくつかの実施形態では、末端修復の反応体積は５０μＬ未満である。

【０７７７】

本開示のＤＮＡ断片は処理された形態で得られてもよい一方で、本開示の方法によって、本開示のアダプターに連結するのに適するＤＮＡ断片を得るために生体試料を処理することが可能になる。例えば、いくつかの実施形態では、本開示のＤＮＡ断片の処理された形態には、平滑末端、平滑３’末端、平滑５’末端、デオキシリボ核酸アデニン（ｄＡ）テール、３’末端のｄＡテール、５’末端のｄＡテール、デオキシリボ核酸シトシン（ｄＣ）テール、３’末端のｄＣテール、５’末端のｄＣテール、デオキシリボ核酸グアニン（ｄＧ）テール、３’末端のｄＧテール、５’末端のｄＧテール、デオキシリボ核酸チミン（ｄＴ）テール、３’末端のｄＴテール、５’末端のｄＴテール、数Ｘが少なくとも２でありｎがＡ、Ｃ、Ｇ及びＴのいずれか１つから選択されてもよいｄ（Ｘ）ｎテール、リン酸化核酸、３’末端のリン酸化核酸及び５’末端のリン酸化核酸の１以上を含むＤＮＡ断片が挙げられるが、これらに限定されない。

【０７７８】

特定の実施形態では、「末端修復」を行って脱リン酸化されたＤＮＡ断片、内部で損傷が修復されたＤＮＡ断片、平滑末端であるＤＮＡ断片、５’リン酸化されたＤＮＡ断片を生成してもよく、または３’オーバーハングを持つＤＮＡ断片を生成してもよい。

【０７７９】

ＤＮＡ断片の処理を含む本開示の方法のいくつかの実施形態では、ＤＮＡ修飾反応の１以上を、同時に及び／または同じ反応容器内で実施してもよい。いくつかの実施形態では、末端を平滑化するためのＤＮＡ修復反応（例えば、エキソヌクレアーゼ開裂またはポリメラーゼ伸長）、Ａテーリング反応及びリン酸化反応のうちの１以上を、単一の工程で同時に実施してもよい。

【０７８０】

いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを生成することは、単離されたｃｆＤＮＡまたは断片化細胞ＤＮＡの末端修復を含む。断片化されたｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡを末端修復酵素によって処理し、平滑末端、５’－オーバーハング、または３’－オーバーハングを持つ末端修復ｃｆＤＮＡを生成する。いくつかの実施形態では、末端修復ｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡは平滑末端を含有する。いくつかの実施形態では、末端修復された細胞ＤＮＡまたはｃｆＤＮＡは平滑末端を含有するように処理される。いくつかの実施形態では、末端修復されたｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡの平滑末端はさらに、単一塩基対オーバーハングを含有するように、修飾される。いくつかの実施形態では、平滑末端を含有する末端修復されたｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡは、アデニン（Ａ）／チミン（Ｔ）オーバーハングを含有するようにさらに処理され得る。いくつかの実施形態では、平滑末端を含有する末端修復されたｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡは、単一塩基対オーバーハングとしてアデニン（Ａ）／チミン（Ｔ）オーバーハングを含有するように処理することができる。いくつかの実施形態では、末端修復されたｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡは非鋳型化３’オーバーハングを有する。いくつかの実施形態では、末端修復されたｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡは３’オーバーハングを含有するように処理される。いくつかの実施形態では、末端修復されたｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡは３’オーバーハングを含有するように末端トランスフェラーゼ（ＴｄＴ）で処理される。いくつかの実施形態では、ＴｄＴによってＧテールを加えることができる。いくつかの実施形態では、末端修復されたｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡは任意の既知の制限酵素（例えば、Ｓａｕ３Ａ酵素など）による部分的消化を使用して、オーバーハング末端を含有するように処理される。

【０７８１】
いくつかの実施形態では、ＤＮＡ断片の脱リン酸化はアルカリホスファターゼのような熱不安定性ホスファターゼによって実施することができる。市販の例には、ＡＰｅｘ（商標）熱不安定性アルカリホスファターゼ、ＮＴＰｈｏｓ（商標）熱不安定性ホスファターゼ、ＫＴ（商標）熱不安定性ホスファターゼ及びエビのアルカリ性ホスファターゼ（ＳＡＰ）が挙げられる。
【０７８２】
いくつかの実施形態では、内部ＤＮＡ損傷は、ＤＮＡ断片の内部損傷を修復してもよい１以上の修復酵素によって修復されてもよい。例には、Ｔａｑ　ＤＮＡリガーゼ、エンドヌクレアーゼＩＶ、Ｂｓｔ　ＤＮＡポリメラーゼＦｐｇ、ウラシル－ＤＮＡグリコラース（ＵＤＧ）、Ｔ４　ＰＤＧ及びエンドヌクレアーゼＶＩＩＩが挙げられる。いくつかの実施形態では、前述の全ての酵素が使用されてもよい。前述の酵素の市販のカクテル（例えば、ＰｒｅＣＲ酵素キット）が使用されてもよく、または任意の組み合わせで１以上の個々の酵素を加えることによってカクテルを調製してもよい。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ内部損傷修復は実施されなくてよい。
【０７８３】
いくつかの実施形態では、ｄＡテーリングのための内部ＤＮＡ損傷修復、末端修復、及び末端転移酵素（ＴｄＴ）は単一の工程及び単一の反応混合物にて実施されてもよい。いくつかの実施形態では、市販のキット、例えばＰｒｅＣＲ酵素キットまたはＮＥＢ製のクイック平滑キットを当該一工程反応に使用することができる。
【０７８４】
いくつかの実施形態では、ＤＮＡ末端修復は１以上の末端修復酵素を使用することによって行われて、平滑末端ＤＮＡ断片を作り出してもよい。当該酵素には、３’－５’エキソヌクレアーゼ、５’－３’ＤＮＡポリメラーゼ（例えば、クレノウ断片）、及び５’ＦＬＡＰエンドヌクレアーゼが挙げられてもよい。
【０７８５】
いくつかの実施形態では、ｄＡテーリングのためのＤＮＡ末端修復、５’リン酸化、及び末端転移酵素（ＴｄＴ）を単一の工程及び単一の反応混合物で実施して、３’オーバーハング末端がある５’リン酸化されている、例えば、５’リン酸化され、３’ｄＡテールのｄｓＤＮＡ断片を生成してもよい。いくつかの実施形態では、市販のキット、例えばＮＥＢ製のＮｅｘｔ　Ｕｌｔｒａ　ＩＩ　Ｅｎｄ　ｒｅｐａｉｒ／ｄＡ－ｔａｉｌｉｎｇキットを当該一工程反応に使用することができる。
【０７８６】
いくつかの実施形態では、本開示は、以下の反応：脱リン酸化、内部ＤＮＡ損傷修復、平滑末端生成、５’末端リン酸化、及び３’オーバーハング生成のそれぞれに対して、単一の混合酵素及び試薬に組み合わせることによって、適切な量の断片化ＤＮＡ試料を「一工程で末端修復」することができることを企図する。この一工程の単一反応プロセスは、５’リン酸化末端及び３’オーバーハングを有する、末端修復された２本鎖ＤＮＡ断片を生成する。いくつかの実施形態では、３’オーバーハングはｄＡテールを含む。
【０７８７】
いくつかの実施形態では、末端修復することができるＤＮＡの量は任意の好適な量であることができる。いくつかの実施形態では、末端修復されるＤＮＡの量は、１ｎｇ～５００ｎｇの間、５ｎｇ～４００ｎｇの間、１０ｎｇ～３００ｎｇの間、１５ｎｇ～２５０ｎｇの間、または２０ｎｇ～２００ｎｇの間である。いくつかの実施形態では、末端修復されるＤＮＡの量は２０ｎｇ～５０ｎｇの間である。
【０７８８】
いくつかの実施形態では、ＤＮＡ末端修復は実施例１１の方法に従って実施される。
【０７８９】
アダプター連結
いくつかの実施形態では、連結工程は、アダプターモジュールを末端修復ｃｆＤＮＡに

連結して「タグ付き」ｃｆＤＮＡライブラリーを生成することを含む。いくつかの実施形態では、複数のアダプターは１以上の試料由来の末端修復されたｄｓＤＮＡ分子に連結され（多重化）、その結果、ｄｓＤＮＡ分子の５’末端にアダプターが結合される。いくつかの実施形態では、連結反応体積は１００μＬ未満である。いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きＤＮＡ断片を単離し、１００μＬ未満の反応体積で洗浄する。図５は、アダプター連結プロセスの一実施形態の説明図である。

【０７９０】

いくつかの実施形態では、単一アダプターモジュールを採用する。いくつかの実施形態では、２、３、４、または５のアダプターモジュールを採用する。いくつかの実施形態では、同一配列のアダプターモジュールを断片化した末端修復ＤＮＡの各末端に連結する。

【０７９１】

いくつかの実施形態では、本開示の１以上のアダプターの連結は当業者に既知の方法によって実施されてもよい。

【０７９２】

いくつかの実施形態では、本開示の１以上のアダプターは平滑末端を含む末端修復されたｃｆＤＮＡに連結される。いくつかの実施形態では、本開示の１以上のアダプターは、採用される連結方法に適切である相補性の末端を含む末端修復ｃｆＤＮＡに連結される。いくつかの実施形態では、本開示の１以上のアダプターは３’オーバーハングを含む末端修復ｃｆＤＮＡに連結される。

【０７９３】

いくつかの実施形態では、アダプター及びＤＮＡ断片は、連結緩衝液、試薬及び連結酵素、例えば、ＤＮＡリガーゼ（例えば、Ｔ４リガーゼまたは Ｔａｑリガーゼ）及び／またはＲＮＡリガーゼと混合され得る。そのようなリガーゼは、ＤＮＡ断片の５’末端に上記のような連結鎖を連結するのに使用することができる。

【０７９４】

いくつかの実施形態では、アダプターの連結鎖は、連結鎖の３’末端オーバーハングとＤＮＡ断片の３’オーバーハングとの相補性を介して、単一工程でｄｓＤＮＡ断片の５’末端に連結する一方で、非連結鎖はＤＮＡ断片の３’末端に結合されないままである。

【０７９５】

いくつかの実施形態では、連結工程は、アダプターをｄｓＤＮＡ断片に連結して、アダプター／ｄｓＤＮＡ断片の複合体を生成することを含む。いくつかの実施形態では、単一アダプターが採用される。いくつかの実施形態では、２、３、４、または５のアダプターモジュールが採用される。いくつかの実施形態では、同一配列のアダプターモジュールを断片化した末端修復ＤＮＡの各末端に結合させる。

【０７９６】

いくつかの実施形態では、同じアダプターをＤＮＡ断片の双方の末端に結合させる。いくつかの実施形態では、異なるアダプターをｄｓＤＮＡ断片の各末端に結合させる。

【０７９７】

いくつかの実施形態では、連結工程は：

（ａ）複数のアダプターを複数のｄｓＤＮＡ断片と連結して、複数のアダプター／ｄｓＤＮＡの複合体を生成すること、その際、アダプターは本開示におけるアダプターのいずれか１つであることと；

（ｂ）工程（ａ）からのアダプター／ＤＮＡの複合体を１以上の酵素と接触させて、複数の隣接するアダプタータグ付きＤＮＡ断片を含むアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを形成することと；を含む。

【０７９８】

いくつかの実施形態では、工程（ｂ）におけるアダプター／ＤＮＡの複合体は、連結鎖を鋳型として使用するＤＮＡポリメラーゼ伸長によって、隣接する二本鎖アダプタータグ付きＤＮＡ断片となる。

【０７９９】

いくつかの実施形態では、未結合の非連結鎖は、連結鎖を鋳型として使用するＤＮＡ断片の５’－３’ポリメラーゼ伸長によって連結鎖から解離される。いくつかの実施形態では、非連結鎖は任意で、ｄｓＤＮＡ断片の５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を防止する修飾をその３’末端に含んでもよい。

【０８００】

いくつかの実施形態では、非連結鎖は、鋳型としての連結鎖及びニック閉鎖のためのＤＮＡリガーゼを使用して、ＤＮＡポリメラーゼのニック修復（ニックトランスレーション）によってＤＮＡ断片の３’末端に連結される。

【０８０１】

いくつかの実施形態では、ｄｓＤＮＡ断片は、無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）、ゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）、相補性ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）、ミトコンドリアＤＮＡ、またはメチル化ＤＮＡ、または脱メチル化ＤＮＡである。

【０８０２】

いくつかの実施形態では、複数のｄｓＤＮＡ断片は複数のアダプターで連結する前に末端修復される。

【０８０３】

いくつかの実施形態では、複数のｄｓＤＮＡ断片は、ローパス全ゲノムライブラリー、アンプリコンライブラリー、全エキソームライブラリー、ｃＤＮＡライブラリー、またはメチル化ＤＮＡライブラリーから成るリストから選択されるライブラリーから得られる。

【０８０４】

いくつかの実施形態では、複数のｄｓＤＮＡ断片は、無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）、ゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）、相補性ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）、ミトコンドリアＤＮＡ、またはメチル化ＤＮＡ、または脱メチル化ＤＮＡを含む。

【０８０５】

いくつかの実施形態では、複数のｄｓＤＮＡ断片は試験試料から単離され、または生成され；その際、試験試料は、羊水試料、血液試料、皮膚試料、体毛試料、毛包試料、唾液試料、粘液試料、汗試料、涙液試料、上皮組織試料、尿試料、精液試料、精漿試料、血清試料、前立腺液試料、前射精液（Ｃｏｗｐｅｒ’ｓ液）試料、眼液試料、排泄物試料、生検試料、腹水試料、脳脊髄液試料、リンパ液試料、組織抽出物試料、糞便試料、及びホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）試料から成る群から選択される生体試料を含む。

【０８０６】

いくつかの実施形態では、複数のｄｓＤＮＡ断片は、全ゲノムライブラリー、アンプリコンライブラリー、全エキソームライブラリー、ｃＤＮＡライブラリー、またはメチル化ＤＮＡライブラリーから成るリストから選択されるライブラリーから得られる。

【０８０７】

いくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドはｄｓＤＮＡ断片の５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を妨げる修飾をその３’末端にて含む。

【０８０８】

いくつかの実施形態では、複数のｄｓＤＮＡ断片は、キナーゼ／リガーゼ連結法における工程（ｃ）の前に損傷修復される。

【０８０９】

いくつかの実施形態では、ＤＮＡ損傷は、脱アミノ化シトシン（ウラシル）、脱塩基部位、Ｏ６ＭｅＧへのグアニンのメチル化、１以上のＤＮＡニック、１以上のＤＮＡギャップ、またはチミンダイマーである。

【０８１０】

いくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは、連結鎖オリゴヌクレオチドよりも短く、且つ連結鎖オリゴヌクレオチドのアンカー領域に少なくとも部分的に相補性であるアンカー領域を含む。いくつかの実施形態では、非連結鎖オリゴヌクレオチドは１０ｂｐより短い。いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは８ｂｐである。

【０８１１】

いくつかの実施形態では、アダプター連結時間は連結に好適な任意の時間であることができる。いくつかの実施形態では、時間は少なくとも約５分である。いくつかの実施形態では、この時間は約５分～約７２時間の間である。いくつかの実施形態では、この時間は約５分～約２時間の間である。いくつかの実施形態では、連結時間は約１時間未満、約３０分未満、約１５分未満、または約１０分未満である。

【０８１２】

いくつかの実施形態では、アダプター連結時間は連結に好適な任意の時間であることができる。いくつかの実施形態では、時間は少なくとも５分である。いくつかの実施形態では、時間は５分～７２時間の間である。いくつかの実施形態では、時間は５分～２時間の間である。いくつかの実施形態では、連結時間は１時間未満、３０分未満、１５分未満、または１０分未満である。

【０８１３】

いくつかの実施形態では、アダプター連結体積は自動化及び試料取り扱いロボティクスに好適な体積である。いくつかの実施形態では、反応体積は、約１μＬ～約１０００μＬの間、約１μＬ～約３５０μＬの間、約１μＬ～約２００μＬの間、約１μＬ～約１００μＬの間、約１μＬ～約５０μＬの間、約５μＬ～約２５μＬの間、約１０μＬ～約４０μＬの間、約２０μＬ～約４０μＬの間である。いくつかの実施形態では、反応体積は約１００μＬである。一実施形態では、体積は約３０μＬである。

【０８１４】

いくつかの実施形態では、アダプター連結体積は自動化及び試料取り扱いロボティクスに好適な体積である。いくつかの実施形態では、反応体積は、１μＬ～１０００μＬの間、１μＬ～３５０μＬの間、１μＬ～２００μＬの間、１μＬ～１００μＬの間、１μＬ～５０μＬの間、５μＬ～２５μＬの間、１０μＬ～４０μＬの間、２０μＬ～４０μＬの間である。いくつかの実施形態では、反応体積は１００μＬである。一実施形態では、体積は３０μＬである。

【０８１５】

いくつかの実施形態では、アダプター連結は、自動化及び／または高スループット処理を可能にするのに好適な、チューブのストリップまたはマイクロタイタープレートウェルまたは任意の他の形式で行うことができる。

【０８１６】

いくつかの実施形態では、アダプターの量は任意の適切な濃度とすることができる。いくつかの実施形態では、アダプターの濃度は少なくとも０．０１μＭである。いくつかの実施形態では、アダプターの濃度は、約０．０１μＭ～約２００μＭの間、約０．０１μＭ～約５０μＭの間、約０．１μＭ～約５０μＭの間、約０．２μＭ～約２０μＭの間、約０．２μＭ～約１０μＭの間、約１μＭ～約１０μＭの間、または約２μＭ～約８μＭの間である。いくつかの実施形態では、アダプター濃度は少なくとも約２μＭである。いくつかの実施形態では、アダプター濃度は少なくとも約５μＭである。

【０８１７】

いくつかの実施形態では、アダプターの濃度は、０．０１μＭ～２００μＭの間、０．０１μＭ～５０μＭの間、０．１μＭ～５０μＭの間、０．２μＭ～２０μＭの間、０．２μＭ～１０μＭの間、１μＭ～１０μＭの間、または２μＭ～８μＭの間である。いくつかの実施形態では、アダプター濃度は少なくとも２μＭである。いくつかの実施形態では、アダプター濃度は５μＭである。

【０８１８】

いくつかの実施形態では、連結反応混合物は約１０℃～約３０℃の間の温度でインキュベートすることができる。いくつかの実施形態では、連結反応混合物は約２０℃でインキュベートすることができる。

【０８１９】

いくつかの実施形態では、連結反応混合物は１０℃～３０℃の間の温度でインキュベートすることができる。いくつかの実施形態では、連結反応混合物は２０℃でインキュベー

トすることができる。
【０８２０】
いくつかの実施形態では、連結後に、アダプタータグ付きＤＮＡ分子を単離し、及び洗浄することができる。これは、Ａｍｐｕｒｅ　ＸＰ（Ｂｅｃｋｍａｎ）またはＳｐｅｃｔｒａミックスのようなビーズを使用して、アダプターＤＮＡ分子がビーズに結合したままであり、汚染物質が洗い流されるように行うことができる。溶出された清澄上清は複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片を含む単離されたライブラリーを含有する。ライブラリーを含有する上清を、増幅のために新規のＰＣＲチューブまたはマイクロリットルプレートウェルに移すことができる。
【０８２１】
いくつかの実施形態では、本開示のアダプターは実施例１１の方法に従って連結される。
【０８２２】
いくつかの実施形態では、アダプターはキナーゼ／リガーゼ連結法を使用してｄｓＤＮＡ断片に連結されてもよい。当該キナーゼ／リガーゼ連結法は、（ａ）ｄｓＤＮＡ断片を１以上の末端修復酵素で処理して末端修復されたｄｓＤＮＡ断片を生成する工程と；（ｂ）二本鎖ＤＮＡプレアダプターの連結鎖を末端修復されたＤＮＡ断片の各鎖の３’末端に連結させてプレアダプター／末端修復ＤＮＡの複合体を形成する工程と；（ｃ）プレアダプター／末端修復ＤＮＡの複合体由来の非連結鎖オリゴヌクレオチドを修復オリゴヌクレオチドで置き換える工程と；（ｄ）キナーゼ／リガーゼ戦略を使用して修復オリゴヌクレオチドを末端修復されたＤＮＡ断片の５’末端に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ複合体を形成する工程と；（ｅ）アダプター／末端修復されたＤＮＡの複合体を１以上の酵素で処理して１以上の隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を含むアダプタータグ付きライブラリーを形成し、その際、各隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片はｄｓＤＮＡ断片の各末端に連結されたアダプターを含む工程と；任意で（ｆ）工程（ｅ）のアダプタータグ付きライブラリーを増幅して１以上の増幅された隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を含む増幅されたアダプタータグ付きライブラリーを生成する工程とを含む。
【０８２３】
キナーゼ／リガーゼ戦略が使用されるいくつかの実施形態では、部分的に二本鎖のＤＮＡプレアダプター構造が、連結前にＤＮＡ分子に結合され、プレアダプター／ＤＮＡの複合体を形成する。当該ｄｓＤＮＡプレアダプター構造は連結鎖オリゴヌクレオチド及び非連結鎖オリゴヌクレオチドを含む。
【０８２４】
いくつかの実施形態では、プレアダプター構造における非連結鎖オリゴヌクレオチドは、プレアダプター／ＤＮＡの複合体から解離し、修復オリゴヌクレオチドに置き換えられる。いくつかの実施形態では、修復オリゴヌクレオチドは、連結鎖オリゴヌクレオチドのアンカー領域と少なくとも部分的に相補性であるアンカー領域を含む。特定の実施形態では、修復オリゴヌクレオチドはさらに、アダプターモジュールを含み、且つ連結鎖オリゴヌクレオチドの５’領域と少なくとも部分的に相補性である。
【０８２５】
いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチド及び修復オリゴヌクレオチドのそれぞれはさらに、ＰＣＲプライマー結合部位を含み、その際、連結鎖オリゴヌクレオチドのＰＣＲプライマー結合部位は、修復オリゴヌクレオチドのＰＣＲプライマー結合部位と相補性ではない。特定の実施態様では、連結鎖オリゴヌクレオチドのＰＣＲプライマー結合部位に結合するプライマーは、修復オリゴヌクレオチドのＰＣＲプライマー結合部位に実質的に結合しない。
【０８２６】
いくつかの実施形態では、ゲノムＤＮＡ断片を複数のアダプターに結合させることは、末端修復されたｃｆＤＮＡまたは細胞ＤＮＡの断片を、アンカー領域の少なくとも一部を

含むオリゴヌクレオチドに結合させる工程を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは全アンカー領域を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、非連結鎖とハイブリッド形成した５’リン酸化連結鎖を含むＤＮＡ二重鎖であり、その際、非連結鎖はその３’末端にて化学修飾によって結合が阻止され、且つ連結鎖はゲノムＤＮＡ断片に結合される。いくつかの実施形態では、つぎにアンカー領域の少なくとも一部と結合するＤＮＡ断片を、完全長アダプター配列をコードするＤＮＡオリゴヌクレオチドとアニーリングする。いくつかの実施形態では、１以上のポリヌクレオチドキナーゼ、１以上のＤＮＡリガーゼ、及び／または１以上のＤＮＡポリメラーゼをゲノムＤＮＡ断片、及び完全長アダプター配列をコードするＤＮＡオリゴヌクレオチドに加える。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドキナーゼはＴ４ポリヌクレオチドキナーゼである。いくつかの実施形態では、ＤＮＡリガーゼはＴａｑ　ＤＮＡリガーゼである。いくつかの実施形態では、ＤＮＡポリメラーゼはＴａｑポリメラーゼである。いくつかの実施形態では、ＤＮＡポリメラーゼは完全長Ｂｓｔポリメラーゼである。

【０８２７】

いくつかの実施形態では、ｄｓＤＮＡ断片を１以上の末端修復酵素で処理することはｄｓＤＮＡ断片から末端リン酸残基を除去することを含む。

【０８２８】

いくつかの実施形態では、ｄｓＤＮＡプレアダプターは複数のｄｓＤＮＡプレアダプターから選択される。

【０８２９】

いくつかの実施形態では、修復オリゴヌクレオチドは、連結鎖オリゴヌクレオチドのアンカー領域と少なくとも部分的に相補性であるアンカー領域を含む。いくつかの実施形態では、修復オリゴヌクレオチドはさらに、アダプターモジュールを含み、且つ連結鎖オリゴヌクレオチドの５’領域と少なくとも部分的に相補性である。いくつかの実施形態では、修復オリゴヌクレオチドは連結鎖オリゴヌクレオチドよりも長く、且つ連結鎖オリゴヌクレオチドのアンカー領域と少なくとも部分的に相補性であるアンカー領域と、ＩＤ領域と、ＰＣＲプライマー結合部位とを含む。

【０８３０】

いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは修復オリゴヌクレオチドよりも短く、且つ修復鎖オリゴヌクレオチドのアンカー領域と少なくとも部分的に相補性であるアンカー領域を含む。いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは１５ｂｐより短い。いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチドは１０ｂｐである。

【０８３１】

いくつかの実施形態では、連結鎖オリゴヌクレオチド及び修復オリゴヌクレオチドのそれぞれはさらに、ＰＣＲプライマー結合部位を含み、その際、連結鎖オリゴヌクレオチドのＰＣＲプライマー結合部位は、修復オリゴヌクレオチドのＰＣＲプライマー結合部位と相補性ではない。いくつかの実施態様では、連結鎖オリゴヌクレオチドのＰＣＲプライマー結合部位に結合するプライマーは、修復オリゴヌクレオチドのＰＣＲプライマー結合部位に実質的に結合しない。

【０８３２】

いくつかの実施形態では、工程（ｅ）のキナーゼ／リガーゼ戦略は、末端修復されたＤＮＡ断片の各鎖の５’末端ヌクレオチドにリン酸基を付加し、末端修復されたＤＮＡ断片の各鎖のリン酸化された５’末端に修復オリゴヌクレオチドを連結することを含む。いくつかの実施形態では、キナーゼ／リガーゼ戦略は末端修復されたＤＮＡ断片の５’末端ヌクレオチドの除去を含まない。

【０８３３】

いくつかの実施形態では、キナーゼ／リガーゼ連結法の工程（ｃ）は第１の温度で行われ、工程（ｄ）は第２の温度で行われ、その際、第２の温度は第１の温度よりも高く、非連結鎖オリゴヌクレオチドの連結鎖オリゴヌクレオチドからの置換を生じる。いくつかの実施形態では、第１の温度は２２℃以下であり、第２の温度は３７℃以上である。

【０８３４】
いくつかの実施形態では、キナーゼ連結法の工程（ｇ）における増幅のために１以上のプライマーが使用される。いくつかの実施形態では、１以上のプライマーは、アダプターモジュールのプライマー認識部位とハイブリッド形成するユニバーサルプライマー結合配列を含む。
【０８３５】
いくつかの実施形態では、各ｄｓＤＮＡプレアダプターは、（１）アダプターモジュールを含む連結鎖オリゴヌクレオチド及び（２）連結鎖オリゴヌクレオチドの５’末端の領域とハイブリッド形成し、且つそれと二本鎖を形成することができる非連結鎖オリゴヌクレオチドを含み、その際、連結鎖オリゴヌクレオチドのアンカー領域は非連結鎖オリゴヌクレオチドと少なくとも部分的に相補性であるポリヌクレオチド配列を含む。
【０８３６】
ＤＮＡライブラリーの増幅
いくつかの実施形態では、アダプタータグ付き親ライブラリーが生成される。図５はアダプタータグ付き親ライブラリーを生成するプロセスの一実施形態を示す。
【０８３７】
いくつかの実施形態では、ＤＮＡ断片の５’末端に結合した連結鎖を鋳型として使用して３’ｄＡテールのＤＮＡ分子をＤＮＡ断片の３’末端から伸長し、増幅に好適である隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を作製し、非連結鎖は連結鎖から解離される。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ断片の３’末端の当該伸長はＰＣＲ増幅と同時に発生してもよい。「隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片」の集まりはアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーである。いくつかの実施形態では、伸長反応体積は１００μＬ未満である。
【０８３８】
いくつかの実施形態では、アダプタータグ付き親ライブラリーはアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーである。
【０８３９】
いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーは、アダプターの増幅領域内のプライマー結合部位を認識するプライマーでＰＣＲ増幅され、増幅されたアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを生じる。増幅されたアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーは、ライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）または増幅されたライブラリー（ＬＩＢ　ＡＭＰ）とも呼ばれてもよい。本開示では、「増幅されたアダプタータグ付きＤＮＡライブラリー」、「増幅されたタグ付きＤＮＡライブラリー」及び「ＬＩＢ　ＡＭＰ」は相互交換可能に使用されてもよい。
【０８４０】
いくつかの実施形態では、増幅反応体積は１００μＬ未満である。いくつかの実施形態では、増幅されたタグ付きＤＮＡライブラリーをさらに単離し、１００μＬ未満の体積で洗浄する。いくつかの実施形態では、単離または精製されたＬＩＢ　ＡＭＰは、増幅後標的捕捉ライブラリー（ＴＣ　ＬＰＡ）と呼ばれる。
【０８４１】
いくつかの実施形態では、アダプタータグ付き親ライブラリーは増幅されたアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーである。いくつかの実施形態では、アダプタータグ付き親ライブラリーはＴＣ　ＬＰＡである。
【０８４２】
開示された方法のいくつかの実施形態では、先ずｄｓＤＮＡ断片の５’－３’伸長が行われて、隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を生成し、次いで、当該隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を増幅して、複数の隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を含むアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを生成する。
【０８４３】
いくつかの実施形態では、単一の工程にてアダプタータグ付きｄｓＤＮＡライブラリー

を生成するために、隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を形成するｄｓＤＮＡ断片を５’－３’伸長する第１の工程と、当該隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を増幅する第２の工程とを組み合わせる。ＤＮＡライブラリーにおけるアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片は、同じ増幅領域を含む両端のアダプターに隣接させてもよく、その際、増幅領域における配列は、ＰＣＲ増幅プライマーのような単一の増幅プライマーにより認識可能な増幅プライマー結合部位として機能することができる。

【０８４４】

いくつかの実施形態では、未結合の非連結鎖は、連結鎖を鋳型として使用するＤＮＡ断片の５’－３’ポリメラーゼ伸長によって連結鎖から解離する。いくつかの実施形態では、非連結鎖は任意で、ｄｓＤＮＡ断片の５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を防止する修飾をその３’末端に含んでもよい。

【０８４５】

特定の実施形態では、非連結鎖は、鋳型としての連結鎖及びニック閉鎖のためのＤＮＡリガーゼを使用して、ＤＮＡポリメラーゼのニック修復によってＤＮＡ断片の３’末端に連結される。

【０８４６】

いくつかの実施形態では、本開示の方法は、ＤＮＡクローンライブラリーまたはＤＮＡクローンのライブラリーを生成するためにＤＮＡライブラリーの増幅を含む。ＤＮＡライブラリーの各分子は、末端修復されたＤＮＡ断片の各末端に連結されるアダプターを含んでもよく、各アダプターは１以上のＰＣＲプライマー結合部位を含む。一実施形態では、異なるアダプターを末端修復ＤＮＡの異なる末端に連結する。

【０８４７】

一実施形態では、同じアダプターをＤＮＡの双方の末端に連結する。末端修復ＤＮＡの双方の末端への同一アダプターの連結によって、単一プライマー配列によるＰＣＲ増幅が可能になる。いくつかの実施形態では、アダプターが連結したＤＮＡライブラリーの一部を、単一プライマー配列駆動増幅による標準的なＰＣＲ手法を使用して増幅することができる。一実施形態では、単一プライマー配列は約２５ヌクレオチドであり、任意で、標準的なイオン強度条件下で５５℃以上の予測されたＴｍを持つ。

【０８４８】

いくつかの実施形態では、ＤＮＡポリメラーゼを使用する。ＤＮＡポリメラーゼは、ＰＣＲまたは温度自動調節／等温の増幅のために好熱性であってもよい。いくつかの実施形態では、試薬を含有するマスターミックス（ＭＭ）と、５’－３’伸長のための酵素及び後続の増幅のための酵素とを組み合わせる。そのような伸長及び増幅のための市販の酵素及び試薬キットには、例えばＮＥＢ Ｕｌｔｒａ ＩＩ ２Ｘ ＰＣＲ Ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ キット（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ）、Ｈｉ－Ｆｉｄｅｌｉｔｙ Ｑ５酵素ＰＣＲ（ＮＥＢ）、ＫＡＰＡ（Ｒｏｃｈｅ）、ＫＡＰＡ ２Ｘ（Ｒｏｃｈｅ）、ＴｒｕＳｅｑ Ｎａｎｏ（ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ）及びＡｍｐｌｉＴａｑ（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ）が挙げられる。図２２及び図２３では、酵素１はＫＡＰＡ酵素を指してもよく、酵素２はＨｉ－Ｆｉｄｅｌｉｔｙ Ｑ５酵素を指してもよい。

【０８４９】

いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーの一部を、単一プライマー配列駆動増幅による標準的なＰＣＲ手法を使用して増幅するであろう。一実施形態では、単一プライマー配列は約２５ヌクレオチドであり、任意で、標準的なイオン強度条件下にて５５℃以上の予測されたＴｍを持つ。いくつかの実施形態では、単一の増幅プライマーは、アダプターモジュールの増幅領域内の配列に対して相補性である。一実施形態では、単一増幅プライマーは、ＴＧＣＡＧＧＡＣＣＡＧＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡの配列（配列番号５）を含む。

【０８５０】

いくつかの実施形態では、増幅は、当該技術分野にて既知の任意の増幅、例えば、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配

列に基づく増幅）、ＳＤＡ（鎖置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル増幅）、ＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）によって行われ得る。

【０８５１】

いくつかの実施形態では、増幅の間、いくつかのアンプリコンは、断片の両端に連結されたアダプターに起因してステムループ構造を形成するであろう。この戦略は、非常に短い生成物（例えば、プライマーダイマー）が増幅されて得られるライブラリーにバイアスをかけることを防止するのに効率的である。

【０８５２】

いくつかの実施形態では、最初の３分間のインキュベートサイクルを実行して、連結鎖で鋳型化された伸長によって複数の隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を形成する。

【０８５３】

いくつかの実施形態では、複数の隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片にてＰＣＲ増幅を行って増幅されたタグ付きＤＮＡライブラリーを形成する。

【０８５４】

いくつかの実施形態では、複数の隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片のピコグラムが、マイクログラムのＤＮＡクローン（アダプタータグ付きＤＮＡライブラリー）に増幅され、１０，０００倍の増幅を意味する、増幅産物の量は、当該技術分野で既知の方法、例えば、Ｑｕｂｉｔ２．０またはＮａｎｏｄｒｏｐ装置での定量を使用して測定することができる。いくつかの実施形態では、増幅されたライブラリーの量は、ＤＮＡ（アッセイ）の濃度を決定するのに使用される標準的なアッセイ、例えば、Ｑｕｂｉｔ２．０を使用するアッセイによって測定することができる。図９、図１０、図１１、図１４及び図１５における「アッセイ」はそのような標準的なアッセイを指してもよい。いくつかの実施形態では、市販のキット、例えば、Ｑｕｂｉｔ（商標）ｄｓＤＮＡ　ＨＳアッセイキット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（商標））を定量に使用する。

【０８５５】

いくつかの実施形態では、アダプタータグ付きライブラリーは実施例１１の方法に従って増幅される。

【０８５６】

いくつかの実施形態では、増幅されたアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを、ＤＮＡ精製ビーズを使用して単離し、洗浄緩衝液、例えば、トリス　－　ＥＤＴＡ緩衝液（ＴＥＺ）ｐＨ８．０で洗浄することができる。澄明な上清を、新規のＰＣＲチューブ、またはマイクロタイタープレートのウェル、または自動化及び／または高スループットに好適な任意の他の形式に移すことができる。

【０８５７】

一般的に、ライブラリーを増幅するには可能な限り少数のＰＣＲサイクルを使用することが好ましい。ワークフロー時間の短縮に加えて、これもＰＣＲ中にバイアスが導入されるリスクを制限する。いくつかの実施形態では、本開示の方法は、末端修復及びアダプター連結の効率を高めてもよいので、配列決定または他の中間の下流のワークフローに必要なライブラリー収率を達成するために必要とされるＰＣＲサイクルがさらに少なくなる。開示されているワークフロー及びプロセスは、所要時間の短縮、試薬の数の減少、使用される機器／機械の数の減少、及び経費の削減などの利点を提供してもよい。

【０８５８】

これらの上記のプロセス、アダプター及びタグ付きＤＮＡライブラリーを使用して、任意の試験試料に存在する目的の遺伝子座について改善されている捕捉プローブライブラリーを作製することができる。

【０８５９】

いくつかの実施形態では、ＤＮＡライブラリーの増幅は実施例１１の方法に従って実施される。

【０８６０】

第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーを生成すること
いくつかの実施形態では、アダプタータグ付き親ライブラリーは、第１のアダプタータグ付きライブラリーと第２のアダプタータグ付きライブラリーとに分割される。いくつかの実施形態では、アダプタータグ付き親ライブラリーは２を超えるアダプタータグ付きライブラリーに分割される。いくつかの実施形態では、第１のアダプタータグ付きライブラリーはＴＣ　ＬＰＡ（増幅後標的捕捉ライブラリー）である。いくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡは第２のアダプタータグ付きライブラリーを生成するのに使用される。いくつかの実施形態では、第２のアダプタータグ付きライブラリーは、ＴＣ　ＬＰＡの１０倍希釈を作り出すことによって生成される。いくつかの実施形態では、第２のアダプタータグ付きライブラリーは、増幅後全ゲノムライブラリー（ＷＧ　ＬＰＡ）と呼ばれる。

【０８６１】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブは、ビオチン化パートナーオリゴヌクレオチドと少なくとも部分的にハイブリッド形成した第１の領域と、第１のアダプタータグ付きライブラリーにおける特定領域に対して相補性を有する配列を含む第２の領域とを含む。捕捉プローブの第２の領域は第１のアダプタータグ付きライブラリーにおける特定の標的領域とハイブリッド形成して１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を形成してもよい。いくつかの実施形態では、標的領域は、アダプタータグ付きライブラリーにおけるＤＮＡ分子のゲノム領域であり、当該ＤＮＡ分子に結合されたアダプター内の領域を含まない。いくつかの実施形態では、捕捉プローブの第１の領域はライブラリータグを含む。

【０８６２】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体は磁気ストレプトアビジンビーズを使用して、ハイブリッド形成していない断片から分離される。

【０８６３】
いくつかの実施形態では、捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体はビーズに結合される。いくつかの実施形態では、複合体におけるビーズ担持捕捉プローブは、タグ付きＤＮＡ断片を鋳型として使用して３’末端から伸長され、アダプタータグ付きハイブリッド分子（ハイブリッド分子）を作り出し、その際、各ハイブリッド分子は、捕捉プローブと、捕捉プローブが標的化ＤＮＡ配列とハイブリッド形成した場所から３’であるアダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体とを含む。

【０８６４】
いくつかの実施形態では、分離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体における捕捉プローブは、タグ付きＤＮＡ断片を鋳型として使用して３’末端から伸長され、アダプタータグ付きハイブリッド分子（ハイブリッド分子）を作り出し、その際、各ハイブリッド分子は、捕捉プローブと、捕捉プローブが標的化ＤＮＡ配列とハイブリッド形成した場所から３’であるアダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体とを含む。

【０８６５】
いくつかの実施形態では、ハイブリッド分子は当該技術分野で既知の任意の好適な方法を使用してビーズから遊離される。いくつかの実施形態では、熱変性は磁気ビーズから溶液中にハイブリッド分子を遊離する。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液を添加して磁気ビーズから溶液中にハイブリッド分子を遊離する。遊離されたハイブリッド分子の集まりは標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬ）と呼ばれる。

【０８６６】
いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーはＴＣＬまたはＴＣＬＡである。

【０８６７】
いくつかの実施形態では、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）を含む順行プライマー（ＦＰ）は、ハイブリッド分子内のアダプターモジュールの増幅領域におけるプライマー結合部位とハイブリッド形成し、ハイブリッド分子を鋳型として使用して捕捉プローブを５’→３’伸長して隣接する二本鎖ハイブリッド分子を作る。

【０８６８】

いくつかの実施形態では、隣接する２本鎖ハイブリッド分子におけるＦＰ伸長鎖が変性され、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）を含む逆行プライマー（ＲＰ）が、ハイブリッド分子における組み込まれた捕捉プローブの第１領域にて変性されたＦＰ伸長分子／鎖とハイブリッド形成する。いくつかの実施形態では、ライブラリータグはＲＰのためのプライマー結合部位を含む。

【０８６９】

いくつかの実施形態では、ＲＰはハイブリッド分子を鋳型として使用して５’→３’伸長し、Ｉｌｌｕｍｉｎａ配列決定または当該技術分野で知られている任意の他の方法による配列決定の準備ができている増幅された二本鎖ハイブリッド分子を作製する。

【０８７０】

いくつかの実施形態では、増幅されたハイブリッド分子の各末端は、Ｐ５もしくはＰ７の配列のような配列決定アダプターまたは任意の他の配列決定アダプターを含む。いくつかの実施形態では、配列決定アダプターは配列決定プライマー結合部位を含む。

【０８７１】

いくつかの実施形態では、増幅されたハイブリッド分子の集まりは、増幅された標的捕捉ライブラリーまたは増幅標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）と呼ばれる。

【０８７２】

いくつかの実施形態では、増幅反応体積は１００μＬ未満である。いくつかの実施形態では、増幅されたハイブリッド分子は単離され、洗浄される。

【０８７３】

いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは増幅された標的捕捉ライブラリーである。

【０８７４】

図６は標的捕捉ライブラリーを生成する一実施形態の概略的なプロセスを示す。

【０８７５】

特定の実施形態では、本開示の方法は、タグ付きｃｆＤＮＡライブラリー－捕捉プローブモジュールの複合体を単離することを含む。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ複合体を単離する方法は当業者に周知であり、当業者が適切とみなす任意の方法を本開示の方法と共に採用することができる（Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，２００７－２０１２）。いくつかの実施形態では、ビオチン－ストレプトアビジン単離技術を使用して複合体を単離する。

【０８７６】

いくつかの実施形態では、本開示の方法は、（ａ）ハイブリッド形成に好適な条件下でアダプタータグ付きライブラリーを１以上の捕捉プローブと接触させて、１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を形成すること、その際、各捕捉プローブは、プライマー結合部位を含む第１の領域と、アダプタータグ付きライブラリーの遺伝子座における標的領域とハイブリッド形成することができる第２の領域とを含むことと；（ｂ）工程（ａ）からの１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を単離すること、その際、各単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体が捕捉プローブとアダプタータグ付きＤＮＡ分子とを含むことと；（ｃ）工程（ｂ）からの１以上の単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を酵素処理して１以上のアダプタータグ付きハイブリッド分子（ハイブリッド分子）を生成することとを含み、その際、各ハイブリッド分子は、捕捉プローブまたはその相補体の少なくとも一部と、アダプタータグ付きＤＮＡ分子またはその相補体の少なくとも一部とを含む。

【０８７７】

いくつかの実施形態では、工程ｃ）の酵素処理は、３’－５’エキソヌクレアーゼ活性を有する酵素を使用してｂ）からの１以上の捕捉プローブアダプタータグ付きＤＮＡの複合体に対する３’－５’エキソヌクレアーゼ酵素処理を実施して、一本鎖３’末端を除去することを含む。

【０８７８】
単離したタグ付きＤＮＡライブラリー－捕捉プローブの複合体の３’－５’エキソヌクレアーゼ酵素処理用に種々の酵素を採用することができる。いくつかの実施形態で採用できる、３’－５’エキソヌクレアーゼ酵素活性を示す好適な酵素の例示的な例には、Ｔ４またはエキソヌクレアーゼＩ、ＩＩＩ、Ｖが挙げられるが、これらに限定されない（Ｓｈｅｖｅｌｅｖ　ＩＶ，Ｈｕｂｓｃｈｅｒ　Ｕ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．３（５）：３６４－７６（２００２）も参照のこと）。いくつかの実施形態では、３’－５’エキソヌクレアーゼ活性を含む酵素はＴ４ポリメラーゼである。いくつかの実施形態では、３’－５’エキソヌクレアーゼ酵素活性を示し、プライマー鋳型伸長が可能な酵素を採用することができ、これには、例えば、Ｔ４またはエキソヌクレアーゼＩ、ＩＩＩ、Ｖ（同上）が含まれる。
【０８７９】
いくつかの実施形態では、単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体から一本鎖３’末端を除去することが企図される。いくつかの実施形態では、当該方法は、１本鎖の３’末端を除去するための、単離したタグ付きＤＮＡライブラリー－捕捉プローブの複合体の３’－５’エキソヌクレアーゼ酵素処理を含む。
【０８８０】
いくつかの実施形態では、本開示の方法は、上記または本開示の他の箇所で論じられている３’－５’エキソヌクレアーゼ酵素処理した複合体で配列決定及び／またはＰＣＲを実施することを含む。いくつかの実施形態では、ハイブリッド分子を生成するために、捕捉プローブ分子のテール部分をコピーする。一実施形態では、生成されたハイブリッド分子は、捕捉プローブとハイブリッド形成することができる標的領域と、捕捉プローブテール配列の相補体とを含む。
【０８８１】
特定の実施形態では、工程ｃ）の酵素処理は、アダプタータグ付きＤＮＡ分子を鋳型として利用して捕捉プローブの５’－３’ＤＮＡポリメラーゼ伸長を実施することを含む。
【０８８２】
５’－３’ＤＮＡポリメラーゼ伸長プロセスに好適である酵素は、任意の好熱性で熱安定性のＤＮＡポリメラーゼであることができる。市販のＤＮＡポリメラーゼの例には、高忠実度Ｑ５　ＤＮＡポリメラーゼ（ＮＥＢ）、ＮＥＢＮｅｘｔ　Ｕｌｔｒａ　ＰＣＲ、ＮＥＢＮｅｘｔ　Ｕｌｔｒａ　ＩＩ　ＰＣＲ（ＮＥＢ）、及びＫＡＰＡ　２Ｘ（Ｒｏｃｈｅ）が挙げられるが、これらに限定されない。
【０８８３】
一実施形態では、工程ｃ）の酵素処理は、５’ＦＬＡＰエンドヌクレアーゼ、ＤＮＡ重合、及びＤＮＡリガーゼによるニック閉鎖の共同作用を介して、１以上のハイブリッド捕捉プローブ－アダプタータグ付きＤＮＡ分子を作り出すことを含む。
【０８８４】
特定の実施形態では、方法は、５’ＦＬＡＰエンドヌクレアーゼ、ＤＮＡ重合、及びＤＮＡリガーゼによるニック閉鎖の共同作用を介して、ハイブリッド捕捉プローブ－アダプタータグ付きＤＮＡ標的分子、例えば、タグ付きｃｆＤＮＡ標的分子またはタグ付き細胞ＤＮＡ標的分子を作り出すことを含む。
【０８８５】
特定の実施形態では、遺伝子解析は、ａ）１以上の捕捉プローブを複数のアダプタータグ付きＤＮＡ分子における１以上の標的遺伝子座とハイブリッド形成させて、１以上の捕捉プローブ－アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を形成することと；ｂ）ａ）由来の１以上の捕捉プローブ－アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を単離することと；ｃ）工程ｂ）由来の単離された１以上の捕捉プローブ－アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を酵素処理することと；ｄ）ｃ）由来の酵素処理した複合体でＰＣＲを実施して増幅されたハイブリッド分子を生成すること、その際、各ハイブリッド分子は捕捉プローブの少なくとも一部またはその相補体とアダプタータグ付きＤＮＡ分子の少なくとも一部またはその相補体と

を含むことと；ｅ）ｄ）由来の増幅されたハイブリッド分子について定量的遺伝子解析を実施することとを含む。

【０８８６】

いくつかの実施形態では、当業者に周知である任意の標準的なＰＣＲ反応条件を使用してＰＣＲを実施することができる。いくつかの実施形態では、ｄ）におけるＰＣＲ反応は２つのＰＣＲプライマーを採用する。いくつかの実施形態では、ｄ）におけるＰＣＲ反応は、ハイブリッド分子のアダプター配列内の領域とハイブリッド形成する第１のＰＣＲプライマーを採用する。いくつかの実施形態では、ｄ）におけるＰＣＲ反応は、テール配列の少なくとも一部にとハイブリッド形成する第２のＰＣＲプライマーを採用する。特定の実施形態では、ｄ）におけるＰＣＲ反応は、ハイブリッド分子のアダプター配列内の領域とハイブリッド形成する第１のＰＣＲプライマーを使用し、第２のＰＣＲプライマーはテール配列の少なくとも一部とハイブリッド形成する。いくつかの実施形態では、プライマーの少なくとも１以上のヌクレオチドが標的遺伝子座とハイブリッド形成し、プライマーの少なくとも１以上のヌクレオチドがテール配列とハイブリッド形成するように、第２のプライマーは標的遺伝子座／テール接合部とハイブリッド形成する。

【０８８７】

いくつかの実施形態では、増幅は、ループ介在性等温増幅（ＬＡＭＰ）、全ゲノム増幅（ＷＧＡ）、鎖置換増幅（ＳＤＡ）、ヘリカーゼ依存増幅（ＨＤＡ）、リコンビナーゼポリメラーゼ増幅（ＲＰＡ）、核酸配列に基づく増幅（ＮＡＳＢＡ）、ニッキング酵素増幅反応（ＮＥＡＲ）によるような等温、及びリガーゼ連鎖反応（ＬＣＲ）であることができる。

【０８８８】

いくつかの実施形態では、等温増幅のためのＤＮＡポリメラーゼには、中温反応（２５～４０℃）のためのクレノウ断片、Ｂｓｔ大断片、及びｐｈｉ２９のようなＤＮＡポリメラーゼ、ならびに高温（５０～～６５℃）反応のためのＢｓｔ　ＤＮＡポリメラーゼの大断片が挙げられる。ＬＣＲに好適な酵素には、熱安定性Ｔａｑリガーゼ、及びＴａｑポリメラーゼのような熱安定性ＤＮＡポリメラーゼが挙げられる。

【０８８９】

特定の実施形態では、工程ｄ）から得られる増幅されたハイブリッド分子の配列決定を行い、配列を水平方向に並べる、すなわち、参照配列に対してではなく、互いに対して並べる。いくつかの実施形態では、ａ）からｄ）の工程を１以上の捕捉プローブで１回以上反復する。捕捉プローブは同じであっても異なっていてもよく、標的遺伝子座のいずれかのｃｆＤＮＡ鎖を標的にするように設計することができる。いくつかの実施形態では、捕捉プローブが異なる場合、これらの捕捉プローブは、アダプタータグ付きｃｆＤＮＡライブラリーにおける標的遺伝子座内の重複するまたは隣接する標的配列にてハイブリッド形成する。一実施形態では、高密度捕捉プローブ戦略を使用し、その際、複数の捕捉プローブは標的遺伝子座とハイブリッド形成し、複数の捕捉プローブのそれぞれは、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーにおける標的遺伝子座とハイブリッド形成する任意の他の捕捉プローブの、間にある全ての距離を含めて約５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、１００、２００ｂｐまたはそれ以上の塩基以内の標的遺伝子座とハイブリッド形成する。一実施形態では、高密度捕捉プローブ戦略を使用し、その際、複数の捕捉プローブは標的遺伝子座とハイブリッド形成し、複数の捕捉プローブのそれぞれは、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーにおける標的遺伝子座とハイブリッド形成する任意の他の捕捉プローブの、間にある全ての距離を含めて５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、１００、２００ｂｐまたはそれ以上の塩基以内の標的遺伝子座とハイブリッド形成する。

【０８９０】

いくつかの実施形態では、方法は、標的遺伝子座ごとに２つの捕捉プローブを使用して実施することができ、その際、この一方が標的領域の上流にある「ワトソン」鎖（非コード鎖または鋳型鎖）とハイブリッド形成し、もう一方が標的領域の下流にある「クリック

」鎖（コード鎖または非鋳型鎖）とハイブリッド形成する。

【０８９１】

いくつかの実施形態では、本開示の方法はさらに、任意の数の捕捉プローブ、例えば、標的遺伝子座あたり２、３、４、５、６、７、８、９、または１０以上の捕捉プローブを用いて複数回実施することができ、任意の数のこれらの捕捉プローブは任意の組み合わせでワトソン鎖またはクリック鎖とハイブリッド形成する。いくつかの実施形態では、得られた配列は複数の差異のいずれかを特定するために互いに並べることができる。

【０８９２】

特定の実施形態では、１以上の捕捉プローブを使用する単回の反応で複数の標的遺伝子座を、例えば、１００、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００、１５００、２０００、２５００、３０００、３５００、４０００、４５００、５０００、１００００、５００００、１０００００、５０００００またはそれ以上を調べる。

【０８９３】

いくつかの実施形態では、酵素的な末端修復工程は行われない。いくつかの実施形態では、単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体は直接増幅され、その際、ＤＮＡポリメラーゼは、５’→３’伸長を行ってハイブリッド分子のライブラリーを形成する。いくつかの実施形態では、ハイブリッド分子を含有するライブラリーはさらに、配列決定アダプター（例えば、Ｉｌｌｕｍｉｎａ　ＮｅｘｔＳｅｑ　ＮＧＳ技術のＰ５及びＰ７）を含有する順行及び逆行のプライマーを使用して増幅されて配列決定の準備ができている増幅されたハイブリッド分子の標的化ライブラリーを生成する。

【０８９４】

したがって、酵素的な末端修復工程を省略することによって、開示された方法を使用して、標的化ライブラリーがさらに迅速に生成される。そのようなさらに迅速な方法は、タグ付きＤＮＡライブラリー及び標的化ライブラリーにおけるＤＮＡ断片に存在する目的の遺伝子座の遺伝子解析の改善されたさらに迅速な性能につながる。当業者は、ＤＮＡ改変、例えば、ＳＮＶ、インデル、遺伝子組み換え及びコピー数の変化について遺伝子座を解析できることを認識するであろう。

【０８９５】

いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬ）であり、実施例１２の方法に従って生成される。いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーは標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）であり、実施例１２の方法に従って生成される。

【０８９６】

種々の実施形態では、ゲノムＤＮＡ、例えば、ゲノム細胞ＤＮＡまたはｃｆＤＮＡの遺伝子解析の方法は、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーの複数の遺伝子座の遺伝子解析を含む。いくつかの実施形態では、遺伝子解析は、増幅されたライブラリーを作り出すためのアダプタータグ付きＤＮＡ分子の増幅と；増幅されたライブラリーの配列決定と；得られる配列リードのバイオインフォマティック解析とを含む。

【０８９７】

いくつかの実施形態では、順行プライマー（ＦＰ）はＤＮＡ分子に結合された５’アダプターの増幅領域内のプライマー結合部位とハイブリッド形成し、逆行プライマー（ＲＰ）はＤＮＡ分子に結合された３’アダプターの増幅領域内のプライマー結合部位とハイブリッド形成し、プライマーを使用したＰＣＲによってＤＮＡ分子を増幅させ、または伸長させる。

【０８９８】

いくつかの実施形態では、ＦＰ及びＲＰはそれぞれＡＣＡ結合部位を有する。ＦＰ及びＲＰのＡＣＡ結合部位は、アダプタータグ付きＤＮＡ分子の５’末端にあるアダプターの増幅領域内の「ＡＣＡ配列」とハイブリッド形成してもよい。アダプターにおける「ＡＣＡ配列」はヌクレオチドＡＣＡを含む配列とハイブリッド形成してもよい。いくつかの実

施形態では、ＡＣＡ結合部位を有するプライマーはライブラリープライマーまたはＡＣＡプライマーと呼ばれる。いくつかの実施形態では、ライブラリープライマーは配列番号５の配列を含む。

【０８９９】

いくつかの実施形態では、増幅されたまたは伸長された第２のＤＮＡ標的の各末端は、フローセルに結合することが可能な配列決定アダプター、例えば、Ｐ５またはＰ７の配列または任意の他のＩｌｌｕｍｉｎａ（登録商標）配列決定アダプターを優先的に含む。いくつかの実施形態では、配列決定アダプターは配列決定プライマー結合部位を含む。

【０９００】

いくつかの実施形態では、増幅されたまたは伸長された第２のアダプタータグ付きライブラリーの集まりは、ローパス全ゲノム（ＬＰＷＧ）ライブラリーまたは増幅全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）と呼ばれる。

【０９０１】

いくつかの実施形態では、ＬＰＷＧライブラリーはライブラリータグを含まない。

【０９０２】

いくつかの実施形態では、第２の修飾ライブラリーはＷＧＬＡライブラリーである。いくつかの実施形態では、第２の修飾ライブラリーは実施例１３の方法に従って生成されるＷＧＬＡライブラリーである。

【０９０３】

修飾ライブラリーを組み合わせること

いくつかの実施形態では、第１及び第２の修飾ライブラリーを組み合わせて組み合せライブラリーを作り出す。いくつかの実施形態では、組み合わせライブラリーは配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）とも呼ばれる。いくつかの実施形態では、標的捕捉ライブラリーとＬＰＷＧライブラリーとが接触して組み合わせライブラリーが生成される。いくつかの実施形態では、ＴＣＬＡとＷＧＬＡとが接触して組み合わせライブラリーが生成される。

【０９０４】

いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーと第２の修飾ライブラリーとは同じ実体によって生成される。いくつかの実施形態では、第１及び第２の修飾ライブラリーも当該同じ実体によって組み合わせる。

【０９０５】

いくつかの実施形態では、第１の修飾ライブラリーが第１の実体によって生成され、第２の修飾ライブラリーが第２の実体によって生成され、第１の実体と第２の実体とは同じではない。いくつかの実施形態では、第１及び第２の修飾ライブラリーを第１の実体によって組み合わせる。特定の実施形態では、第１及び第２の修飾ライブラリーを第２の実体によって組み合わせる。いくつかの実施形態では、第１及び第２の修飾ライブラリーを第３の実体によって組み合わせ、第３の実体は第１及び第２の実体とは異なる。

【０９０６】

いくつかの実施形態では、本開示のアダプターを含むキットを使用して少なくとも１つの修飾ライブラリーが生成される。

【０９０７】

いくつかの実施形態では、実施例１４の方法に従って第１及び第２の修飾ライブラリーを組み合わせる。

【０９０８】

ゲノム当量数の決定

種々の実施形態では、ＤＮＡの遺伝子解析の方法はＤＮＡクローンライブラリーにおけるゲノム当量数を決定することを含む。本開示で使用されるとき「ゲノム当量」という用語は各ライブラリーにおけるゲノムコピー数を指す。本開示の組成物及び方法によって満たされる重要な課題は、遺伝子配列における希少な遺伝子突然変異または差異を検出し解析するのに十分なアッセイ感度を達成することである。試料ごとに基づいてアッセイ感度の値を決定するために、配列決定ライブラリー内に存在するゲノム当量数を測定すること

によって、各試料内に存在する異なる及び別々の配列の数を測定する。感度を確立するために、ゲノム当量数を試料ライブラリーごとに測定しなければならない。

【０９０９】

ゲノム当量数は、ｑＰＣＲアッセイによって、または配列決定実施後のバイオインフォマティクスに基づくカウントによって決定することができる。臨床試料のプロセスフローでは、ゲノム当量のｑＰＣＲ測定はＤＮＡライブラリーについてのＱＣ工程として使用される。配列解析の前にアッセイ感度の期待値を確立し、試料に対応するＤＮＡクローンライブラリーがゲノム当量の要求深度を欠く場合は、その試料を解析から除外することを可能にする。最終的には、バイオインフォマティクスに基づくゲノム当量カウントも使用してゲノム当量を特定する、すなわち、それぞれ所与のＤＮＡクローンライブラリーについてのアッセイ感度及び偽陰性推定値も特定する。

【０９１０】

実験的ｑＰＣＲアッセイ及び統計的カウントアッセイは十分に相関すべきである。配列決定がＤＮＡクローンライブラリーにおける配列深度が明らかにできない場合、ＤＮＡクローンライブラリーの再処理及び／または追加的な配列決定が必要とされてもよい。

【０９１１】

一実施形態では、細胞ＤＮＡまたはｃｆＤＮＡのクローンライブラリーにおけるゲノム当量を定量的ＰＣＲ（ｑＰＣＲ）アッセイを使用して決定する。特定の実施形態では、既知濃度の標準的なライブラリーを使用して標準曲線を構築し、この得られた標準曲線にｑＰＣＲアッセイからの測定値を適合させ、適合度からゲノム当量の値を導き出す。本発明者らは、ゲノムにおける共通配列、例えば、反復配列と特異的にハイブリッド形成する一方のプライマーと、アダプターにおけるプライマー結合部位に結合する他方のプライマーとを含むｑＰＣＲ「反復に基づく」アッセイが、アダプターの特異的なプライマー（ＤＮＡクローンの双方の末端上に存在する）だけを使用する方法と比べてゲノム当量で８倍増加を測定したことを発見している。反復に基づくアッセイにより測定されるゲノム当量数は、さらに一貫したライブラリーごとの性能を提供し、ｑＰＣＲによるゲノム当量の推定値とバイオインフォマティクスによってカウントされる配列決定実行時のタグ当量との間のさらに良好な調整を提供する。

【０９１２】

本開示の反復に基づくゲノム当量アッセイでの使用に好適な反復の例示的な例には、短鎖散在核要素（ＳＩＮＥ）、例えば、Ａｌｕ反復；長鎖散在核要素（ＬＩＮＥ）、例えば、ＬＩＮＥ１、ＬＩＮＥ２、ＬＩＮＥ３；マイクロサテライト反復要素、例えば、短いタンデム反復（ＳＴＲ）、単純配列反復（ＳＳＲ）；及び哺乳類散在型反復（ＭＩＲ）が挙げられる。

【０９１３】

一実施形態では、反復はＡｌｕ反復である。

【０９１４】

配列決定

いくつかの実施形態では、組み合わせライブラリーの次世代シーケンシング（ＮＧＳ）が、Ｉｌｌｕｍｉｎａ　ＮｅｘｔＳｅｑ　５５０シーケンサーを使用して実行される。

【０９１５】

いくつかの実施形態では、配列決定リード１（長さ１５１ｎｔ）及び配列決定リード２（長さ１７ｎｔ）は、特注の順行配列決定プライマー及び逆行配列決定プライマーを使用して実施される。

【０９１６】

いくつかの実施形態では、定量的遺伝子解析は、本開示の上記の他の箇所で論じているように複数のハイブリッド分子を配列決定して、複数の固有の配列決定リードを得るのに十分な配列決定深度を生成することを含む。本開示で使用されるとき、「固有のリード」または「固有のゲノム配列」（ＵＧＳ）という用語は、本開示では相互交換可能に使用されてもよく、個々の冗長なリードを一緒に「ファミリー」に群化することによって特定さ

れる。冗長リードとは、同一のＵＭＩＥを共有し（例えば、ゲノム配列内で同一のリードコードと同一のＤＮＡ配列開始位置を共有する）、単一の結合事象に由来する配列リードであり、したがって増幅由来の互いの「同胞」である。冗長リードのファミリーを代表する単一のコンセンサスを固有のリードまたはＵＧＳとして進める。それぞれの固有のリードまたはＵＧＳは固有の結合事象とみなされる。特定の捕捉プローブに対応する固有のリードの合計は、その特定の捕捉プローブについての「生のゲノム深度」（ＲＧＤ）と呼ばれる。各捕捉プローブは、ファミリーに群化することによって全リードから計算的に抽出される１セットの固有のリードをもたらす。いくつかの実施形態では、ハイブリッド分子における捕捉プローブ領域全体の配列決定が行われる。いくつかの実施形態では、ハイブリッド分子における捕捉プローブ領域の一部の配列決定が行われる。

【０９１７】

次に、所与の試料についての固有のリード（例えば、試料についての生のゲノム深度）を、プローブごとに観察される全ての固有のリードの平均値として計算する。それぞれの固有のリードが固有のゲノムＤＮＡクローンから導き出されるべきなので、固有のリードは重要である。それぞれの固有のリードは一倍体当量のゲノムＤＮＡの投入データ及び解析を表す。固有のリードの和は解析した一倍体ゲノムの和である。解析したゲノムの数は次に、配列決定アッセイの感度を定義する。非限定的な例として、固有のリードの平均カウントが１００ゲノム当量である場合、この特定のアッセイは１００のうちの１つの変異型リード、または１％を検出することができる感度を有する。これを下回るどんな観察も正当ではない。

【０９１８】

明らかなコピー数の変化（例えば、ノイズの多いプローブの例）がある場合は、試料平均値の計算に使用するデータセットから除外される。本開示では、「ノイズの多いプローブ」は、大規模な１セットの同一の試料の間で非常にばらついた数の固有のリード（例えば、１２～１６の試料複製物にて固有のリードの非常にばらつきのある数）を捕捉するプローブを指す。いくつかの実施形態では、ノイズの多いプローブと関連する固有のリード数は、試料についての固有のリードの平均数と比べて５０％以上増加する。いくつかの実施形態では、ノイズの多いプローブと関連する固有のリード数は、試料についての固有のリードの平均数と比べて５０％以上減少する。いくつかの実施形態では、特定の解析にて使用されるプローブの約２％から約４％をノイズの多いプローブとして特定し、計算から除外して、所与の試料について固有のリードの平均数を決定する。いくつかの実施形態では、特定の解析にて使用されるプローブの２％から４％をノイズの多いプローブとして特定し、計算から除外して、所与の試料について固有のリードの平均数を決定する。

【０９１９】

いくつかの実施形態では、配列決定リードは「狙い通りのリード」または「的外れのリード」のいずれかとして特定される。狙い通りのリードはゲノムライブラリーを作り出すのに使用される捕捉プローブの近傍以内にマッピングされるゲノムＤＮＡ配列を持つ。いくつかの実施形態では、各ゲノム配列を特定の捕捉プローブに物理的に連結し、ゲノムセグメント及び捕捉プローブの双方の配列を情報の統合したものとして決定する場合、狙い通りのリードは、その開始座標が対応する捕捉プローブの３’末端の４００ｂｐ以内に、さらに一般的には２００ｂｐ以内にマッピングされる任意のゲノム配列として定義される。的外れのリードは、捕捉プローブに関して≧５００の塩基対の位置で参照ゲノムに対して並ぶ（及び完全に異なる染色体にマッピングすることがさらに多い）ゲノム配列を有すると定義される。

【０９２０】

いくつかの実施形態では、定量的遺伝子解析は複数の試料に由来するハイブリッド核酸分子の多重配列決定を含む。

【０９２１】

種々の実施形態では、定量的遺伝子解析は、それぞれのクローンが第１のＤＮＡ配列及び第２のＤＮＡ配列を含む、１以上または複数のアダプタータグ付きＤＮＡ分子を得るこ

と、その際、第１のＤＮＡ配列が標的化遺伝子座における配列を含み、第２のＤＮＡ配列が捕捉プローブ配列を含むことと；１以上のクローンに対して対合末端の配列決定反応を行い、１以上の配列決定リードを得ること、または１以上のクローンに対して、約１００、２００、３００、４００、５００またはそれ以上のヌクレオチドを超える単一の長い配列決定リードを得る配列決定反応を行うこと、その際、当該リードは第１のＤＮＡ配列及び第２のＤＮＡ配列の双方を特定するのに十分であることと；配列決定リードのプローブ配列に従って１以上のクローンの配列決定リードを指示すること、またはクラスター化することとを含む。

【０９２２】

バイオインフォマティクス解析

種々の実施形態では、定量的遺伝子解析は配列決定リードのバイオインフォマティクス解析を含む。バイオインフォマティクス解析によって、配列決定のための組成物または方法の非存在下に実施されるいかなる純粋な精神的解析も除外される。特定の実施形態では、バイオインフォマティクス解析には、配列アライメント；ゲノム当量解析；単一塩基変異型（ＳＮＶ）解析；遺伝子コピー数変動（ＣＮＶ）解析；染色体コピー数の測定；遺伝子損傷の検出；及びエピジェネティックマークの検出が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、バイオインフォマティクス解析は、ｃｆＤＮＡクローンライブラリーにて解析されるゲノム当量数の定量するのに；標的遺伝子座の遺伝子状態を検出するのに；標的遺伝子座における遺伝子損傷を検出するのに；及び標的遺伝子座内のコピー数変動を測定するのに有用である。

【０９２３】

いくつかの実施形態では、「遺伝子解析」という用語は、ヌクレオチド配列及び／またはエピジェネティックマークを解析することを含む任意の方法を指してもよい。

【０９２４】

いくつかの実施形態では、配列決定の対象となり得る本開示の方法に従って生成される分子は遺伝子解析に供される。

【０９２５】

いくつかの実施形態では、配列リード１及び２が遺伝子解析に使用される。

【０９２６】

いくつかの実施形態では、標的捕捉ライブラリーにおけるライブラリータグは、カスタム配列決定用プライマーの結合部位を含み、ＬＰＷＧライブラリーの配列決定リードから標的捕捉ライブラリーの配列決定リードを逆多重化するのに使用される。

【０９２７】

いくつかの実施形態では、バイオインフォマティクス解析を行って、コピー数、ＳＮＶ、インデル、遺伝子及び染色体の再構成のような遺伝的変異型を特定する。

【０９２８】

配列アライメントは配列リードと１以上のヒト参照ＤＮＡ配列との間で実施されてもよい。いくつかの実施形態では、配列決定アライメントは、ヌクレオチドの移行もしくは塩基転換、ヌクレオチドの挿入もしくは欠失、ゲノム再構成、コピー数の変化、または遺伝子融合の検出を含むが、これらに限定されない、標的遺伝子座にて遺伝子損傷を検出するのに使用することができる。原因または予後の指標である遺伝子損傷の検出は、特定の遺伝子の状態または疾患の診断、予後判定、治療、及び／またはモニタリングに有用であってもよい。

【０９２９】

本開示で使用される「標的遺伝子座」という用語はＤＮＡ配列内の目的の領域を指してもよい。種々の実施形態では、標的化遺伝子解析は標的遺伝子座に対して実施される。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ標的領域は、特定の遺伝子状況、遺伝子状態、遺伝性疾患；胎児検査；遺伝子モザイク現象；父子鑑定；薬物治療に対する応答の予測；医学的状態の診断もしくはモニタリング；マイクロバイオームプロファイリング；病原体スクリーニング；または臓器移植モニタリングに関連する遺伝子の領域である。さらなる実施形態で

は、ＤＮＡ標的領域は、特定のヒト染色体、例えば、特定の常染色体もしくはＸ連鎖染色体、またはその領域（例えば、固有の染色体領域）と関連するＤＮＡ配列である。

【０９３０】

本開示にあるのはまた、参照配列に対するアライメントの必要なしに実施することができ、本開示では水平配列解析と呼ばれる配列アライメント解析の方法である。そのような解析は、本開示の方法または任意の他の方法によって生成される任意の配列に対し実施することができる。いくつかの実施形態では、当該配列解析は、本開示の方法によって得られるリードに対して配列アライメントを実施することを含む。

【０９３１】

一実施形態では、ｃｆＤＮＡクローンライブラリーにおけるゲノム当量は、配列決定の実施後にバイオインフォマティクスに基づくカウントを使用して決定される。各配列決定リードは、特定の捕捉プローブと関連し、各捕捉プローブに割り当てられたリードの集まりは群に分けて解析される。群内にて、個々のリードのセットは、ゲノム配列内で同じリードコード及び同じＤＮＡ配列の開始位置を共有する。これら個々のリードは「ファミリー」に群分けされ、このファミリーを表す単一のコンセンサスは「固有のリード」として進められる。１つのファミリーを構築した個々のリードは全て、単一の結合事象から導出されたものであり、したがって、それらは相互に増幅由来の「同胞」である。それぞれの固有のリードは、固有の結合事象とみなされ、固有のリードの和は、解析されるゲノム当量数に相当するとみなされる。

【０９３２】

固有のクローンの数が可能な配列組み合わせの総数に近づくにつれ、確率は、独立した事象によって同じコード及び開始部位の組み合わせが作り出されること、且つこれらの独立した事象が不適切な形で単一のファミリーに群化されることを示す。最終結果は、解析されたゲノム当量の過少評価となり、希少な変異型リードは、同じ識別子を有する野生型リードと重複するので、配列決定エラーとして廃棄されてもよい。

【０９３３】

いくつかの実施形態では、ｃｆＤＮＡクローンライブラリーの正確な解析を提供するために、解析されるゲノム当量数は、考えられる固有のクローン数の約１／１０、約１／１２、約１／１４、約１／１６、約１／１８、約１／２０、約１／２５またはそれ以下である。いくつかの実施形態では、ｃｆＤＮＡクローンライブラリーの正確な解析を提供するために、解析されるゲノム当量数は、考えられる固有のクローン数の１／１０、１／１２、１／１４、１／１６、１／１８、１／２０、１／２５またはそれ以下である。上記で概説されている手順が例示的なものに過ぎず、非限定的であることを理解すべきである。

【０９３４】

いくつかの実施形態では、解析されるゲノム当量数を増やす必要があってもよい。ゲノム当量の深度を拡大するために、少なくとも２つの解決策が企図される。第１の解決策は、試料ごとに１を超えるアダプターセットを使用することである。アダプターを組み合わせることによって、可能なクローンの総数を乗法的に拡張するのでゲノム投入の無理のない限界を拡張することが可能である。第２の解決策は、リードコードを１、２、３、４、もしくは５、またはそれ以上の塩基で拡張することである。他の全てのリードコードから少なくとも２塩基だけ異なる可能なリードコードの数は$4^{(n-1)}$として見積もり、式中、ｎはリードコード内の塩基の数である。したがって、非限定的な例では、リードコードが５ヌクレオチドであれば$4^{(5-1)}=256$であるから、追加的な塩基を含めることで利用可能なレパートリーは追加塩基１つにつき４倍拡大する。

【０９３５】

一実施形態では、定量的遺伝子解析は、希少な一塩基変異型（ＳＮＶ）を特定するための配列決定リードのバイオインフォマティクス解析を含む。

【０９３６】

次世代シーケンシングは、大まかに０．２から０．５％の固有のエラー率を有し、これは１／２００から１／５００のいずれかの塩基コールが不正確であることを意味する。こ

れより低い頻度、例えば、１０００配列当たり１の頻度で発生する変異型及び他の突然変異を検出するために、分子アノテーション戦略を発動する必要がある。非限定的な例として、標的化配列捕捉技術を使用する５０００の固有の分子の解析は、＞５０，０００リードの十分な配列決定深度で、５０００の固有のリードの集まりを生成し、各固有のリードは、いずれもが同じリードコードを所持しているリードの「ファミリー」に属する。ファミリー内で発生するＳＮＶは希少変異型としての候補である。この同じ変異型が１を超えるファミリーで観察される場合、それは開始試料内に存在する希少変異型としての非常に有力な候補となる。これに対し、複数ファミリー内で散発的に生じる変異型は配列決定エラーである可能性があり、１つ及び１つのみのファミリー内で生じる変異型は希少である、または生体外で生じた塩基変化（例えば、ＤＮＡ塩基の酸化またはＰＣＲにより導入されたエラー）の結果である。

【０９３７】

一実施形態では、ＳＮＶを検出する方法は、アッセイの所望の標的感度の１０倍以上のゲノム投入量（ゲノムまたはゲノム当量）を導入することを含む。非限定的な一例では、所望の感度が２％（１００のうち２）である場合、実験的標的は２０００ゲノムの投入量である。

【０９３８】

いくつかの実施形態では、配列決定データのバイオインフォマティクス解析は、遺伝子の状況、状態または疾患、遺伝子モザイク現象、胎児試験、父子鑑定、薬物治療に対する応答の予測、医学的状態の診断またはモニタリング、マイクロバイオームプロファイリング、病原体スクリーニング、及び臓器移植のモニタリングに関連するＳＮＶを検出する、または特定するのに使用される。

【０９３９】

コピー数の解析

本開示は、とりわけ、細胞ゲノムＤＮＡ（例えば、組織生検試料からの）またはｃｆＤＮＡ（例えば、血液試料からの）の試料内の変異性変化、ＳＮＰ、転座、逆位、欠失、コピー数の変化、または他の遺伝的変異の検出のために有用である組成物及び方法を含む。本開示の組成物及び方法は、優れた分解能によって生体試料（例えば、血液）からのｃｆＤＮＡにて信じられないほど検出困難なコピー数の変異を検出する際に特に有用である。特に、本開示のいくつかの実施形態は、アダプターへ結合するゲノムＤＮＡ断片から作製されるゲノムＤＮＡライブラリーを生成し、複数の捕捉プローブによってＤＮＡ標的領域を捕捉し、このＤＮＡ標的領域を含むＤＮＡライブラリー断片を単離し、ＤＮＡ標的領域の定量的遺伝子解析を実施し、それによってＤＮＡ標的領域のコピー数を決定することによって、試験試料からＤＮＡ標的領域のコピー数を検出する方法に引き付けられる。さらに、本開示のいくつかの実施形態は、本開示の方法に従って例えば、ＬＰＷＧライブラリーを生成し、ＬＰＷＧライブラリーにおける遺伝子座の定量的遺伝子解析を行うことによって、ゲノムにわたる多数の遺伝子座のコピー数を検出する方法に引き付けられる。ゲノムのさらに広い範囲を解析することによって、各遺伝子座のコピー数解析のための統計データの品質が向上する。本開示に記載されているアダプターは、試料の独自性またはゲノムＤＮＡの供給源と同様に、配列決定されている個々のＤＮＡ断片の特定を可能にする。

【０９４０】

本開示は部分的に、直接組織生検及び末梢血を含むが、これらに限定されない、いくつかの試料種類に適用可能である標的に特異的なコピー数変化の検出のための組成物及び方法を含む。がんゲノミクス、特に、固形腫瘍の解析のための無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）アッセイの状況では、腫瘍ＤＮＡの量はＤＮＡ全体のごく一部であることが多い。さらに、コピー数の欠損は、ゲノムＤＮＡアッセイ、特にコピー数変化が試料からの全ゲノムＤＮＡの一部にのみ存在してもよいゲノムＤＮＡアッセイ、例えば、ｃｆＤＮＡアッセイでは検出するのが困難である。例えば、いくつかの実施形態では、がん患者から抽出される無細胞ＤＮＡの大部分は、正常な供給源に由来し、二倍体コピー数を有するであろう（男性対象におけるＸ連鎖遺伝子を除く）。がん患者、例えば、血漿から抽出される循環ＤＮ

Ａの２％が腫瘍に由来する患者では、腫瘍に由来するＤＮＡの画分は低いマイナーな対立遺伝子頻度を有することが多い。腫瘍抑制遺伝子（例えば、乳癌中のＢＲＣＡ１）が１コピー欠損するということは、検出可能なゲノム断片が存在しないマイナー対立遺伝子の頻度が１％であることを意味する。この状況にて、操作されるコピー数欠損アッセイは、１００コピー（正常）と９９コピー（ヘテロ接合性遺伝子欠損）の間で識別することが可能でなければならない。したがって、いくつかの実施形態は、本開示の方法及び組成物がｃｆＤＮＡとの関連でさえマイナーな対立遺伝子頻度でのコピー数における変化を検出するのに十分な解像度によってコピー数変化を検出するのを可能にすることを企図する。

【０９４１】

種々の実施形態では、ＤＮＡ標的領域のＤＮＡのコピー数解析方法が提供される。特定の実施形態では、コピー数解析は、ゲノムＤＮＡ断片及びアダプターをそれぞれ含有するＤＮＡライブラリー断片のゲノムＤＮＡライブラリーを生成し、ＤＮＡ標的領域を含有するＤＮＡライブラリー断片を単離し、ＤＮＡ標的領域の定量的遺伝子解析を行うことによって実行される。「定量的遺伝子解析」によって、ＤＮＡ変異、ＳＮＰ、転座、欠失、及びコピー数変動（ＣＮＶ）を含むが、これらに限定されない、ＤＮＡ（例えば、遺伝子、遺伝子座、目的の標的領域など）における変化を定量することが可能である、任意の分子生物学的技術によって実施される解析を意味する。特定の実施形態では、定量的遺伝子解析は配列決定、例えば、次世代シーケンシングによって実施される。

【０９４２】

種々の実施形態では、それぞれのクローンが第１のＤＮＡ配列及び第２のＤＮＡ配列を含む１以上または複数のクローンを得ることを含むコピー数決定解析の方法が提供され、その際、第１のＤＮＡ配列が標的化遺伝子座における配列を含み、第２のＤＮＡ配列が捕捉プローブ配列を含む。関係する実施形態では、１以上のクローンに対する対合した末端の配列決定反応を実施し、１以上の配列決定リードが得られる。別の実施形態では、１以上のクローンにて配列決定反応を実施し、約１００を上回るヌクレオチドの単一の長い配列決定リードが得られ、その際、当該リードは、第１のＤＮＡ配列及び第２のＤＮＡ配列の双方を特定するのに十分である。１以上のクローンの配列決定リードは、配列決定リードのプローブ配列に従って順序付けまたはクラスター化することができる。

【０９４３】

コピー数解析には、所与のゲノムＤＮＡ試料で生じる特定の遺伝子または突然変異のコピー数を調べる解析が含まれるが、これらに限定されず、またさらに、所与の遺伝子のコピー数、または所与の試料中の配列差異数の定量的決定も含まれ得る。いくつかの実施形態では、コピー数解析は、遺伝子の状況、状態または疾患、胎児試験、遺伝子モザイク現象、父子鑑定、薬物治療に対する応答の予測、医学的状態の診断またはモニタリング、マイクロバイオームプロファイリング、病原体スクリーニング、及び臓器移植のモニタリングに関連する遺伝子増幅を検出する、または特定するのに使用される。

【０９４４】

いくつかの実施形態では、コピー数解析を使用して染色体不安定性を測定する。そのような実施形態では、染色体安定性プローブを含む捕捉プローブセットを使用して、すべての染色体セットにわたって均一な密度でコピー数変動を決定する。コピー数解析を各染色体安定性プローブについて実施し、その後、染色体安定性プローブをそれらの染色体標的に従って順序付けする。これは、ゲノムにわたるコピー数欠損または増加の視覚化を可能にし、染色体安定性の尺度として役立つことができる。

【０９４５】

いくつかの実施形態では、配列決定データのバイオインフォマティクス解析は、ヌクレオチドの移行もしくは塩基転換、ヌクレオチドの挿入もしくは欠失、ゲノム再構成、コピー数の変化、または遺伝子融合の検出を含むが、これらに限定されない、標的遺伝子座における１以上の配列または遺伝子損傷を検出する、または特定するのに使用される。原因または予後の指標である遺伝子損傷の検出は、特定の遺伝子の状態または疾患の診断、予後判定、治療、及び／またはモニタリングに有用であってもよい。一実施形態では、遺伝

子損傷は、遺伝子の状況、状態または疾患、胎児検査、遺伝子モザイク現象、父子鑑定、薬物治療に対する応答の予測、医学的状態の診断またはモニタリング、マイクロバイオームプロファイリング、病原体スクリーニング、及び臓器移植のモニタリングに関連する。

【０９４６】

いくつかの実施形態では、試料に存在するＤＮＡ標的領域のコピー数を定量的遺伝子解析によって決定する。いくつかの実施形態では、試料に存在するＤＮＡ標的領域のコピー量を比較すること、及びそれを既知のコピー数を有する１以上の試料に存在するＤＮＡ標的領域の量と比較することによって、ＤＮＡ標的領域のコピー数を決定する。

【０９４７】

いくつかの実施形態は、本開示に記載されている組成物及び方法がゲノムＤＮＡの試料中のコピー数における変化を検出するために特に有用であることを企図し、その際、試料中の全ゲノムＤＮＡの一部のみがコピー数における変化を有する。例えば、いくつかの実施形態では、有意な腫瘍突然変異は、対立遺伝子頻度が一般に約１００％、５０％または０％である従来のＳＮＰ遺伝子型判定とは対照的に、５０％より有意に低い（例えば、０．１％から＞２０％の範囲での）マイナーな対立遺伝子頻度で存在する試料、例えば、無細胞ＤＮＡの試料に存在してもよい。当業者は、本開示の組成物及び方法が、一塩基変異型（ＳＮＶ）、短い（例えば、４０塩基対（ｂｐ）未満の）挿入、及び欠失（インデル）を含む他の種類の突然変異と、発がん遺伝子融合を含むゲノム再構成とを検出する際にも有用であることを認識するであろう。

【０９４８】

特定の実施形態では、本開示の組成物及び／または方法は、試料由来の全ゲノムＤＮＡの約２０％未満、約１９％未満、約１８％未満、約１７％未満、約１６％未満、約１５％未満、約１４％未満、約１３％未満、約１２％未満、約１１％未満、約１０％未満、約９％未満、約８％未満、約７％未満、約６％未満、約５％未満、約４％未満、約３％未満、約２％未満、約１％未満、約０．５％未満、約０．２％未満、または約０．１％未満に存在する１以上のＤＮＡ標的領域のコピー数における変化を検出する、特定する、観察する、及び／または明らかにするのに有用であり、特定する、観察する、及び／または明らかにすることが可能であり、特定する、観察する、及び／または明らかにすることに適しており、及び／または特定する、観察する、及び／または明らかにすることができる。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、試料由来の全ゲノムＤＮＡの、約０．０１％～約１００％、約０．０１％～約５０％、または約０．１％～約２０％の間に存在する１以上のＤＮＡ標的領域のコピー数における変化を検出する、特定する、観察する、及び／または明らかにするのに有用であり、検出する、特定する、観察する、及び／または明らかにすることが可能であり、検出する、特定する、観察する、及び／または明らかにするのに適しており、及び／または検出する、特定する、観察する、及び／または明らかにすることができる。

【０９４９】

特定の実施形態では、本開示の組成物及び／または方法は、試料由来の全ゲノムＤＮＡの２０％未満、１９％未満、１８％未満、１７％未満、１６％未満、１５％未満、１４％未満、１３％未満、１２％未満、１１％未満、１０％未満、９％未満、８％未満、７％未満、６％未満、５％未満、４％未満、３％未満、２％未満、１％未満、０．５％未満、０．２％未満、または０．１％未満に存在する１以上のＤＮＡ標的領域のコピー数における変化を検出する、特定する、観察する、及び／または明らかにするのに有用であり、特定する、観察する、及び／または明らかにすることが可能であり、特定する、観察する、及び／または明らかにすることに適しており、及び／または特定する、観察する、及び／または明らかにすることができる。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、試料由来の全ゲノムＤＮＡの０．０１％～１００％、０．０１％～５０％、または０．１％～２０％の間に存在する１以上のＤＮＡ標的領域のコピー数における変化を検出する、特定する、観察する、及び／または明らかにするのに有用であり、検出する、特定する、観察する、及び／または明らかにすることが可能であり、検出する、特定する、観察する、及び／ま

たは明らかにするのに適しており、及び／または検出する、特定する、観察する、及び／または明らかにすることができる。

【０９５０】

いくつかの実施形態では、ｃｆＤＮＡの遺伝子解析の方法は、ｃｆＤＮＡライブラリーを生成し、及び増幅することと、ｃｆＤＮＡライブラリーにおけるゲノム当量数を決定することと、１以上のゲノム標的遺伝子座の定量的遺伝子解析を実施することとを含む。

【０９５１】

いくつかの実施形態は、本開示に記載されている方法及び組成物のいずれかが、ゲノムＤＮＡ、例えば、細胞ＤＮＡまたはｃｆＤＮＡなどを使用して、遺伝子の状況、遺伝子の状態、遺伝性疾患、遺伝子モザイク現象、胎児診断、父子鑑定、マイクロバイオームプロファイリング、病原体スクリーニング、及び臓器移植モニタリングを効率的に解析する、検出する、診断する、及び／またはモニターするための使用に効果的であることを企図し、その際、試料における全ゲノムＤＮＡのすべて、または一部のみが目的の特徴、例えば、遺伝子損傷、突然変異、単一塩基変異型（ＳＮＶ）を有する。いくつかの実施形態では、目的の特徴は疾患または状態と関連する遺伝的特徴である。例えば、いくつかの実施形態では、有意な腫瘍突然変異は、対立遺伝子頻度が一般に約１００％、５０％または０％である従来のＳＮＰ遺伝子型判定とは対照的に、５０％より有意に低い（例えば、０．１％から＞２０％の範囲での）マイナーな対立遺伝子頻度に存在する試料、例えば、ｃｆＤＮＡの試料に存在してもよい。

【０９５２】

臨床応用

種々の実施形態では、本開示は、目的の領域にて変異性変化、ＳＮＰ、転座、逆位、欠失、コピー数の変化、または他の遺伝的変異を検出することによって、対象における状態または疾患を検出する、特定する、予測する、診断する、またはモニターする方法を企図する。

【０９５３】

種々の実施形態では、本開示は、対象における状態または疾患を検出する、特定する、予測する、診断する、またはモニターする方法を企図する。

【０９５４】

いくつかの実施形態では、対象における遺伝子の状況、状態、または疾患を検出する、特定する、予測する、診断する、またはモニターする方法は、ＤＮＡクローンライブラリーにおける１以上の標的遺伝子座の定量的遺伝子解析を実施して、１以上の標的遺伝子座での配列における変化を検出する、または特定することを含む。いくつかの実施形態では、この変化はコピー数における変化である。

【０９５５】

一実施形態では、遺伝子の状況、状態または疾患を検出する、特定する、予測する、診断する、またはモニターする方法は、対象の生体試料から細胞ＤＮＡまたはｃｆＤＮＡを単離する、または得ることと；細胞ＤＮＡまたはｃｆＤＮＡを１以上の末端修復酵素によって処理し、末端修復ＤＮＡを生成することと；１以上のアダプターを末端修復ＤＮＡの各末端に結合させてゲノムＤＮＡライブラリーを生成することと；ＤＮＡライブラリーを増幅してＤＮＡクローンライブラリーを生成することと；ＤＮＡクローンライブラリー中の遺伝子当量数を決定することと；ＤＮＡクローンライブラリーにおける１以上の標的遺伝子座の定量的遺伝子解析を実施して、１以上の標的遺伝子座での配列における変化、例えば、ＳＮＰ、転座、逆位、欠失、またはコピー数の変化を検出する、または特定することとを含む。

【０９５６】

いくつかの実施形態では、本開示は、対象の生体試料からゲノムＤＮＡを単離する、または得ることと；１以上の末端修復酵素によってＤＮＡを処理して、末端修復ＤＮＡを生成することと；１以上のアダプターを末端修復ＤＮＡの各末端に結合させて、ゲノムＤＮＡライブラリーを生成することと；ゲノムＤＮＡライブラリーを増幅して、ＤＮＡクロー

ンライブラリーを生成することと；ＤＮＡクローンライブラリーにてゲノム当量数を決定することと；ＤＮＡクローンライブラリーにおける１以上の標的遺伝子座の定量的遺伝子解析を実施して、１以上の標的遺伝子座での配列におけるヌクレオチドの移行もしくは塩基転換、ヌクレオチドの挿入もしくは欠失、ゲノム再構成、コピー数の変化、または遺伝子融合を検出する、または特定することとを含む、遺伝性疾患、遺伝子モザイク現象、胎児検査、父子鑑定、薬物治療に対する応答の予測及び／またはモニタリング、医学的状態の診断またはモニタリング、マイクロバイオームプロファイリング、病原体スクリーニング、及び臓器移植のモニタリングから成る群から選択される、遺伝子の状況、または遺伝子の状態もしくは疾患を検出する、特定する、予測する、診断する、またはモニターする方法を提供する。

【０９５７】

いくつかの実施形態では、本開示は、第１の時点で対象から単離される生体試料にて第１の無細胞腫瘍負荷（ｃｆＴＬ）を検出することと；第２の時点で対象から得られる生体試料にて第２のｃｆＴＬを検出することと、その際、第１の時点と第２の時点との間で対象は標的化療法の少なくとも１回の投与を受けることと；対象が第１のｃｆＴＬと比べて軽減した第２のｃｆＴＬを示す場合に対象にて有効である標的化療法を特定することとを含む、がんを有する対象にて絞った療法の有効性を判定する方法を提供する。例えば、いくつかの実施形態では、第２のｄｆＴＬは第１のｃｆＴＬと比べて少なくとも約１％、少なくとも約２％、少なくとも約５％、少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、または約９０％を超えて軽減されてもよい。本開示で使用されるとき、ｃｆＴＬは１以上の遺伝子改変及び／または異数性を有する循環腫瘍ＤＮＡを指してもよい。

【０９５８】

本開示の組成物及び方法によって検出される、特定される、予測される、診断される、またはモニターされることが可能である遺伝性疾患の例示的な例には、アルツハイマー病（ＡＰＯＥ１）、シャルコー・マリー・トゥース病、レーベル遺伝性視神経症（ＬＨＯＮ）、アンジェルマン症候群（ＵＢＥ３Ａ、ユビキチン－タンパク質リガーゼＥ３Ａ）、プラダー・ウィリー症候群（第１５染色体中の領域）、βサラセミア（ＨＢＢ、β－グロビン）、ゴーシェ病（Ｉ型）（ＧＢＡ、グルコセレブロシダーゼ）、嚢胞性線維症（ＣＦＴＲ、上皮塩化物チャネル）、鎌状赤血球症（ＨＢＢ、β－グロビン）、テイ・サックス病（ＨＥＸＡ、ヘキソサミニダーゼＡ）、フェニルケトン尿症（ＰＡＨ、フェニルアラニンヒドロリアーゼ）、家族性高コレステロール血症（ＬＤＬＲ、低密度リポタンパク質受容体）、成人型嚢胞腎（ＰＫＤ１、ポリシスチン）、ハンチントン病（ＨＤＤ、ハンチンチン）、神経線維腫症Ｉ型（ＮＦ１、ＮＦ１腫瘍抑制遺伝子）、筋緊張性ジストロフィー（ＤＭ、ミオトニン）、結節性硬化症（ＴＳＣ１、ツベリン）、軟骨形成不全（ＦＧＦＲ３、線維芽細胞増殖因子受容体）、脆弱Ｘ染色体症候群（ＦＭＲ１、ＲＮＡ結合タンパク質）、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（ＤＭＤ、ジストロフィン）、血友病Ａ（Ｆ８Ｃ、血液凝固第ＶＩＩＩ因子）、レッシュ・ナイハン症候群（ＨＰＲＴ１、ヒポキサンチングアニンリボシルトランスフェラーゼ１）、及び副腎白質ジストロフィー（ＡＢＣＤ１）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９５９】

本開示の組成物及び方法によって検出される、特定される、予測される、診断される、またはモニターされることが可能であるがんの例示的な例には、Ｂ細胞癌、例えば、多発性骨髄腫、黒色腫、乳癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌腫またはＮＳＣＬＣ）、気管支癌、大腸癌、前立腺癌、膵臓癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳または中枢神経系のがん、末梢神経系のがん、食道癌、子宮頸癌、子宮癌または子宮内膜癌、口腔または咽頭のがん、肝臓癌、腎臓癌、精巣癌、胆道癌、小腸または虫垂のがん、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫、血液組織のがん、腺癌腫、炎症性筋線維芽細胞腫、消化管間質腫瘍（ＧＩＳＴ）、結腸癌、多発性骨髄腫（ＭＭ）、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、骨髄増殖性

障害（ＭＰＤ）、急性リンパ球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄球性白血病（ＡＭＬ）、慢性骨髄球性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、真性赤血球増加症、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、軟部組織肉腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫（ｅｎｄｏｔｈｅｌｉｏｓａｒｃｏｍａ）、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫（ｌｙｍｐｈａｎｇｉｏｅｎｄｏｔｈｅｌｉｏｓａｒｃｏｍａ）、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、扁平上皮細胞癌腫、基底細胞癌腫、腺癌腫、汗腺癌腫、脂腺癌腫、乳頭癌腫、乳頭腺癌腫、髄様癌腫、気管支癌腫、腎細胞癌腫、肝細胞癌、胆管癌腫、絨毛癌腫、セミノーマ、胎生期癌腫、ウィルムス腫瘍、膀胱癌腫、上皮癌腫、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起神経膠腫、髄膜腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、肝細胞癌腫、甲状腺癌、胃癌、頭頸部癌、小細胞癌、本態性血小板血症、特発性骨髄化生、好酸球増加症候群、全身性肥満細胞症、一般的な過好酸球増加症、慢性好酸球性白血病、神経内分泌癌、カルチノイド腫瘍が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９６０】

一実施形態では、遺伝子損傷は、Ｃｏｓｍｉｃデータベースで注釈がつけられた損傷（損傷及び配列データはオンラインで利用可能であり、ＣｏｓｍｉｃウェブサイトのＣａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｅ　Ｃｅｎｓｕｓ　ｓｅｃｔｉｏｎからダウンロードされることが可能である）、またはＣａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ａｔｌａｓで注釈がつけられた損傷（損傷及び配列データはオンラインで利用可能であり、Ｃａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ａｔｌａｓウェブサイトからダウンロードされることが可能である）である。

【０９６１】

本開示の組成物及び方法によって検出する、特定する、予測する、診断する、またはモニターすることができるがんに関連する１以上の遺伝子損傷を抱える遺伝子の例示的な例には、ＡＢＣＢ１、ＡＢＣＣ２、ＡＢＣＣ４、ＡＢＣＧ２、ＡＢＬ１、ＡＢＬ２、ＡＫＴ１、ＡＫＴ２、ＡＫＴ３、ＡＬＤＨ４Ａ１、ＡＬＫ、ＡＰＣ、ＡＲ、ＡＲＡＦ、ＡＲＦＲＰ１、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＴＭ、ＡＴＲ、ＡＵＲＫＡ、ＡＵＲＫＢ、ＢＣＬ２、ＢＣＬ２Ａ１、ＢＣＬ２Ｌ１、ＢＣＬ２Ｌ２、ＢＣＬ６、ＢＲＡＦ、ＢＲＣＡ１、ＢＲＣＡ２、Ｃｌｏｒｆ１４４、ＣＡＲＤ１１、ＣＢＬ、ＣＣＮＤ１、ＣＣＮＤ２、ＣＣＮＤ３、ＣＣＮＥ１、ＣＤＨ１、ＣＤＨ２、ＣＤＨ２０、ＣＤＨ５、ＣＤＫ４、ＣＤＫ６、ＣＤＫ８、ＣＤＫＮ２Ａ、ＣＤＫＮ２Ｂ、ＣＤＫＮ２Ｃ、ＣＥＢＰＡ、ＣＨＥＫ１、ＣＨＥＫ２、ＣＲＫＬ、ＣＲＬＦ２、ＣＴＮＮＢ１、ＣＹＰ１Ｂ１、ＣＹＰ２Ｃ１９、ＣＹＰ２Ｃ８、ＣＹＰ２Ｄ６、ＣＹＰ３Ａ４、ＣＹＰ３Ａ５、ＤＮＭＴ３Ａ、ＤＯＴ１Ｌ、ＤＰＹＤ、ＥＧＦＲ、ＥＰＨＡ３、ＥＰＨＡ５、ＥＰＨＡ６、ＥＰＨＡ７、ＥＰＨＢ１、ＥＰＨＢ４、ＥＰＨＢ６、ＥＰＨＸ１、ＥＲＢＢ２、ＥＲＢＢ３、ＥＲＢＢ４、ＥＲＣＣ２、ＥＲＧ、ＥＳＲ１、ＥＳＲ２、ＥＴＶ１、ＥＴＶ４、ＥＴＶ５、ＥＴＶ６、ＥＷＳＲ１、ＥＺＨ２、ＦＡＮＣＡ、ＦＢＸＷ７、ＦＣＧＲ３Ａ、ＦＧＦＲ１、ＦＧＦＲ２、ＦＧＦＲ３、ＦＧＦＲ４、ＦＬＴ１、ＦＬＴ３、ＦＬＴ４、ＦＯＸＰ４、ＧＡＴＡ１、ＧＮＡ１１、ＧＮＡＱ、ＧＮＡＳ、ＧＰＲ１２４、ＧＳＴＰ１、ＧＵＣＹ１Ａ２、ＨＯＸＡ３、ＨＲＡＳ、ＨＳＰ９０ＡＡ１、ＩＤＨ１、ＩＤＨ２、ＩＧＦ１Ｒ、ＩＧＦ２Ｒ、ＩＫＢＫＥ、ＩＫＺＦ１、ＩＮＨＢＡ、ＩＲＳ２、ＩＴＰＡ、ＪＡＫ１、ＪＡＫ２、ＪＡＫ３、ＪＵＮ、ＫＤＲ、ＫＩＴ、ＫＲＡＳ、ＬＲＰ１Ｂ、ＬＲＰ２、ＬＴＫ、ＭＡＮ１Ｂ１、ＭＡＰ２Ｋ１、ＭＡＰ２Ｋ２、ＭＡＰ２Ｋ４、ＭＣＬ１、ＭＤＭ２、ＭＤＭ４、ＭＥＮ１、ＭＥＴ、ＭＩＴＦ、ＭＬＨ１、ＭＬＬ、ＭＰＬ、ＭＲＥ１１Ａ、ＭＳＨ２、ＭＳＨ６、ＭＴＨＦＲ、ＭＴＯＲ、ＭＵＴＹＨ、ＭＹＣ、ＭＹＣＬ１、ＭＹＣＮ、ＮＦ１、ＮＦ２、ＮＫＸ２－１、ＮＯＴＣＨ１、ＮＰＭ１、ＮＱＯ１、ＮＲＡＳ、ＮＲＰ２、ＮＴＲＫ１、ＮＴＲＫ３、ＰＡＫ３、ＰＡＸ５、ＰＤＧＦＲＡ、ＰＤＧＦＲＢ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＩＫ３Ｒ１、ＰＫＨＤ１、ＰＬＣＧ１、ＰＲＫＤＣ、ＰＴＣＨ１、ＰＴＥＮ、ＰＴＰＮ１１、ＰＴＰＲＤ、ＲＡＦ１、ＲＡＲＡ、ＲＢ１、ＲＥＴ、ＲＩＣＴＯＲ、ＲＰＴＯＲ、ＲＵＮＸ１、ＳＬＣ１９Ａ１、ＳＬＣ２２Ａ２、ＳＬＣＯ１Ｂ３、ＳＭＡＤ２、ＳＭＡＤ３、ＳＭＡＤ４、ＳＭＡＲＣＡ

４、ＳＭＡＲＣＢ１、ＳＭＯ、ＳＯＤ２、ＳＯＸ１０、ＳＯＸ２、ＳＲＣ、ＳＴＫ１１、ＳＵＬＴ１Ａ１、ＴＢＸ２２、ＴＥＴ２、ＴＧＦＢＲ２、ＴＭＰＲＳＳ２、ＴＮＦＲＳＦ１４、ＴＯＰ１、ＴＰ５３、ＴＰＭＴ、ＴＳＣ１、ＴＳＣ２、ＴＹＭＳ、ＵＧＴ１Ａ１、ＵＭＰＳ、ＵＳＰ９Ｘ、ＶＨＬ、及びＷＴ１が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９６２】

いくつかの実施形態では、遺伝子損傷は、ヌクレオチドの移行もしくは塩基転換、ヌクレオチドの挿入もしくは欠失、ゲノム再構成、コピー数の変化、または遺伝子融合を含む。

【０９６３】

一実施形態では、遺伝子損傷はＡＬＫ遺伝子の３’コード領域を別の遺伝子に融合する遺伝子融合である。

【０９６４】

一実施形態では、遺伝子損傷はＡＬＫ遺伝子の３’コード領域をＥＭＬ４遺伝子に融合する遺伝子融合である。

【０９６５】

本開示の組成物及び方法によって検出される、特定される、予測される、診断される、またはモニターされることが可能である胎児検査に好適な状態の例示的な例には、ダウン症候群（トリソミー２１）、エドワード症候群（トリソミー１８）、パトー症候群（トリソミー１３）、クラインフェルター症候群（ＸＸＹ）、トリプルＸ症候群、ＸＹＹ症候群、トリソミー８、トリソミー１６、ターナー症候群（ＸＯ）、ロバートソン転座、ディジョージ症候群、及びウォルフ・ヒルショルン症候群が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９６６】

本開示の組成物及び方法によって検出される、特定される、予測される、診断される、またはモニタリングされることが可能である父子鑑定に好適な対立遺伝子の例示的な例には、Ｄ２０Ｓ１０８２、Ｄ６Ｓ４７４、Ｄ１２ＡＴＡ６３、Ｄ２２Ｓ１０４５、Ｄ１０Ｓ１２４８、Ｄ１Ｓ１６７７、Ｄ１１Ｓ４４６３、Ｄ４Ｓ２３６４、Ｄ９Ｓ１１２２、Ｄ２Ｓ１７７６、Ｄ１０Ｓ１４２５、Ｄ３Ｓ３０５３、Ｄ５Ｓ２５００、Ｄ１Ｓ１６２７、Ｄ３Ｓ４５２９、Ｄ２Ｓ４４１、Ｄ１７Ｓ９７４、Ｄ６Ｓ１０１７、Ｄ４Ｓ２４０８、Ｄ９Ｓ２１５７、アメロゲニン、Ｄ１７Ｓ１３０１、Ｄ１ＧＡＴＡ１１３、Ｄ１８Ｓ８５３、Ｄ２０Ｓ４８２、及びＤ１４Ｓ１４３４のうちの１６以上が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９６７】

本開示の組成物及び方法によって検出される、特定される、予測される、診断される、またはモニタリングされることが可能である薬物治療に対する応答を予測することに好適な遺伝子の例示的な例には、以下の遺伝子：ＡＢＣＢ１（ＡＴＰ－結合セット、サブファミリーＢ（ＭＤＲ／ＴＡＰ）、メンバー１）、ＡＣＥ（アンジオテンシンＩ変換酵素）、ＡＤＨ１Ａ（アルコール脱水素酵素１Ａ（クラスＩ）、アルファポリペプチド）、ＡＤＨ１Ｂ（アルコール脱水素酵素１Ｂ（クラスＩ）、ベータポリペプチド）、ＡＤＨ１Ｃ（アルコール脱水素酵素１Ｃ（クラスＩ）、ガンマポリペプチド）、ＡＤＲＢ１（アドレナリン作動性、ベーター１－、受容体）、ＡＤＲＢ２（アドレナリン作動性、ベーター２－、受容体、表面）、ＡＨＲ（アリール炭化水素受容体）、ＡＬＤＨ１Ａ１（アルデヒド脱水素酵素１ファミリー、メンバーＡ１）、ＡＬＯＸ５（アラキドン酸５－リポキシゲナーゼ）、ＢＲＣＡ１（乳癌１、早期発症型）、ＣＯＭＴ（カテコール－Ｏ－メチルトランスフェラーゼ）、ＣＹＰ２Ａ６（チトクロムＰ４５０、ファミリー２、サブファミリーＡ、ポリペプチド６）、ＣＹＰ２Ｂ６（チトクロムＰ４５０、ファミリー２、サブファミリーＢ、ポリペプチド６）、ＣＹＰ２Ｃ９（チトクロムＰ４５０、ファミリー２、サブファミリーＣ、ポリペプチド９）、ＣＹＰ２Ｃ１９（チトクロムＰ４５０、ファミリー２、サブファミリーＣ、ポリペプチド１９）、ＣＹＰ２Ｄ６（チトクロムＰ４５０、ファミリー２、サブファミリーＤ、ポリペプチド６）、ＣＹＰ２Ｊ２（チトクロムＰ４５０、ファミリー

２、サブファミリーＪ、ポリペプチド２）、ＣＹＰ３Ａ４（チトクロムＰ４５０、ファミリー３、サブファミリーＡ、ポリペプチド４）、ＣＹＰ３Ａ５（チトクロムＰ４５０、ファミリー３、サブファミリーＡ、ポリペプチド５）、ＤＰＹＤ（ジヒドロピリミジン脱水素酵素）、ＤＲＤ２（ドーパミン受容体Ｄ２）、Ｆ５（第Ｖ凝固因子）、ＧＳＴＰ１（グルタチオンＳ－トランスフェラーゼパイ）、ＨＭＧＣＲ（３－ヒドロキシ－３－メチルグルタリル－コエンザイムＡ還元酵素）、ＫＣＮＨ２（電位依存性カリウムチャネル、サブファミリーＨ（ｅａｇ関連の）、メンバー２）ＫＣＮＪ１１（内向き整流性カリウムチャネル、サブファミリーＪ、メンバー１１）、ＭＴＨＦＲ（５，１０－メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素（ＮＡＤＰＨ））、ＮＱＯ１（ＮＡＤ（Ｐ）Ｈ脱水素酵素、キノン１）、ＰＲＹ１（プリン受容体Ｐ２Ｙ、Ｇ－タンパク質共役型、１）、ＰＲＹ１２（プリン受容体Ｐ２Ｙ、Ｇ－タンパク質共役型、１２）、ＰＴＧＩＳ（プロスタグランジンＩ２（プロスタサイクリン）シンターゼ）、ＳＣＮ５Ａ（ナトリウムチャネル、電位依存性、Ｖ型、アルファ（ＱＴ延長症候群３））、ＳＬＣ１９Ａ１（溶質輸送体ファミリー１９（葉酸トランスポーター）、メンバー１）、ＳＬＣＯ１Ｂ１（溶質担体有機アニオン輸送体ファミリー、メンバー１Ｂ１）、ＳＵＬＴ１Ａ１（スルホトランスフェラーゼファミリー、サイトゾル、１Ａ、フェノールが好ましい、メンバー１）、ＴＰＭＴ（チオプリンＳ－メチルトランスフェラーゼ）、ＴＹＭＳ（チミジル酸シンターゼ）、ＵＧＴ１Ａ１（ＵＤＰグルクロノシルトランスフェラーゼ１ファミリー、ポリペプチドＡ１）、ＶＤＲ（ビタミンＤ（１，２５－ジヒドロキシビタミンＤ３）受容体）、ＶＫＯＲＣ１（ビタミンＫエポキシドレダクターゼ複合体、サブユニット１）のうちの１以上が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９６８】

本開示の組成物及び方法によって検出する、特定する、予測する、診断する、またはモニターすることができる医学的状態の例示的な例には、脳卒中、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、心疾患、心臓発作、狭心症、アテローム性動脈硬化症、及び高血圧症が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９６９】

本開示の組成物及び方法によってスクリーニングすることができる病原体の例示的な例には、細菌、真菌、及びウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。

【０９７０】

本開示の組成物及び方法によってスクリーニングすることができる細菌種の例示的な例には、Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｓｐｐ．、Ｐｎｅｕｍｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐｐ．、ａｎ Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉ ｓｐｐ．、Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ ｓｐｐ．、Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｓｐｐ．、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｓｐｐ．、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐｐ．、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐｐ．、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ｓｐｐ．、Ｓｈｉｇｅｌｌ ｓｐｐ．、Ｔｒｅｐｏｎｅｍ ｓｐｐ．、またはＳａｌｍｏｎｅｌｌ ｓｐｐ．が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９７１】

本開示の組成物及び方法によってスクリーニングすることができる真菌種の例示的な例には、Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｉｓ ｓｐｐ．、Ｂｌａｓｔｏｍｙｃｅｓ ｓｐｐ．、Ｃａｎｄｉｄ ｓｐｐ．、Ｃｏｃｃｉｃｉｏｉｄｅｓ ｓｐｐ．、Ｃｒｙｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐｐ．、ｄｅｒｍａｔｏｐｈｙｔｅｓ、Ｔｉｎｅ ｓｐｐ．、Ｔｒｉｃｈｏｐｈｙｔｏｎ ｓｐｐ．、Ｍｉｃｒｏｓｐｏｒｕｍ ｓｐｐ．、Ｆｕｓａｒｉｕｍ ｓｐｐ．、Ｈｉｓｔｏｐｌａｓｍ ｓｐｐ．、Ｍｕｃｏｒｏｍｙｃｏｔｉｎ ｓｐｐ．、Ｐｎｅｕｍｏｃｙｓｔｉｓ ｓｐｐ．、Ｓｐｏｒｏｔｈｒｉｘ ｓｐｐ．、ａｎ Ｅｘｓｅｒｏｐｈｉｌｕｍ ｓｐｐ．、またはＣｌａｄｏｓｐｏｒｉｕｍ ｓｐｐ．が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９７２】

本開示の組成物及び方法によってスクリーニングすることができるウイルスの例示的な例には、インフルエンザＡ、例えば、Ｈ１Ｎ１、Ｈ１Ｎ２、Ｈ３Ｎ２及びＨ５Ｎ１（鳥

インフルエンザ）、インフルエンザＢ、インフルエンザＣウイルス、Ａ型肝炎ウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、Ｃ型肝炎ウイルス、Ｄ型肝炎ウイルス、Ｅ型肝炎ウイルス、ロタウイルス、ノーウォークウイルス群のうちの任意のウイルス、腸管アデノウイルス、パルボウイルス、デング熱ウイルス、サル痘、モノネガウイルス目、リッサウイルス、例えば、狂犬病、ラゴスコウモリウイルス、モコラウイルス、ドゥベンヘイジウイルス、ヨーロッパコウモリウイルス１＆２、及びオーストラリアコウモリウイルス、エフェメロウイルス、ベジクロウイルス、水疱性口内炎ウイルス（ＶＳＶ）、ヘルペスウイルス属、例えば、単純性ヘルペスウイルス１型及び２型、水痘帯状疱疹、サイトメガロウイルス、エプスタイン・バールウイルス（ＥＢＶ）、ヒトヘルペスウイルス（ＨＨＶ）、ヒトヘルペスウイルス６型及び８型、モロニーマウス白血病ウイルス（Ｍ－ＭｕＬＶ）、モロニーマウス肉腫ウイルス（ＭｏＭＳＶ）、ハーベイマウス肉腫ウイルス（ＨａＭｕＳＶ）、マウス乳癌ウイルス（ＭｕＭＴＶ）、テナガザル白血病ウイルス（ＧａＬＶ）、ネコ白血病ウイルス（ＦＬＶ）、スプーマウイルス、フレンドマウス白血病ウイルス、マウス幹細胞ウイルス（ＭＳＣＶ）及びラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）、ＨＩＶ（ＨＩＶ１型、及びＨＩＶ２型を含むヒト免疫不全ウイルス）、ビスナ・マエディウイルス（ＶＭＶ）、ヤギ関節炎脳炎ウイルス（ＣＡＥＶ）、ウマ伝染性貧血ウイルス（ＥＩＡＶ）、ネコ免疫不全ウイルス（ＦＩＶ）、ウシ免疫不全ウイルス（ＢＩＶ）、及びサル免疫不全ウイルス（ＳＩＶ）、パピローマウイルス、マウスガンマヘルペスウイルス、アレナウイルス科、例えば、アルゼンチン出血熱ウイルス、ボリビア出血熱ウイルス、サビア関連出血熱ウイルス、ベネズエラ出血熱ウイルス、ラッサ熱ウイルス、マチュポウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（ＬＣＭＶ））、ブニヤウイルス科（Ｂｕｎｙａｖｉｒｉｄｉａｅ）、例えば、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、ハンタウイルス、腎症候性出血熱を引き起こすウイルス、リフトバレー熱ウイルス、フィロウイルス科（フィロウイルス）（エボラ出血熱及びマールブルグ出血熱を含む）、フラビウイルス科（キャサヌール森林病ウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ダニ媒介脳炎を引き起こすウイルス含む）及びパラミクソウイルス科、例えば、ヘンドラウイルス及びニパウイルス、大痘瘡及び小痘瘡（天然痘）、アルファウイルス属、例えば、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、ＳＡＲＳ関連コロナウイルス（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ）、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）、西ナイルウイルス、ならびにいずれかの脳炎を引き起こすウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。

【０９７３】

本開示の組成物及び方法によって検出される、特定される、予測される、診断される、またはモニタリングされることが可能である移植患者における臓器移植をモニターするのに好適な遺伝子の例示的な例は、以下の遺伝子：ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、ＨＬＡ－ＤＲ、ＨＬＡ－ＤＰ、及びＨＬＡ－ＤＱのうちの１以上が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９７４】

いくつかの実施形態では、バイオインフォマティクス解析を使用して、ｃｆＤＮＡクローンライブラリーにて解析されるゲノム当量数の定量する；標的遺伝子座内にて遺伝子変異型を検出する；標的遺伝子座内にて突然変異を検出する；標的遺伝子座内にて遺伝子融合を検出する；または標的遺伝子座内にてコピー数変動を測定する。

【０９７５】

種々の実施形態では、遺伝性疾患についてのコンパニオン診断を提供し、このコンパニオン診断は、対象の生体試料からゲノムＤＮＡを単離する、または取得することと；１以上の末端修復酵素によってＤＮＡを処理して末端修復ＤＮＡを生成することと；１以上のアダプターを末端修復ＤＮＡの各末端に結合させてＤＮＡライブラリーを生成することと；ＤＮＡライブラリーを増幅してＤＮＡクローンライブラリーを生成することと；ＤＮＡクローンライブラリーにてゲノム当量数を決定することと；ＤＮＡクローンライブラリーにて遺伝性疾患と関連する１以上のバイオマーカーの定量的遺伝子解析を実施することとを含み、その際、１以上のバイオマーカーのうちの少なくとも１つの検出、またはその検

出の失敗は、対象が遺伝性疾患について治療されるべきかどうかを示す。いくつかの実施形態では、このＤＮＡはｃｆＤＮＡである。特定の実施形態では、このＤＮＡは細胞ＤＮＡである。

【０９７６】

本開示で使用されるとき「コンパニオン診断」という用語は、特定の抗がん療法に関連付けられる診断検査を指す。特定の実施形態では、診断方法は、生体試料に関連するバイオマーカーにおける遺伝子損傷の検出を含み、それによって、患者が抗がん療法で治療されるべきか、また治療されるべきではないかの迅速な特定が可能になる。

【０９７７】

抗がん療法には、手術、放射線照射、化学療法、抗がん剤、及び免疫調節剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９７８】

抗がん薬の例示的な例には、アルキル化剤、例えば、チオテパ及びシクロホスファミド（ＣＹＴＯＸＡＮ（商標））；アルキルスルホン酸塩類、例えば、ブスルファン、インプロスルファン及びピポスルファン；アジリジン類、例えば、ベンゾドパ、カルボコン、メツレドパ、及びウレドパ；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスファオルアミド、及びトリメチルオロメラミンレジュームを含むエチレンイミン類及びメチラメラミン類；ナイトロジェンマスタード類、例えば、クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノブエンビキン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード；ニトロソウレア類、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチン；抗生物質類、例えば、アクラシノマイシン類、アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン類、カクチノマイシン、カリチアマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルチノフィリン、クロモマイシン類、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ドキソルビシンとそのペグ化製剤類、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン類、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン類、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン；代謝拮抗剤類、例えば、メソトレキセート及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ））；葉酸類似体、例えば、デノプテリン、メソトレキセート、プテロプテリン、トリメトレキサート；プリン類似体、例えば、フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン；ピリミジン類似体、例えば、アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、５－ＦＵ；アンドロゲン類、例えば、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン；抗副腎剤類、例えば、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸補充薬、例えば、フォリン酸（ｆｒｏｌｉｎｉｃ ａｃｉｄ））；アセグラトン；アルドホスファミド配糖体；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトラキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルホルミチン；エリプチニウムアセテート；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ポドフィリン酸；２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ＰＳＫ（登録商標）；ラゾキサン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；２，２’，２”－トリクロロトリエチルアミン；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド類、例えば、パクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ， Ｎ．Ｊ．）及

びドキセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）、Ｒｈｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ　Ｒｏｒｅｒ，Ａｎｔｏｎｙ，Ｆｒａｎｃｅ））、クロラムブシル；ゲムシタビン；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；白金類似体、例えば、シスプラチン及びカルボプラチン；ビンブラスチン；白金；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；マイトマイシンＣ；ミトキサントロン；ビンクリスチン；ビノレルビン；ナベルビン；ノバントロン；テニポシド；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロネート；ＣＰＴ－１１；トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ２０００；ジフルオロメチロマイシン（ｄｉｆｌｕｏｒｏｍｅｔｈｙｌｏｍｉｔｈｉｎｅ）（ＤＭＦＯ）；レチノイン酸誘導体、例えば、Ｔａｒｇｒｅｔｉｎ（商標）（ベキサロテン）、Ｐａｎｒｅｔｉｎ（商標）（アリトレチノイン））；ＯＮＴＡＫ（商標）（デニロイキンジフチトクス）；エスペラミシン類；カペシタビン；ならびに上記いずれかの薬学的に許容される塩類、酸類、または誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。この定義にさらに含まれるものは、がんに対するホルモン作用を調節する、または阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えば、抗エストロゲン剤、例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、４（５）－イミダゾール類を阻害するアロマターゼ、４－ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、ＬＹ１１７０１８、オナプリストン、及びトレミフェン（Ｆａｒｅｓｔｏｎ）；ならびに抗アンドロゲン剤、例えば、フルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン；ならびに上記のいずれかの薬学的に許容される塩類、酸類、または誘導体である。

【０９７９】

免疫調節剤の例示的な例には、シクロスポリン、タクロリムス、トレスペリムス、ピメクロリムス、シロリムス、ベロリムス、ラフルニムス、ラキニモド及びイミキモド、ならびにこれらの類似体、誘導体、塩類、イオン類、及び複合体が挙げられるが、これらに限定されない。

【０９８０】

いくつかの実施形態では、抗がん薬はポリ－ＡＤＰリボースポリメラーゼ（ＰＡＲＰ）阻害剤を含んでもよい。ＰＡＲＰ阻害剤の例示的な例には、オラパリブ（ＡＺＤ－２２８１）、ルカパリブ（ＡＧ０１４６９９またはＰＦ－０１３６７３３８）、ニラパリブ（ＭＫ－４８２７）、タラゾパリブ（ＢＭＮ－６７３）、ベリパリブ（ＡＢＴ－８８８）、ＣＥＰ９７２２、Ｅ７０１６、ＢＧＢ－２９０、３－アミノベンズアミドが挙げられるが、これらに限定されない。

【０９８１】

本明細書で引用されている全ての刊行物、特許出願及び発行された特許は、個々の刊行物、特許出願、または発行された特許が具体的に且つ個々に参照によって組み込まれるように指示されたかのように、参照によって本明細書に組み込まれる。特に、国際ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１４／０９３３３０号、第ＷＯ２０１６／０２８３１６号、第ＷＯ２０１７／０８３５６２号、及び第ＷＯ２０１８／０３９４６３号の全内容は参照によって具体的に組み込まれる。

【０９８２】

前述の開示を、明快に理解するための例示及び例を通じてある程度詳細に説明してきたが、本開示の教示を踏まえた上で、添付の特許請求の範囲の精神または範囲から逸脱することなく、特定の変更及び修正を施してもよいことは、当業者には容易に明らかになるであろう。以下の実施例は、単に例示として提供されるものであり、限定として提供されるものではない。当業者は、本質的に同様な結果をもたらすために変更または修正ができるであろう種々の重要性の低いパラメーターがあることを容易に認識するであろう。

【０９８３】

反対のことが明示されない限り、本開示における特定の実施形態の実施には、当該技術分野の技能の範囲内にある化学、生化学、有機化学、分子生物学、微生物学、組換えＤＮＡ技術、遺伝学、免疫学、及び細胞生物学の従来の方法が採用され、これらの多くは例示の目的で以下に説明されている。そのような技術は文献にて十分に説明されている。例え

ば、Sambrook, et al., Molecular Cloning：A Laboratory Manual（3rd Edition, 2001）；Sambrook, et al., Molecular Cloning：A Laboratory Manual（2nd Edition, 1989）；Maniatis et al., Molecular Cloning：A Laboratory Manual（1982）；Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology（John Wiley and Sons, updated July, 2008）；Short Protocols in Molecular Biology：A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley－Interscience；Glover, DNA Cloning：A Practical Approach, vol. I & II（IRL Press, Oxford, 1985）；Anand, Techniques for the Analysis of Complex Genomes,（Academic Press, New York, 1992）；Transcription and Translation（B. Hames & S. Higgins, Eds., 1984）；Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning（1984）；及びHarlow and Lane, Antibodies,（Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 1998）を参照のこと。

【0984】

開示の他の実施形態

添付の特許請求の範囲にかかわらず、以下の番号付けされた実施形態も本開示の一部を形成する。

1．1以上の捕捉プローブモジュールを含むキットであって、
各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料における標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み；
前記1以上の捕捉プローブモジュールがプローブ品質管理（QC）プロセスに合格している、前記キット。

【0985】

2．アダプターのセットを含むキットであって、
各アダプターはアダプターモジュールを含み、
前記アダプターのセットはアダプター品質管理（QC）プロセスに合格している、前記キット。

【0986】

3．キットであって、
a．各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットと、
b．各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料における標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む1以上の捕捉プローブモジュールとを含み；
前記アダプターのセットがアダプター品質管理（QC）プロセスに合格している、前記キット。

【0987】

4．キットであって、
a．各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットと、
b．各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料における標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む1以上の捕捉プローブモジュールとを含み；
前記1以上の捕捉プローブモジュールがプローブ品質管理（QC）プロセスに合格してい

る、前記キット。
【０９８８】
５．キットであって、
ａ．各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットと、
ｂ．各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料における標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールとを含み；
前記アダプターのセットがアダプター品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している；
前記１以上の捕捉プローブモジュールがプローブ品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している、前記キット。
【０９８９】
６．前記アダプターＱＣプロセスが、アダプターライゲーション用試験を含み、前記アダプターライゲーション用試験は、
ａ．アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；
ｂ．前記ＬＩＢＳを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することとを含み；
前記アダプターのセットは、前記ＬＰＡの濃度が所定の濃度よりも高ければ前記アダプターライゲーション用試験に合格したとみなされる、実施形態１～５のいずれか１つに記載のキット。
【０９９０】
７．前記末端修復されたＤＮＡ断片の前記所定量が約５ｎｇ～約５０ｎｇであり、前記ＬＰＡの前記所定の濃度が約１ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである、実施形態６に記載のキット。
【０９９１】
８．前記アダプターセットが、前記アダプターライゲーション用試験に合格していれば前記アダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態６～７のいずれか１つに記載のキット。
【０９９２】
９．前記アダプターＱＣプロセスが、アダプター分布用試験を含み、前記試験が：
ａ．前記アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；
ｂ．インデックス配列を含む少なくとも１つのプライマーを含むプライマーペアを使用してＬＩＢＳを増幅して、ライブラリーポストインデックスアンプリフィケーション（ＬＰＩＡ）を生成することと；
ｃ．ＬＰＩＡについて定量的遺伝子解析を行うこととを含み；
前記アダプターのセットは、前記定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば、前記アダプター分布用試験に合格したとみなされる、実施形態１～８のいずれか１つに記載のキット。
【０９９３】
１０．前記所定の合否判定基準が、
ａ．バーコードクロストークがリードの０．０５％～５％以下に存在すること；
ｂ．未知のアダプターがリードの１％～５０％以下に存在すること；
ｃ．固有アダプター配列の１０％～８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有すること；
ｄ．すべての固有アダプター配列の少なくとも６０％～９９．９％が存在すること；
ｅ．固有アダプター配列の５％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有すること；うちの１以上を含む、実施形態９に記載のキット。
【０９９４】
１１．前記アダプターのセットが、前記アダプター分布用試験に合格していれば前記ア

ダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態９～１０のいずれか１つに記載のキット。

【０９９５】

１２．前記アダプターのセットが、前記アダプターライゲーション用試験及び前記アダプター分布用試験の双方に合格していれば前記アダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態９～１１のいずれか１つに記載のキット。

【０９９６】

１３．前記プローブＱＣプロセスが、

ａ．アダプターのセットを、末端修復されたＤＮＡ断片を含むＤＮＡ試料に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；

ｂ．前記ＬＩＢＳを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することと；

ｃ．前記ＬＰＡを分割して、または希釈して標的捕捉ＬＰＡ（ＴＣ　ＬＰＡ）及び全ゲノムＬＰＡ（ＷＧ　ＬＰＡ）を生成することと；

ｄ．前記ＷＧ　ＬＰＡを増幅して増幅された全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を生成することと；

ｅ．試験される前記１以上の捕捉プローブモジュールを前記ＴＣ　ＬＰＡとハイブリッド形成させてアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；

ｆ．前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離して、単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；

ｇ．前記単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を酵素処理してハイブリッド分子を生成し、その際、各ハイブリッド分子は捕捉プローブモジュールとアダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体とを含むことと；

ｈ．前記ハイブリッド分子を増幅して増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を生成することと；

ｉ．前記ＷＧＬＡと前記ＴＣＬＡとを結合して配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）を形成することと、

ｊ．前記ＳＲＬについて定量的遺伝子解析を行う工程とを含む、捕捉プローブモジュール試験を含み；

前記ＤＮＡ試料が複数の一塩基多型（ＳＮＰ）を含み、

前記１以上の捕捉プローブモジュールは、前記定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば、前記プローブＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態１～１２のいずれか１つに記載のキット。

【０９９７】

１４．前記ＴＣ　ＬＰＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬであり、前記ＷＧ　ＬＰＡが少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～少なくとも８ｎｇ／μＬであり、前記ＴＣＬＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬであり、前記ＷＧＬＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬである、実施形態１３に記載のキット。

【０９９８】

１５．前記所定の合否判定基準が、

ａ．捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することと；

ｂ．捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が少なくとも１０～少なくとも２００の狙い通りの全リード数を有することと；

ｃ．前記ＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％～９９．９％が検出されることとのうちの１以上を含む、実施形態１３または１４に記載のキット。

【０９９９】

１６．前記プローブＱＣプロセスで使用される前記ＤＮＡ試料を含む、実施形態１２～１５のいずれか１つに記載のキット。
【１０００】
１７．前記アダプターのセットが、実施形態１７４～２１９のいずれか１つに記載の方法に従って実施されるアダプターＱＣプロセスに合格している、実施形態１～１６のいずれか１つに記載のキット。
【１００１】
１８．前記１以上の捕捉プローブモジュールが、実施形態２２０～２４０のいずれか１つに記載の方法に従って実施されるプローブＱＣプロセスに合格している、実施形態１～１７のいずれか１つに記載のキット。
【１００２】
１９．第１のＦプライマー及び第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアを含み、
各アダプターモジュールは増幅領域を含み；
前記第１のＦプライマーが増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み；
前記第１のＲプライマーがテール配列結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、実施形態１～１８のいずれか１つに記載のキット。
【１００３】
２０．前記第１のプライマーペアを使用して第１の修飾ライブラリーを生成する、実施形態１９に記載のキット。
【１００４】
２１．第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペアを含み、
前記第２のＦプライマー及び前記第２のＲプライマーがそれぞれ増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、実施形態１～２０のいずれか１つに記載のキット。
２２．前記第２のプライマーペアを使用して第２の修飾ライブラリーを生成する、実施形態２１記載のキット。
【１００５】
２３．
（ｃ）第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアであって、各アダプターモジュールは増幅領域を含む、第１のプライマーペアを含み、
前記第１のＦプライマーが増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み；
前記第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、
（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーとを含む第２のプライマーペアを含み；
前記第２のＦプライマー及び前記第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、実施形態１～２２のいずれか１つに記載のキット。
【１００６】
２４．前記第１のプライマーを使用して第１の修飾ライブラリーを生成し、前記第２のプライマーを使用して第２の修飾ライブラリーを生成する、実施形態２３記載のキット。
【１００７】
２５．前記第１の修飾ライブラリー及び前記第２の修飾ライブラリーが配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）に結合されるように構成される、実施形態２４に記載のキット。
【１００８】
２６．各捕捉プローブモジュールの前記テール配列がライブラリータグを含む、実施形態１～２５のいずれか１つに記載のキット。
【１００９】
２７．
（ｃ）各アダプターモジュールが増幅領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアを含み、
前記第１のＦプライマーが増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み；

前記第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む；
（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーとを含む第２のプライマーペアを含み、前記第２のＦプライマー及び前記第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、
前記第２のプライマーペアのプライマーのいずれも前記ライブラリータグに結合しない、実施形態２６に記載のキット。
【１０１０】
２８．前記第１のプライマーを使用して第１の修飾ライブラリーを生成し、前記第２のプライマーを使用して第２の修飾ライブラリーを生成する、実施形態２７に記載のキット。
【１０１１】
２９．前記第１の修飾ライブラリー及び前記第２の修飾ライブラリーが配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）に結合されるように構成される、実施形態２８に記載のキット。
【１０１２】
３０．前記ライブラリータグが核酸配列またはアミノ酸配列を含む、実施形態２６～２９のいずれか１つに記載のキット。
【１０１３】
３１．前記ライブラリータグが、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＰＮＡ、または天然に存在しない核酸、合成核酸、修飾核酸、天然に存在しないアミノ酸、合成アミノ酸、及び修飾アミノ酸のうちの１以上を含む、実施形態２６～３０のいずれか１つに記載のキット。
【１０１４】
３２．前記ライブラリータグが検出可能な標識を含む、実施形態２６～３１のいずれか１つに記載のキット。
【１０１５】
３３．前記検出可能な標識が、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む、実施形態３２に記載のキット。
【１０１６】
３４．前記ライブラリータグが選択的にまたは特異的に、検出可能な部分に結合する、実施形態２６～３３のいずれか１つに記載のキット。
【１０１７】
３５．前記検出可能な部分が、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む、実施形態３４に記載のキット。
【１０１８】
３６．前記ライブラリータグが固有のポリヌクレオチド配列を含む、実施形態２６～３５のいずれか１つに記載のキット。
【１０１９】
３７．前記固有のポリヌクレオチド配列が試験試料の任意のＤＮＡ断片に対して７０％以下の配列同一性を有する、実施形態３６に記載のキット。
【１０２０】
３８．キットであって、
ａ．各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと；
ｂ．各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料における標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールの前記テール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと、
ｃ．第１のＦプライマー及び第１のＲプライマーを含み、前記第１のＦプライマーが増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、前記第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、第１のプライマーペアと；
ｄ．第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含み、前記第２のＦプライマー及び前記第２のＲプライマーがそれぞれ増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含

み、前記第２のプライマーペアのプライマーのいずれも前記ライブラリータグに結合しない、第２のプライマーペアとを含む、前記キット。
【１０２１】
３９．第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーを生成するためのキットであって、
ａ．各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットと、
ｂ．各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料における標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールとを含み；
前記第１の修飾ライブラリーがアダプターと、捕捉プローブモジュールと、捕捉プローブモジュールの標的配列とを含むＤＮＡ断片を含み；
前記第２の修飾ライブラリーがアダプターと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むＤＮＡ断片を含む、前記キット。
【１０２２】
４０．各捕捉プローブモジュールの前記テール配列がライブラリータグを含む、実施形態３９に記載のキット。
【１０２３】
４１．前記第１の修飾ライブラリー及び前記第２の修飾ライブラリーの双方が前記試験試料から生成される、実施形態３９または４０に記載のキット。
【１０２４】
４２．（ｃ）第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含み、各アダプターモジュールが増幅領域を含む、第１のプライマーペアを含み、
前記第１のＦプライマーが増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み；前記第１のＲプライマーがテール配列結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む；
（ｄ）第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペアを含み、
前記第２のＦプライマー及び前記第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、実施形態３９～４１のいずれか１つに記載のキット。
【１０２５】
４３．各捕捉プローブモジュールの前記テール配列がライブラリータグを含む、実施形態３９～４２のいずれか１つに記載のキット。
【１０２６】
４４．（ｃ）各アダプターモジュールが増幅領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアを含み、
前記第１のＦプライマーが増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み；
前記第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む；
（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーとを含む第２のプライマーペアを含み；
前記第２のＦプライマー及び前記第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、
前記第２のプライマーペアのプライマーのいずれも前記ライブラリータグに結合しない、実施形態４３に記載のキット。
【１０２７】
４５．前記第１のプライマーペアを使用して第１の修飾ライブラリーを生成し、前記第２のプライマーペアを使用して第２の修飾ライブラリーを生成する、実施形態３８～４４のいずれか１つに記載のキット。
【１０２８】
４６．前記第１の修飾ライブラリー及び前記第２の修飾ライブラリーが配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）に結合されるように構成される、実施形態４５に記載のキット。
【１０２９】

４７．前記第１の修飾ライブラリーがアダプターと、捕捉プローブモジュールと、捕捉プローブモジュールの標的配列とを含む第１のＤＮＡ断片を含み；
前記第２の修飾ライブラリーがアダプターと、試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含む第２のＤＮＡ断片を含む、実施形態３９～４６のいずれか１つに記載のキット。
【１０３０】
４８．前記第１の修飾ライブラリー及び前記第２の修飾ライブラリーが配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）に結合されるように構成される、実施形態３９～４７のいずれか１つに記載のキット。
【１０３１】
４９．前記第１の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片が、アダプターと、捕捉プローブモジュールと、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むアダプタータグ付きＤＮＡ断片であり；
前記第２の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片が、アダプターと、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部とを含むアダプタータグ付きＤＮＡ断片である、実施形態３９～４８のいずれか１つに記載のキット。
【１０３２】
５０．前記第２の修飾ライブラリーの前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片のいずれも捕捉プローブモジュールを含まない、実施形態４９に記載のキット。
【１０３３】
５１．前記第１の修飾ライブラリーが、標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬ）または増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）である、実施形態３９～５０のいずれか１つに記載のキット。
【１０３４】
５２．前記第２の修飾ライブラリーが、全ゲノムライブラリー（ＷＧＬ）または増幅された全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）である、実施形態３９～５１のいずれか１つに記載のキット。
【１０３５】
５３．前記第１の修飾ライブラリーまたは前記第２の修飾ライブラリーが前記ライブラリータグを含み、前記ライブラリータグが第２の修飾ライブラリーから第１の修飾ライブラリーを区別するように構成される、実施形態３９～５２のいずれか１つに記載のキット。
【１０３６】
５４．前記第１の修飾ライブラリーが第１のライブラリータグを含み、前記第２の修飾ライブラリーが第２のライブラリータグを含み、前記第１のライブラリータグ及び前記第２のライブラリータグは同一ではない、実施形態３９～５２のいずれか１つに記載のキット。
【１０３７】
５５．前記第１の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片が、５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含み、または
５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む；
前記第２の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片が５’から３’に向かって
５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む、実施形態３９～５４のいずれか１つに記載のキット。
【１０３８】
５６．Ａ１、Ａ２、Ｂ１及びＢ２のうちの少なくとも１つが少なくとも１つのライブラリータグを含有する、実施形態５５に記載のキット。
【１０３９】

５７．前記ライブラリータグが固有のポリヌクレオチド配列を含み、前記固有のポリヌクレオチド配列が、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、前記第１の５’アダプターモジュール、前記標的配列、前記第１の３’アダプターモジュール、前記第２の５’アダプターモジュール、前記試験試料の任意のＤＮＡ断片、及び前記第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する、実施形態５６に記載のキット。

【１０４０】

５８．前記第１の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片が５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含み、または５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む；
前記第２の修飾ライブラリーの各ライブラリー断片が５’から３’に向かって５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の５’アダプターモジュールと、前記試験試料のＤＮＡ配列の少なくとも一部と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む；
Ａ１、Ａ２、Ｂ１及びＢ２のうちの少なくとも１つが前記ライブラリータグを含み、
前記ライブラリータグが固有のポリヌクレオチド配列を含み、前記固有のポリヌクレオチド配列が、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、前記第１の５’アダプターモジュール、前記標的配列、前記第１の３’アダプターモジュール、前記第２の５’アダプターモジュール、前記試験試料の任意のＤＮＡ断片、及び前記第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の配列同一性を有する、実施形態３９～５７のいずれか１つに記載のキット。

【１０４１】

５９．前記ライブラリータグが核酸配列またはアミノ酸配列を含む、実施形態３８～５８のいずれか１つに記載のキット。

【１０４２】

６０．前記ライブラリータグが、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＰＮＡ、または天然に存在しない核酸、合成核酸、修飾核酸、天然に存在しないアミノ酸、合成アミノ酸、及び修飾アミノ酸のうちの１以上を含む、実施形態３８～５９のいずれか１つに記載のキット。

【１０４３】

６１．前記ライブラリータグが検出可能な標識を含む、実施形態３８～６０のいずれか１つに記載のキット。

【１０４４】

６２．前記検出可能な標識が、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む、実施形態６１に記載のキット。

【１０４５】

６３．前記ライブラリータグが検出可能な部分に選択的にまたは特異的に結合する、実施形態３８～６２のいずれか１つに記載のキット。

【１０４６】

６４．前記検出可能な部分が、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む、実施形態６３に記載のキット。

【１０４７】

６５．前記ライブラリータグが固有のポリヌクレオチド配列を含む、実施形態３８～６４のいずれか１つに記載のキット。

【１０４８】

６６．前記固有のポリヌクレオチド配列が前記試験試料の任意のＤＮＡ断片に対して７０％以下の配列同一性を有する、実施形態６５に記載のキット。

【１０４９】

６７．前記アダプターのセットの各アダプターが連結鎖オリゴヌクレオチド及び非連結

鎖オリゴヌクレオチドを含む、実施形態１～６６のいずれか１つに記載のキット。
【１０５０】
６８．前記非連結鎖オリゴヌクレオチドが連結鎖オリゴヌクレオチドの５’末端の領域とハイブリッド形成することができ、それと二本鎖を形成することができる、実施形態６７に記載のキット。
【１０５１】
６９．前記連結鎖オリゴヌクレオチドがアダプターモジュールを含む、実施形態６７または６８に記載のキット。
【１０５２】
７０．前記連結鎖オリゴヌクレオチドが前記３’末端にｄＴ、ｄＡ、ｄＣまたはｄＧのオーバーハングを含む、実施形態６７～６９のいずれか１つに記載のキット。
【１０５３】
７１．前記非連結鎖オリゴヌクレオチドが、ｄｓＤＮＡ断片の前記５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を防止する修飾をその３’末端に含み、前記非連結鎖は前記二本鎖から置き換えられるように構成される、実施形態６７～７０のいずれか１つに記載のキット。
【１０５４】
７２．前記アダプターのセットの各アダプターが、固有のＩＤ領域のプールから選択されるＩＤ領域を含み、前記プールが複数のプールから選択され、前記選択されたプールが前記試験試料に対して固有である、実施形態１～７１のいずれか１つに記載のキット。
【１０５５】
７３．前記アダプターモジュールが、
ａ．プライマー結合部位を含む増幅領域と；
ｂ．ＩＤ領域と、
ｃ．アンカー領域とを含む、実施形態１～７２のいずれか１つに記載のキット。
【１０５６】
７４．前記増幅領域がプライマー結合部位を含み、前記プライマー結合部位が、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する増幅を可能にする、実施形態７３に記載のキット。
【１０５７】
７５．前記増幅領域が約１０～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態７３または７４に記載のキット。
【１０５８】
７６．前記増幅領域が約２０～約３０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態７５に記載のキット。
【１０５９】
７７．前記増幅領域が２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態７６に記載のキット。
【１０６０】
７８．前記アンカー領域が３’末端にオーバーハングを含む、実施形態７３～７７のいずれか１つに記載のキット。
【１０６１】
７９．前記アンカー領域が約１～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態７３～７８のいずれか１つに記載のキット。
【１０６２】
８０．前記アンカー領域が約５～約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態７９に記載のキット。
【１０６３】
８１．前記アンカー領域が１０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形

態８０記載のキット。
【１０６４】
８２．前記ＩＤ領域が約３～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態７３～８１のいずれか１つに記載のキット。
【１０６５】
８３．前記ＩＤ領域が約３～約１５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態８２に記載のキット。
【１０６６】
８４．前記ＩＤ領域が８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態８３記載のキット。
【１０６７】
８５．前記アダプターモジュールがさらに、固有の分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子を含む、実施形態７３～８４のいずれか１つに記載のキット。
【１０６８】
８６．前記ＵＭＩ乗算因子が前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有される、実施形態８５に記載のキット。
【１０６９】
８７．前記ＵＭＩ乗算因子が約１～約５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態８５または８６に記載のキット。
【１０７０】
８８．前記ＵＭＩ乗算因子が３ヌクレオチド長であり、６４の固有のヌクレオチド配列の群から選択される核酸配列を含む、実施形態８７に記載のキット。
【１０７１】
８９．前記ＩＤ領域のプールが約２～約１０，０００の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態７２～８８のいずれか１つに記載のキット。
【１０７２】
９０．前記ＩＤ領域のプールが約１０～約５００の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態８９に記載のキット。
【１０７３】
９１．前記ＩＤ領域のプールが約５０～約３００の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態９０に記載のキット。
【１０７４】
９２．前記ＩＤ領域のプールが６０の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態９１に記載のキット。
【１０７５】
９３．前記ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域が８ヌクレオチド長である、実施形態７２～９２のいずれか１つに記載のキット。
【１０７６】
９４．各ＩＤ領域配列が任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている、実施形態７２～９４のいずれか１つに記載のキット。
【１０７７】
９５．各ＩＤ領域がそれに結合されたＤＮＡ断片を特定するように構成される、実施形態７２～９４のいずれか１つに記載のキット。
【１０７８】
９６．前記アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールが約６４～約２，５６０，０００の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態７２～９５のいずれか１つに記載のキット。
【１０７９】
９７．前記アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールが３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、前記３８４０の固有

のヌクレオチド配列の各配列は任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている、実施形態９６に記載のキット。

【１０８０】

９８．前記アダプターのセットの各アダプターの前記アンカー領域が４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域が所与の配列の前記４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する、実施形態７３～９７のいずれか１つに記載のキット。

【１０８１】

９９．前記アダプターのセットの各アダプターの前記増幅領域が同一のプライマー結合部位を含む、実施形態７３～９８のいずれか１つに記載のキット。

【１０８２】

１００．前記ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域が８ヌクレオチド長であり、各ＩＤ領域配列が任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている；
前記アダプターのセットの各アダプターが前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、前記アダプターのセットの各アダプターの前記ＵＭＩ乗算因子が３ヌクレオチド長であり、所与の配列の前記ＵＭＩ乗算因子が所与の配列のＩＤ領域１つに対合する；
前記アダプターのセットの各アダプターの前記アンカータグ領域が４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域が所与の配列の前記４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する、実施形態９９に記載のキット。

【１０８３】

１０１．前記アダプターのセットがアダプター品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している、実施形態３８～１００のいずれか１つに記載のキット。

【１０８４】

１０２．前記アダプターＱＣプロセスがアダプターライゲーション用試験を含み、前記アダプターライゲーション用試験が、
ａ．前記アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；
ｂ．前記ＬＩＢＳを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することとを含み；
前記アダプターのセットは前記ＬＰＡの濃度が所定の濃度よりも高ければ前記アダプターライゲーション用試験に合格したとみなされる、実施形態１０１に記載のキット。

【１０８５】

１０３．前記末端修復されたＤＮＡ断片の前記所定量が約５ｎｇ～約５０ｎｇであり、前記ＬＰＡの前記所定の濃度が約１ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである、実施形態１０１に記載のキット。

【１０８６】

１０４．前記アダプターのセットが、前記アダプターライゲーション用試験に合格していれば前記アダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態１０１～１０３のいずれか１つに記載のキット。

【１０８７】

１０５．前記アダプターＱＣプロセスがアダプター分布用試験を含み、前記アダプター分布用試験が、
ａ．前記アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；
ｂ．インデックス配列を含む少なくとも１つのプライマーを使用してＬＩＢＳを増幅し、ライブラリーポストインデックスアンプリフィケーション（ＬＰＩＡ）を生成することと；
ｃ．前記ＬＰＩＡについて定量的遺伝子解析を行うこととを含み；
前記アダプターのセットが、前記定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば前記アダプター分布用試験に合格したとみなされる、実施形態１０

１～１０４のいずれか１つに記載のキット。
【１０８８】
１０６．前記所定の合否判定基準が、
ａ．バーコードクロストークがリードの０．０５％～５％以下に存在すること；
ｂ．未知のアダプターがリードの１％～５０％以下に存在すること；
ｃ．固有アダプター配列の１０％～８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有すること；
ｄ．固有のアダプター配列すべての少なくとも６０％～９９．９％が存在すること；
ｅ．固有アダプター配列の５％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有すること；のうちの１以上を含む、実施形態１０１～１０５のいずれか１つに記載のキット。
【１０８９】
１０７．前記アダプターのセットが、前記アダプター分布用試験に合格していれば前記アダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態１０５～１０６のいずれか１つに記載のキット。
【１０９０】
１０８．前記アダプターのセットが、前記アダプターライゲーション用試験及び前記アダプター分布用試験の双方に合格していれば前記アダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態１０２～１０７のいずれか１つに記載のキット。
【１０９１】
１０９．前記アダプターのセットが、実施形態１７４～２１９のいずれか１つに記載の方法に従って実施されるアダプターＱＣプロセスに合格している、実施形態１０１～１０８のいずれか１つに記載のキット。
【１０９２】
１１０．アダプターモジュールの１を超えるセットを含む、実施形態１～１０９のいずれか１つに記載のキット。
【１０９３】
１１１．アダプターモジュールの約２～約１００のセットを含む、実施形態１１０に記載のキット。
【１０９４】
１１２．アダプターモジュールの４８セットを含む、実施形態１１１に記載のキット。
【１０９５】
１１３．アダプターモジュールの各セットは所与の試験試料に対して固有である、実施形態１１０～１１２のいずれか１つに記載のキット。
【１０９６】
１１４．アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを生成するために、前記試験試料の前記ＤＮＡ断片に前記アダプターセットのアダプターを連結するための１以上の試薬を含む、実施形態１～１１３のいずれか１つに記載のキット。
【１０９７】
１１５．アダプターを連結するための前記１以上の試薬がＤＮＡリガーゼを含む、実施形態１１４に記載のキット。
【１０９８】
１１６．前記ＤＮＡリガーゼがＴ４ＤＮＡリガーゼである、実施形態１１５に記載のキット。
【１０９９】
１１７．前記アダプターのセットが、
ａ．前記アダプターのセットを前記ＤＮＡ断片と連結して複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を生成することと；
ｂ．前記複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を１以上の酵素と接触させて複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片を含むアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを形成すること

とを含む方法を使用して、前記試験試料の前記ＤＮＡ断片に連結するように構成される、実施形態１～１１６のいずれか１つに記載のキット。

【１１００】

１１８．各アダプター／ＤＮＡ断片の複合体が前記ＤＮＡ断片の各末端に連結された連結鎖オリゴヌクレオチドを含む、実施形態１１７に記載のキット。

【１１０１】

１１９．工程ｂにて前記非連結鎖オリゴヌクレオチドが前記アダプター／ＤＮＡ断片の複合体から置き換えられる、実施形態１１７または１１８に記載のキット。

【１１０２】

１２０．前記アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を作り出すための１以上の試薬を含む、実施形態１１４～１１９のいずれか１つに記載のキット。

【１１０３】

１２１．前記アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを増幅するための前記１以上の試薬がＤＮＡポリメラーゼを含む、実施形態１２０に記載のキット。

【１１０４】

１２２．前記アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを増幅するための１以上の試薬がＰＣＲのための１以上のプライマーを含む、実施形態１２０～１２１のいずれか１つに記載のキット。

【１１０５】

１２３．前記１以上のプライマーが、前記アダプター増幅領域の前記プライマー結合部位に対して相補性である単一のプライマー配列を含む、実施形態１２２に記載のキット。

【１１０６】

１２４．前記ＬＰＡから増幅された全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を作り出すための１以上の試薬を含む、実施形態１２０～１２３のいずれか１つに記載のキット。

【１１０７】

１２５．ＷＧＬＡを作り出すための前記１以上の試薬が前記アダプター増幅領域の前記プライマー結合部位とハイブリッド形成する１以上のプライマーを含む、実施形態１２４に記載のキット。

【１１０８】

１２６．前記１以上のプライマーがフローセルに結合することができる配列決定アダプターを含む、実施形態１２５に記載のキット。

【１１０９】

１２７．前記配列決定アダプターが配列決定プライマー結合部位を含む、実施形態１２６に記載のキット。

【１１１０】

１２８．前記ＷＧＬＡを作り出すための前記１以上の試薬がＤＮＡポリメラーゼを含む、実施形態１２４～１２７のいずれか１つに記載のキット。

【１１１１】

１２９．前記ＷＧＬＡが配列対応である、実施形態１２４～１２８のいずれか１つに記載のキット。

【１１１２】

１３０．前記捕捉プローブモジュールの前記テール配列がプライマー結合部位を含む、実施形態１～１２９のいずれか１つに記載のキット。

【１１１３】

１３１．前記テール配列が配列決定プライマー結合部位を含む、実施形態１～１３０のいずれか１つに記載のキット。

【１１１４】

１３２．前記テール配列がパートナーオリゴヌクレオチドとハイブリッド形成するように構成される、実施形態１～１３１のいずれか１つに記載のキット。

【１１１５】
１３３．各捕捉プローブモジュールが複数の捕捉プローブモジュールを含む捕捉プローブパネルから選択される、実施形態１～１３２のいずれか１つに記載のキット。
【１１１６】
１３４．少なくとも１つの捕捉プローブモジュールが特定のＤＮＡ標的領域の下流でハイブリッド形成するように構成され、少なくとも１つの捕捉プローブモジュールが前記特定のＤＮＡ標的領域の上流でハイブリッド形成するように構成される、実施形態１３３に記載のキット。
【１１１７】
１３５．前記複数の捕捉プローブモジュールの各捕捉プローブが、任意の他の捕捉プローブの約２００ｂｐ以内でその標的配列とハイブリッド形成するように構成される、実施形態１３３または１３４に記載のキット。
【１１１８】
１３６．前記捕捉プローブパネルの各捕捉プローブモジュールがアダプタータグ付きＤＮＡ断片とハイブリッド形成して、複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成する、実施形態１３３～１３５のいずれか１つに記載のキット。
【１１１９】
１３７．前記パートナーオリゴヌクレオチドが前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の単離を可能にする結合ペアの特定のメンバーを含む、実施形態１３２～１３６のいずれか１つに記載のキット。
【１１２０】
１３８．前記パートナーオリゴヌクレオチドがビオチン分子を含む、実施形態１３７に記載のキット。
【１１２１】
１３９．各捕捉プローブモジュールが前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の単離を可能にする結合ペアの特定のメンバーを含む、実施形態１～１３６のいずれか１つに記載のキット。
【１１２２】
１４０．前記捕捉プローブモジュールがビオチン分子を含む、実施形態１３９に記載のキット。
【１１２３】
１４１．各捕捉プローブモジュールが６０ヌクレオチド未満の長さの捕捉プローブを含む、実施形態１～１４０のいずれか１つに記載のキット。
【１１２４】
１４２．各捕捉プローブモジュールが４０ヌクレオチド長である捕捉プローブを含む、実施形態１４１に記載のキット。
【１１２５】
１４３．前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片　－　捕捉プローブモジュールの複合体を単離するための成分を含む、実施形態１３６～１４２のいずれかに記載のキット。
【１１２６】
１４４．前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離するための成分がストレプトアビジンを含む、実施形態１４３に記載のキット。
【１１２７】
１４５．前記単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を酵素処理するための１以上の酵素を含む、実施形態１４３～１４４のいずれか１つに記載のキット。
【１１２８】
１４６．前記１以上の酵素が、鋳型として前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片を使用して前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体のそれぞれの捕

捉プローブを伸長して複数のハイブリッド分子（標的捕捉ライブラリー）を生成するように構成される５’－３’ポリメラーゼを含み、各ハイブリッド分子は捕捉プローブモジュールとアダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体とを含む、実施形態１４５に記載のキット。

【１１２９】

１４７．前記ハイブリッド分子を増幅させて増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を作り出すための１以上の試薬を含み、前記第１の修飾ライブラリーが前記ＴＣＬＡである、実施形態１４６に記載のキット。

【１１３０】

１４８．前記ハイブリッド分子を増幅するための前記１以上の試薬がフローセルに結合することができる配列決定アダプターを含む１以上のプライマーを含む、実施形態１４７に記載のキット。

【１１３１】

１４９．前記配列決定アダプターが配列決定プライマー結合部位を含む、実施形態１４８に記載のキット。

【１１３２】

１５０．前記ハイブリッド分子を増幅するための前記１以上の試薬がＤＮＡポリメラーゼを含む、実施形態１４７～１４９のいずれか１つに記載のキット。

【１１３３】

１５１．前記ＳＲＬが、配列解読装置の単一のフローセルで配列決定されるように構成される、実施形態１３～１５０のいずれか１つに記載のキット。

【１１３４】

１５２．前記ＳＲＬについて定量的遺伝子解析を実施するための成分を含む、実施形態１３～１５１のいずれか１つに記載のキット。

【１１３５】

１５３．定量的遺伝子解析を実施するための前記成分が１以上の配列決定プライマーを含む、実施形態１５２に記載のキット。

【１１３６】

１５４．前記定量的遺伝子解析を使用して、前記試験試料ＤＮＡ断片にてヌクレオチドの移行もしくは塩基転換、ヌクレオチドの挿入もしくは欠失、ゲノムの再構成、またはコピー数の変化を検出する、実施形態１５２～１５３のいずれか１つに記載のキット。

【１１３７】

１５５．前記１以上の捕捉プローブモジュールがプローブ品質管理（ＱＣ）プロセスに合格している、実施形態３８～１５４のいずれか１つに記載のキット。

【１１３８】

１５６．前記プローブＱＣプロセスが、

ａ．アダプターのセットを、末端修復されたＤＮＡ断片を含むＤＮＡ試料に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；

ｂ．前記ＬＩＢＳを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することと；

ｃ．前記ＬＰＡを分割して、または希釈して標的捕捉ＬＰＡ（ＴＣ　ＬＰＡ）及び全ゲノムＬＰＡ（ＷＧ　ＬＰＡ）を生成することと；

ｄ．前記ＷＧ　ＬＰＡを増幅して増幅された全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を生成することと；

ｅ．試験される前記１以上の捕捉プローブモジュールを前記ＴＣ　ＬＰＡとハイブリッド形成させて、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；

ｆ．前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離して、単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；

ｇ．前記単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を

酵素処理してハイブリッド分子を生成すること、その際、各ハイブリッド分子は前記捕捉プローブモジュールと前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体とを含むことと；
ｈ．前記ハイブリッド分子を増幅して増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を生成することと；
ｉ．前記ＷＧＬＡと前記ＴＣＬＡとを組み合わせて配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）を形成することと；
ｊ．ＳＲＬについて定量的遺伝子解析を行うこととを含み；
前記ＤＮＡ試料が複数の一塩基多型（ＳＮＰ）を含み、
前記１以上の捕捉プローブモジュールは、前記定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば、前記プローブＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態１５５に記載のキット。

【１１３９】

１５７．前記ＴＣ　ＬＰＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬであり、前記ＷＧ　ＬＰＡが少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～少なくとも８ｎｇ／μＬであり、前記ＴＣＬＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬであり、前記ＷＧＬＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬである、実施形態１５６に記載のキット。

【１１４０】

１５８．前記所定の合否判定基準が、
ａ．捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することと；
ｂ．捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が狙い通りの全リードを少なくとも１０～少なくとも２００有することと：
ｃ．前記ＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％～９９．９％が検出されることとのうち１以上を含む、実施形態１５６または１５７に記載のキット。

【１１４１】

１５９．前記プローブＱＣプロセスで使用される前記ＤＮＡ試料を含む、実施形態１５５～１５８のいずれか１つに記載のキット。

【１１４２】

１６０．前記１以上の捕捉プローブモジュールが、実施形態２２０～２４０のいずれか１つに記載の方法に従って実施されるプローブＱＣプロセスに合格している、実施形態１５５～１５９のいずれか１つに記載のキット。

【１１４３】

１６１．前記試験試料が組織生検から得られる、実施形態１～１６０のいずれか１つに記載のキット。

【１１４４】

１６２．前記組織生検が腫瘍、または腫瘍であると疑われる組織から得られる、実施形態１６１に記載のキット。

【１１４５】

１６３．前記組織生検が悪性腫瘍または悪性腫瘍が疑われる腫瘍から得られる、実施形態１６２に記載のキット。

【１１４６】

１６４．前記試験試料のＤＮＡ断片が、無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）、ゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）、相補性ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）、ミトコンドリアＤＮＡ、メチル化ＤＮＡ、脱メチル化ＤＮＡ、またはそれらの組み合わせを含む、実施形態１～１６３のいずれか１つに記載のキット。

【１１４７】

１６５．前記試験試料のＤＮＡ断片がエピジェネティックマークを含む、実施形態１～１６４のいずれか１つに記載のキット。

【１１４８】

１６６．前記試験試料ＤＮＡ断片が、全ゲノムライブラリー、アンプリコンライブラリー、全エキソームライブラリー、ｃＤＮＡライブラリー、またはメチル化ＤＮＡライブラリーから成るリストから選択されるライブラリーから得られる、実施形態１～１６５のいずれか１つに記載のキット。

【１１４９】

１６７．前記試験試料が、羊水試料、血液試料、皮膚試料、体毛試料、毛包試料、唾液試料、粘液試料、汗試料、涙液試料、上皮組織試料、尿試料、精液試料、精漿試料、血清試料、前立腺液試料、前射精液（Ｃｏｗｐｅｒ’ｓ液）試料、眼液試料、排泄物試料、生検試料、腹水試料、脳脊髄液試料、リンパ液試料、組織抽出物試料、糞便試料、及びホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）試料から成る群から選択される生体試料から得られる、実施形態１～１６６のいずれか１つに記載のキット。

【１１５０】

１６８．前記試験試料の前記ＤＮＡ断片がアダプターへの連結の前に末端修復されている、実施形態１～１６７のいずれか１つに記載のキット。

【１１５１】

１６９．末端修復を実施するための１以上の試薬を含む、実施形態１６８に記載のキット。

【１１５２】

１７０．末端修復を実施するための前記１以上の試薬がＤＮＡポリメラーゼ、キナーゼ、及びクレノウ断片から選択される１以上の酵素を含む、実施形態１６９に記載のキット。

【１１５３】

１７１．末端修復を実施するための前記１以上の試薬がＤＮＡポリメラーゼＩ、Ｔ４ＤＮＡポリメラーゼ、Ｔ４ポリヌクレオチドキナーゼ、及びクレノウ断片を含む、実施形態１７０に記載のキット。

【１１５４】

１７２．末端修復を実施するための前記１以上の試薬が末端修復緩衝液を含む、実施形態１６９～１７１のいずれか１つに記載のキット。

【１１５５】

１７３．前記末端修復緩衝液が、ＭｇＣｌ２、ＮａＣｌ、Ｔｒｉｓ－ＨＣＬ、ＤＴＴ、ＫＣＬ、及びｄＮＴＰを含む、実施形態１７２に記載のキット。

【１１５６】

１７４．アダプターのセットについてアダプター品質管理（ＱＣ）プロセスを行うための方法であって、各アダプターがアダプターモジュールを含む、前記方法。

【１１５７】

１７５．前記アダプターＱＣプロセスがアダプターライゲーション用試験を含み、前記アダプターライゲーション用試験が、

ａ．前記アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；

ｂ．前記ＬＩＢＳを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することとを含み；

前記アダプターのセットは、前記ＬＰＡの濃度が所定の濃度よりも高ければ前記アダプターライゲーション用試験に合格したとみなされる、実施形態１７４に記載の方法。

【１１５８】

１７６．前記末端修復されたＤＮＡ断片の前記所定量が約５ｎｇ～約５０ｎｇであり、前記ＬＰＡの前記所定の濃度が約１ｎｇ／μＬ～約２００ｎｇ／μＬである、実施形態１７５に記載の方法。

【１１５９】

１７７．前記アダプターセットが前記アダプターライゲーション用試験に合格していれば、前記アダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態１７５～１７６のい

ずれか１つに記載の方法。
【１１６０】
１７８．前記アダプターＱＣプロセスが、アダプター分布用試験を含み、前記アダプター分布用試験が：
ａ．前記アダプターのセットを所定量の末端修復されたＤＮＡ断片に連結してアダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；
ｂ．インデックス配列を含む少なくとも１つのプライマーを使用してＬＩＢＳを増幅して、ライブラリーポストインデックスアンプリフィケーション（ＬＰＩＡ）を生成することと；
ｃ．前記ＬＰＩＡについて定量的遺伝子解析を行うこととを含み；
前記アダプターのセットは、前記定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば前記アダプター分布用試験に合格したとみなされる、実施形態１７４～１７７のいずれか１つに記載の方法。
【１１６１】
１７９．前記所定の合否判定基準が、
ａ．バーコードクロストークがリードの０．０５％～５％以下に存在すること；
ｂ．未知のアダプターがリードの１％～５０％以下に存在すること；
ｃ．固有アダプター配列の１０％～８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有すること；
ｄ．固有のアダプター配列すべての少なくとも６０％～９９．９％が存在すること；
ｅ．固有アダプター配列の５％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有すること；のうち１以上を含む、実施形態１７８に記載の方法。
【１１６２】
１８０．前記アダプターセットが前記アダプター分布用試験に合格していれば、前記アダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態１７８～１７９のいずれか１つに記載の方法。
【１１６３】
１８１．前記アダプターのセットが前記アダプターライゲーション用試験及び前記アダプター分布用試験の双方に合格していれば、前記アダプターＱＣプロセスに合格したとみなされる、実施形態１７５～１８０のいずれか１つに記載の方法。
【１１６４】
１８２．前記アダプターのセットの各アダプターが連結鎖オリゴヌクレオチド及び非連結鎖オリゴヌクレオチドを含む、実施形態１７４～１８１のいずれか１つに記載の方法。
【１１６５】
１８３．前記非連結鎖オリゴヌクレオチドが前記連結鎖オリゴヌクレオチドの３’末端の領域とハイブリッド形成することができ、それと二本鎖を形成することができる、実施形態１８２に記載の方法。
【１１６６】
１８４．前記連結鎖オリゴヌクレオチドがアダプターモジュールを含む、実施形態１８２または１８３に記載の方法。
【１１６７】
１８５．前記連結鎖オリゴヌクレオチドが前記３’末端にｄＴ、ｄＡ、ｄＣまたはｄＧのオーバーハングを含む、実施形態１８２～１８４のいずれか１つに記載の方法。
【１１６８】
１８６．前記非連結鎖オリゴヌクレオチドが、ｄｓＤＮＡ断片の前記５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を防止する修飾をその３’末端に含み、前記非連結鎖は前記二本鎖から置き換えられるように構成される、実施形態１８２～１８６のいずれか１つに記載の方法。
【１１６９】

１８７．前記アダプターのセットの各アダプターが、固有のＩＤ領域のプールから選択されるＩＤ領域を含み、前記プールが複数のプールから選択され、前記選択されたプールが試験試料に対して固有である、実施形態１７４～１８６のいずれか１つに記載の方法。
【１１７０】
１８８．前記アダプターモジュールが、
ａ．プライマー結合部位を含む増幅領域と；
ｂ．ＩＤ領域と、
ｃ．アンカー領域とを含む、実施形態１７４～１８７のいずれか１つに記載の方法。
【１１７１】
１８９．前記増幅領域がプライマー結合部位を含み、前記プライマー結合部位が、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する増幅を可能にする、実施形態１８８に記載の方法。
【１１７２】
１９０．前記増幅領域が約１０～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態１８８または１８９に記載の方法。
【１１７３】
１９１．前記増幅領域が約２０～約３０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態１９０に記載の方法。
【１１７４】
１９２．前記増幅領域が２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態１９１に記載の方法。
【１１７５】
１９３．前記アンカー領域が前記３’末端にオーバーハングを含む、実施形態１８８～１９２のいずれか１つに記載の方法。
【１１７６】
１９４．前記アンカー領域が約１～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態１８８～１９３のいずれか１つに記載の方法。
【１１７７】
１９５．前記アンカー領域が約５～約２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態１９４に記載の方法。
【１１７８】
１９６．前記アンカー領域が１０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態１９５記載の方法。
【１１７９】
１９７．前記ＩＤ領域が約３～約５０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態１８８～１９６のいずれか１つに記載の方法。
【１１８０】
１９８．前記ＩＤ領域が約３～約１５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態１９７に記載の方法。
【１１８１】
１９９．前記ＩＤ領域が８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態１９８記載の方法。
【１１８２】
２００．前記アダプターモジュールがさらに、固有の分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子を含む、実施形態１８８～１９９のいずれか１つに記載の方法。
【１１８３】
２０１．前記ＵＭＩ乗算因子が前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有される、実施形態２００に記載の方法。

【１１８４】
２０２．前記ＵＭＩ乗算因子が約１～約５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２００または２０１に記載の方法。
【１１８５】
２０３．前記ＵＭＩ乗算因子が３ヌクレオチド長であり、６４の固有のヌクレオチド配列の群から選択される核酸配列を含む、実施形態２０２に記載の方法。
【１１８６】
２０４．前記ＩＤ領域のプールが約２～約１０，０００の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態１８７～２０３のいずれか１つに記載の方法。
【１１８７】
２０５．前記ＩＤ領域のプールが約１０～約５００の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態２０４に記載の方法。
【１１８８】
２０６．前記ＩＤ領域のプールが約５０～約３００の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態２０５に記載の方法。
【１１８９】
２０７．前記ＩＤ領域のプールが６０の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態２０６に記載の方法。
【１１９０】
２０８．前記ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域が８ヌクレオチド長である、実施形態１８７～２０７のいずれか１つに記載の方法。
【１１９１】
２０９．各ＩＤ領域配列が任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている、実施形態１８８～２０８のいずれか１つに記載の方法。
【１１９２】
２１０．各ＩＤ領域がそれに結合されたＤＮＡ断片を特定するように構成される、実施形態１８８～２０９のいずれか１つに記載の方法。
【１１９３】
２１１．前記アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールが約６４～約２，５６０，０００の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態１７４～２１０のいずれか１つに記載の方法。
【１１９４】
２１２．前記アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールが３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、前記３８４０の固有のヌクレオチド配列の各配列が任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている、実施形態２１１に記載の方法。
【１１９５】
２１３．前記アダプターのセットの各アダプターの前記アンカー領域が４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域が所与の配列の前記４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する、実施形態１８８～２１２のいずれか１つに記載の方法。
【１１９６】
２１４．前記アダプターのセットの各アダプターの前記増幅領域が同一のプライマー結合部位を含む、実施形態１８８～２１３のいずれか１つに記載の方法。
【１１９７】
２１５．前記ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域が８ヌクレオチド長であり、各ＩＤ領域配列が任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている；
前記アダプターのセットの各アダプターが前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、前記アダプターのセットの各アダプターの前記ＵＭＩ乗算因子が３ヌクレオチド長であり、所与の配列の前記ＵＭＩ乗算因子が所与の配列

のＩＤ領域１つに対合する；
前記アダプターのセットの各アダプターの前記アンカー領域が４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域が所与の配列の前記４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する、実施形態２１４に記載の方法。
【１１９８】
２１６．ａ．前記アダプターのセットを試験試料のＤＮＡ断片と連結して複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を生成することと；
ｂ．前記複数のアダプター／ＤＮＡ断片の複合体を１以上の酵素と接触させて複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片を含むアダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを形成することとを含む、実施形態１８２～２１５のいずれか１つに記載の方法。
【１１９９】
２１７．各アダプター／ＤＮＡ断片の複合体が前記ＤＮＡ断片の各末端に連結された連結鎖オリゴヌクレオチドを含む、実施形態２１６に記載の方法。
【１２００】
２１８．前記非連結鎖オリゴヌクレオチドが工程ｂにて前記アダプター／ＤＮＡ断片の複合体から置き換えられる、実施形態２１６または２１７に記載の方法。
【１２０１】
２１９．前記アダプターセットが、実施形態１～１７３のいずれか１つに記載のキットから選択される、実施形態１７４～２１８のいずれか１つに記載の方法。
【１２０２】
２２０．１以上の捕捉プローブモジュールについてプローブ品質管理（ＱＣ）プロセスを実行する方法であって、各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、前記方法。
【１２０３】
２２１．前記プローブＱＣプロセスが、
ａ．アダプターセットを、末端修復されたＤＮＡ断片を含むＤＮＡ試料に連結して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片のライブラリー（ＬＩＢＳ）を生成することと；
ｂ．前記ＬＩＢＳを増幅してライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）を生成することと；
ｃ．前記ＬＰＡを分割して、または希釈して標的捕捉ＬＰＡ（ＴＣ　ＬＰＡ）及び全ゲノムＬＰＡ（ＷＧ　ＬＰＡ）を生成することと；
ｄ．前記ＷＧ　ＬＰＡを増幅して増幅された全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を生成することと；
ｅ．試験される前記１以上の捕捉プローブモジュールを前記ＴＣ　ＬＰＡとハイブリッド形成させて、アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；
ｆ．前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を単離して、単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成することと；
ｇ．前記単離されたアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を酵素処理してハイブリッド分子を生成すること、その際、各ハイブリッド分子は捕捉プローブモジュールと前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体とを含むことと；
ｈ．前記ハイブリッド分子を増幅して増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を生成することと；
ｉ．前記ＷＧＬＡと前記ＴＣＬＡとを組み合わせて配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）を形成することと；
ｊ．前記ＳＲＬについて定量的遺伝子解析を行うこととを含み；
前記ＤＮＡ試料が複数の一塩基多型（ＳＮＰ）を含み、
前記１以上の捕捉プローブモジュールは、前記定量的遺伝子解析についての１以上の所定の合否判定基準が満たされていれば、前記プローブＱＣプロセスに合格したとみなされる

、実施形態２２０に記載の方法。
【１２０４】
２２２．前記ＴＣ　ＬＰＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬであり、前記ＷＧ　ＬＰＡが少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～少なくとも８ｎｇ／μＬであり、前記ＴＣＬＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬであり、前記ＷＧＬＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬである、実施形態２２１に記載の方法。
【１２０５】
２２３．前記所定の合否判定基準が、
ａ．捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が少なくとも１回の全リードを有することと；
ｂ．捕捉プローブの少なくとも６０％～９９．９％が狙い通りの全リードを少なくとも１０～少なくとも２００有することと：
ｃ．前記ＤＮＡ試料内の予想されるＳＮＰの少なくとも６０％～９９．９％が検出されることとのうち１以上を含む、実施形態２２１または２２２に記載の方法。
【１２０６】
２２４．前記捕捉プローブモジュールの前記テール配列がプライマー結合部位を含む、実施形態２２０～２２３のいずれか１つに記載の方法。
【１２０７】
２２５．前記テール配列が配列決定プライマー結合部位を含む、実施形態２２０～２２４のいずれか１つに記載の方法。
【１２０８】
２２６．前記テール配列がパートナーオリゴヌクレオチドとハイブリッド形成するように構成される、実施形態２２０～２２５のいずれか１つに記載の方法。
【１２０９】
２２７．各捕捉プローブモジュールが複数の捕捉プローブモジュールを含む捕捉プローブパネルから選択される、実施形態２２０～２２６のいずれか１つに記載の方法。
【１２１０】
２２８．少なくとも１つの捕捉プローブモジュールが特定のＤＮＡ標的領域の下流でハイブリッド形成するように構成され、少なくとも１つの捕捉プローブモジュールが前記特定のＤＮＡ標的領域の上流でハイブリッド形成するように構成される、実施形態２２７に記載の方法。
【１２１１】
２２９．前記複数の捕捉プローブモジュールの各捕捉プローブが、任意の他の捕捉プローブの約２００ｂｐ以内でその標的配列とハイブリッド形成するように構成される、実施形態２２７または２２８に記載の方法。
【１２１２】
２３０．前記捕捉プローブパネルの各捕捉プローブモジュールがアダプタータグ付きＤＮＡ断片とハイブリッド形成して、複数のアダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体を形成する、実施形態２２７～２２９のいずれか１つに記載の方法。
【１２１３】
２３１．前記パートナーオリゴヌクレオチドが前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の単離を可能にする結合ペアの特定のメンバーを含む、実施形態２２６～２３０のいずれか１つに記載の方法。
【１２１４】
２３２．前記パートナーオリゴヌクレオチドがビオチン分子を含む、実施形態２３１に記載の方法。
【１２１５】
２３３．各捕捉プローブモジュールが前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の単離を可能にする結合ペアの特定のメンバーを含む、実施形態２

２０～２３２のいずれか１つに記載の方法。
【１２１６】
２３４．前記捕捉プローブモジュールがビオチン分子を含む、実施形態２３３に記載の方法。
【１２１７】
２３５．各捕捉プローブモジュールが６０未満のヌクレオチド長の捕捉プローブを含む、実施形態２２０～２３４のいずれか１つに記載の方法。
【１２１８】
２３６．各捕捉プローブモジュールが４０ヌクレオチド長である捕捉プローブを含む、実施形態２３５に記載の方法。
【１２１９】
２３７．前記結合ペアがストレプトアビジンを含む、実施形態２３１～２３６のいずれか１つに記載の方法。
【１２２０】
２３８．工程（ｇ）が 鋳型として前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片を使用して前記アダプタータグ付きＤＮＡ断片－捕捉プローブモジュールの複合体の各捕捉プローブの５’－３’伸長を実行して複数のハイブリッド分子（標的捕捉ライブラリー）を作り出すことを含み、各ハイブリッド分子は捕捉プローブモジュールとアダプタータグ付きＤＮＡ断片の相補体とを含む、実施形態２２１～２３７のいずれか１つに記載の方法。
【１２２１】
２３９．工程（ｊ）が、配列解読装置の単一のフローセルで前記ＳＲＬの配列決定を行うことを含む、実施形態２２１～２３８のいずれか１つに記載の方法。
【１２２２】
２４０．前記定量的遺伝子解析を使用して、前記試験試料ＤＮＡ断片にてヌクレオチドの移行もしくは塩基転換、ヌクレオチドの挿入もしくは欠失、ゲノムの再構成、またはコピー数の変化を検出する、実施形態２２１～２３９のいずれか１つに記載の方法。
【１２２３】
２４１．同時ＤＮＡ解析のための方法であって、
（ａ）第１の遺伝子座を含む第１のアダプタータグ付きライブラリーに対して、第１のプロセスを実行して第１の修飾ライブラリーを生成することと；
（ｂ）第２の遺伝子座を含む第２のアダプタータグ付きライブラリーに対して、第２のプロセスを実行して第２の修飾ライブラリーを生成すること、
その際、前記第１のプロセスと前記第２のプロセスとは同一ではないことと；
（ｃ）前記第１の修飾ライブラリーと前記第２の修飾ライブラリーとを接触させて組み合わせライブラリーを生成することとを含み、
前記第１のアダプタータグ付きライブラリー及び前記第２のアダプタータグ付きライブラリーは、同じアダプタータグ付き親ライブラリーに由来する、前記方法。
【１２２４】
２４２．前記方法がさらに、アダプタータグ付き親ライブラリーを少なくとも２つの区分に分割する開始工程を含み、その際、第１の区分は第１のアダプタータグ付きライブラリーであり、第２の区分は第２のアダプタータグ付きライブラリーである、実施形態２４１に記載の方法。
【１２２５】
２４３．前記第１の修飾ライブラリーが：
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）、第１の遺伝子座の配列、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または

５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子を含み；
前記第１の遺伝子座がＤＮＡ領域を含み；
前記第１の試験試料が、前記第１の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補配列を有するＤＮＡ分子を含み；
前記第１の５’アダプターモジュール、前記第１の３’アダプターモジュール、またはその双方が前記第１のアダプタータグ付きライブラリー内の前記第１の遺伝子座に結合され、
前記第２の修飾ライブラリーが、
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１と）、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）と、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１と）、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子を含み；
前記第２の遺伝子座がＤＮＡ領域を含み；
前記第２の試験試料が、前記第２の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補配列を有するＤＮＡ分子を含み；
前記第２の５’アダプターモジュール、前記第２の３’アダプターモジュール、またはその双方が前記第２のアダプタータグ付きライブラリー内の前記第２の遺伝子座に結合され、
前記第１の修飾ライブラリーまたは前記第２の修飾ライブラリーのいずれかがライブラリータグを含む、または
前記第１の修飾ライブラリーが第１のライブラリータグを含み、前記第２の修飾ライブラリーが第２のライブラリータグを含み、前記第１のライブラリータグと前記第２のライブラリータグは、同一ではない、実施形態２１４または２４２に記載の方法。

【１２２６】

２４４．前記第１の試験試料及び前記第２の試験試料が同じ試料である、実施形態２４３に記載の方法。

【１２２７】

２４５．前記第１の試験試料及び前記第２の試験試料が同じ試料ではない、実施形態２４３に記載の方法。

【１２２８】

２４６．前記第１の遺伝子座及び前記第２の遺伝子座が同一である、実施形態２４３～２４５のいずれか１つに記載の方法。

【１２２９】

２４７．前記第１の遺伝子座及び前記第２の遺伝子座が同一ではない、実施形態２４３～２４５のいずれか１つに記載の方法。

【１２３０】

２４８．前記ライブラリータグが、前記第２の修飾ライブラリーの前記第２のＤＮＡ配列から前記第１の修飾ライブラリーの前記第１のＤＮＡ配列を区別する、実施形態２４３～２４７のいずれか１つに記載の方法。

【１２３１】

２４９．Ａ１、Ａ２、Ｂ１及びＢ２のうちの少なくとも１つが少なくとも１つのライブラリータグを含む、実施形態２４３～２４８のいずれか１つに記載の方法。

【１２３２】

２５０．前記ライブラリータグが核酸配列またはアミノ酸配列を含む、実施形態２４３～２４９のいずれか１つに記載の方法。

【１２３３】
２５１．前記ライブラリータグが、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＰＮＡ、または天然に存在しない核酸、合成核酸、修飾核酸、天然に存在しないアミノ酸、合成アミノ酸、及び修飾アミノ酸のうちの１以上を含む、実施形態２４３～２５０のいずれか１つに記載の方法。
【１２３４】
２５２．前記ライブラリータグが検出可能な標識を含む、実施形態２４３～２５１のいずれか１つに記載の方法。
【１２３５】
２５３．前記検出可能な標識が、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む、実施形態２５２に記載の方法。
【１２３６】
２５４．前記ライブラリータグが検出可能な部分に選択的にまたは特異的に結合する、実施形態２４３～２５３のいずれか１つに記載の方法。
【１２３７】
２５５．前記検出可能な部分が、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む、実施形態２５４に記載の方法。
【１２３８】
２５６．前記ライブラリータグが固有のポリヌクレオチド配列を含む、実施形態２４３～２５５のいずれか１つに記載のキット。
【１２３９】
２５７．前記固有のポリヌクレオチド配列が、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、前記第１の５’アダプターモジュール、前記第１の遺伝子座、前記第１の３’アダプターモジュール、前記第２の５’アダプターモジュール、前記第２の遺伝子座及び前記第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する配列を含む、実施形態２５６に記載の方法。
【１２４０】
２５８．前記第１の試験試料及び前記第２の試験試料が同じ試料ではなく；
Ａ１、Ａ２、Ｂ１またはＢ２がライブラリータグを含み；
前記ライブラリータグが、前記第２の修飾ライブラリーの前記第２のＤＮＡ配列から前記第１の修飾ライブラリーの前記第１のＤＮＡ配列を区別することができ；
前記ライブラリータグが固有のポリヌクレオチド配列を含み；且つ
前記固有のポリヌクレオチド配列が、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、前記第１の５’アダプターモジュール、前記第１の遺伝子座、前記第１の３’アダプターモジュール、前記第２の５’アダプターモジュール、前記第２の遺伝子座及び前記第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する配列を含む、実施形態２４３～２５７のいずれか１つに記載の方法。
【１２４１】
２５９．前記第１のアダプタータグ付きライブラリー及び前記第２のアダプタータグ付きライブラリーはそれぞれ、アダプターモジュールを含む、実施形態２４１～２５８のいずれか１つに記載の方法。
【１２４２】
２６０．各アダプターが連結鎖オリゴヌクレオチド及び非連結鎖オリゴヌクレオチドを含む、実施形態２４１～２５９のいずれか１つに記載の方法。
【１２４３】
２６１．前記非連結鎖オリゴヌクレオチドが前記連結鎖オリゴヌクレオチドの前記３’末端の領域とハイブリッド形成することができ、それと二本鎖を形成することができる、実施形態２６０に記載の方法。
【１２４４】
２６２．前記連結鎖オリゴヌクレオチドがアダプターモジュールを含む、実施形態２６０または２６１に記載の方法。

【１２４５】
２６３．前記連結鎖オリゴヌクレオチドが前記３’末端にｄＴ、ｄＡ、ｄＣまたはｄＧのオーバーハングを含む、実施形態２６０～２６２のいずれか１つに記載の方法。
【１２４６】
２６４．前記非連結鎖オリゴヌクレオチドが、ｄｓＤＮＡ断片の前記５’末端への連結及び／またはアダプターダイマー形成を防止する修飾をその３’末端に含み、前記非連結鎖は前記二本鎖から置き換えられるように構成される、実施形態２６０～２６３のいずれか１つに記載の方法。
【１２４７】
２６５．各アダプターがアダプターのセットから選択され、前記アダプターのセットの各アダプターが固有のＩＤ領域のプールから選択されるＩＤ領域を含み、前記プールが複数のプールから選択され、前記選択されたプールが前記試験試料に対して固有である、実施形態２４１～２６４のいずれか１つに記載の方法。
【１２４８】
２６６．各アダプターモジュールが、
ａ．プライマー結合部位を含む増幅領域と；
ｂ．ＩＤ領域と、
ｃ．アンカー領域とを含む、実施形態２４１～２６５のいずれか１つに記載の方法。
【１２４９】
２６７．前記増幅領域がプライマー結合部位を含み、前記プライマー結合部位が、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する増幅を可能にする、実施形態２６６に記載の方法。
【１２５０】
２６８．各アダプターモジュールが、
ａ．プライマー結合部位を含むポリヌクレオチド配列を含む増幅領域と；
ｂ．ＩＤ領域と；
ｃ．アンカー領域とを含む、実施形態２４１～２６５のいずれか１つに記載の方法。
【１２５１】
２６９．前記増幅領域がプライマー結合部位を含むポリヌクレオチド配列を含み、前記プライマー結合部位が、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する、第１及び／または第２のアダプタータグ付きライブラリーの核酸の増幅を可能にする、実施形態２６８に記載の方法。
【１２５２】
２７０．前記増幅領域が１０～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２６６～２６９のいずれか１つに記載の方法。
【１２５３】
２７１．前記増幅領域が２０～３０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２７０に記載の方法。
２７２．前記増幅領域が２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２７１に記載の方法。
【１２５４】
２７３．前記アンカー領域が３’末端にオーバーハングを含む、実施形態２６６～２７２のいずれか１つに記載の方法。
【１２５５】
２７４．前記アンカー領域が１～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２６６～２７３のいずれか１つに記載の方法。

【１２５６】
２７５．前記アンカー領域が５～２５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２７４に記載の方法。
【１２５７】
２７６．前記アンカー領域が１０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２７５に記載の方法。
【１２５８】
２７７．前記アンカー領域が３～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２６６～２７６のいずれか１つに記載の方法。
【１２５９】
２７８．前記ＩＤ領域が３～１５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２７７に記載の方法。
【１２６０】
２７９．前記ＩＤ領域が８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２７８に記載の方法。
【１２６１】
２８０．前記アダプターモジュールがさらに、固有の分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子を含む、実施形態２６６～２７９のいずれか１つに記載の方法。
【１２６２】
２８１．前記ＵＭＩ乗算因子が前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有される、実施形態２８０に記載の方法。
【１２６３】
２８２．前記ＵＭＩ乗算因子が１～５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態２８０または２８１記載の方法。
【１２６４】
２８３．前記ＵＭＩ乗算因子が３ヌクレオチド長であり、６４の固有のヌクレオチド配列の群から選択される核酸配列を含む、実施形態２８２に記載の方法。
【１２６５】
２８４．複数のアダプターモジュールが前記アダプターモジュールを含む、実施形態２６５～２８３のいずれか１つに記載の方法。
【１２６６】
２８５．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールは固有である、実施形態２８４に記載の方法。
【１２６７】
２８６．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記増幅領域が、カスタムプライマー結合部位を含む、実施形態２８４～２８５のいずれか１つに記載の方法。
【１２６８】
２８７．前記カスタムプライマー結合部位が、前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記カスタムプライマー結合部位の配列に対して１００％の配列同一性を有する配列を含む、実施形態２８６に記載の方法。
【１２６９】
２８８．前記複数のアダプターモジュールが第１の細区画及び第２の細区画を含む、実施形態２８４～２８７のいずれか１つに記載の方法。
【１２７０】
２８９．各アダプターモジュールが、任意の他のアダプターモジュールの前記ＩＤ領域の前記ポリヌクレオチド配列とは異なるポリヌクレオチド配列を含むＩＤ領域を含む、実施形態２８８に記載の方法。
【１２７１】
２９０．第１の細区画が固有ＩＤ領域の第１のセットを含み、第２の細区画が固有ＩＤ

領域の第２のセットを含む、実施形態２８９に記載の方法。
【１２７２】
２９１．各アダプターモジュールがさらに、前記ＩＤ領域の前記ポリヌクレオチド配列とは同一ではないポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含む、実施形態２８８～２９０のいずれか１つに記載の方法。
【１２７３】
２９２．前記第１の細区画における各アダプターモジュールが第１のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み；前記第２の細区画における各アダプターモジュールが第２のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み、前記第１及び第２のポリヌクレオチド配列は互いに同一ではない、実施形態２９１に記載の方法。
【１２７４】
２９３．アダプターモジュールの前記第１の細区画が第１の試験試料内の各ＤＮＡ分子を特定し、アダプターモジュールの前記第２の細区画が第２の試験試料内の各ＤＮＡ分子を特定する、実施形態２８８～２９２のいずれか１つに記載の方法。
【１２７５】
２９４．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が２～１０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態２８４～２９３のいずれか１つに記載の方法。
【１２７６】
２９５．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が５０～５００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態２９４に記載の方法。
【１２７７】
２９６．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が１００～４００の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態２９５に記載の方法。
【１２７８】
２９７．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が６０の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態２９６に記載の方法。
【１２７９】
２９８．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が８ヌクレオチド長である、実施形態２８４～２９７のいずれか１つに記載の方法。
【１２８０】
２９９．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールが６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態２８４～２９８のいずれか１つに記載の方法。
【１２８１】
３００．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールが３８４０の固有のヌクレオチド配列のうちの１つを含み、各ヌクレオチド配列は３８４０の固有のヌクレオチド配列の任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている、実施形態２９９に記載の方法。
【１２８２】
３０１．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記アンカー領域が４つのヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態２８４～３００のいずれか１つに記載の方法。
【１２８３】
３０２．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記増幅領域がユニバーサルプライマー配列を含み；
前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が８のヌクレ

オチドを含む、またはそれらから成り；
前記複数のアダプターモジュールが２以上の細区画に分割され、その際、アダプターモジュールの各細区画が固有ＩＤ領域のセットを含み、各ＩＤ領域の前記ポリヌクレオチド配列が前記複数のアダプターモジュールの任意の他のＩＤ領域のヌクレオチド配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れており；
前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールが前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＵＭＩ乗算因子が３つのヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３０１に記載の方法。

【１２８４】

３０３．前記ＩＤ領域のプールが２～１０，０００の間の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態２６５～２８３のいずれか１つに記載の方法。

【１２８５】

３０４．前記ＩＤ領域のプールが６０の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態３０３に記載の方法。

【１２８６】

３０５．前記ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域が８ヌクレオチド長である、実施形態２６５～３０４のいずれか１つに記載の方法。

【１２８７】

３０６．各ＩＤ領域配列が任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている、実施形態２６５～３０５のいずれか１つに記載の方法。

【１２８８】

３０７．各ＩＤ領域がそれに結合された前記ＤＮＡ断片を特定するように構成される、実施形態２６５～３０６のいずれか１つに記載の方法。

【１２８９】

３０８．前記アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールが６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態２６５～３０７のいずれか１つに記載の方法。

【１２９０】

３０９．前記アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールが３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、前記３８４０の固有のヌクレオチド配列の各配列が任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている、実施形態３０８に記載の方法。

【１２９１】

３１０．前記アダプターのセットの各アダプターの前記アンカー領域が４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域が所与の配列の前記４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する、実施形態２６５～３０９のいずれか１つに記載の方法。

【１２９２】

３１１．前記アダプターのセットの各アダプターの前記増幅領域が同一のプライマー結合部位を含む、実施形態２６５～３１０のいずれか１つに記載の方法。

【１２９３】

３１２．前記ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域が８ヌクレオチド長であり、各ＩＤ領域配列が任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている；
前記アダプターのセットの各アダプターが前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、前記アダプターのセットの各アダプターの前記ＵＭＩ乗算因子が３ヌクレオチド長であり、所与の配列の前記ＵＭＩ乗算因子が所与の配列のＩＤ領域１つに対合する、実施形態３１１に記載の方法。

【１２９４】

３１３．前記第１のプロセスが、

（ａ）前記第１のアダプタータグ付きライブラリーを、ハイブリッド形成に好適な条件下で１以上の捕捉プローブに接触させて、１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を形成すること、その際、各捕捉プローブが、
プライマー結合部位を含む第１の領域と；
前記第１のアダプタータグ付きライブラリーの前記第１の遺伝子座内の標的領域とハイブリッド形成することができる第２の領域とを含むことと；
（ｂ）工程（ａ）からの前記１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を単離すること、その際、各単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体が捕捉プローブとアダプタータグ付きＤＮＡ分子とを含むことと；
（ｃ）工程（ｂ）からの前記１以上の単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を酵素処理して、１以上のアダプタータグ付きハイブリッド核酸分子（ハイブリッド分子）を生成すること、その際、各ハイブリッド分子が、
（ｉ）前記捕捉プローブまたはその相補体の少なくとも一部と、
（ｉｉ）前記アダプタータグ付きＤＮＡ分子またはその相補体の少なくとも一部とを含むこととを含む、実施形態２４１～３１２のいずれか１つに記載の方法。

【１２９５】

３１４．前記捕捉プローブの前記第１の領域がパートナーオリゴヌクレオチドに対して相補性を有する配列を含む、実施形態３１３に記載の方法。

【１２９６】

３１５．工程（ｃ）の酵素処理が複合体における前記アダプタータグ付きＤＮＡ分子を鋳型として使用する前記捕捉プローブの５’－３’ＤＮＡポリメラーゼ伸長を実施することを含む、実施形態３１３～３１４のいずれか１つに記載の方法。

【１２９７】

３１６．少なくとも１つの捕捉プローブが前記標的領域における前記特定領域の下流でハイブリッド形成し、少なくとも１つの捕捉プローブが前記標的領域における前記特定領域の上流でハイブリッド形成する、実施形態３１３～３１５のいずれか１つに記載の方法。

【１２９８】

３１７．前記捕捉プローブが配列決定プライマー結合部位を含む、実施形態３１３～３１６のいずれか１つに記載の方法。

【１２９９】

３１８．前記ハイブリッド分子が少なくとも１つのライブラリータグを含む、実施形態３１３～３１７のいずれか１つに記載の方法。

【１３００】

３１９．前記捕捉プローブの前記第１の領域がライブラリータグを含む、実施形態３１３～３１８のいずれか１つに記載の方法。

【１３０１】

３２０．前記ライブラリータグが配列決定プライマー結合部位を含む、実施形態３１８～３１９のいずれか１つに記載の方法。

【１３０２】

３２１．（ｄ）工程（ｃ）にて前記１以上のハイブリッド分子を増幅することをさらに含む、実施形態３１８～３２０のいずれか１つに記載の方法。

【１３０３】

３２２．前記増幅することが、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）を含む第１のプライマーと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）を含む第２のプライマーとを含み、前記増幅されたハイブリッド分子（複数可）のそれぞれがＡ１及びＡ２を含む、実施形態３２１に記載の方法。

【１３０４】

３２３．前記標的領域が遺伝子損傷を含む、実施形態３１３～３２２のいずれか１つに記載の方法。

【１３０５】
３２４．前記標的領域がエピジェネティックマークを含む、実施形態３１３～３２３のいずれか１つに記載の方法。
【１３０６】
３２５．前記捕捉プローブが前記エピジェネティックマークに結合する、実施形態３２４に記載の方法。
【１３０７】
３２６．前記エピジェネティックマークがメチル化マークを含む、実施形態３２５に記載の方法。
【１３０８】
３２７．前記第１のプロセスが、
（ａ）前記第１のアダプタータグ付きライブラリーを、ハイブリッド形成に好適な条件下で１以上の捕捉プローブに接触させて、１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を形成すること、その際、各捕捉プローブが、
配列決定プライマー結合部位を含むライブラリータグと，
パートナーのオリゴヌクレオチドに対して相補性を有する配列とを含む第１の領域と、
前記第１のアダプタータグ付きライブラリーの前記第１の遺伝子座内の標的領域とハイブリッド形成することができる第２の領域とを含むことと；
（ｂ）工程（ａ）からの前記１以上の捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を単離すること、その際、各単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体が捕捉プローブとアダプタータグ付きＤＮＡ分子とを含むことと；
（ｃ）工程（ｂ）からの前記１以上の単離された捕捉プローブ／アダプタータグ付きＤＮＡの複合体を酵素処理して、１以上のアダプタータグ付きハイブリッド核酸分子（ハイブリッド分子）を生成すること、
その際、前記酵素処理が前記複合体における前記単離したアダプタータグ付きＤＮＡ分子を鋳型として使用する前記捕捉プローブの５’－３’ＤＮＡポリメラーゼ伸長を実施することを含み；
各ハイブリッド分子が前記捕捉プローブと、前記第１のアダプタータグ付きライブラリーにおける前記標的領域に捕捉プローブがハイブリッド形成した位置から３’にある前記アダプタータグ付きＤＮＡ分子の相補体とを含むことと；
（ｄ）工程（ｃ）における前記１以上のハイブリッド分子を増幅すること、その際、前記増幅することが、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）を含む第１のプライマーと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）を含む第２のプライマーとをハイブリッド分子にハイブリッド形成することを含み、前記増幅されたハイブリッド分子のそれぞれがＡ１及びＡ２を含むこと；とを含む、実施形態３１３～３２６のいずれか１つに記載の方法。
【１３０９】
３２８．前記第２のプロセスが、前記第２のアダプタータグ付きライブラリーの前記第２の遺伝子座を増幅する、または伸長することを含む、実施形態２４１～３２７のいずれか１つに記載の方法
【１３１０】
３２９．前記増幅することまたは伸長することが、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）を含む第１のプライマーと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）を含む第２のプライマーとをアダプタータグ付きＤＮＡ分子とハイブリッド形成させることを含み、その際、前記増幅された、または伸長された第２の遺伝子座はＢ１及びＢ２を含む、実施形態３２８に記載の方法。
【１３１１】
３３０．Ｂ１及びＢ２のうちの少なくとも一方がライブラリータグを含む、実施形態３２９に記載の方法
【１３１２】
３３１．前記第２のプロセスが、前記第２のアダプタータグ付きライブラリーの第２の

遺伝子座を増幅する、または伸長することを含み、その際、前記増幅することまたは伸長することが、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１）を含む第１のプライマーと３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）を含む第２のプライマーとをアダプタータグ付きＤＮＡ分子とハイブリッド形成させることを含み、Ｂ１及びＢ２の少なくとも一方がライブラリータグを含み、前記増幅されたまたは伸長された遺伝子座はＢ１及びＢ２を含む、実施形態２４１～３３０のいずれか１つに記載の方法。

【１３１３】

３３２．さらに遺伝子解析の工程を含む、実施形態２４１～３３１のいずれか１つに記載の方法。

【１３１４】

３３３．前記遺伝子解析が、少なくとも１つの修飾ライブラリーにおける少なくとも１つのライブラリータグの存在を検出することを含む、実施形態３３２に記載の方法。

【１３１５】

３３４．前記遺伝子解析が、前記組み合わせライブラリーの配列決定を行って、複数の配列決定リードを生成し、前記複数の配列決定リードについてバイオインフォマティクス解析を実行することを含む、実施形態３３３に記載の方法。

【１３１６】

３３５．前記第１の修飾ライブラリーが第１のライブラリータグを含み、前記第２の修飾ライブラリーが第２のライブラリータグを含む、実施形態３３４に記載の方法。

【１３１７】

３３６．前記第１のライブラリータグが第１のシグナルを生成し、前記第２のライブラリータグが第２のシグナルを生成する、実施形態３３５に記載の方法。

【１３１８】

３３７．前記第１のシグナル及び前記第２のシグナルの双方が、検出される、または検出可能である、実施形態３３６に記載の方法。

【１３１９】

３３８．前記第１のシグナル及び前記第２のシグナルが同一ではない、実施形態３３７に記載の方法。

【１３２０】

３３９．前記第１のシグナルが検出される、または検出可能であり、前記第２のシグナルが検出されない、または検出可能ではない、実施形態３３６に記載の方法。

【１３２１】

３４０．前記第２のシグナルが検出される、または検出可能であり、前記第１のシグナルが検出されない、または検出可能ではない、実施形態３３６に記載の方法。

【１３２２】

３４１．前記第１の修飾ライブラリー及び前記第２の修飾ライブラリーのうちの一方のみがライブラリータグを含む、実施形態３３４に記載の方法。

【１３２３】

３４２．前記ライブラリータグが第１のシグナルを生成し、前記ライブラリータグの欠如が第２のシグナルを生成する、実施形態３４１に記載の方法。

【１３２４】

３４３．前記第１のシグナル及び前記第２のシグナルの双方が検出される、または検出可能である、実施形態３４２に記載の方法。

【１３２５】

３４４．前記第１のシグナル及び前記第２のシグナルが同一ではない、実施形態３４３に記載の方法。

【１３２６】

３４５．前記第１のシグナルが検出される、または検出可能であり、前記第２のシグナルが検出されない、または検出可能ではない、実施形態３４１に記載の方法。

【１３２７】

３４６．前記第２のシグナルが検出される、または検出可能であり、前記第１のシグナルが検出されない、または検出可能ではない、実施形態３４１に記載の方法。
【１３２８】
３４７．前記第１のシグナルが配列決定リードであり、前記第２のシグナルが空の配列決定リードである、実施形態３４１～３４６のいずれか１つに記載の方法。
【１３２９】
３４８．前記第１のシグナルが検出される、または検出可能であり、前記第２のシグナルが検出されない、または検出可能ではない、実施形態３４７に記載の方法。
【１３３０】
３４９．前記第１のシグナル及び前記第２のシグナルの双方が検出される、または検出可能である、実施形態３４８に記載の方法。
【１３３１】
３５０．前記空の配列決定リード（前記第２のシグナル）を、一連の２以上のＧヌクレオチドとして検出する、実施形態３４９に記載の方法。
【１３３２】
３５１．前記検出された第１のシグナルと前記検出された第２のシグナルとを互いに識別することができる；または
前記検出された第１のシグナルと前記検出されない第２のシグナルとを互いに識別することができる；または
前記検出されない第１のシグナルと前記検出された第２のシグナルとを互いに識別することができる、実施形態３３６～３５０のいずれか１つに記載の方法。
【１３３３】
３５２．前記遺伝子解析を使用して、１以上の遺伝子損傷を特定する、実施形態３３２～３５１のいずれか１つに記載の方法。
【１３３４】
３５３．前記１以上の遺伝子損傷がヌクレオチドの移行、ヌクレオチドの塩基転換、ヌクレオチドの挿入、ヌクレオチドの欠失、ゲノム再構成、またはコピー数の変化を含む、実施形態３５２に記載の方法。
【１３３５】
３５４．前記遺伝子解析を使用して、遺伝性疾患を引き起す、または遺伝性疾患に関連する１以上の遺伝子損傷を検出する、実施形態３３２～３５３のいずれか１つに記載の方法。
【１３３６】
３５５．前記遺伝性疾患ががんである、実施形態３５４に記載の方法。
【１３３７】
３５６．前記１以上の遺伝子損傷が染色体再配置である、実施形態３５５に記載の方法。
【１３３８】
３５７．前記第１の修飾ライブラリー及び前記第２の修飾ライブラリーが、少なくとも１つのライブラリータグまたはその一部の識別によって配列決定を行った後に逆多重化される、実施形態３３２～３５６のいずれか１つに記載の方法。
【１３３９】
３５８．組成物であって、
第１の修飾ライブラリー及び第２の修飾ライブラリーを含み、
その際、前記第１の修飾ライブラリーが、
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子；または
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）、第１の遺伝子座の配列、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分

子；または
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ａ１）と、第１の５’アダプターモジュールと、第１の遺伝子座の配列と、第１の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ａ２）とを含む第１のＤＮＡ分子を含み；
前記第１の遺伝子座がＤＮＡ領域を含み；
第１の試験試料が、前記第１の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補配列を有するＤＮＡ分子を含み；且つ
前記第１の５’アダプターモジュール、前記第１の３’アダプターモジュール、またはその双方は、前記第１のアダプタータグ付きライブラリー内の前記第１の遺伝子座に結合される；
その際、前記第２の修飾ライブラリーが、
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１と）、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１と）、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子；または
５’から３’に向かって、５’オリゴヌクレオチド（Ｂ１と）、第２の５’アダプターモジュールと、第２の遺伝子座の配列と、第２の３’アダプターモジュールと、３’オリゴヌクレオチド（Ｂ２）とを含む第２のＤＮＡ分子を含み；
前記第２の遺伝子座がＤＮＡ領域を含み；
第２の試験試料が、前記第２の遺伝子座の配列と同一の配列またはその相補配列を有するＤＮＡ分子を含み；且つ
前記第２の５’アダプターモジュール、前記第２の３’アダプターモジュール、またはその双方が前記第２のアダプタータグ付きライブラリー内の前記第２の遺伝子座に結合される；
その際、前記第１の修飾ライブラリーまたは前記第２の修飾ライブラリーのいずれかがライブラリータグを含む、または
前記第１の修飾ライブラリーが第１のライブラリータグを含み、前記第２の修飾ライブラリーが第２のライブラリータグを含み、前記第１のライブラリータグと前記第２のライブラリータグは、同一ではない、前記組成物。
【１３４０】
３５９．前記第１の試験試料及び前記第２の試験試料が同じ試料である、実施形態３５８に記載の組成物。
【１３４１】
３６０．前記第１の試験試料及び前記第２の試験試料が同じ試料ではない、実施形態３５８に記載の組成物。
【１３４２】
３６１．前記第１の遺伝子座及び前記第２の遺伝子座が同一である、実施形態３５８～３６０のいずれか１つに記載の組成物。
【１３４３】
３６２．前記第１の遺伝子座及び前記第２の遺伝子座が同一ではない、実施形態３５８～３６０のいずれか１つに記載の組成物。
【１３４４】
３６３．前記ライブラリータグが、前記第２の修飾ライブラリーの前記第２のＤＮＡ配列から前記第１の修飾ライブラリーの前記第１のＤＮＡ配列を区別する、実施形態３５８～３６２のいずれか１つに記載の組成物。
【１３４５】
３６４．Ａ１、Ａ２、Ｂ１及びＢ２のうちの少なくとも１つが少なくとも１つのライブラリータグを含有する、実施形態３５８～３６３のいずれかに記載の組成物。

【１３４６】
３６５．前記ライブラリータグが核酸配列またはアミノ酸配列を含む、実施形態３５８～３６４のいずれか１つに記載の組成物。
【１３４７】
３６６．前記ライブラリータグが、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＰＮＡ、または天然に存在しない核酸、合成核酸、修飾核酸、天然に存在しないアミノ酸、合成アミノ酸、及び修飾アミノ酸のうちの１以上を含む、実施形態３５８～３６５のいずれか１つに記載の組成物。
【１３４８】
３６７．前記ライブラリータグが検出可能な標識を含む、実施形態３５８～３６６のいずれか１つに記載の組成物。
【１３４９】
３６８．前記検出可能な標識が、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む、実施形態３６７に記載の組成物。
【１３５０】
３６９．前記ライブラリータグが検出可能な部分に選択的にまたは特異的に結合する、実施形態３５８～３６８のいずれか１つに記載の組成物。
【１３５１】
３７０．前記検出可能な部分が、蛍光部分、磁性または常磁性の部分、酵素部分、結合部分、エピトープ及び放射性部分のうちの１以上を含む、実施形態３６９に記載の組成物。
【１３５２】
３７１．前記ライブラリータグが固有のポリヌクレオチド配列を含む、実施形態３５８～３７０のいずれか１つに記載の組成物。
【１３５３】
３７２．前記固有のポリヌクレオチド配列が、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、前記第１の５’アダプターモジュール、前記第１の遺伝子座、前記第１の３’アダプターモジュール、前記第２の５’アダプターモジュール、前記第２の遺伝子座及び前記第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する配列を含む、実施形態３７１に記載の組成物。
【１３５４】
３７３．前記第１の試験試料と前記第２の試験試料とが同じ試料ではなく；
Ａ１、Ａ２、ＢまたはＢ２はライブラリータグを含有し；
前記ライブラリータグが、前記第２の修飾ライブラリーの前記第２のＤＮＡ配列から前記第１の修飾ライブラリーの前記第１のＤＮＡ配列を区別することができ；
前記ライブラリータグが固有のポリヌクレオチド配列を含み；且つ
前記固有のポリヌクレオチド配列が、Ａ１、Ｂ１、Ａ２、Ｂ２、前記第１の５’アダプターモジュール、前記第１の遺伝子座、前記第１の３’アダプターモジュール、前記第２の５’アダプターモジュール、前記第２の遺伝子座及び前記第２の３’アダプターモジュールから成るリストから選択される配列に対して７０％以下の同一性を有する配列を含む、実施形態３５８に記載の組成物。
【１３５５】
３７４．各アダプターモジュールがアダプターモジュールのセットから選択され、前記アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールが固有のＩＤ領域のプールから選択されるＩＤ領域を含み、前記プールが複数のプールから選択され、前記選択されたプールが前記試験試料に対して固有である、実施形態３５８～３７３のいずれか１つに記載の組成物。
【１３５６】
３７５．各アダプターモジュールが、
ａ．プライマー結合部位を含む増幅領域と；

ｂ．ＩＤ領域と、
ｃ．アンカー領域とを含む、実施形態３５８～３７４のいずれか１つに記載の組成物。
【１３５７】
３７６．前記増幅領域がプライマー結合部位を含み、前記プライマー結合部位が、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する増幅を可能にする、実施形態３７５に記載の組成物。
【１３５８】
３７７．各アダプターモジュールが、
ａ．プライマー結合部位を含むポリヌクレオチド配列を含む増幅領域と；
ｂ．ＩＤ領域と、
ｃ．アンカー領域とを含む、実施形態３５８～３７４のいずれか１つに記載の組成物。
【１３５９】
３７８．前記増幅領域がプライマー結合部位を含むポリヌクレオチド配列を含み、前記プライマー結合部位が、ＰＣＲ（ポリメラーゼ連鎖反応）、ＬＡＭＰ（ループ介在性等温増幅）、ＮＡＳＢＡ（核酸配列に基づく増幅）、ＳＤＡ（標準置換増幅）、ＲＣＡ（ローリングサークル複製）またはＬＣＲ（リガーゼ連鎖反応）を使用する、前記第１及び／または第２のアダプタータグ付きライブラリーの核酸の増幅を可能にする、実施形態３７７に記載の組成物。
３７９．前記増幅領域が１０～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３７７～３７８のいずれか１つに記載の組成物。
【１３６０】
３８０．前記増幅領域が２０～３０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３７９に記載の組成物。
【１３６１】
３８１．前記増幅領域が２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３８０に記載の組成物。
【１３６２】
３８２．前記アンカー領域が３’末端にオーバーハングを含む、実施形態３７７～３８１のいずれか１つに記載の組成物。
【１３６３】
３８３．前記アンカー領域が１～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３７７～３８２のいずれか１つに記載の組成物。
【１３６４】
３８４．前記アンカー領域が５～２５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３８３に記載の組成物。
【１３６５】
３８５．前記アンカー領域が１０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３８４に記載の組成物。
【１３６６】
３８６．前記ＩＤ領域が３～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３７７～３８５のいずれか１つに記載の組成物。
【１３６７】
３８７．前記ＩＤ領域が３～１５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３８６に記載の組成物。
【１３６８】
３８８．前記ＩＤ領域が８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３８７に記載の組成物。
【１３６９】

３８９．前記アダプターモジュールがさらに、固有の分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子を含む、実施形態３７７～３８８のいずれか１つに記載の組成物。

【１３７０】

３９０．前記ＵＭＩ乗算因子が前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有される、実施形態３８９に記載の組成物。

【１３７１】

３９１．前記ＵＭＩ乗算因子が１～５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３８９または３９０に記載の組成物。

【１３７２】

３９２．前記ＵＭＩ乗算因子が３ヌクレオチド長であり、６４の固有のヌクレオチド配列の群から選択される核酸配列を含む、実施形態３９１に記載の組成物。

【１３７３】

３９３．複数のアダプターモジュールが前記アダプターモジュールを含む、実施形態３７７～３９２のいずれか１つに記載の組成物。

【１３７４】

３９４．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールが固有である、実施形態３９３に記載の組成物。

【１３７５】

３９５．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記増幅領域がカスタムプライマー結合部位を含む、実施形態３９３～３９４のいずれか１つに記載の組成物。

【１３７６】

３９６．前記カスタムプライマー結合部位が、前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記カスタムプライマー結合部位の配列に対して１００％の配列同一性を有する配列を含む、実施形態３９５に記載の組成物。

【１３７７】

３９７．前記複数のアダプターモジュールが第１の細区画及び第２の細区画を含む、実施形態３９３～３９６のいずれか１つに記載の組成物。

【１３７８】

３９８．各アダプターモジュールが、任意の他のアダプターモジュールの前記ＩＤ領域の前記ポリヌクレオチド配列とは異なるポリヌクレオチド配列を含むＩＤ領域を含む、実施形態３９７に記載の組成物。

【１３７９】

３９９．前記第１の細区画が固有ＩＤ領域の第１のセットを含み、前記第２の細区画が固有ＩＤ領域の第２のセットを含む、実施形態３９８に記載の組成物。

【１３８０】

４００．各アダプターモジュールがさらに、前記ＩＤ領域の前記ポリヌクレオチド配列と同一ではないポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含む、実施形態３９７～３９９のいずれか１つに記載の組成物。

【１３８１】

４０１．前記第１の細区画における各アダプターモジュールが第１のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み；前記第２の細区画における各アダプターモジュールが第２のポリヌクレオチド配列を含む試料タグを含み；前記第１及び第２のポリヌクレオチド配列は互いに同一ではない、実施形態４００に記載の組成物。

【１３８２】

４０２．アダプターモジュールの前記第１の細区画が前記第１の試験試料内の各ＤＮＡ分子を特定し、アダプターモジュールの前記第２の細区画が前記第２の試験試料内の各ＤＮＡ分子を特定する、実施形態３９７～４０１のいずれか１つに記載の組成物。

【１３８３】

４０３．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が

２～１０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態３９３～４０２のいずれか１つに記載の組成物。

【１３８４】

４０４．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が５０～５００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態４０３に記載の組成物。

【１３８５】

４０５．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が１００～４００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態４０４に記載の組成物。

【１３８６】

４０６．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が６０の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態４０５に記載の組成物。

【１３８７】

４０７．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールのＩＤ領域が８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３９３～４０６のいずれか１つに記載の組成物。

【１３８８】

４０８．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールが６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態３９３～４０７のいずれか１つに記載の組成物。

【１３８９】

４０９．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールが３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、前記３８４０の固有のヌクレオチド配列の各ヌクレオチド配列は任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている、実施形態４０８に記載の組成物。

【１３９０】

４１０．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記アンカー領域が４つのヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態３９３～４０９のいずれか１つに記載の組成物。

【１３９１】

４１１．前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記増幅領域がユニバーサルプライマー配列を含み；
前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＩＤ領域が８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る；
前記複数のアダプターモジュールが２以上の細区画に分割され、アダプターモジュールの各細区画が固有のＩＤ領域のセットを含み、各ＩＤ領域の前記ポリヌクレオチド配列は前記複数のアダプターモジュールの任意の他のＩＤ領域のヌクレオチド配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れており；
前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールが、前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、前記複数のアダプターモジュールの各アダプターモジュールの前記ＵＭＩ乗算因子は３のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態４１０に記載の組成物。

【１３９２】

４１２．前記増幅領域が１０～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３７５～４１１のいずれか１つに記載の組成物。

【１３９３】

４１３．前記増幅領域が２５のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態４１２に記載の組成物。

【１３９４】
４１４．前記アンカー領域が３’末端にオーバーハングを含む、実施形態３７５～４１３のいずれか１つに記載の組成物。
【１３９５】
４１５．前記アンカー領域が１～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３７５～４１４のいずれか１つに記載の組成物。
【１３９６】
４１６．前記アンカー領域が１０のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態４１５に記載の組成物。
【１３９７】
４１７．前記ＩＤ領域が３～５０の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態３７５～４１６のいずれか１つに記載の組成物。
【１３９８】
４１８．前記ＩＤ領域が８のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態４１７に記載の組成物。
【１３９９】
４１９．各アダプターモジュールがさらに、固有の分子識別子（ＵＭＩ）乗算因子を含む、実施形態３７５～４１８のいずれか１つに記載の組成物。
【１４００】
４２０．前記ＵＭＩ乗算因子が前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有される、実施形態４１９に記載の組成物。
【１４０１】
４２１．前記ＵＭＩ乗算因子が１～５の間のヌクレオチドを含む、またはそれらから成る、実施形態４１９または４２０に記載の組成物。
【１４０２】
４２２．前記ＵＭＩ乗算因子が３ヌクレオチド長であり、６４の固有のヌクレオチド配列の群から選択される核酸配列を含む、実施形態４２１に記載の組成物。
【１４０３】
４２３．前記ＩＤ領域のプールが２～１０，０００の間の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態３７４～４２２のいずれか１つに記載の組成物。
【１４０４】
４２４．前記ＩＤ領域のプールが６０の固有のＩＤ領域配列を含む、実施形態４２３に記載の組成物。
【１４０５】
４２５．前記ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域が８ヌクレオチド長である、実施形態３７４～４２４のいずれか１つに記載の組成物。
【１４０６】
４２６．各ＩＤ領域配列が任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている、実施形態３７４～４２５のいずれか１つに記載の組成物。
【１４０７】
４２７．各ＩＤ領域がそれに結合されたＤＮＡ断片を特定するように構成される、実施形態３７４～４２６のいずれか１つに記載の組成物。
【１４０８】
４２８．前記アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールが６４～２，５６０，０００の間の固有のヌクレオチド配列から成る群から選択される、実施形態３７４～４２７のいずれか１つに記載の組成物。
【１４０９】
４２９．前記アダプターモジュールのセットの各アダプターモジュールが３８４０の固有のヌクレオチド配列から選択される固有のヌクレオチド配列を含み、前記３８４０の固有のヌクレオチド配列の各配列が任意の他の配列から少なくとも２のハミング距離だけ離

れている、実施形態４２８に記載の組成物。
【１４１０】
４３０．前記アダプターのセットの各アダプターの前記アンカータグ領域が４つのヌクレオチド配列のうちの１つを含み、所与の配列の各ＩＤ領域が所与の配列の前記４つのアンカー領域のうちの１つのみに対合する、実施形態３７５～４２９のいずれか１つに記載の組成物。
【１４１１】
４３１．前記アダプターセットの各アダプターの前記増幅領域が同一のプライマー結合部位を含む、実施形態３７５～４３０のいずれか１つに記載の組成物。
【１４１２】
４３２．前記ＩＤ領域のプールの各ＩＤ領域が８ヌクレオチド長であり、各ＩＤ領域配列が任意の他のＩＤ領域配列から少なくとも２のハミング距離だけ離れている；
前記アダプターのセットの各アダプターが前記ＩＤ領域に隣接する、または前記ＩＤ領域内に含有されるＵＭＩ乗算因子を含み、前記アダプターのセットの各アダプターの前記ＵＭＩ乗算因子が３ヌクレオチド長であり、所与の配列の前記ＵＭＩ乗算因子が所与の配列のＩＤ領域１つに対合する、実施形態４３１に記載の組成物。
【１４１３】
４３３．前記試験試料が組織生検である、実施形態３５８～４３２のいずれか１つに記載の組成物。
【１４１４】
４３４．前記組織生検が、腫瘍、または腫瘍であると疑われる組織から得られる、実施形態４３３に記載の組成物。
【１４１５】
４３５．前記組織生検が悪性腫瘍または悪性腫瘍が疑われる腫瘍から得られる、実施形態４３４に記載の組成物。
【１４１６】
４３６．前記ＤＮＡ分子が、無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）、ゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）、相補性ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）、ミトコンドリアＤＮＡ、メチル化ＤＮＡ、または脱メチル化ＤＮＡである、実施形態３５８～４３５のいずれか１つに記載の組成物。
【１４１７】
４３７．前記ＤＮＡ分子がエピジェネティックマークを含む、実施形態４３６に記載の組成物。
【１４１８】
４３８．前記ＤＮＡ分子が、全ゲノムライブラリー、アンプリコンライブラリー、全エキソームライブラリー、ｃＤＮＡライブラリー、またはメチル化ＤＮＡライブラリーから成るリストから選択されるライブラリーから得られる、実施形態３５８～４３７のいずれか１つに記載の組成物。
【１４１９】
４３９．前記ＤＮＡ分子が前記試験試料から単離される、または生成される、実施形態３５８～４３８のいずれか１つに記載の組成物。
【１４２０】
４４０．前記試験試料が、羊水試料、血液試料、皮膚試料、体毛試料、毛包試料、唾液試料、粘液試料、汗試料、涙液試料、上皮組織試料、尿試料、精液試料、精漿試料、血清試料、前立腺液試料、前射精液（Ｃｏｗｐｅｒ’ｓ液）試料、眼液試料、排泄物試料、生検試料、腹水試料、脳脊髄液試料、リンパ液試料、組織抽出物試料、糞便試料、及びホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）試料から成る群から選択される生体試料を含む、実施形態４３９に記載の組成物。
【１４２１】
４４１．前記ＤＮＡ分子が、
（ａ）前記試験試料から細胞ＤＮＡを単離することと；

（ｂ）前記細胞ＤＮＡを断片化し、前記ゲノムＤＮＡ断片を得ることとを含む工程によって得られる、実施形態３５８～４４０のいずれか１つに記載の組成物。
【１４２２】
４４２．工程（ｂ）が、前記細胞ＤＮＡを少なくとも１つの消化酵素と接触させることによって実施される、実施形態４４１に記載の組成物。
【１４２３】
４４３．工程（ｂ）が、機械的応力を細胞ＤＮＡへ加えることによって実施される、実施形態４４１に記載の組成物。
【１４２４】
４４４．前記機械的応力が、細胞ＤＮＡを超音波処理することによって加えられる、実施形態４４３に記載の組成物。
【１４２５】
４４５．前記工程（ｂ）が、前記細胞ＤＮＡを１以上の化合物と接触させて、前記細胞ＤＮＡの１以上の結合を化学的に破壊することによって実施される、実施形態４４１記載の組成物。
【１４２６】
４４６．試薬を含むキットであって、実施形態２４１～３５７のいずれか１つに記載の方法を含む遺伝子解析に使用することができる、前記キット。
【１４２７】
追加の定義
本開示で別途定義されない限り、本出願で使用される科学用語及び技術用語は当業者によって一般に理解される意味を有するものとする。一般に、化学、分子生物学、細胞生物学及びがん生物学、免疫学、微生物学、薬理学、ならびに本開示に記載されているタンパク質および核酸化学に関連して使用される命名法および技術は、当該技術分野において周知であり、一般的に使用されるものである。
【１４２８】
本開示で使用されるとき、以下の用語は、特に明記しない限り、それらに帰する意味を有する。
【１４２９】
冠詞「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」は本開示では、冠詞の文法的対象の１つまたは１を超えるもの（すなわち、少なくとも１）を指すように使用されている。例として、「（ａｎ）要素」は１つの要素または１つを超える要素を意味する。
【１４３０】
選択肢（例えば、「または」）の使用は選択肢のうちの１つ、双方、またはその任意の組合せのいずれかを意味するものと理解すべきである。
【１４３１】
「及び／または」という用語は選択肢のうちの一方または双方のいずれかを意味するものと理解すべきである。
【１４３２】
本開示で使用されるとき「約」または「およそ」という用語は、参照の量、レベル、値、数、頻度、割合、寸法、サイズ、量、重量、または長さに対して１５％、１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、または１％と同じ程度に異なる量、レベル、値、数、頻度、割合、寸法、サイズ、量、重量、または長さを指す。一実施形態では、「約」または「およそ」という用語は、参照の量、レベル、値、数、頻度、割合、寸法、サイズ、量、重量、または長さについて±１５％、±１０％、±９％、±８％、±７％、±６％、±５％、±４％、±３％、±２％、または±１％の量、レベル、値、数、頻度、割合、寸法、サイズ、量、重量、または長さの範囲を指す。
【１４３３】
本開示で使用されるとき「単離される」という用語は、ネイティブな状態にて通常は付随する構成成分を実質的または本質的に含まない材料を意味する。いくつかの実施形態で

は、「捕捉される」または「得られる」または「由来する」という用語は、単離されると同義に使用される。

【１４３４】

本開示で使用されるとき「対象」、「個体」、または「患者」には、本開示の組成物によって検出するまたは特定することができる状態の症状を示す任意の動物が含まれる。好適な対象には、実験動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、またはモルモット）、家畜（例えば、ウマ、ウシ、ヒツジ、ブタ）、及び飼育動物またはペット（例えば、ネコまたはイヌ）が挙げられる。いくつかの実施形態では、対象は哺乳類である。特定の実施形態では、対象は非ヒト霊長類であり、いくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【１４３５】

本発明を上記の特定の実施形態と併せて説明してきたが、それらの多くの代替、修正及び他の変形が当業者には明らかであろう。そのような代替、修正及び変形はすべて、本発明の精神及び範囲の中に含まれることが意図されている。

【１４３６】

さらに、本開示に記載されているいずれの方法も、本開示に記載されている任意の障害を治療する際に、薬物の製造のために、本開示に記載されている任意の薬剤の使用のために、スイス型のフォーマットに書き換え可能であってもよいことが意図されている。同様に、本開示に記載されている任意の方法を、使用クレームの化合物として、または化合物クレームの使用として書き換えることが意図されている。

【１４３７】

本開示に記載されている刊行物、特許、及び特許出願はすべて、参照によってそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【１４３８】

本開示は、以下の実施例によってさらに説明されるが、これらの実施例は、本開示の範囲または精神を、本開示に記載されている特定の手順に限定するものとして解釈されるべきではない。実施例はある特定の実施形態を説明するために提供されること、及びそれによって本開示の範囲に対するいかなる制限も意図されないことを理解すべきである。本開示の精神から逸脱することなく、それら自体を当業者に示唆してもよい、種々の他の実施形態、修正、及びその同等物に頼ってもよいことをさらに理解すべきである。

【１４３９】

実施例１－試料の逆多重化のための実現可能性試験

試料の逆多重化及び遺伝子欠失特定のための概念実証としての初期実験を、工夫した細胞株ＤＮＡ試料を使用して行った。２つの異なる細胞株を、既知の頻度で細胞株ＮＡ１２８７８とブレンドした；ＡＴＭ欠失を含有するＮＡ０９５９６と、ＢＲＣＡ２欠失を含有するＮＡ０２７１８である。増幅されたアダプタータグ付きライブラリー（ＬＰＡ）を、上記の「キナーゼ／リガーゼ連結法」を使用して調製した。

【１４４０】

順行プライマー及び逆行プライマー６３（表１）を使用して５０ｎｇのＬＰＡを６～８サイクル増幅した。最終的なＬＰＷＧライブラリーをＱｕｂｉｔによって製造元の説明書に従って定量し、Ｉｌｌｕｍｉｎａ　ＮｅｘｔＳｅｑ５５０にて製造元の説明書に従って、カスタムプライマー、順行プライマー及び逆行プライマー６２を使用して配列決定した。

【表１】

表１．プライマー配列

増幅プライマー：		配列番号
順行プライマー：	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACGTCATGCAGGACCAGAGAATTCGAATACA	7
逆行プライマー６３：	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATGTGACTGGCACGGGACCAGAGAATTCGAATACA	8
逆行プライマーＬＰＷＧ＿ＡＭＰ＿Ｒ：	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATGTGACTGGTGCAGGACCAGAGAATTCGAATACA	9
配列決定プライマー：		
順行プライマー：	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATGTGACTGGCACGGGACCAGAGAATTCGAATACA	１０
逆行プライマー62：	GTGACTGGCACGGGACCAGAGAATTCGAATACA	１１
逆行プライマーＬＰＷＧ＿ＳＥＱ＿Ｒ：	GTGACTGGTGCAGGACCAGAGAATTCGAATACA	１２
ｑＰＣＲプライマー：		
オリゴ１：	AATGATACGGCGACCACCGA	１３
オリゴ２：	CAAGCAGAAGACGGCATACGA	１４
オリゴ１ｃ：	TCGGTGGTCGCCGTATCATT	１５
オリゴ２ｃ：	TCGTATGCCGTCTTCTGCTTG	１６
ライブラリープライマー：	TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACA	5

【１４４１】

すべての試料の配列決定に成功し、遺伝子欠失及び増幅が予想されたように検出されたということは、ＬＰＷＧの配列決定がＣＮＶの検出に有用であることを示唆している。

【１４４２】

ＬＰＷＧライブラリーの配列決定を首尾よく行うことができた一方で、４ｎＭで負荷されたライブラリーは通常不十分にクラスター化された。すべてのｄｓＤＮＡを測定するＱｕｂｉｔによる、またはＰ５とＰ７の双方のＩｌｌｕｍｉｎａ配列決定アダプターによってライブラリーを測定するＫＡＰＡライブラリー定量キットを使用するｑＰＣＲによるライブラリーの定量は、表２に示すように、ＬＰＷＧライブラリーでは全ｄｓＤＮＡとクラスターを生成できるライブラリーの間に顕著な不一致を示したが、標的捕捉ライブラリーでは示さなかった。

【表２】

表２：ＮＡ１２８７８とブレンドしたＮＡ０２７１８由来のＬＰＷＧライブラリーまたは標的捕捉ライブラリーの測定された濃度

ＬＰＡプール	配列決定の実行	ライブラリーの種類	Qubitによるライブラリー濃度 (ng/uL)	qPCRによるライブラリー濃度 (ng/uL)	クラスター密度 (K/mm^2)
1	3	ＬＰＷＧ	3.34	0.37	33
	12	標的捕捉	56.0	57.34	208
2	4	ＬＰＷＧ	2.65	1.20	108
	13	標的捕捉	13.7	15.48	194

【１４４３】

全ゲノム配列決定のためにライブラリー（ＬＩＢ）またはライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）のいずれかを増幅する実現可能性を調べた。野生型ｃｆＤＮＡを、上記の「キナーゼ／リガーゼ連結法」を使用して処理した。２μＬのプールしたＬＩＢまたはＬＰＡ（それぞれ８ｎｇ及び５ｎｇ）を、順行プライマー及びプライマー６３及び６９℃のアニーリング温度で８、１２または１６サイクル増幅した。ＬＰＷＧ増幅ライブラリーを２５μＬのＴＥＺにてＡｇｅｎｃｏｕｒｔ　ＡＭＰｕｒｅ　ＸＰ磁気ビーズ（製造業者の提案に従う）から溶出させ、Ｑｕｂｉｔで測定した。

【１４４４】

ＬＩＢＳまたはＬＰＡのいずれかを使用して得られたＬＰＷＧライブラリーの濃度を図８に示す。ＬＩＢＳ及びＬＰＡのいずれも配列決定されるライブラリー材料が十分であるようにＬＰＷＧプロトコールによって増幅することができる。この希釈したＬＰＡをＬＰＷＧ増幅の鋳型として使用してさらなる開発を行った。

【１４４５】

実施例２－増幅条件の最適化

アニーリング温度

順行プライマー及び逆行プライマー６３を使用して５８℃または６９℃のいずれかのプライマーアニール温度で増幅効率を調べた。剪断されたＮＡ１２８７８細胞株からのＬＰＡを８サイクル、１２サイクルまたは１６サイクルで増幅した。ＱｕｂｉｔまたはｑＰＣＲにより測定されたＬＰＷＧライブラリー濃度を図９に示す。すべてのｑＰＣＲ反応は、製造元の推奨に従ってＲｏｃｈｅ　Ｌｉｇｈｔｃｙｃｌｅｒ　４８０　ｑＰＣＲ装置を使用して実施した。

初期変性９５℃で５分間、１サイクル。

変性９５℃で３０秒間３５サイクル。

アニーリング／伸長／データ取得６０℃で４５秒間３５サイクル

【１４４６】

プライマーのアニーリング温度が５８℃の８サイクル後は、アニーリング温度が６９℃の場合よりもわずかに多くの生成物が見られた。しかしながら、この差異は１２サイクルで消失した。ＰＣＲプライマーアニーリング温度は、１２～１６サイクルの間に生成されるＰＣＲ産物の量に大きな影響を与えるとは思われなかった。６５℃のアニーリング温度もＬＰＷＧ配列決定用のライブラリー増幅のさらなる開発に使用した。

【１４４７】

増幅サイクル数

以前の実現可能性の実験では、ＬＰＷＧライブラリーの配列決定が成功し得ることが実証されたが、この負荷は通常、シーケンサー上でライブラリーの不十分なクラスター化をもたらした。Ｑｕｂｉｔ及びｑＰＣＲ（ＫＡＰＡライブラリー定量キットを使用）によるライブラリー測定が相違する値を示した（表２を参照）ということは、６～８サイクル後

にライブラリープールで測定されたｄｓＤＮＡがライブラリー、クラスターを生成することができるいくつかのライブラリー及びクラスターを生成できない他のライブラリーの混合物から成ることを示唆している。この観察が増幅サイクル数の影響を受けたかどうかを判定するために、サイクル数がＬＰＷＧライブラリーの組成に及ぼす影響を調べた。

【１４４８】

５つの独立した実験では、野生型試料からプールしたＬＰＡ５０ｎｇを、６５℃のアニーリング温度及び「プライマー６３」（ｎ＝３）または「ＬＰＷＧ＿ＡＭＰ＿Ｒ」（ｎ＝４）の逆行プライマー（表１に記載）のいずれかと共に順行プライマーを使用しながら、増幅した。反応を８、１２、１４、１６サイクルの増幅サイクルで進行させ、得られたライブラリーをＱｕｂｉｔで、またはＫＡＰＡライブラリー定量キットを使用する標準物質を使用したｑＰＣＲで定量した。後続の実験（ｎ＝１）では、野生型（ＷＴ）ｃｆＤＮＡ試料からプールしたＬＰＡ　５０ｎｇを４、６、８または１６サイクルで増幅した。ＰＣＲ産物における成分をさらに分析するために、ｑＰＣＲを、Ｐ５及びＰ７プライマー（配列決定するクラスターを形成することができるライブラリーを定量する）、Ｐ５のみ、Ｐ７のみ、Ｐ５逆行相補体プライマーを伴うＰ５、またはＰ７逆行相補体プライマーを伴うＰ７のいずれかによって実施した。ライブラリーはまた、プライマーミックス１Ｓ（「ＡＣＡ」）で増幅し、ＰＣＲ産物がタグ付きＬＰＡから成るかどうかを判定するために、既知の濃度でのＬＰＡ標準によって定量した。

【１４４９】

８サイクル、１２サイクル、１４サイクル、及び１６サイクルの増幅後に測定した平均アンプリコン濃度、ならびに４サイクルまたは６サイクル後に測定されたアンプリコン濃度を図１０に示す。

【１４５０】

ｑＰＣＲまたはＱｕｂｉｔによって決定された濃度値間の不一致は、増幅の４～１２サイクル後に見ることができる。８サイクル後、Ｑｕｂｉｔで測定した濃度は、ｑＰＣＲで測定した濃度よりも約２．５倍～１０倍多く変化する。興味深いことに、この不一致はＰ５／Ｐ５またはＰ７／Ｐ７のアダプターによる生成物に起因しなかった。ＱｕｂｉｔとｑＰＣＲの測定値間の増幅産物の比は、図１１に示すように、４サイクル後３０と高く、１４サイクルまで減少し、１４～１６サイクルは一貫して１に近い比率値を示した。

【１４５１】

ＬＰＷＧ配列決定が効果的で再現性のあるアッセイであるためには、測定されるライブラリー濃度がクラスターを生成することができるライブラリーの量を反映することが重要である。表３に見られるように、クラスター密度は高い負荷濃度を目標としない限り、６～８ＰＣＲサイクル後は低かった。これは、ＬＰＷＧライブラリーがライブラリーの混合物から成り、それらのライブラリーの一部がクラスターを生成でき、他のライブラリーがクラスターを生成できなかったためである可能性がある。負荷量はＤＮＡ量を測定したＱｕｂｉｔ測定から算出したが、ＤＮＡライブラリー配列間で区別することはないであろう。クラスター密度は、ライブラリーが１２～１６サイクルで増幅された場合、一貫して１５０～２７０Ｋ／mm^2のＱＣ測定基準をクリアした。

【表３】

表３：ＬＰＷＧ配列決定実行におけるクラスター密度。

（Ｑｕｂｉｔ定量測定値に基づいて負荷量を算出した）

実行番号	試料の種類	ＰＣＲサイクル	推定ライブラリーサイズ（ｂｐ）	目標負荷濃度(nM)	クラスター密度(K/mm^2)	クラスター密度の合格／不合格
1	gDNA	7	300	3.6	57.3	不合格
2	cfDNA	7	300	15	168.1	合格
3	gDNA	6	396	4	33	不合格
4	gDNA	8	396	4	108.3	不合格
5	cfDNA	12	330	4	176.8	合格
6	cfDNA	14	330	4	208.0	合格
7	cfDNA	14	330	4	243.5	合格
8	cfDNA	14	330	4	190.0	合格
9	gDNA	16	420	4	204.5	合格
10	gDNA	16	420	4	196.8	合格
11	gDNA	16	420	4	192.0	合格

【１４５２】

可変サイクル数に対して増幅されたＬＰＷＧライブラリーのバイオアナライザー解析

ＬＰＷＧプロトコールにおける順行プライマーとＬＰＷＧ＿ＡＭＰ＿Ｒプライマーとを使用して４、６、８、１２、１４または１６サイクルでＰＣＲ増幅されたライブラリーを、１０倍に希釈した後、高感度ＤＮＡバイオアナライザーチップ（Ａｇｉｌｅｎｔ、部品番号５０６７－４６２７）に負荷した。「Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｈｉｇｈ　Ｓｅｎｓｉｔｉｖｅ　ＤＮＡ　Ｋｉｔ　Ｇｕｉｄｅ」に記載されているように、Ａｇｉｌｅｎｔ　バイオアナライザーを使用して電気泳動によってライブラリーを分離した。ＬＰＷＧライブラリーからのバイオアナライザー（ＢＡ）トレースを重ね合わせて図１２Ａ及び図１２Ｂに示す。

【１４５３】

４サイクルの増幅の後に、優勢なピークが約３００ｂｐで見られた。６サイクル後に第２の３３０塩基対のピークが現れたということは、このライブラリーにて少なくとも２つの異なる生成物を見いだすことができることを示唆している。これらの生成物のうち大きい方は、その後のサイクルで優先的に増幅され、１２～１６サイクル後に見られる優勢なピークと一致したと思われるということは、この大きい方の生成物はＰ５プライマー及びＰ７プライマーで増幅可能であったが、小さい方の生成物は増幅可能ではなかったことを示唆している。興味深いことに、１６サイクル後、３３０ｂｐのｃｆＤＮＡライブラリーが相対的に減少し、さらに大きなサイズのライブラリーが増加した。考えられる説明の１つは、これらが、過剰増幅から生成されたミスアニーリングされたＤＮＡの「デイジーチェーン」を表している可能性があることである。

【１４５４】

２－ヌクレオソームｃｆＤＮＡ生成物と潜在的な「デイジーチェーン」とを区別するために、Ｐｉｐｐｉｎサイズ選択によって単離されたＤＮＡの１４５塩基対断片からのライブラリーを構築し、ＬＰＷＧプライマーを使用し、サイクル数を変化させて増幅した。図１３に見られるように、６サイクルの増幅の後、ＬＰＡ鋳型より約３５～４０ｂｐ大きい生成物１つと、ＬＰＡ鋳型より約７０ｂｐ大きい生成物１つの２つの生成物が明らかになった。この比較的大きな生成物を次の１０サイクルで優先的に増幅した。１６のサイクル後に、３３０ｂｐの生成物の量が減少し、４７０ｂｐの生成物の量が増加した。この大きな生成物はＬＰＡ鋳型では見られず、過剰増幅の生成物であったことを示している。ライ

ブラリーの過剰増幅は、クラスター密度（表３）または配列決定の品質のいずれにも影響を与えるとは思われないが、ＰＣＲの１４サイクルは、Ｑｕｂｉｔによる正確なライブラリー定量と過剰増幅とのバランスを取ると思われた。

【１４５５】

実施例３－ライブラリー投入量の最適化

２つの独立した実験にて野生型ｃｆＤＮＡ由来のＬＰＡを使用してＬＰＷＧライブラリーを調製した：一方は反応へのＬＰＡ投入量５、１０、２５、５０、７５または１００ｎｇを使用して行い、順行プライマーと逆行プライマーとしてのＰｒｉｍｅｒ６３とを使用して８サイクルで増幅し、一方は反応へのＬＰＡ投入量１０、２０、５０、１００または２００ｎｇを使用して行い、順行プライマーと逆行プライマーとしてのＬＰＷＧ＿ＡＭＰ＿Ｒを使用して１６サイクルで増幅した。全ゲノム配列決定ライブラリーの濃度を、表１に列挙したＰ５、Ｐ７、Ｐ５ｃ及びＰ７ｃのプライマーを使用して、Ｑｕｂｉｔ及び／またはｑＰＣＲによって定量した。８回サイクルの増幅後のＰＣＲ産物の濃度を図１４に示す。

【１４５６】

８サイクル後、すべての投入量で測定されたライブラリー濃度の間に大きな不一致が存在し、Ｑｕｂｉｔによって測定された濃度は、ｑＰＣＲによって測定された濃度よりも８倍高かった。Ｐ５アダプター及びＰ７アダプターの双方を持つライブラリーは増幅反応への約５０ｎｇの投入の後でプラトーに思われたということは、ＰＣＲへの投入量を増やすことが８サイクル後にｄｓＤＮＡの増加をもたらす一方で、配列決定クラスターを生成できるライブラリーが増えなかったことを示唆している。

【１４５７】

図１５から分かるように、ＬＰＷＧのｑＰＣＲ反応に１０～１００ｎｇを加えた場合、１６回のＰＣＲサイクル後のＱｕｂｉｔまたはｑＰＣＲのいずれかによって測定された濃度値には差異はほとんどなかった。２００ｎｇを加えた場合、Ｑｕｂｉｔ測定値はｑＰＣＲで測定した値の約３倍高かった。これらのＬＰＷＧライブラリーがＱｕｂｉｔ測定値を使用したフローセルへの負荷について基準化された場合、結果としてリードカウントは、図１６に示すように２００ｎｇ投入試料が負荷不足であることを示唆した。

【１４５８】

ＬＰＷＧ増幅への投入量として２ｎｇ（１０ｎｇ／μＬの試料の１／１０希釈の２μＬ）程度の少ない投入量を使用し得ることが実現可能であった。したがって、ＬＰＷＧについて２ｎｇを増幅し、ついで最大の捕捉ライブラリー数でフローセルに負荷した場合のリード数を決定した。

【１４５９】

野生型試料由来の８つのＬＰＡをローパス全ゲノム配列決定のために増幅した。それぞれ１ｎｇ、２ｎｇ、１０ｎｇ、または１５ｎｇの投入材料で２回繰り返したものをプールし、次いで６５℃のアニーリング温度で１６サイクル増幅させた。ＬＰＷＧ増幅ライブラリーをＡｍｐｕｒｅビーズで精製し、Ｑｕｂｉｔによって定量した後に、野生型試料と共に同時負荷した。ＬＰＷＧライブラリーを、実施例５の計算に記載されているように、０．５倍の目標カバー率に負荷した。

【１４６０】

図１７に見られるように、１ｎｇ及び２ｎｇのｃｆＤＮＡがそれぞれ試料１つあたり約５００万リード及び３００万リードを生じたが、配列決定のための投入量を増やすと、配列決定リードが増加した。

【１４６１】

そのため、２ｎｇの試料をさらに濃縮された試料のＬＰＷＧ増幅プールに加えた場合、解析に必要な最小リード数よりも少ないリード数しか生成されない可能性が高く、結果として試料の配列決定が不十分になる。試料の不十分な配列決定または過剰な配列決定を防止するために、ＬＰＷＧ増幅反応にプールする場合に試料の投入量を基準化する、または配列決定フローセルに負荷する場合に試料を個別に増幅して基準化する必要があることが

見いだされた。

【１４６２】

実施例４－反応条件の最適化

反応体積

４つのＷＴ　ｃｆＤＮＡ由来のＬＰＡを同じ質量にプールし、合計ＤＮＡ５０ｎｇでのＬＰＷＧ増幅反応に加えた。６５℃のアニーリング温度及び１６サイクルで「ＬＰＷＧ＿ＡＭＰ＿Ｒ」プライマーをＰＣＲ反応に使用した。１００μＬ（１倍）、２００μＬ（２倍）または５０μＬ（０．５倍）の反応体積を調べた。得られたＰＣＲ産物をＡｍｐｕｒｅビーズで精製し、濃度をＱｕｂｉｔ及びｑＰＣＲによって決定した。０．５倍、１倍、または２倍の反応体積でのＰＣＲ産物の濃度を図１８に示す。

【１４６３】

反応体積の増加によってＰＣＲ産物の量が増加した。ＰＣＲ産物の増加は、ｑＰＣＲ測定と比べてＱｕｂｉｔ測定にて大きく、バイオアナライザーのトレースで確認された（図１９）。

【１４６４】

プライマー濃度

ＷＴ　ｃｆＤＮＡの４つの試料由来のＬＰＡをプールし、合計５０ｎｇでＬＰＷＧ増幅反応に加えた。１６サイクルのＰＣＲ用の順行プライマー及びＬＰＷＧ＿ＡＭＰ＿Ｒプライマーでライブラリーを増幅した。１μＭ（１倍）、２μＭ（２倍）または０．５μＭ（０．５倍）でのプライマー濃度を調べた。得られたＰＣＲ産物をＡｍｐｕｒｅビーズで精製し、濃度をＱｕｂｉｔ及びｑＰＣＲによって決定した。０．５μＭ（０．５倍）、１μＭ（１倍）または２μＭ（２倍）の反応体積で増幅されたＰＣＲ産物の濃度を図２０に示す。

【１４６５】

図２０に示すように、ＰＣＲプライマーの濃度を２倍の２μＭまで増やすと、ＱｕｂｉｔまたはｑＰＣＲによって測定した場合に、ＬＰＷＧライブラリー産物がそれぞれ４２％及び１４％増加した。興味深いことに、プライマー濃度を増やしても「デイジーチェーン」が減ることはないと思われたが、これは、図２１の電気泳動図に示すように、過剰増幅中のプライマー不足によるものと考えられた。

【１４６６】

ポリメラーゼ

ＷＴ　ｃｆＤＮＡの４つの試料由来のＬＰＡをプールし、合計５０ｎｇでＬＰＷＧ増幅反応に加えた。順行プライマー及びＬＰＷＧ＿ＡＮＰ＿Ｒプライマーを反応に使用し、アニーリング温度を６５℃とし、ＨｉＦｉ　Ｑ５ポリメラーゼ（ＮＥＢ）またはＲｏｃｈｅ製ＫＡＰＡ　ＨｉＦｉポリメラーゼ（ｃａｔ　＃ＫＫ２６００）のいずれかによって鋳型を８、１２、１４、または１６サイクル増幅した。得られたＰＣＲ産物をＡｍｐｕｒｅビーズで精製し、濃度をＱｕｂｉｔ及びｑＰＣＲによって決定した。生成物をＡｇｉｌｅｎｔバイオアナライザーによって定性的に評価した。

【１４６７】

図２２に示すように、１２～１４回のＰＣＲサイクル後に、ＫＡＰＡ　ＨｉＦｉ　Ｈｏｔｓｔａｒｔ　ＰＣＲ反応に使用した場合、ＱｕｂｉｔまたはｑＰＣＲのいずれかによって同様の濃度値が見いだされた。しかしながら、１６サイクル後には、Ｑｕｂｉｔ値とｑＰＣＲ値との間に約１．６倍の差異が生じ、これは、産物の大部分が「デイジーチェーン」を形成していることが一因と考えられる。「デイジーチェーン」の増加は、図２３のバイオアナライザーのトレースに見ることができる一方で、同一の電気泳動図トレースによっても、収率の全体的な低下が示されるということは、ｑＰＣＲ定量が過剰測定のＤＮＡ生成物である可能性があることを示唆している。

【１４６８】

ＫＡＰＡ　ＨｉＦｉ　Ｈｏｔｓｔａｒｔポリメラーゼを使用したＰＣＲ増幅は、表４に示すように、ＬＰＷＧライブラリー生成物の８５～５００％の間の増加を提供する。ＫＡ

ＰＡ　ＨｉＦｉ　Ｈｏｔｓｔａｒｔポリメラーゼを使用したＰＣＲの最適なサイクル数は８～１２サイクルの間である。

【表４】

表４：Ｑ５ポリメラーゼと比べたＫＡＰＡポリメラーゼで増幅された場合のライブラリー濃度の増加パーセント。

	増加%		
サイクル	Qubit	qPCR P5/P7	qPCR ACA
8	86	85	86
12	282	302	304
14	335	316	223
16	312	506	525

【１４６９】

実施例５－目標カバー率の評価

図２５に示されているように、上述した計算を使用してＬＰＷＧライブラリーを目標カバー率に正確に負荷することができる。実施例４に記載されているように個々の反応で１６サイクル増幅された試料（「個々」）及び実施例３に記載されているようにプールされた増幅反応に基準化した試料（「プールされた基準化」）はカバー率で最小の変動性を示した一方で、プールしたＰＣＲへの投入量が２～１５ｎｇに及ぶ試料はカバー率で高い変動性を示した。

【１４７０】

実験を実施するために、ＬＰＷＧのために増幅されたＷＴライブラリーをＷＴライブラリーと同時負荷する３つの配列決定の実行を行った。ライブラリーの負荷量を上述のようにして算出した。バーコード化した各試料について生成されたリード数からカバー率を算出した。

【１４７１】

図２４は、標的捕捉ライブラリーと同時負荷された野生型ＬＰＷＧライブラリーに関して算出したカバー率を示す。赤色のボックスプロットは０．５倍のカバー率の目標に負荷したライブラリーを示す一方で、青色のボックスプロットは１倍のカバー率を目標としたライブラリーを示す。

【１４７２】

実施例６－同時負荷したライブラリーにおける捕捉ライブラリー深度の評価

図２５に示し、表６にまとめたように、標的捕捉ライブラリーとともに実行した配列決定にＬＰＷＧライブラリーを含めた結果、標的捕捉ライブラリーで平均深度が減った。表５に示すように、ＬＰＷＧカバー率の深度が増加するにつれて、標的化ライブラリーについての深度のこの損失は増加した。このことは、ライブラリーの深度を変えることができ、それによって所望のアッセイ感度に必要な標的捕捉ライブラリーのリードを最適化することが可能であることを示している。

【１４７３】

この実験を実施するために、ＬＰＷＧのために増幅され、且つ標的捕捉ライブラリーと共に同時負荷されたＷＴライブラリーを評価する３つの配列決定の実行：Ｎｏ．１４、Ｎｏ．１５、及びＮｏ．１６を行った。ＬＰＷＧライブラリーを同じフローセルに負荷した場合の捕捉ライブラリーの深度の潜在的な損失を判定するために、同時負荷された各捕捉ライブラリーの平均深度を、同じライブラリーを単独で分析した場合に観察された平均深度と比較した（ＮＢ５５２１９９＿００２６及びＮＢ５５１７４４＿００９９）。

【表５】

表５：２つの捕捉ライブラリーにおける５つのＷＴ試料の平均深度の平均損失率

捕捉ライブラリー	試料	目標カバー率及びＬＰＷＧライブラリー番号		
		1倍, n=4	0.5倍, n=8	0.5倍,n=5
2	WT R537995		8.35	7.23
2	WT R538001		8.20	7.21
2	WT R538005		8.53	7.39
1	WT R537984	6.72		
1	WT R537989	5.39		
1	WT R537995	5.24		

【１４７４】

実施例７－基準化法の最適化

図２６に示されているように、調査した４つの基準化プロセスのうち、ＰＣＲ増幅に入る前とアンプリコンをプールした後にフローセルに入る前の双方で基準化を行った場合には、カバー率の変動性が最も小さかった。これらの実験では、単一の増幅反応に試料をプールし、次いで基準化した場合に、カバー率における最大の変動性が見られた。しかしながら、これまでの実験では、図２７に見られるように、単一の増幅へのプール化は少ない変動性を示した。まとめると、試料を個々に増幅し、次いで基準化してプールした場合に、配列決定した試料全体にわたるカバー率さえ観察された。

【１４７５】

１０人の患者及び６つの野生型試料からの臨床ｃｆＤＮＡをＬＰＡに変換し、希釈した。試料を以下の４つの方法のうちの１つで基準化し、配列カバー率の変動性を決定した：

１．　５０ｎｇのそれぞれ希釈ＬＰＡをＬＰＷＧ増幅への投入量として使用した。各試料を別個の反応にて増幅させ、ビーズによる清浄化の後に、濃度を決定した。１００ｎｇの各生成物をプールし、４ｎＭをフローセルに負荷した。実行番号：６

２．　５ｎｇの各希釈ＬＰＡを単一の増幅反応にプールした。得られたＰＣＲ産物の濃度を、ビーズによる清浄化の後に決定し、４ｎＭをフローセルに負荷した。実行番号：７

３．　３μＬの各試料ＬＰＡを別個の反応にて増幅させ、ビーズによる清浄化の後に、濃度を決定した。１００ｎｇの各生成物をプールし、４ｎＭをフローセルに負荷した。実行番号：１７

４．　５０ｎｇの各希釈ＬＰＡをＬＰＷＧ増幅への投入量として使用した。各試料を別々の反応で増幅させ、ビーズによる清浄化の後、各反応から５μＬをプールした。プールしたＬＰＷＧ生成物の濃度を決定し、４ｎＭをフローセルに負荷した。実行番号：８

【１４７６】

実施例８－標的化ゲノムライブラリーと全ゲノムライブラリーの同時に存在する同時配列決定

アダプタータグ付きゲノムライブラリーを図４に示すように調製した。アダプタータグ付きライブラリーを増幅後に２つの部分に分割し、一方の部分をローパス全ゲノム（ＬＰＷＧ）ライブラリーの配列決定用に処理し、他方の部分を標的捕捉によって個別に濃縮し、次いで、標的化ライブラリーの配列決定用に処理した。次に、双方の種類のライブラリーをプールし、同じフローセルで同時配列決定を行った。この例では、図２８に示すようにリード２の配列を介した１７サイクルの配列決定後にライブラリーを逆多重化した。結果から、この新規の戦略の有効性が明らかに実証された。

【１４７７】

ＱＩＡｍｐ　ＤＳＰ　Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｎｇ　ＮＡキット（Ｑｉａｇｅｎ　カタログ

番号６１５０４）を使用して、野生型血漿試料から抽出したｃｆＤＮＡからゲノムライブラリーを調製した。各試料について、３０ｎｇの無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）を、エビのアルカリホスファターゼ（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ／ＮＥＢ　カタログ番号Ｍ０３７１Ｂ））、その後Ｔ４　ＤＮＡポリメラーゼ（ＮＥＢ　カタログ番号Ｍ０２０３Ｂ）及びＰｒｅＣＲ修復ミックス（ＮＥＢ　カタログ番号Ｍ０３０９Ｂ））による処理によって末端修復した。得られた平滑末端ＤＮＡをバーコードオリゴヌクレオチドに結合し、Ｔａｑリガーゼ（ＮＥＢカタログ番号Ｍ０２０８Ｂ）、Ｔ４ポリヌクレオチドキナーゼ（ＮＥＢカタログ番号Ｍ０２０１Ｂ）、及びＢｓｔポリメラーゼ（ＮＥＢカタログ番号Ｍ０３２８Ｂ）を使用して２本鎖にした。バーコード結合工程には、Ｕｌｔｒａ　ＩＩ連結キット（ＮＥＢ　カタログ番号Ｅ７６４８Ｂ）を使用してｃｆＤＮＡ断片に連結され、続いて、Ａｍｐｕｒｅ　ＸＰビーズ（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ　カタログ番号Ａ６３８８２）によって精製されるアンカーオリゴが介在した。バーコードオリゴヌクレオチドは、試料特定用のバーコード配列（ＩＤ領域）と増幅用のプライマー結合配列（増幅領域）で構成された。Ａｍｐｕｒｅ　ＸＰビーズで精製した後、ゲノムライブラリーを、ＮＥＢＮｅｘｔ　ＨＦ　ＰＣＲミックス（ＮＥＢ　カタログ番号Ｍ０５４１Ｂ）及びゲノムライブラリーＰＣＲプライマー（１μＭ）を使用したＰＣＲ（９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間の８サイクル）によって増幅した。

【１４７８】

標的化濃縮は、捕捉プローブの肺パネルを使用して２つのゲノムライブラリーにて実施した。肺捕捉プローブパネルは、以下の遺伝子：ＡＫＴ１、ＡＬＫ、ＡＬＳ、Ｂ２Ｍ、ＢＲＡＦ、ＥＧＦＲ、ＥＲＢＢ２、ＦＧＦＲ１、ＦＧＦＲ２、ＦＧＦＲ３、ＫＥＡＰ１、ＫＲＡＳ、ＭＡＰ２Ｋ１、ＭＥＴ、ＭＹＣ、ＮＲＡＳ、ＮＴＲＫ１、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＴＥＮ、ＲＥＴ、ＲＩＣＴＯＲ、ＲＯＳ１、ＳＴＫ１１、及びＴＰ５３を標的とするビオチン化捕捉プローブを含んだ。プローブパネル及びタグ付けされたゲノムライブラリーをハイブリッド形成緩衝液にて６５℃で一晩ハイブリッド形成させた。ハイブリッド形成後に、ストレプトアビジンでコーティングした常磁性ミクロスフェア（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　カタログ番号６５００）を使用して、標的化タグ付きゲノムライブラリーを単離し、次いで、洗浄緩衝液で洗浄して、未結合のタグ付きゲノムライブラリーを取り除いた。

【１４７９】

単離された捕捉プローブを、タグ付きゲノムライブラリー断片を鋳型として使用してＮＥＢＮｅｘｔ　ＨＦ　ＰＣＲミックスで伸長し、捕捉プローブと、捕捉プローブがｃｆＤＮＡ断片に結合する場所の３’であるｃｆＤＮＡ断片の逆相補体と、バーコードタグ（ＩＤ領域＋増幅領域）とを含むハイブリッド分子を作り出した。その後、ハイブリッド分子を、以下のように５サイクルでハイブリッドＰＣＲプライマー（０．４μＭ）を使用してＰＣＲ増幅した：

伸長：６０℃で３０秒間、７２℃で２分間、９８℃で３０秒間の１サイクル、続いて

増幅：９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間の５サイクル。

【１４８０】

得られた生成物１００μＬをストレプトアビジン常磁性ビーズから溶出させ、１００μＬのＮＥＢＮｅｘｔ　Ｕｌｔｒａ　ＩＩ　Ｑ５マスターミックスと合わせ、さらに１２サイクル増幅した。最終生成物をＡｍｐｕｒｅ　ＸＰビーズで精製した。

【１４８１】

ローパス全ゲノム増幅を、２つのライブラリーで以下のように行い、そのうち１つは標的捕捉プールにも存在した：１２．５ｎｇの各ゲノムライブラリーをプールし、ＬＰＷＧＰＣＲプライマー（０．４μＭの順行プライマー及びプライマー６３）と共にＱ５ポリメラーゼ（ＮＥＢ　ｃａｔ　＃Ｍ０４９２）を使用して増幅した。ライブラリーを、６５℃のアニーリング温度で１４サイクル増幅し、得られた生成物をＡｍｐｕｒｅ　ＸＰビーズで精製した。

【１４８２】

ＬＰＷＧ配列決定の目標カバー率は１倍であった。これを達成するために、プールされたＬＰＷＧライブラリーが最終的な配列決定ライブラリープールの２２％から成り、且つ標的捕捉ライブラリーがプールの７８％から成るように、ライブラリーを配列決定のためにブレンドした。最終ライブラリーの配列決定を、ＮｅｘｔＳｅｑ　５００／５５０シーケンサー（Ｉｌｌｕｍｉｎａ）を使用して、リード１については１５１サイクル、リード２については１７サイクル、及び双方のリードについてカスタム配列決定プライマーで行った。

【１４８３】

ＬＰＷＧシーケンシングのみを行うために増幅させたＢ７１６２５６－Ａ；標的捕捉とＬＰＷＧ増幅を受けたＢ７１６１７１－Ａ；及び標的捕捉のみを受けたＢ７１６０５２－Ａの３つの試料のそれぞれから、最初の１０００のリードを選択し、解析した。「空の」リード数、すなわち、「ＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧＧ」（配列番号１７）を含むリード数を各試料について集計し、表６に要約した。結果は、空のリードを使用して異なるライブラリー型の逆多重化に成功し、標的化配列からＬＰＷＧ配列を区別できることを示した。

【表６】

表６：ＬＰＷＧライブラリー及び標的化ライブラリーの配列決定の結果

試料	ライブラリー型	総リード	空のリード数	空でないリード数	空のリード率
Ｂ716256－Ａ	ＬＰＷＧ	1000	960	40	96
Ｂ716171－Ａ	ＬＰＷＧ及び標的化	1000	344	656	34.4
Ｂ716052－Ａ	標的化	1000	3	997	0.3

【１４８４】

実施例９－同時配列決定／配列決定の実行からのＳＮＶ／インデルのコール

単一の野生型個体の血漿試料から以下のように抽出されたｃｆＤＮＡからライブラリーを構築した：

１）　ＱＩＡｍｐ　ＤＳＰ　Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｎｇ　ＮＡキット（Ｑｉａｇｅｎ　カタログ番号６１５０４）を使用して抽出したｃｆＤＮＡ５０ｎｇを、ＮＥＢＮｅｘｔ　Ｕｌｔｒａ　ＩＩ末端修復／ｄＡ－テーリングキット（ＮＥＢ　カタログ番号Ｅ７５４６）を使用して末端修復し、且つＡテールを付けた。

２）　この反応にてアダプターを最終濃度２５０ｎＭに加え、２０℃で３０分間、Ｕｌｔｒａ　ＩＩ連結キット（ＮＥＢ　カタログ番号Ｅ７６４８）を使用してｃｆＤＮＡ断片に連結した。

３）　Ａｍｐｕｒｅ　ＸＰビーズ（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒカタログ番号Ｎｏ．Ａ６３８８２）による精製に続いて、得られたゲノムライブラリーを、ＮＥＢＮｅｘｔ　Ｕｌｔｒａ　ＩＩ　Ｑ５　マスターミックス（ＮＥＢ　カタログ番号Ｍ０５４４）を使用してライブラリープライマー（１μＭ）で増幅した。以下のサイクルプログラムで反応を実行した：

ａ．伸長：６０℃で３０秒間、７２℃で２分間、９８℃で３０秒間の１サイクル、続いて

ｂ．　増幅：９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間の８サイクル。

次に、増幅されたゲノムライブラリーをＡｍｐｕｒｅ　ＸＰビーズで精製した。

４）　異なる試料からの増幅されたタグ付きゲノムライブラリーをプールし、ハイブリッド形成緩衝液にてビオチン化ＨＲＤ捕捉プローブパネルと６５℃で一晩ハイブリッド形成させた。（ＨＲＤ捕捉プローブパネルは１２の遺伝子：ＡＲ、ＡＴＭ、ＢＲＣＡ１、ＢＲＣＡ２、ＢＲＩＰ１、ＣＤＫ１２、ＣＤＫＮ２Ａ、ＣＨＥＫ２、ＦＡＮＣＡ、ＨＤＡＣ

２、ＰＡＬＢ２、及びＴＰ５３を標的とする）。標的化ライブラリーを、常磁性のストレプトアビジンビーズ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ Ｃａｔ．Ｎｏ．６５００２）を使用して単離し、洗浄緩衝液で４５℃にて５分間洗浄した。

５） 単離された捕捉プローブを、タグ付きゲノムライブラリー断片を鋳型として使用してＮＥＢＮｅｘｔ Ｕｌｔｒａ ＩＩ Ｑ５マスターミックスで伸長し、捕捉プローブと、捕捉プローブがｃｆＤＮＡ断片に結合する場所の３’であるｃｆＤＮＡ断片の逆相補体と、アダプターモジュールとを含むハイブリッド分子を作り出した。その後、ハイブリッド分子を、以下のように５サイクルで順行及び逆行のハイブリッドＰＣＲプライマー（０．４μＭ）を使用してＰＣＲ増幅した：

ａ． 伸長：６０℃で３０秒間、７２℃で２分間、９８℃で３０秒間の１サイクル、続いて

ｂ． 増幅：９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間の５サイクル。

得られた生成物１００μＬをストレプトアビジン常磁性ビーズから溶出させ、１００μＬのＮＥＢＮｅｘｔ Ｕｌｔｒａ ＩＩ Ｑ５マスターミックスと合わせ、さらに１２サイクル増幅した。最終生成物をＡｍｐｕｒｅ ＸＰビーズで精製した。

【１４８５】

別個に、ローパス全ゲノム増幅を４つのタグ付きゲノムライブラリーで実施した。各ライブラリー５０ｎｇを、ローパス全ゲノムプライマー（表１の順行プライマー及びＬＰＷＧ＿ＡＭＰ＿Ｒプライマー）（０．４μＭ）と共にＮＥＢＮｅｘｔ Ｕｌｔｒａ ＩＩ Ｑ５マスターミックスを使用して増幅した。ライブラリーを、９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間の１２サイクルで増幅した。得られた生成物をＡｍｐｕｒｅ ＸＰビーズで精製した。

【１４８６】

各ＬＰＷＧライブラリーが１倍のカバー率に配列決定されるように標的捕捉ライブラリー及びＬＰＷＧライブラリーをプールした。最終ライブラリーの配列決定を、ＮｅｘｔＳｅｑ ５００／５５０シーケンサー（Ｉｌｌｕｍｉｎａ）を使用して、リード１については１５１サイクルで、リード２については１７サイクルで、及び双方のリードについてカスタムプライマーを使用して行った。

【１４８７】

結果は、標的化捕捉ライブラリーからのＳＮＶ／インデルのコールが、ＬＰＷＧライブラリーとの同時配列決定によって影響を受けないことを示した。この実験でも、同時配列決定は異なるライブラリー調製方法を使用するのに適していることが示された。

【１４８８】

逆多重化配列決定リードからの結果を表７（表７）に示すが、これは、ＬＰＷＧライブラリーを再現可能に逆多重化（ＬＰＷＧリードの割合の％が試料間で一貫していた）し、同じ試料特定アダプターモジュールを搭載する標的化ライブラリーから区別できることを示した（推定カバー率１は実現カバー率に近い）。

【表７】

表７：ＬＰＷＧ＋標的化アンプリコンのプールからのＬＰＷＧライブラリーの配列カバー率

反復	逆多重化ＬＰＷＧのリード数	リードのＬＰＷＧ割合	カバー率
1	19745521	16%	0.781
2	17946984	16%	0.712
3	17286025	16%	0.685
4	15855059	16%	0.628

【１４８９】

標的化ライブラリーの配列決定から生じる変異型コールを図２９に示す。図２９に列挙された１６の変異型は、標的化ライブラリーが単独で配列決定された８つ全ての試料に対して（黒四角）、且つローパス全ゲノムライブラリーと共に同時配列決定された４つ全て

の標的化ライブラリーにて（黒三角）コールされた。１つの変異型、ＢＲＩＰ１　Ｐ１０１７Ｌを１つのライブラリーでのみコールし、この変異型はアッセイの検出限界を僅かに下回っていた。結果は、標的捕捉によるＬＰＷＧ配列決定を含めても突然変異の特定に影響を及ぼさないことを示した。

【１４９０】

実施例１０－ＬＰＷＧライブラリー及び捕捉ライブラリーの同時負荷の実現可能性

８ＮＮＮ－４７を伴うＷＴ　Ｒ５３８００１及び８ＮＮＮ－４８を伴うＷＴ　Ｒ５３８００１（標的化ライブラリーと配列決定空間を共有しないＬＰＷＧ試料）のカバー率の深度を計算すると、それぞれ０．９３倍及び０．８２倍となり、以下に概説する計算でカバー率を正確に目標にすることができることを示唆している：

【表８】

１．フローセルのＬＰＷＧライブラリーによる負荷に対する割合を算出する（その際、ｎはライブラリー内の試料数；ＰＬ＝ローパスライブラリーの割合；ＰＣ＝捕捉ライブラリーの割合；ＶＬ＝ローパスライブラリーの量；ＶＣ＝捕捉ライブラリーの量、Ｖ＝総量）：

１倍のカバー率について：	ｎ＊０．０５６	＝	ＰＬ
０.５倍のカバー率について：	ｎ＊０．０２８	＝	ＰＬ
１－ＰＬ		＝	ＰＣ

*複数のＬＰＷＧライブラリーについては、これは：

１－ＳＵＭ（ＰＬ）	＝	ＰＣ

２．１００ｎｇについて加えるそれぞれの量を算出する。

ＰＬ*１００／ライブラリー濃度	＝	ＶＬ
ＰＣ*１００／ライブラリー濃度	＝	ＶＣ

３．最終的なライブラリー量を算出する。

ＶＬ＋ＶＣ	＝	Ｖ

４．最終的なライブラリー濃度を算出する：

１００／Ｖ	＝	最終的なライブラリー濃度

【１４９１】

図２４のライブラリー分布に示されているように、３つの試料（ＬＰＷＧが１つ、捕捉が１つ、及び双方のライブラリー型を持つ１つ）のそれぞれからの１０００リードを調べることが、同じ配列決定フローセルに試料からＬＰＷＧ及び標的捕捉ライブラリーを同時負荷することについての概念実証を証明し、ライブラリーはリード２の結果を使用してうまく逆多重化できることを証明した。

【１４９２】

野生型試料由来のＬＰＷＧライブラリーを、実施例９に記載されているように処理した野生型試料と同時負荷した。ＬＰＷＧライブラリー用に４つのＬＰＡ：捕捉ライブラリー試料と重複するバーコードを持つ２つ及び重複しないバーコードを持つ２つをプールし、増幅した。各野生型由来のＬＰＡ（１２．５ｎｇ）をプールし、次いで６５℃のアニーリング温度で１６サイクル増幅し、次いでＡｍｐｕｒｅビーズで精製し、Ｑｕｂｉｔによっ

て定量した。ローパスの全ゲノムライブラリーを、上記計算に記載されているように１倍の目標カバー率に対して負荷した。順行及び逆行の配列決定プライマーは、表１に記載されているものであったので、リード１は標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）及びＬＰＷＧライブラリーの双方の配列決定を行う一方で、リード２は標的捕捉ライブラリーのみを配列決定する。ＬＰＷＧライブラリー由来の空の配列は、リード２で１７の「Ｇ」と見なされた。したがって、リード２を使用して、ＬＰＷＧライブラリー配列から捕捉ライブラリー配列を区別することができる。各バーコード化された試料（ＩＤ領域識別子）についてのリードの総数を表８に列挙する。

【表９】

表８：同時負荷されたＬＰＷＧライブラリー及び捕捉ライブラリーからの試料１つあたりの全リード。

バーコード	試料	ライブラリー型	リード
8NNN-41	WT R537984	ＬＰＷＧ＋捕捉	53717504
8NNN-42	WT R537984	ＬＰＷＧ＋捕捉	55803131
8NNN-37	WT R537984	捕捉	33782985
8NNN-40	WT R537984	捕捉	35254861
8NNN-38	WT R537989	捕捉	43717435
8NNN-39	WT R537989	捕捉	41882025
8NNN-34	WT R537989	捕捉	42191765
8NNN-33	WT R537989	捕捉	42594803
8NNN-35	WT R537995	捕捉	47287483
8NNN-36	WT R537995	捕捉	45628161
8NNN-43	肺８陽性対照	捕捉	19031726
8NNN-44	NTC	捕捉	8880
8NNN-47	WT R538001	LPWG	20474208
8NNN-48	WT R538001	LPWG	18130947

【１４９３】

実施例１１－アダプタータグ付き親ライブラリーを調製する方法

アダプタータグ付き親ライブラリーの調製中の試料調製、末端修復、及びアダプター連結の例示的な方法を以下に提供する。これらの方法は、開示されているキット構成成分のいずれかと共に、または開示されている方法のいずれかにて、本開示の任意の品質管理（ＱＣ）プロセスで使用されてもよい。当業者であれば、以下の試薬は説明の目的のためのものである、すなわち、以下の試薬の量は任意の好適な量に変更されてよく、且つ特定の試薬は他の適切な試薬と交換可能であってもよいことを認識するであろう。

【１４９４】

試料の調製

各ＤＮＡ試料を好適な濃度（例えば、１０ｎｇ／μＬ）に調製し、ＴＥＺ緩衝液（ＴＲＩＳ－ＥＤＴＡ）のような適切な緩衝液で希釈した。

【１４９５】

末端修復

市販の酵素及び緩衝液を使用してＤＮＡ断片を末端修復した。単一チューブ反応混合物にて５μＬの末端修復マスターミックスを各ＤＮＡ試料に加えた。末端修復マスターミックスは、市販の末端修復酵素（例えば、ＮＥＢＮｅｘｔ　Ｕｌｔｒａ　ＩＩ　Ｅｎｄ　Ｐｒｅｐ　Ｅｎｚｙｍｅ　Ｍｉｘ（登録商標））と適切な末端修復緩衝液（例えば、ＮＥＢ

Ｎｅｘｔ Ｕｌｔｒａ ＩＩ Ｅｎｄ Ｐｒｅｐ Ｒｅａｃｔｉｏｎ Ｂｕｆｆｅｒ（登録商標））とを組み合わせることによって調製した。反応混合物をサーモサイクラーにて以下の反応条件下、２０℃で１５分間、次いで７０℃で１０分間インキュベートした。

【１４９６】

アダプター連結

複数のアダプターモジュールを含むアダプターの固有のセット１つを末端修復された各試料に割り当てた。いくつかの実施形態では、アダプターのセットは本開示のアダプターＱＣプロセスに合格している。５μＬのアダプターセットをその割り当てられた末端修復試料に加え、その後、ＤＮＡリガーゼを含む連結ミックス（例えば、ＮＥＢ Ｕｌｔｒａ ＩＩ Ｌｉｇａｔｉｏｎ Ｍｉｘ（登録商標））３０μＬを加えた。反応混合物を２０℃で３０分間インキュベートして、アダプタータグ付きＤＮＡ断片を生成した。

【１４９７】

アダプターモジュールの各連結鎖は、４７ｎｔの長さであり、（５’から３’に向かって）増幅領域（ＡＭＰ、２５ｎｔ）と、試料及び固有の断片の双方を特定することができる多機能ＩＤ領域（８ｎｔ）と、ＵＭＩ乗算因子（３ｎｔ）と、アンカー（１０ｎｔ）と、３’ｄＴオーバーハングとを含んでいた。例示的なアダプター構造を表９に提供する。例示的なアダプター連結鎖を表１０に提供する。

【１４９８】

アダプターモジュールのセットは、各アダプターセットが、４種類のアンカー領域を含む等モル量のアダプターモジュールを含有するように調製されたものであり、各アンカー型はＡ、Ｔ、Ｃ及びＧから選択される３’末端ヌクレオチドを有した。

【表１０】

表９：例示的なアダプター構造

アダプターの名称	説明／配列
連結鎖／アンカー領域１（１６－１）	ＡＭＰ－ＩＤ領域／ＵＭＩ乗算因子－ACGTATGCCA（配列番号１）－３’ｄＴ
連結鎖／アンカー領域２（１６－２）	ＡＭＰ－ＩＤ領域／ＵＭＩ乗算因子－CTAGCGTTAC（配列番号２）－３’ｄＴ
連結鎖／アンカー領域３（１６－３）	ＡＭＰ－ＩＤ領域／ＵＭＩ乗算因子－GATCGACATG（配列番号３）－３’ｄＴ
連結鎖／アンカー領域４（１６－４）	ＡＭＰ－ＩＤ領域／ＵＭＩ乗算因子－TGCATCAGGT（配列番号４）－３’ｄＴ
非連結鎖／アンカー領域１（１６＿１）	TGGCATACGT（配列番号１８）
非連結鎖／アンカー領域２（１６＿２）	GTAACGCTAG（配列番号１９）
非連結鎖／アンカー領域３（１６＿３）	CATGTCGATC（配列番号２０）
非連結鎖／アンカー領域４（１６＿４）	ACCTGATGCA（配列番号２１）

【表１１】

表１０：例示的なアダプター連結鎖の配列

３’ｄＴオーバーハングを持つアダプターモジュール連結鎖	配列番号
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAAAAATCCTNNNACGTATGCCAT	22
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAAATGATCTNNNACGTATGCCAT	23
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAAGTAATAGNNNACGTATGCCAT	24
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACACCTCCGNNNACGTATGCCAT	25
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACGCCCCATNNNACGTATGCCAT	26
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACTACCAAGNNNACGTATGCCAT	27
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACTGTCGTTNNNACGTATGCCAT	28
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGCAAATGGNNNACGTATGCCAT	29
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGCTCGAGCNNNACGTATGCCAT	30
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGTCCACAANNNACGTATGCCAT	31
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGTTACCCTNNNACGTATGCCAT	32
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATAGTTTTCNNNACGTATGCCAT	33
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATCTCAGAGNNNACGTATGCCAT	34
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATGACCTTCNNNACGTATGCCAT	35
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATTACGGCANNNACGTATGCCAT	36
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAAACAAAACNNNTGCATCAGGTT	37
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAACACTGCANNNTGCATCAGGTT	38
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAATCGCGATNNNTGCATCAGGTT	39
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAATGGTGGANNNTGCATCAGGTT	40
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACAACTCTCNNNTGCATCAGGTT	41
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACGCCCGAANNNTGCATCAGGTT	42
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACGTATGACNNNTGCATCAGGTT	43
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGAAACGACNNNTGCATCAGGTT	44
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGACTCTGANNNTGCATCAGGTT	45
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGTCACTCTNNNTGCATCAGGTT	46
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATACTGGACNNNTGCATCAGGTT	47
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATGCGATACNNNTGCATCAGGTT	48
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATGTTAATGNNNTGCATCAGGTT	49
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATTGTACTTNNNTGCATCAGGTT	50
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATTTGGCTCNNNTGCATCAGGTT	51
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAAACGCCTANNNGATCGACATGT	52
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAAAGTTTCANNNGATCGACATGT	53
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAACAGCGAANNNGATCGACATGT	54
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAAGCGCCTGNNNGATCGACATGT	55

【表１２】
（表１０の続き）

TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACAACCCTTNNNGATCGACATGT	56
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACAGAATAANNNGATCGACATGT	57
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACGGACACCNNNGATCGACATGT	58
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGCCTATTCNNNGATCGACATGT	59
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGCGTCCAGNNNGATCGACATGT	60
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGGTACAAGNNNGATCGACATGT	61
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATAACCCTCNNNGATCGACATGT	62
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATAGGAGTGNNNGATCGACATGT	63
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATCCGCATTNNNGATCGACATGT	64
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATGCGTCAANNNGATCGACATGT	65
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATTGGTAATNNNGATCGACATGT	66
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAAATAGCTTNNNCTAGCGTTACT	67
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAAGAGAGAGNNNCTAGCGTTACT	68
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACAACCTGANNNCTAGCGTTACT	69
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACATATGGCNNNCTAGCGTTACT	70
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACCATATCCNNNCTAGCGTTACT	71
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACGAGGTCCNNNCTAGCGTTACT	72
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACGTCAATGNNNCTAGCGTTACT	73
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACACTTATCATNNNCTAGCGTTACT	74
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGCATTGACNNNCTAGCGTTACT	75
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACAGGAGGTATNNNCTAGCGTTACT	76
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATAACAGTTNNNCTAGCGTTACT	77
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATCGAACACNNNCTAGCGTTACT	78
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATGCATAATNNNCTAGCGTTACT	79
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATGTCATAANNNCTAGCGTTACT	80
TGCAGGACCAGAGAATTCGAATACATTGCGCGGNNNCTAGCGTTACT	81

＊表１０の配列におけるＮＮＮは、各ＮがＡ、Ｇ、Ｃ、Ｔのいずれか１つから選択されてもよい３ヌクレオチドＵＭＩ乗算因子を表す。

【１４９９】

連結後、１００μＬのＤＮＡ精製ビーズ（例えば、Ａｍｐｕｒｅ　ＸＰ（登録商標）；Ｂｅｃｋｍａｎ（登録商標））を各試料に加えた。反応混合物を室温で２分間インキュベートした。ビーズを磁石上にて２００μＬの８０％エタノール／水（ｖ／ｖ）で２回洗浄し、風乾し、次いで２５μＬのＴＲＩＳ－ＥＤＴＡ（ＴＥＺ）で溶出した。溶出して清澄の、アダプタータグ付きＤＮＡ断片を含有する約２５μＬの上清を、増幅のために新規のＰＣＲチューブまたはマイクロタイタープレートのウェルに移して、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリーを生成した。いくつかの実施形態では、この段階でのＤＮＡライブラリーをＬＩＢＳと呼んでもよい。

【１５００】

ライブラリーの増幅

アダプターの連結後、ＰＣＲ試薬と、高忠実度ＤＮＡポリメラーゼ酵素（例えば、ＮＥ

ＢＮｅｘｔ（登録商標）Ｕｌｔｒａ　ＩＩ　Ｑ５（登録商標）Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ；Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ（登録商標））と、ライブラリープライマーとを含むライブラリーＰＣＲミックスを含有する７５μＬのマスターミックスを各試料に加えた。以下のＰＣＲパラメーターを使用してこの反応混合物を増幅した：
６０℃で３０秒間、７２℃で２分間、９８℃で３０秒間；
９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、及び７２℃で３０秒間の８サイクル

【１５０１】

ライブラリープライマーは配列ＴＧＣＡＧＧＡＣＣＡＧＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡ（配列番号５）を有する単一増幅プライマーである。

【１５０２】

最初の３分間のインキュベーションサイクルを行って、連結鎖を鋳型とした伸長によって複数の隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を形成し、続いて、隣接するアダプタータグ付きｄｓＤＮＡ断片を８サイクルＰＣＲで増幅して、アダプタータグ付きＤＮＡ断片分子を含有する増幅されたタグ付きＤＮＡライブラリーを形成した。

【１５０３】

増幅後、１２０μＬのＤＮＡ精製ビーズを連結ミックスに加えた。反応混合物を室温で２分間インキュベートした。ビーズを磁石上にて２００μＬの８０％エタノール／水（ｖ／ｖ）で２回洗浄し、風乾し、次いで２０μＬのＴＥＺ緩衝液で溶出した。増幅されたタグ付きＤＮＡライブラリーを含有する清澄の上清を新規のＰＣＲチューブに移した。

【１５０４】

この段階でのライブラリーを、アダプタータグ付き親ライブラリーまたはライブラリーポストアンプリフィケーション（ＬＰＡ）と呼んでもよい。ＬＰＡを少なくとも２つの部分に分割して、増幅後標的捕捉ライブラリー（ＴＣ　ＬＰＡ）及び増幅後全ゲノムライブラリー（ＷＧ　ＬＰＡ）を生成した。ＴＣ　ＬＰＡはＬＰＡの一部を分注ことによって直接生成した。ＷＧ　ＬＰＡはＬＰＡまたはＴＣ　ＬＰＡを１：１０に希釈することにより生成した。

【１５０５】

いくつかの実施形態では、ＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡは品質管理（ＱＣ）プロセスに供されてもよい。製造元の説明書に従ってＱｕｂｉｔ（商標）ｄｓＤＮＡ　ＨＳアッセイキットを使用してＬＰＡの濃度を決定した。ＬＰＡの濃度はまたＴＣ　ＬＰＡの濃度であった。ＬＰＡまたはＴＣ　ＬＰＡを１：１０に希釈することによってＷＧ　ＬＰＡを作り出した場合、ＷＧ　ＬＰＡの濃度を先ず決定し、ＴＣ　ＬＰＡ濃度は１０×［ＷＧ　ＬＰＡの濃度］によって算出した。いくつかの実施形態では、少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度でのＴＣ　ＬＰＡのみが下流のプロセスにて使用された。いくつかの実施形態では、少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～少なくとも８ｎｇ／μＬの濃度でのＷＧ　ＬＰＡのみが下流のプロセスにて使用された。

【１５０６】

実施例１２－標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬ）または増幅された標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）を調製する方法

目的の遺伝子座（標的領域）を捕捉し、濃縮するために、実施例１１に記載されているように調製したアダプタータグ付き親ライブラリーの一部を多重化し、標的遺伝子パネルに特異的な捕捉プローブモジュールのプールとハイブリッド形成させることができる。標的遺伝子パネルは疾患に特異的な遺伝子の集まりであってもよい。例えば、捕捉プローブモジュールは、以下の表１１に記載されているような１以上の肺癌遺伝子に特異的であってもよい。いくつかの実施形態では、肺癌遺伝子に特異的な捕捉プローブモジュールのセットが肺プローブと呼ばれる。いくつかの実施形態では、捕捉プローブの特定のセット、例えば、相同組換え欠損プローブ（ＨＲＤプローブ）となるように設計されている捕捉プローブのセットはキット構成成分のＱＣプロセスにて使用されてもよい。ＨＲＤプローブのための標的遺伝子の例示的なセットには、ＡＲ、ＡＴＭ、ＡＴＲ、ＢＡＲＤ１、ＢＲＣＡ１、ＢＲＣＡ２、ＢＲＩＰ１、ＣＤＫ１２、ＣＨＥＫ１、ＣＨＥＫ２、ＥＲＢＢ２、Ｅ

ＳＲ１、ＦＡＮＣＡ、ＦＡＮＣＬ、ＨＤＡＣ２、ＫＲＡＳ、ＭＹＣ、ＰＡＬＢ２、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＴＥＮ、ＲＡＤ５０、ＲＡＤ５１、ＲＡＤ５１Ｂ、ＲＡＤ５１Ｃ、ＲＡＤ５４Ｌ、ＲＢ１、ＳＲＹ、及びＴＰ５３から選択される１以上の遺伝子が含まれる。

【表１３】

表１１：肺癌についての例示的な標的遺伝子

変異型の種類	遺伝子数	遺伝子名
ＳＮＶ（一塩基変異）／インデル	２７	AKT1, ALK, BRM, BRAF, CD274, CDK2NA, EGFR, ERBB2, FGFR1, FGFR2, FGFR3, KEAP1, KRAS, MAP2K1, MET, MLH1, MSH2, MSH6, MYC, NRAS, PIK3CA, PMS2, PTEN, RET, ROS1, STK11, TP53
融合／再構成	８	ALK, BRAF, EGFR, FGFR2, FGFR3, NTRK1, RET, ROS1
ＣＮＶ（コピー数の変動）	２３	AKT1, B2M, BRAF, CD274, CDKN2A, EGFR, ERBB2, FGFR1, FGFR2, FGFR3, KRAS, MET, MYC, NRAS, NTRK1, PIK3CA, PMS2, PTEN, RET, RICTOR, ROS1, STK11, TP53
対照	１	SRY

【１５０７】

実施例１１に従って調製したＬＰＡの一部を標的捕捉の出発物質として使用した。この段階のライブラリー（例えば、ＬＰＡの一部）も増幅後標的捕捉ライブラリー（ＴＣ　ＬＰＡ）と呼ばれてもよい。

【１５０８】

ハイブリッド形成反応混合物にてＴＣ　ＬＰＡを捕捉プローブモジュールと合わせた。捕捉プローブモジュールの量は任意の好適な量であってもよい。本実施例では、捕捉プローブモジュールの量はＴＣ　ＬＰＡの全量の１／２であった。

【１５０９】

このハイブリッド形成反応混合物をサーモサイクラーサーにて９８℃で２分間変性させた。次に、ハイブリッド形成反応混合物を６０℃に下げ、氷上の事前冷却ＰＣＲラックに移した。ハイブリッド形成緩衝液を加え、各ハイブリッド形成反応混合物をサーモサイクラーサーにて９８℃で１分間変性させた。次に、温度を６５℃に下げ、ハイブリッド形成反応を１２～２４時間進行させた。

【１５１０】

ハイブリッド形成反応が完了した後に、ＴＥＺ緩衝液中のストレプトアビジンでコーティングしたビーズ（Ｄｙｎａｂｅａｄｓ　ＭｙＯｎｅ　Ｃ１）３０μＬを各ハイブリッド形成反応物と合わせ、室温で２０分間静置した。ビーズを磁石上に回収し、ＴＥＺ緩衝液２００μＬで１回洗浄した。洗浄したビーズを、２０μＬのＴＥＺ緩衝液中に再懸濁させた。好適な洗浄緩衝液８０μＬを再懸濁したビーズに加え、混合物を４５℃で５分間インキュベートした。次に磁石を使用してビーズを分離し、２００μＬのＴＥＺ緩衝液で洗浄した。洗浄したビーズを２０μＬのＴＥＺ緩衝液中に再懸濁させた。

【１５１１】

ハイブリッド形成後に、捕捉プローブのプライマー伸長を使用して、捕捉したゲノム配列と、ＤＮＡ断片の連結部におけるＡ／Ｔオーバーハングと、結合したアダプターモジュールとをコピーしてハイブリッド分子のライブラリーを形成した。伸長した捕捉プローブ、すなわち、ハイブリッド分子は、一方の末端にて捕捉プローブモジュールが隣接し、他方の末端にてアダプターモジュールが隣接するＤＮＡ断片を含む。ビーズ上のプローブ伸長は、ＰＯＳＴ－ＣＡＰマスターミックスをハイブリッド形成反応混合物（すなわち、上記の再懸濁した洗浄ビーズ）に加えることによって行った。ＰＯＳＴ－ＣＡＰマスターミ

ックスは、Ｐｏｓｔ　Ａｍｐ　ＰＣＲ　Ｍｉｘ及びＰｏｓｔ　Ｈｙｂプライマーミックスを含む。Ｐｏｓｔ　Ｈｙｂプライマーミックスを使用して、ハイブリッド分子に配列決定アダプター、例えば、Ｉｌｌｕｍｉｎａ（登録商標）配列決定アダプターを組み込んだ。いくつかの実施形態では、Ｐｏｓｔ　Ａｍｐ　ＰＣＲミックスは、高忠実度ＤＮＡポリメラーゼ、例えば、ＮＥＢＮｅｘｔ　Ｕｌｔｒａ　ＩＩ　Ｑ５マスターミックスを含んでいた。いくつかの実施形態では、８０μＬのＰＯＳＴ－ＣＡＰマスターミックスを各ハイブリッド形成反応混合物に加えた。

【１５１２】

いくつかの実施形態では、Ｐｏｓｔ　Ｈｙｂプライマーミックスは以下を含む：

順行プライマー：

ＡＡＴＧＡＴＡＣＧＧＣＧＡＣＣＡＣＣＧＡＧＡＴＣＴＡＣＡＣＧＴＣＡＴＧＣＡＧＧＡＣＣＡＧＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡ（配列番号７）及び

逆行プライマー：

ＣＡＡＧＣＡＧＡＡＧＡＣＧＧＣＡＴＡＣＧＡＧＡＴＧＴＧＡＣＴＧＧＣＡＣＧＧＧＡＧＴＴＧＡＴＣＣＴＧＧＴＴＴＴＣＡＣ（配列番号８２）。

【１５１３】

以下のプログラム：６０℃で３０秒間、７２℃で３０秒間、９８℃で３０秒間；５サイクルの９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間に従ってサーマルサイクルにてビーズ上プローブ伸長反応を実施した。

【１５１４】

この段階で洗浄したビーズを含む反応混合物は標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬ）と呼ばれてもよい。

【１５１５】

次に、ビーズを磁石上で反応混合物から分離した。上清を新規のＰＣＲチューブに移し、Ｐｏｓｔ　ＡＭＰ　ＰＣＲミックス及びＰｏｓｔ　Ｈｙｂプライマーミックスを含むＴＣ　ＡＭＰマスターミックスと組み合わせた。いくつかの実施形態では、上清を含むそれぞれのＰＣＲチューブに１００μＬのＴＣ　ＡＭＰマスターミックスを加えた。上清を含む得られた混合物を、以下の増幅プログラムを使用してサーマルサイクラーサーにて増幅した：

【１５１６】

９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間の１２サイクル

【１５１７】

増幅後、１２０μＬのＤＮＡ精製ビーズ（例えば、Ａｍｐｕｒｅ　ＸＰ（登録商標）；Ｂｅｃｋｍａｎ（登録商標））を各ＰＣＲチューブに加えた。反応混合物を室温で２分間インキュベートした。ビーズを磁石上にて２００μＬの８０％エタノール／水（ｖ／ｖ）で２回洗浄し、風乾し、次いで５０μＬのＴＲＩＳ－ＥＤＴＡ（ＴＥＺ）で溶出した。溶出して清澄の、増幅されたハイブリッド分子を含有する約５０μＬの上清を新規のＰＣＲチューブに移した。この段階でのＤＮＡライブラリーは、増幅標的捕捉ライブラリー（ＴＣＬＡ）または増幅された標的捕捉ライブラリーと呼ばれてもよい。いくつかの実施形態では、ＴＣＬＡ内の増幅されたハイブリッド分子は、図２８に示すように、分子の２つの末端にて配列決定プライマー結合部位を含有するという点で「配列対応」である。

【１５１８】

実施例１３－増幅全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）を調製する方法

実施例１１に従ってＷＧ　ＬＰＡライブラリーを生成した。各ＷＧ　ＬＰＡは、製造元の説明書に従ってＱｕｂｉｔ（商標）ｄｓＤＮＡ　ＨＳアッセイキットを使用して定量されてもよい。

【１５１９】

１を超える試験試料が分析されたので、ＷＧ　ＬＰＡの増幅の前に試料投入量の基準化工程を実行した。各試験試料について、固有に割り当てられたアダプターセットを使用して１つのＷＧ　ＬＰＡを生成し、各ＷＧ　ＬＰＡを「移行プール」にプールした。好適な

量の移行プールを新しいチューブに移し、ＴＥＺ緩衝で試料の量を４０μＬにし、増幅対応の基準化されたＷＧ　ＬＰＡプールを作り出した。

【１５２０】

各ＷＧ　ＬＰＡプールに、ＷＧ　ＡＭＰマスターミックスを加えてＷＧ　ＬＰＡ増幅混合物を作り出した。ＷＧ　ＡＭＰマスターミックスは、Ｐｏｓｔ　ＡＭＰ　ＰＣＲミックス及びゲノムミックスを含む。ゲノムミックスは以下を含むプライマー混合物である。

ゲノムミックスプライマーＦ：
ＡＡＴＧＡＴＡＣＧＧＣＧＡＣＣＡＣＣＧＡＧＡＴＣＴＡＣＡＣＧＴＣＡＴＧＣＡＧＧＡＣＣＡＧＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡ
（配列番号７）
ゲノムミックスプライマーＲ：
ＣＡＡＧＣＡＧＡＡＧＡＣＧＧＣＡＴＡＣＧＡＧＡＴＧＴＧＡＣＴＧＧＴＧＣＡＧＧＡＣＣＡＧＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡ
（配列番号９）

【１５２１】

６０μＬのＷＧ　ＡＭＰマスターミックスを各ＷＧ　ＬＰＡプールに加えた。

【１５２２】

ＷＧ　ＬＰＡ増幅混合物を、サーマルサイクラーにて以下の増幅プログラムを使用して増幅した：
９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間の１２サイクル。

【１５２３】

増幅後、１２０μＬのＤＮＡ精製ビーズ（例えば、Ａｍｐｕｒｅ　ＸＰ（登録商標）；Ｂｅｃｋｍａｎ（登録商標））を各ＰＣＲチューブに加えた。反応混合物を室温で２分間インキュベートした。ビーズを磁石上にて２００μＬの８０％エタノール／水（ｖ／ｖ）で２回洗浄し、風乾し、次いで５０μＬのＴＲＩＳ－ＥＤＴＡ（ＴＥＺ）で溶出した。溶出して清澄の、増幅されたライブラリーを含有する約５０μＬの上清を新規のＰＣＲチューブに移した。この段階でのＤＮＡライブラリーは、増幅全ゲノムライブラリー（ＷＧＬＡ）またはローパス全ゲノム（ＬＰＷＧ）ライブラリーと呼ばれてもよい。

【１５２４】

実施例１４－組み合わせライブラリーを配列決定する方法

実施例１１～１３に従って生成されたＴＣＬＡ及びＷＧＬＡを組み合わせて、配列対応ライブラリー（ＳＲＬ）を作り出した。

【１５２５】

いくつかの実施形態では、組み合わせ前に、ＴＣＬＡ及びＷＧＬＡを品質管理（ＱＣ）プロセスに供した。製造元の説明書に従ってＱｕｂｉｔ（商標）ｄｓＤＮＡ　ＨＳアッセイキットを使用してＴＣＬＡ及びＷＧＬＡの濃度を決定した。いくつかの実施形態では、少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を持つＴＣＬＡのみが下流のプロセスで使用され、少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を持つＷＧＬＡのみが下流のプロセスで使用された。

【１５２６】

ＳＲＬはＴＣＬＡとＷＧＬＡとを好適な量で組み合わせることによって作り出された。得られたＳＲＬを、配列決定する前に製造元の説明書に従ってＱｕｂｉｔ（商標）ｄｓＤＮＡ　ＨＳ　Ａｓｓａｙ　Ｋｉｔを使用して定量した。

【１５２７】

製造元の説明書、例えば、ＮｅｘｔＳｅｑ５５０に従って、Ｉｌｌｕｍｉｎａ　（登録商標）シーケンサーを使用してＳＲＬの配列決定を行った。以下の配列を含む配列決定プライマーを使用した：
ＦＷＤ配列プライマー：
ＣＡＡＧＣＡＧＡＡＧＡＣＧＧＣＡＴＡＣＧＡＧＡＴＧＴＧＡＣＴＧＧＣＡＣＧＧＧＡＣＣＡＧＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡ（配列番号１０）；

ＲＥＶ配列プライマー：
ＧＴＧＡＣＴＧＧＣＡＣＧＧＧＡＣＣＡＧＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡ（配列番号１１）；

【１５２８】

実施例１５－キットの試薬及びプライマーの品質管理

いくつかの実施形態では、本開示の組成物は、末端修復緩衝液、末端修復酵素、連結ミックス、ライブラリーＰＣＲミックス、ライブラリープライマー、Ｐｏｓｔ　ＡｍｐＰＣＲミックス、Ｐｏｓｔ　Ｈｙｂプライマーミックス、ゲノムミックス、ＦＷＤ配列プライマー及びＲＥＶ配列プライマーから選択される１以上の試薬及び／またはプライマーを含むキットに構築される。これらの試薬及びプライマーはそれぞれ、本開示の他の箇所に記載されている、または実施例１１～１４に記載されている対応する組成物であってもよい。

【１５２９】

本開示のキットの高い性能を保証するために、キットの上記の試薬及びプライマーのうちの１以上は、使用前に品質管理（ＱＣ）プロセスに供されてもよい。このＱＣプロセスは、細胞株ＮＡ０９５９６／ＮＡ１２８７８の５０：５０の比でのブレンドに由来する剪断されたゲノムＤＮＡを含む試料を使用してもよい（細胞株ｇＤＮＡはＣｏｒｉｅｌｌ研究所から供給されている）。この試料は、５０：５０ブレンド試料とも呼ばれてもよい。

【１５３０】

この例示的な実施例では、それぞれ好適な量の５０：５０のブレンド試料を含む少なくとも２つの試験試料をＴＥＺ緩衝液にて調製した。各試験試料に固有のアダプターセットを割り当てた。いくつかの実施形態では、アダプターのセットは本開示のアダプターＱＣプロセスに合格している。各試験試料について、ＬＰＡを生成するために実施例１１の方法に従って末端修復、アダプター連結、及びライブラリー増幅を実施した。ＬＰＡの生成後、実施例１１の方法に従ってＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡを作り出した。ＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡについてのＱＣプロセスを実施し、ＱＣに合格したライブラリーを下流での使用のために選択した。この実施例における試薬及びプライマーのＱＣについては、少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を持つＴＣ　ＬＰＡを下流のプロセスで使用し、且つ少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～少なくとも８ｎｇ／μＬの濃度を持つＷＧ　ＬＰＡを下流のプロセスで使用した。

【１５３１】

実施例１２の方法に従って、各試験試料のＴＣ　ＬＰＡを使用しＨＲＤプローブを使用してＴＣＬを作り出し、続いて、実施例１２の方法に従ってＴＣＬＡを作り出した。各試験試料のＷＧ　ＬＰＡを使用して、実施例１３の方法に従ってＷＧＬＡを作り出した。生成されたＴＣＬＡ及びＷＧＬＡのそれぞれについてＱＣプロセスを実施し、その際、ＱＣに合格した各ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を有し、ＱＣに合格した各ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を有していた。ＱＣに合格した各試験試料のＴＣＬＡ及びＷＧＬＡを合わせ、実施例１４の方法に従って配列決定した。

【１５３２】

配列決定分析の後、１以上の合否判定基準によって、この実施例における試薬及びプライマーがキットの高性能を可能にするための品質要件を満たしているかどうかを決定した。１以上の合否判定基準が試薬及びプライマーのＱＣに設定された。合否判定基準の例示的なセットは表１２に記載されている。

【表１４】

表１２：キットの試薬及びプライマーについての例示的な合否判定基準

試験の説明	試料	合否判定基準
ＳＮＰ（一塩基多型）の検出	５０：５０ブレンド試料	表１６あたりのＳＮＰの少なくとも９０％が検出される
コピー数の損失	５０：５０ブレンド試料	少なくとも１つのコピー数損失さえ検出される
Ｈｏｍｏｄｅｌ Ｒａｎ（ローパス増幅）	５０：５０ブレンド試料	所与の試料について少なくとも１００，０００～２，０００，０００のリードが検出される
カバー率	５０：５０ブレンド試料	目的の領域の少なくとも９０％が、３％ＡＦ（対立遺伝子頻度）での変異の検出を可能にするカバー率を有する
的外れのリード	５０：５０ブレンド試料	全配列決定リードの２０％以下

【１５３３】

実施例１６－キットアダプターセットの品質管理

いくつかの実施形態では、本開示の組成物を、１以上のアダプターセットを含むキットに構築する。これらのアダプターセットは、本開示に記載されているアダプターモジュールのいずれかを含んでもよい。キットの高い性能を保証するために、アダプターセットのそれぞれはキットに含まれる前に品質管理（ＱＣ）プロセスに供されてもよい。

【１５３４】

アダプター連結効率に関するＱＣ

この実施例では、アダプターの連結効率を調べるためのアダプターＱＣプロセスを、上記の５０：５０ブレンド試料を使用して実施した。

【１５３５】

それぞれ好適な量の５０：５０のブレンド試料を含む少なくとも２つの試験試料をＴＥＺ緩衝液にて調製した。各試験試料に固有のアダプターセットを割り当てた。各試験試料について、ＬＰＡを生成するために実施例１１の方法に従って、末端修復、アダプター連結、及びライブラリー増幅を実施した。

【１５３６】

ＬＰＡについてＱＣプロセスを実施して、各アダプターセットにおけるアダプター結合の効率を測定した。上記のように、アダプター結合の効率とは、アダプタータグ付きＤＮＡライブラリー分子に対する投入ＤＮＡ断片の変換率または変換割合を指す。アダプター結合効率のＱＣについて１以上の合否判定基準を設定した。この実施例では、アダプター結合効率の合否判定基準は、５ｎｇ～５０ｎｇの投入ＤＮＡと共にＬＰＡが少なくとも１ｎｇ／μＬ～２００ｎｇ／μＬの濃度を有することであった。

【１５３７】

アダプター分布及び配列特定に関するＱＣ

アダプターの分布及び配列の特定を調べるためのＱＣプロセスを、野生型（ＷＴ）ｃｆＤＮＡ試料を使用して行った。ＷＴ　ｃｆＤＮＡ試料は少なくとも約０．２ｎｇ／μＬの

濃度を有し、１人の健康なヒトまたは多くの健康なヒトから得られた。
【１５３８】
それぞれ好適な量のＷＴ　ｃｆＤＮＡを含む少なくとも２つの試験試料をＴＥＺ緩衝液にて調製した。各試験試料に固有のアダプターセットを割り当てた。いくつかの実施形態では、アダプターのセットは本開示のアダプターＱＣプロセスに合格している。各試験試料について、実施例１１の方法に従って実施して末端修復及びアダプター連結を実施し、アダプタータグ付きＤＮＡ断片の集まり（ＬＩＢＳ）を生成した。
【１５３９】
各試験試料の各ＬＩＢＳに１以上の固有のインデックスプライマーが割り当てられたインデックスプライマーを使用して各試験試料のＬＩＢＳの増幅を実施した。この実施例では、インデックスプライマーはＩｌｌｕｍｉｎａ（登録商標）Ｐ５及び／またはＰ７の配列を含む。いくつかの実施形態では、インデックスプライマーは配列番号１３及び配列番号１４の配列を含む。適切なインデックスプライマー、ライブラリーＰＣＲミックス（実施例１１に記載）及び配列番号７の配列を含むプライマーＦを各ＬＩＢＳに加えて増幅混合物を作り出した。得られた混合物を、以下のプログラムに従ってサーマルサイクラーで増幅した：
６０℃で３０秒間、７２℃で２分間、９８℃で３０秒間；
９８℃で３０秒間、６５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間の１２サイクル
【１５４０】
増幅後、１２０μＬのＤＮＡ精製ビーズ（例えば、ＡＭＰｕｒｅビーズ）を連結ミックスに加えた。反応混合物を室温で２分間インキュベートした。ビーズを磁石上にて２００μＬの８０％エタノール／水（ｖ／ｖ）で２回洗浄し、風乾し、次いで２０μＬのＴＥＺ緩衝液で溶出した。増幅されたタグ付きＤＮＡライブラリーを含有する清澄の上清を新規のＰＣＲチューブに移した。
【１５４１】
この段階におけるライブラリーはライブラリーポストインデックスアンプリフィケーション（ＬＰＩＡ）と呼ばれてもよい。製造元の説明書に従ってＱｕｂｉｔ（商標）ｄｓＤＮＡ　ＨＳアッセイキットを使用してＬＰＩＡの濃度を決定した。
【１５４２】
配列決定の前に、各ＬＰＩＡを新しいＰＣＲチューブに合わせることによって、各試験試料のＬＰＩＡをプールした。合わせたＬＰＩＡプールをＴＥＺ緩衝液を使用して好適な濃度にした。製造元の説明書に従ってＱｕｂｉｔ（商標）ｄｓＤＮＡ　ＨＳアッセイキットを使用して、合わせたＬＰＩＡプールの濃度を決定した。
【１５４３】
製造元の説明書、例えば、ＮｅｘｔＳｅｑ５５０に従って、Ｉｌｌｕｍｉｎａ（登録商標）シーケンサーを使用してＬＰＩＡプールの配列決定を行った。以下の配列を含む配列決定プライマーを使用した：
ＦＷＤ配列プライマー：
ＣＡＡＧＣＡＧＡＡＧＡＣＧＧＣＡＴＡＣＧＡＧＡＴＧＴＧＡＣＴＧＧＣＡＣＧＧＧＡＣＣＡＧＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡ（配列番号１０）；
ＲＥＶ配列プライマー：
ＧＴＧＡＣＴＧＧＣＡＣＧＧＧＡＣＣＡＧＡＧＡＡＴＴＣＧＡＡＴＡＣＡ（配列番号１１）；
及び増幅中に使用されたインデックスプライマーの配列を含むインデックス配列決定プライマー。
【１５４４】
配列決定分析の後、１以上の合否判定基準によって、アダプターセットがキットの高性能を可能にするための品質要件を満たしているかどうかを決定した。アダプターの分布及び配列の特定のＱＣについて１以上の合否判定基準を設定した。この実施例で使用されたアダプター分布及び配列の特定のＱＣについての例示的な合否判定基準を表１３に列挙す

る。

【１５４５】

アダプターセットの交差汚染も分析した。アダプターセットの交差汚染は、所定の試料に割り当てられていないアダプターがこの試料の配列決定リードに現れた場合に発生する場合がある。この実施例では、アダプターセット交差汚染のＱＣに関する合否判定基準は以下を含む。

ａ．各試料について、「バーコードクロストーク」の０．０５％～２％以下；

ｂ．各試料について、リードの１％～２０％以下は未知のアダプター由来である（すなわち、アダプターセットに含まれない）。

本明細書で使用されるときバーコードクロストークは、実際にはアダプターＢから生成される場合に一方のバーコード（アダプター）のリードがアダプターＡとして誤って標識されることを指す。

【１５４６】

アダプターの分布及び配列の特定のための合否判定基準の例示的なセットを表１３に提示する。

【表１５】

表１３：アダプターの分布及び配列の特定のための例示的な合否判定基準

試験の説明	試料	合否判定基準
バーコードクロストーク	ＷＴｃｆＤＮＡ	リードの０.０５％～２％以下
未知のアダプター	ＷＴｃｆＤＮＡ	リードの１％～２０％以下
アダプターの分布	ＷＴｃｆＤＮＡ	固有アダプター配列の１０％～８０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の０％～５０％であるリード数を有すること；
ＵＭＩカバー率	ＷＴｃｆＤＮＡ	アダプターセット内のすべての固有のアダプター配列の少なくとも８０％～９９.９％が試験試料に存在すること
ＵＭＩ分布	ＷＴｃｆＤＮＡ	固有アダプター配列の５％～５０％以下が固有アダプター配列すべての平均リード数の２倍を超えるリードを有すること

【１５４７】

実施例１７－キットの陽性対照試料の品質管理

いくつかの実施形態では、本開示の組成物は陽性対照ＤＮＡ試料を含むキットに構築される。いくつかの実施形態では、所与のキットの陽性対照ＤＮＡ試料は同じキットの捕捉プローブモジュールに特異的である。キットの高い性能を保証するために、陽性対照ＤＮＡ試料はキットに含める前に品質管理（ＱＣ）プロセスに供されてもよい。

【１５４８】

この実施例では、陽性対照ＤＮＡ試料は、細胞株のブレンド：ＮＡ１２８７８における８％ＮＡ１８５１１（細胞株ｇＤＮＡはＣｏｒｉｅｌｌ研究所から調達されている）由来の剪断されたゲノムＤＮＡを含む。陽性対照試料を調べるために、上記の５０：５０のブレンド試料を含む内部対照試料を使用した。

【１５４９】

異なる濃度の陽性対照試料を含む少なくとも２つの試験試料をＴＥＺ緩衝液にて調製し、５０：５０のブレンド試料を含む内部対照試料をＴＥＺ緩衝液にて調製した。各試験試料及び内部対照試料に固有のアダプターセットを割り当てた。いくつかの実施形態では、アダプターのセットは本開示のアダプターＱＣプロセスに合格している。各試験試料及び

内部対照試料について、ＬＰＡを生成するために実施例１１の方法に従って、末端修復、アダプター連結、及びライブラリー増幅を実施してＬＰＡを生成した。

【１５５０】

ＬＰＡの生成後、実施例１１の方法に従ってＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡを作り出した。ＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡについてのＱＣプロセスを実施し、ＱＣに合格したライブラリーを下流での使用のために選択した。この実施例では、少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を持つＴＣ　ＬＰＡを下流のプロセスで使用し、且つ少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～少なくとも８ｎｇ／μＬの濃度を持つＷＧ　ＬＰＡを下流のプロセスで使用した。

【１５５１】

各試験試料及び内部対照試料のＴＣ　ＬＰＡを使用して、実施例１２の方法に従ってＨＲＤプローブを使用してＴＣＬを作り出した。実施例１２の方法に従って続けて対応するＴＣＬＡを作り出した。各試験試料の内部対照試料のＷＧ　ＬＰＡを使用して、実施例１３の方法に従ってＷＧＬＡを作り出した。生成されたＴＣＬＡ及びＷＧＬＡのそれぞれについてＱＣプロセスを実施し、その際、ＱＣに合格した各ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を有し、ＱＣに合格した各ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を有した。ＱＣに合格した各試験試料のＴＣＬＡ及びＷＧＬＡを合わせ、実施例１４の方法に従ってその配列決定を行った。

【１５５２】

配列決定分析の後、１以上の合否判定基準によって、陽性対照ＤＮＡ試料がキットの高い性能を可能にするための品質要件を満たしているかどうかを決定した。陽性対照ＤＮＡ試料のＱＣについて１以上の合否判定基準を設定した。陽性対照ＤＮＡ試料のＱＣについての例示的な合否判定基準を表１４に示す。

【表１６】

表１４：陽性対照ＤＮＡ試料についての例示的な合否判定基準

試験の説明	試料	合否判定基準
ＳＮＰの検出	内部対照試料（５０：５０ブレンド試料）	表１６によるＳＮＰの少なくとも９０％
ＳＮＰの検出	種々の投入量での陽性対照ＤＮＡ試料	１％～２０％の間で検出された表１７による予想ＳＮＰの少なくとも９０％
コピー数損失	内部対照試料（５０：５０ブレンド試料）	検出される少なくとも１つのコピー数損失事象
ブレンド	種々の投入量での陽性対照ＤＮＡ試料	０.１％～１０％の間の予想ＳＮＰの平均ＡＦ（第１７表に列記）
汚染	種々の投入量での陽性対照ＤＮＡ試料	≧１％で検出される１０～５０未満の予想外のＳＮＰ（表１８に列挙）
カバー率	内部対照試料（５０：５０ブレンド試料）	目的領域の少なくとも９０％が３％ＡＦ（対立遺伝子頻度）での変異の検出を可能にするカバー率を有する
カバー率	最小投入量での陽性対照ＤＮＡ試料	目的領域の少なくとも９０％が４％ＡＦ（対立遺伝子頻度）での変異の検出を可能にするカバー率を有する
カバー率	最大投入量での陽性対照ＤＮＡ試料	目的領域の少なくとも９０％が４％ＡＦ（対立遺伝子頻度）での変異の検出を可能にするカバー率を有する

【１５５３】

実施例１８－キットの捕捉プローブモジュールの品質管理

いくつかの実施形態では、本開示の組成物は１以上の捕捉プローブモジュールを含むキットに構築される。遺伝子の特定の集まり、例えば、表１１に記載されている肺癌遺伝子のセットを標的にするように設計された捕捉プローブモジュールのセットは捕捉プローブパネルと呼ばれてもよい。これらの捕捉プローブモジュールまたは捕捉プローブパネルは、本開示の任意の捕捉プローブモジュールを含んでもよい。キットの高い性能を保証するために、捕捉プローブモジュールまたは捕捉プローブパネルのそれぞれは、キットに含まれる前に品質管理（ＱＣ）プロセスに供されてもよい。

【１５５４】

捕捉プローブパネルの性能を調べるためのＱＣプロセスを、陽性対照ＤＮＡ試料を使用して実施した。この実施例では、陽性対照試料は細胞株のブレンド： ＮＡ１２８７８における８％ＮＡ１８５１１（細胞株ｇＤＮＡはＣｏｒｉｅｌｌ研究所から調達されている）由来の剪断されたゲノムＤＮＡを含む。陽性対照ＤＮＡ試料は実施例１７に記載されているＱＣプロセスに合格している。

【１５５５】
それぞれが陽性対照ＤＮＡ試料を含む少なくとも２つの試験試料をＴＥＺ緩衝液にて調製した。各試験試料に固有のアダプターセットを割り当てた。いくつかの実施形態では、アダプターのセットは本開示のアダプターＱＣプロセスに合格している。各試験試料について、実施例１１の方法に従って末端修復、アダプター連結、及びライブラリー増幅を実施してＬＰＡを生成した。ＬＰＡの生成後、実施例１１の方法に従ってＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡを作り出した。ＴＣ　ＬＰＡ及びＷＧ　ＬＰＡについてのＱＣプロセスを実施し、ＱＣに合格したライブラリーを下流での使用のために選択した。この実施例では、少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を持つＴＣ　ＬＰＡを下流のプロセスで使用し、且つ少なくとも０．１ｎｇ／μＬ～少なくとも８ｎｇ／μＬの濃度を持つＷＧ　ＬＰＡを下流のプロセスで使用した。

【１５５６】
実施例１２の方法に従って、各試験試料のＴＣ　ＬＰＡを使用し特定の捕捉プローブを使用してＴＣＬを作り出し、続いて、実施例１２の方法に従ってＴＣＬＡを作り出した。特定の捕捉プローブパネルは肺プローブのセットを含んでいた。いくつかの実施形態では、肺プローブのセット内の各捕捉プローブモジュールは、肺癌に関連する遺伝子における特定の標的配列に結合する。いくつかの実施形態では、肺プローブのセット内の各捕捉プローブモジュールは、表１１に列挙される遺伝子内の特定の標的配列に結合する。

【１５５７】
各試験試料のＷＧ　ＬＰＡを使用して実施例１３の方法に従ってＷＧＬＡを作り出した。生成されたＴＣＬＡ及びＷＧＬＡのそれぞれについてＱＣプロセスを実施し、その際、ＱＣに合格した各ＴＣＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を有し、ＱＣに合格した各ＷＧＬＡは少なくとも１ｎｇ／μＬ～少なくとも８０ｎｇ／μＬの濃度を有した。ＱＣに合格した各試験試料のＴＣＬＡ及びＷＧＬＡを合わせ、実施例１４の方法に従ってその配列決定を行った。

【１５５８】
配列決定分析の後、１以上の合否判定基準によって、捕捉プローブモジュールがキットの高い性能を可能にするための品質要件を満たしているかどうかを決定した。１以上の合否判定基準が捕捉プローブモジュールのＱＣに設定された。捕捉プローブモジュールについての合否判定基準の例示的なセットを表１５に提示する。

【表１７】
表１５：捕捉プローブモジュールについての例示的な合否判定基準

試験の説明	試料	合否判定基準
プローブの存在	陽性対照ＤＮＡ試料	プローブの少なくとも９０％～９９.９％が≧１の全リードを有する
狙い通りのリード	陽性対照ＤＮＡ試料	プローブの少なくとも９０％が≧７０の狙い通りの全リードを有する
的外れリード	陽性対照ＤＮＡ試料	陽性対照試料について組み合わせた的外れリードと非整列の標的化リードはその試料についての標的化リード合計の２０％以下である
ＳＮＰの検出	陽性対照ＤＮＡ試料	検出された予想ＳＮＰの少なくとも９０％（表１９に記載）
カバー率	陽性対照ＤＮＡ試料	目的領域の少なくとも９０％が３％ＡＦ（対立遺伝子頻度）での変異の検出を可能にするカバー率を有する

【１５５９】
実施例１９－追加のキット

いくつかの実施形態では、本開示のキットは１以上の捕捉プローブモジュールを含み、その際、各捕捉プローブモジュールは、テール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む。

【１５６０】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは１以上の捕捉プローブモジュールを含み、その際、各捕捉プローブモジュールは、テール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、１以上の捕捉プローブモジュールは実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格している。

【１５６１】

いくつかの実施形態では、本開示のキットはアダプターのセットを含み、各アダプターはアダプターモジュールを含む。

【１５６２】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、アダプターのセットを含み、その際、各アダプターはアダプターモジュールを含み、アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格している。

【１５６３】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットとを含む。

【１５６４】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットとを含み、その際、アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格している。

【１５６５】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、１以上の捕捉プローブモジュールが実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格している１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターがアダプターモジュールを含むアダプターのセットとを含む。

【１５６６】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、１以上の捕捉プローブモジュールが実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格している１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターがアダプターモジュールを含み、アダプターのセットが実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格しているアダプターのセットとを含む。

【１５６７】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと、（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアとを含む。

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダ

プターモジュールを含むアダプターのセットと、（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアとを含み；その際、当該捕捉プローブモジュールは実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格している。

【１５６８】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと、（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアとを含み；その際、当該アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格している。

【１５６９】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと、（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーとを含む第１のプライマーペアとを含み；その際、当該アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格しており；当該捕捉プローブモジュールは実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格している。

【１５７０】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは（ａ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと、（ｂ）第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペアとを含み、その際、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーのそれぞれは増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含む。

【１５７１】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは（ａ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと、（ｂ）第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペアとを含み、その際、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーのそれぞれは増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域とを含み；その際、当該アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格している。

【１５７２】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペア；とを含む。

【１５７３】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダ

プターモジュールを含むアダプターのセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペア；とを含み；その際、当該捕捉プローブモジュールは実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格している。

【１５７４】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペア；とを含み；その際、当該アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格している。

【１５７５】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがテール配列結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含む、第２のＦプライマー及び第２のＲプライマーを含む第２のプライマーペア；とを含み；その際、当該アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格しており；当該捕捉プローブモジュールは実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格している。

【１５７６】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと、（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットとを含む。

【１５７７】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと、（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットとを含み；当該アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格している。

【１５７８】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む１以上の捕捉プローブモジュールと、（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットとを含み；当該１以上の捕捉プローブモジュールは実施例１８に

従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格している。
【１５７９】
いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む１以上の捕捉プローブモジュールと、（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットとを含み；当該１以上の捕捉プローブモジュールは実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格しており；当該アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格している。
【１５８０】
いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のプライマーペアとを含む。
【１５８１】
いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のプライマーペアとを含み；その際、当該１以上の捕捉プローブモジュールは実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格している。
【１５８２】
いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のプライマーペアとを含み；その際、当該アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格している。
【１５８３】
いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と、試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む、１以上の

捕捉プローブモジュールと；（ｂ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含む、アダプターのセットと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のプライマーペアとを含み；その際、当該１以上の捕捉プローブモジュールは実施例１８に従って実施されたプローブＱＣプロセスに合格しており、且つ当該アダプターのセットは実施例１６に従って実施されたアダプターＱＣプロセスに合格している。

【１５８４】

いくつかの実施形態では、本開示のキットは、（ａ）各アダプターが増幅領域を含むアダプターモジュールを含むアダプターのセットと；（ｂ）各捕捉プローブモジュールがテール配列と試験試料中の標的配列とハイブリッド形成することができる捕捉プローブ配列とを含み、各捕捉プローブモジュールのテール配列がライブラリータグを含む１以上の捕捉プローブモジュールと；（ｃ）第１のＦプライマーが増幅領域結合領域と配列決定プライマー結合領域を含み、第１のＲプライマーがライブラリータグ結合領域と配列決定プライマー結合領域を含む、第１のＦプライマーと第１のＲプライマーを含む第１のプライマーペアと；（ｄ）第２のＦプライマーと第２のＲプライマーがそれぞれ、増幅領域結合領域及び配列決定プライマー結合領域を含み、第２のプライマーペアのいずれのプライマーもライブラリータグに結合しない、第２のプライマーペアとを含む。

【表１８】

表１６：細胞株の変異型

試料	座標	TP/FN	スコア	ＡＦ	深度	DP4	種類
B413010-A	chr13:32912299:T:C	TP	186.4	0.0602	1097	319;712;28;38	HET
B413010-A	chr16:23646295:T:C	TP	197.9	0.0511	1448	842;532;48;26	HET
B413010-A	chr16:23646857:A:G	TP	194.1	0.0536	1305	769;466;47;23	HET
B413010-A	chr17:7578210:T:C	TP	200.4	0.0442	1695	943;677;34;41	HET
B413010-A	chr17:41245471:C:T	TP	185.7	0.045	1511	808;635;35;33	HET
B413010-A	chr17:7417663:C:T	TP	558.3	0.1257	1400	642;581;79;97	HOM
B413010-A	chr17:7348625:A:G	TP	530.9	0.1183	1471	652;645;92;82	HOM
B413010-A	chr17:7342148:T:A	TP	527	0.1155	1472	703;599;102;68	HOM
B413010-A	chr17:60137085:T:C	TP	514.8	0.1282	1271	519;589;84;79	HOM
B413010-A	chr13:32504939:A:C	TP	484.2	0.1246	1228	572;502;80;73	HOM
B413010-A	chr17:60188441:G:A	TP	457.3	0.1184	1233	535;552;80;66	HOM
B413010-A	chr16:89328477:A:G	TP	452.5	0.1106	1320	564;610;68;78	HOM
B413010-A	chr6:114084492:A:G	TP	442.7	0.1134	1252	552;558;72;70	HOM
B413010-A	chr17:60376908:G:A	TP	415.8	0.1117	1200	573;492;80;54	HOM
B413010-A	chr17:7411447:C:T	TP	408.4	0.0999	1331	645;553;68;65	HOM
B413010-A	chr16:23143876:A:G	TP	390.1	0.1047	1222	555;538;57;71	HOM
B413010-A	chr17:7342682:C:T	TP	376.8	0.1002	1227	626;477;75;48	HOM
B413010-A	chr17:7537792:T:C	TP	366.1	0.0913	1336	642;572;63;59	HOM
B413010-A	chr6:114554866:A:G	TP	358.2	0.11	1055	510;429;60;56	HOM
B413010-A	chr17:7402600:T:C	TP	355	0.0904	1316	581;616;61;58	HOM
B413010-A	chr16:89081075:A:G	TP	264.7	0.0617	1508	708;707;51;42	HET
B413010-A	chr6:114409122:C:T	TP	264.6	0.0728	1236	536;610;41;49	HET
B413010-A	chr22:29540920:C:T	TP	259.6	0.0719	1251	654;507;49;41	HET
B413010-A	chr6:113975118:C:T	TP	259.4	0.0694	1283	592;602;44;45	HET
B413010-A	chr13:32811607:G:A	TP	257.5	0.0655	1359	624;646;48;41	HET
B413010-A	chr11:107542394:C:T	TP	255.8	0.073	1191	563;541;43;44	HEM
B413010-A	chr16:23724753:G:A	TP	254.8	0.0644	1381	690;600;47;42	HET
B413010-A	chr11:107707070:G:T	TP	250.7	0.0685	1271	540;640;36;51	HEM
B413010-A	chr11:107655949:A:G	TP	249.7	0.0725	1213	632;492;44;44	HEM
B413010-A	chr16:23080634:C:A	TP	249.4	0.0636	1369	617;665;39;48	HET
B413010-A	chr13:33526366:A:C	TP	246	0.0593	1484	728;668;41;47	HET
B413010-A	chr17:41735120:T:C	TP	245.6	0.0652	1320	537;695;36;50	HET
B413010-A	chr16:90028106:T:G	TP	243.7	0.0716	1187	512;590;37;48	HET
B413010-A	chr17:41726325:A:G	TP	243.5	0.0733	1146	555;507;43;41	HET

【表１９】
（表１６の続き）

試料	座標	TP/FN	スコア	ＡＦ	深度	DP4	種類
B413010-A	chr17:7400815:T:C	TP	241	0.0594	1447	676;685;44;42	HET
B413010-A	chr17:7461343:G:A	TP	231.6	0.0551	1505	624;797;35;48	HET
B413010-A	chr11:108905350:C:T	TP	228.1	0.0646	1223	534;610;39;40	HEM
B413010-A	chr6:114228368:C:T	TP	226.1	0.0644	1226	568;579;41;38	HET
B413010-A	chr11:107729106:C:T	TP	225.7	0.0625	1264	568;616;45;34	HEM
B413010-A	chr17:40849842:A:G	TP	224.7	0.0607	1335	622;631;38;43	HET
B413010-A	chr11:107474795:A:G	TP	223.4	0.0625	1263	530;654;31;48	HEM
B413010-A	chr17:7514544:C:T	TP	222.2	0.0553	1446	621;745;41;39	HET
B413010-A	chr6:114168573:G:T	TP	222.2	0.0577	1368	650;639;43;36	HET
B413010-A	chr16:90024206:A:G	TP	221.5	0.0606	1288	557;653;32;46	HET
B413010-A	chr17:41710104:C:T	TP	218.9	0.0554	1407	624;704;30;48	HET
B413010-A	chr6:114361180:G:A	TP	217.8	0.0564	1365	625;661;36;41	HET
B413010-A	chr17:60789405:T:C	TP	216.7	0.0564	1383	617;686;35;43	HET
B413010-A	chr13:32833878:A:G	TP	216.6	0.0586	1315	618;620;36;41	HET
B413010-A	chr16:23195646:T:C	TP	210.8	0.0583	1287	542;670;32;43	HET
B413010-A	chr17:60769803:A:G	TP	208.9	0.0597	1307	627;602;37;41	HET
B413010-A	chr16:89038880:G:T	TP	208.3	0.0531	1412	684;653;50;25	HET
B413010-A	chr13:32826186:G:A	TP	207.8	0.0618	1181	572;536;38;35	HET
B413010-A	chr17:60795074:T:G	TP	207.6	0.0502	1493	647;771;37;38	HET
B413010-A	chr11:108858032:A:C	TP	207.1	0.0709	1002	484;447;36;35	HEM
B413010-A	chr16:23074431:T:C	TP	206.7	0.0614	1188	574;541;32;41	HET
B413010-A	chr17:60470547:C:T	TP	206.4	0.0601	1214	563;577;33;40	HET
B413010-A	chr17:41131645:C:A	TP	204.5	0.0536	1361	639;649;32;41	HET
B413010-A	chr6:114361189:C:T	TP	204.3	0.054	1353	629;650;35;38	HET
B413010-A	chr11:107673628:T:C	TP	201.8	0.052	1403	598;732;27;46	HEM
B413010-A	chr17:41692606:G:T	TP	201.4	0.0575	1234	577;586;38;33	HET
B413010-A	chr17:7453505:C:A	TP	201.2	0.0495	1475	727;675;42;31	HET
B413010-A	chr17:40897470:T:C	TP	199.6	0.0556	1277	594;612;31;40	HET
B413010-A	chr17:7458795:A:G	TP	197.9	0.052	1385	595;718;35;37	HET
B413010-A	chr13:32965310:G:A	TP	196.8	0.0684	994	537;389;41;27	HET
B413010-A	chr11:107496966:A:G	TP	196.1	0.059	1170	619;482;45;24	HEM
B413010-A	chr13:32979138:T:C	TP	195.4	0.0649	1079	486;522;38;32	HET
B413010-A	chr6:114028139:C:T	TP	194.7	0.0618	1100	496;535;35;33	HET
B413010-A	chr17:40507980:A:C	TP	194.2	0.0583	1184	521;593;32;37	HET
B413010-A	chr13:32547131:T:C	TP	194	0.058	1190	511;610;34;35	HET

【表２０】

（表１６の続き）

試料	座標	TP/FN	スコア	ＡＦ	深度	DP4	種類
B413010-A	chr11:107663103:C: G	TP	193.1	0.0562	1228	496;662;28;41	HEM
B413010-A	chr6:114568687:C:T	TP	192.1	0.0558	1218	591;559;25;43	HET
B413010-A	chr6:113886419:T:A	TP	191.9	0.0531	1299	653;577;35;34	HET
B413010-A	chr16:23077748:A:G	TP	191.2	0.0539	1279	686;524;34;35	HET
B413010-A	chr11:108464209:T:C	TP	190.1	0.053	1303	620;614;35;34	HEM
B413010-A	chr16:90114833:T:C	TP	189.4	0.0554	1227	515;644;36;32	HET
B413010-A	chr6:114226445:C:T	TP	189.3	0.0568	1180	552;561;35;32	HET
B413010-A	chr11:108256859:C:T	TP	189	0.0569	1177	603;507;30;37	HEM
B413010-A	chr17:40658533:C:T	TP	188.6	0.0497	1367	697;602;38;30	HET
B413010-A	chr16:24030162:A:C	TP	186.9	0.0529	1266	586;613;33;34	HET
B413010-A	chr16:90110950:C:T	TP	184.9	0.0523	1282	611;603;33;34	HET
B413010-A	chr11:108384207:C:T	TP	184.7	0.0549	1203	580;556;30;36	HEM
B413010-A	chr6:114242899:T:C	TP	184.2	0.0539	1225	581;578;35;31	HET
B413010-A	chr6:114410689:A:G	TP	183.5	0.0553	1193	557;570;29;37	HET
B413010-A	chr17:41173086:G:A	TP	183.4	0.0609	1084	413;605;29;37	HET
B413010-A	chr6:114077332:T:C	TP	183.2	0.0649	1033	510;456;34;33	HET
B413010-A	chr16:90027838:G:A	TP	182.7	0.049	1346	611;667;31;35	HET
B413010-A	chr16:23754561:A:G	TP	181.1	0.0518	1274	612;595;33;33	HET
B413010-A	chr11:107706832:C:T	TP	179.9	0.0542	1181	534;580;33;31	HEM
B413010-A	chr22:29710360:T:C	TP	178.8	0.0498	1304	619;620;28;37	HET
B413010-A	chr13:32683151:A:G	TP	175.4	0.0548	1150	598;489;30;33	HET
B413010-A	chr13:32821976:T:C	TP	175	0.0533	1183	604;516;37;26	HET
B413010-A	chr13:32707663:A:G	TP	174.8	0.0561	1123	559;501;39;24	HET
B413010-A	chr17:60755746:T:G	TP	174.2	0.0517	1218	521;633;28;35	HET
B413010-A	chr11:107481518:C:T	TP	174.1	0.057	1087	542;483;33;29	HEM
B413010-A	chr13:32565539:T:C	TP	171.7	0.0518	1216	592;561;30;33	HET
B413010-A	chr6:114348520:T:C	TP	171.6	0.0545	1138	574;502;29;33	HET
B413010-A	chr13:32986219:A:G	TP	170.2	0.05	1239	573;604;33;29	HET
B413010-A	chr11:108425790:T:C	TP	169.2	0.0538	1134	573;500;39;22	HEM
B413010-A	chr6:114233646:G:A	TP	168	0.0544	1103	490;553;30;30	HET
B413010-A	chr22:29630337:G:A	TP	167.5	0.0503	1213	558;593;29;32	HET
B413010-A	chr11:107625409:T:C	TP	167.3	0.0652	889	360;471;29;29	HEM
B413010-A	chr22:29361159:A:G	TP	165.5	0.0487	1253	559;633;26;35	HET
B413010-A	chr13:32983250:G:A	TP	165.3	0.0476	1260	596;604;26;34	HET

【表２１】
（表１６の続き）

試料	座標	TP/FN	スコア	ＡＦ	深度	DP4	種類
B413010-A	chr13:32864488:G:C	TP	164.7	0.0502	1214	604;549;28;33	HET
B413010-A	chr11:108437928:T:G	TP	163.7	0.0539	1095	496;540;26;33	HEM
B413010-A	chr17:41145527:C:T	TP	163.3	0.0516	1143	573;511;32;27	HET
B413010-A	chr13:32653377:A:G	TP	163.3	0.051	1196	583;552;29;32	HET
B413010-A	chr13:32857769:A:C	TP	163.3	0.0654	872	433;382;20;37	HET
B413010-A	chr16:24029774:C:A	TP	161.9	0.0517	1121	571;492;28;30	HET
B413010-A	chr11:107478586:G: C	TP	161.8	0.0541	1091	518;514;31;28	HEM
B413010-A	chr11:107623767:G:T	TP	158.4	0.0568	1003	445;501;29;28	HEM
B413010-A	chr11:107858027:G: C	TP	157	0.0542	1070	517;492;31;27	HEM
B413010-A	chr11:108038477:A:G	TP	156.7	0.0537	1061	513;491;29;28	HEM
B413010-A	chr11:107956771:T:C	TP	156.5	0.0557	1006	461;488;29;27	HEM
B413010-A	chr6:114691511:G:A	TP	156.1	0.0482	1182	561;564;24;33	HET
B413010-A	chr22:29640019:C:T	TP	155.1	0.0451	1286	589;639;26;32	HET
B413010-A	chr16:23970677:T:C	TP	154.5	0.0483	1180	542;581;30;27	HET
B413010-A	chr13:32707287:A:G	TP	153.3	0.0507	1105	497;552;26;30	HET
B413010-A	chr16:23076410:C:T	TP	153.2	0.0462	1211	519;634;24;32	HET
B413010-A	chr17:7448288:C:G	TP	152.5	0.0473	1227	556;613;32;26	HET
B413010-A	chr17:41056245:A:G	TP	151.9	0.0453	1235	663;516;30;26	HET
B413010-A	chr6:114625448:C:A	TP	150.2	0.0522	1034	481;498;28;26	HET
B413010-A	chr13:32545856:G:A	TP	149.7	0.0511	1056	465;535;19;35	HET
B413010-A	chr16:23098422:A:G	TP	148.5	0.054	982	597;332;38;15	HET
B413010-A	chr16:89471246:A:C	TP	148.4	0.0438	1257	599;603;30;25	HET
B413010-A	chr6:113989441:G:A	TP	147.5	0.0516	1028	550;424;33;20	HET
B413010-A	chr11:108383676:A:G	TP	146	0.0479	1128	491;583;31;23	HEM
B413010-A	chr16:90032255:C:G	TP	145.6	0.0444	1215	560;601;15;39	HET
B413010-A	chr16:23737679:A:G	TP	143.5	0.0456	1163	554;554;27;26	HET
B413010-A	chr11:108887701:G:A	TP	142.5	0.0469	1108	507;549;25;27	HEM

【表２２】
（表１６の続き）

試料	座標	TP/FN	スコア	ＡＦ	深度	DP4	種類
B413010-A	chr11:108509754:A:G	TP	140.2	0.0461	1128	505;571;27;25	HEM
B413010-A	chr6:114229352:A:G	TP	139.4	0.0389	1362	645;664;22;31	HET
B413010-A	chr17:60264240:G:T	TP	139	0.0428	1214	565;596;25;27	HET
B413010-A	chr6:114316305:T:C	TP	137.1	0.0465	1096	613;432;37;14	HET
B413010-A	chr22:29495373:C:T	TP	137.1	0.0443	1150	581;517;25;26	HET
B413010-A	chr6:114437276:C:T	TP	135.4	0.045	1110	575;482;30;20	HET
B413010-A	chr11:107485515:G:A	TP	135.2	0.0447	1119	545;521;24;26	HEM
B413010-A	chr17:40858841:T:C	TP	132.1	0.0422	1160	638;473;31;18	HET
B413010-A	chr17:41738823:G:A	TP	131.1	0.0507	946	571;327;30;18	HET
B413010-A	chr16:23718623:G:A	TP	125.7	0.0354	1355	645;662;26;22	HET
B413010-A	chr17:60264211:C:T	TP	125.2	0.0393	1197	514;636;21;26	HET
B413010-A	chr6:114398669:A:G	TP	118.5	0.0421	1045	495;506;17;27	HET
B413010-A	chr11:108849093:C:T	TP	116	0.0417	1032	492;497;17;26	HEM

【表２３】

表１７：予想されるＳＮＰの一覧

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs10083789	A	NA	chr16	PALB2	23080634	C
rs1024375	A	NA	chr13	BRCA2	32710920	G
rs1043284	T	NA	chr17	BRCA1	41145527	C
rs1048149	T	NA	chr16	FANCA	90110950	C
rs10509544	G	NA	chr10	PTEN	90168074	T
rs10852891	A	NA	chr17	TP53	7490810	G
rs10890742	G	NA	chr11	ATM	107474795	A
rs11078685	T	NA	chr17	TP53	7411447	C
rs11078708	C	NA	chr17	TP53	7720091	G
rs11078716	T	NA	chr17	TP53	7820183	G
rs11079387	G	NA	chr17	BRCA1	41510850	A
rs11202435	G	NA	chr10	PTEN	89295958	T
rs11212320	T	NA	chr11	ATM	107542394	C
rs112632517	A	NA	chr17	BRCA1	41394329	G
rs11616892	A	NA	chr13	BRCA2	32545856	G
rs11862875	T	NA	chr16	FANCA	89145541	A
rs11865549	A	NA	chr16	FANCA	89099226	G
rs11865731	C	NA	chr16	PALB2	24030162	A
rs11868590	C	NA	chr17	BRCA1	40672922	T
rs12100085	T	NA	chr13	BRCA2	33471737	C
rs12250975	G	NA	chr10	PTEN	89282145	A
rs12290206	G	NA	chr11	ATM	107761113	A
rs12293030	A	NA	chr11	ATM	107700502	T
rs12416046	G	NA	chr10	PTEN	89861218	A
rs12576509	T	NA	chr11	ATM	107494405	G
rs12864812	G	NA	chr13	BRCA2	32653377	A
rs12927285	A	NA	chr16	PALB2	23589483	G
rs12948043	C	NA	chr17	BRCA1	41615830	T
rs13056977	C	NA	chr22	CHEK2	29710360	T
rs1320304	C	NA	chr17	BRCA1	41673990	T
rs146186955	C	NA	chr13	RB1	48622938	T
rs1529370	T	NA	chr13	RB1	49478028	G
rs1544724	G	NA	chr17	TP53	7621777	T
rs1553468	G	NA	chr17	BRCA1	40849842	A
rs161626	G	NA	chr17	BRCA1	41059795	A
rs16965228	G	NA	chr16	FANCA	89059879	A

【表２４】

（表１７の続き）

rs16972944	T	NA	chr16	PALB2	23899609	C
rs17077321	C	NA	chr13	BRCA2	32814974	T
rs17882163	T	NA	chr17	BRCA1	40481170	A
rs187406	G	NA	chr16	PALB2	23737679	A
rs1963626	G	NA	chr11	ATM	107693120	A
rs1984518	G	NA	chr17	BRCA1	41521666	T
rs2038158	C	NA	chr22	CHEK2	28368473	T
rs205010	A	NA	chr13	BRCA2	32735718	G
rs206319	G	NA	chr13	BRCA2	32986219	A
rs206340	A	NA	chr13	BRCA2	32965310	G
rs2074439	T	NA	chr17	BRCA1	41692606	G
rs2228129	C	NA	chr17	TP53	7402600	T
rs2239815	C	NA	chr22	CHEK2	29192670	T
rs2269738	G	NA	chr16	PALB2	23143876	A
rs2287499	G	NA	chr17	TP53	7592168	C
rs2302764	C	NA	chr17	TP53	7360110	T
rs2303153	C	NA	chr16	PALB2	23390201	G
rs2593595	G	NA	chr17	BRCA1	41056245	A
rs2846412	T	NA	chr11	ATM	108384207	C
rs2846418	C	NA	chr11	ATM	108476461	T
rs28758793	T	NA	chr11	ATM	107707070	G
rs2887481	G	NA	chr16	PALB2	23307915	A
rs3132818	C	NA	chr11	ATM	107478586	G
rs3178915	G	NA	chr22	CHEK2	29453027	A
rs323495	A	NA	chr17	BRCA1	41074487	G
rs34241435	A	NA	chr16	PALB2	23313185	G
rs34539888	T	NA	chr13	BRCA2	33016603	G
rs35537731	G	NA	chr13	RB1	48746364	T
rs357680	C	NA	chr13	RB1	49493436	T
rs378609	C	NA	chr13	BRCA2	33553549	A
rs3809682	A	NA	chr16	PALB2	23724753	G
rs383	C	NA	chr13	BRCA2	32504939	A
rs3904629	T	NA	chr13	BRCA2	33530851	C
rs4151120	A	NA	chr17	TP53	7342148	T
rs4383207	G	NA	chr17	TP53	7936282	A

【表２５】

（表１７の続き）

rs472817	A	NA	chr13	BRCA2	32983250	G
rs4785648	G	NA	chr16	FANCA	89328477	A
rs4788423	G	NA	chr16	PALB2	24018863	A
rs4793011	G	NA	chr17	BRCA1	41726325	A
rs4823006	G	NA	chr22	CHEK2	29451671	A
rs4934378	C	NA	chr10	PTEN	89867693	T
rs493770	A	NA	chr11	ATM	107529940	G
rs524611	T	NA	chr11	ATM	107531320	C
rs541504918	G	NA	chr16	PALB2	23582278	A
rs55901083	G	NA	chr13	RB1	48856336	T
rs566238	T	NA	chr11	ATM	107706832	C
rs56872996	G	NA	chr17	TP53	7928924	A
rs5723	G	NA	chr16	PALB2	23226787	C
rs5728	G	NA	chr16	PALB2	23227362	A
rs5752793	G	NA	chr22	CHEK2	29160314	A
rs5752867	A	NA	chr22	CHEK2	29513729	G
rs5762430	G	NA	chr22	CHEK2	28378472	A
rs5762788	A	NA	chr22	CHEK2	29174770	C
rs5762795	A	NA	chr22	CHEK2	29182500	C
rs57752647	G	NA	chr17	TP53	7381256	T
rs58258018	C	NA	chr11	ATM	107679779	G
rs58465745	G	NA	chr16	PALB2	23389816	A
rs59001570	C	NA	chr16	FANCA	89997947	G
rs593925	T	NA	chr11	ATM	107492199	G
rs59602687	T	NA	chr13	RB1	49377156	A
rs59806584	G	NA	chr16	FANCA	89660509	A
rs60034915	T	NA	chr10	PTEN	89872699	C
rs6005863	G	NA	chr22	CHEK2	29156448	A
rs6005907	A	NA	chr22	CHEK2	29227971	G
rs6005915	C	NA	chr22	CHEK2	29233262	T
rs60646729	G	NA	chr16	FANCA	89102240	A
rs607506	G	NA	chr11	ATM	107655949	A
rs62031942	C	NA	chr16	PALB2	23254025	T
rs62059833	T	NA	chr17	TP53	7514544	C

【表２６】

（表１７の続き）

rs647756	A	NA	chr11	ATM	107535758	G
rs6761	T	NA	chr17	TP53	7417663	C
rs693963	C	NA	chr13	BRCA2	32979138	T
rs701893	A	NA	chr10	PTEN	90144950	G
rs7069968	T	NA	chr10	PTEN	90043824	C
rs7070980	T	NA	chr10	PTEN	89855608	C
rs7077182	G	NA	chr10	PTEN	90216244	C
rs7092284	A	NA	chr10	PTEN	89451838	G
rs7092392	A	NA	chr10	PTEN	89451853	G
rs7097903	C	NA	chr10	PTEN	90049968	G
rs7103534	C	NA	chr11	ATM	107911652	T
rs7116354	G	NA	chr11	ATM	107622778	A
rs7192878	A	NA	chr16	FANCA	89342733	G
rs7198060	C	NA	chr16	FANCA	89115822	T
rs7200084	C	NA	chr16	FANCA	89089220	T
rs7201172	A	NA	chr16	FANCA	89293525	G
rs7210527	T	NA	chr17	BRCA1	41409959	C
rs7213700	G	NA	chr17	BRCA1	41056260	T
rs7220372	G	NA	chr17	BRCA1	40656043	T
rs72815600	C	NA	chr16	FANCA	89136182	T
rs7287918	A	NA	chr22	CHEK2	29281710	G
rs732098	T	NA	chr11	ATM	107764164	G
rs7324259	T	NA	chr13	BRCA2	33509030	G
rs73245806	A	NA	chr17	TP53	7947908	T
rs73256250	C	NA	chr16	FANCA	89038114	G
rs73314948	C	NA	chr17	BRCA1	41471691	T
rs7335609	G	NA	chr13	BRCA2	33055431	T
rs7336874	C	NA	chr13	BRCA2	33396698	T
rs73480207	C	NA	chr13	RB1	49337306	T
rs73540963	T	NA	chr16	PALB2	24009879	C
rs73548783	G	NA	chr11	ATM	108414373	A
rs73550205	C	NA	chr16	PALB2	23714311	T
rs7359598	C	NA	chr17	BRCA1	40897470	T
rs737173	T	NA	chr11	ATM	107824091	A
rs738453	T	NA	chr22	CHEK2	28301743	C

【表２７】

（表１７の続き）

rs738748	C	NA	chr22	CHEK2	28993183	T
rs739769	C	NA	chr17	BRCA1	41735120	T
rs74033443	G	NA	chr16	FANCA	89294044	A
rs743920	G	NA	chr22	CHEK2	29621128	C
rs76092147	G	NA	chr16	PALB2	23865984	T
rs767664	G	NA	chr11	ATM	108437928	T
rs77687672	A	NA	chr11	ATM	107432154	G
rs780169	G	NA	chr16	PALB2	23754561	A
rs78790828	A	NA	chr17	TP53	7830280	G
rs7895494	C	NA	chr10	PTEN	89379732	A
rs7904229	A	NA	chr10	PTEN	90221561	C
rs7947466	A	NA	chr11	ATM	107771148	G
rs7993336	C	NA	chr13	RB1	48433801	T
rs8000270	C	NA	chr13	RB1	49412235	T
rs8001409	C	NA	chr13	BRCA2	33510213	T
rs8057712	G	NA	chr16	PALB2	23403744	A
rs8068764	C	NA	chr17	BRCA1	41490161	T
rs8136754	C	NA	chr22	CHEK2	28197815	T
rs868045	G	NA	chr16	FANCA	90102835	A
rs9526401	T	NA	chr13	RB1	48420828	A
rs9535120	A	NA	chr13	RB1	49539246	G
rs9568668	G	NA	chr13	BRCA2	33522655	A
rs9590896	A	NA	chr13	BRCA2	32877696	G
rs9594995	G	NA	chr13	BRCA2	32707663	A
rs9595159	A	NA	chr13	BRCA2	32798953	G
rs9595469	A	NA	chr13	BRCA2	32984336	T
rs9595932	C	NA	chr13	RB1	49158816	T
rs9595958	T	NA	chr13	RB1	49242249	C
rs9596011	G	NA	chr13	RB1	49368949	A
rs9596042	A	NA	chr13	RB1	49472485	G
rs9596539	C	NA	chr13	BRCA2	33498938	A
rs9620804	A	NA	chr22	CHEK2	28919200	G
rs9625679	G	NA	chr22	CHEK2	29456699	A
rs9806913	G	NA	chr16	FANCA	89953773	A
rs9890403	G	NA	chr17	BRCA1	41458614	A

【表２８】

（表１７の続き）

rs9891119	C	NA	chr17	BRCA1	40507980	A
rs9901673	A	NA	chr17	TP53	7484101	C
rs990324	G	NA	chr13	BRCA2	33387246	A
rs9903378	C	NA	chr17	TP53	7588006	A
rs9912587	A	NA	chr17	BRCA1	41173086	G
rs9915640	C	NA	chr17	BRCA1	41603882	T
rs9921637	A	NA	chr16	FANCA	89146714	G
rs9922448	T	NA	chr16	PALB2	23236090	C

【表２９】

表１８：予想外のＳＮＰの一覧（≧１％の場合は汚染を示す）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs10153241	C	NA	chr17	BRCA1	40493337	T
rs10431058	T	NA	chr11	ATM	107481518	C
rs10492397	A	NA	chr13	BRCA2	32976358	G
rs10492790	T	NA	chr16	PALB2	23076410	C
rs10502107	A	NA	chr11	ATM	108893765	C
rs10509408	A	NA	chr10	PTEN	89310281	G
rs10509539	T	NA	chr10	PTEN	89998283	G
rs1053005	C	NA	chr17	BRCA1	40465910	T
rs10749570	G	NA	chr10	PTEN	90038033	T
rs10887818	T	NA	chr10	PTEN	90183102	C
rs11078697	T	NA	chr17	TP53	7469229	C
rs11078710	A	NA	chr17	TP53	7777041	C
rs11078711	T	NA	chr17	TP53	7777214	G
rs111785947	T	NA	chr13	RB1	49210785	A
rs111789652	CA	NA	chr13	RB1	48800978	-
rs111916330	C	NA	chr17	TP53	7721917	T
rs11202441	G	NA	chr10	PTEN	89301014	A
rs11202528	T	NA	chr10	PTEN	89483062	C
rs11202691	T	NA	chr10	PTEN	90005048	C
rs11202754	T	NA	chr10	PTEN	90226590	A
rs11212509	C	NA	chr11	ATM	107956771	T
rs11212704	C	NA	chr11	ATM	108425790	T
rs11212837	G	NA	chr11	ATM	108864444	A
rs1123547	C	NA	chr17	TP53	7619861	T
rs112402962	AC	NA	chr13	RB1	48856333	-
rs112465465	A	NA	chr10	PTEN	90043769	-
rs112467246	C	NA	chr13	BRCA2	33513982	T
rs11389505	A	NA	chr13	RB1	48556635	-
rs11406289	A	NA	chr13	RB1	49412212	-
rs114126369	G	NA	chr13	RB1	48657979	A
rs114539386	A	NA	chr10	PTEN	89427833	C
rs11619762	T	NA	chr13	RB1	49499087	A
rs116469311	A	NA	chr10	PTEN	89879673	G
rs11648589	C	NA	chr16	PALB2	23295974	T
rs11653545	A	NA	chr17	TP53	7512074	G

【表３０】

（表１８の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs116600817	G	NA	chr17	TP53	7458795	A
rs117385313	C	NA	chr10	PTEN	90168094	G
rs117836982	T	NA	chr10	PTEN	90109809	C
rs118044350	C	NA	chr13	RB1	49478033	G
rs11868946	G	NA	chr17	TP53	7673605	A
rs12157905	A	NA	chr22	CHEK2	28192423	G
rs12162045	A	NA	chr16	PALB2	23331743	G
rs12226290	G	NA	chr11	ATM	107496966	A
rs12274468	T	NA	chr11	ATM	108905350	C
rs12357948	T	NA	chr10	PTEN	90202273	C
rs12444767	T	NA	chr16	PALB2	23200107	A
rs12446463	A	NA	chr16	PALB2	23387393	G
rs12449814	T	NA	chr17	TP53	7911709	G
rs12453250	A	NA	chr17	TP53	7761512	C
rs12485095	G	NA	chr22	CHEK2	29540198	T
rs12572813	T	NA	chr10	PTEN	90069353	C
rs12574049	C	NA	chr11	ATM	107858027	G
rs12600401	G	NA	chr17	BRCA1	41465867	A
rs12628787	T	NA	chr22	CHEK2	29495373	C
rs12709089	A	NA	chr16	FANCA	89630311	G
rs12793497	T	NA	chr11	ATM	108599993	C
rs12877579	G	NA	chr13	BRCA2	33321045	A
rs12924133	A	NA	chr16	FANCA	89638290	C
rs12930806	T	NA	chr16	FANCA	89203073	C
rs12935297	T	NA	chr16	PALB2	24031478	C
rs12941509	G	NA	chr17	TP53	7448288	C
rs12943692	A	NA	chr17	TP53	7332930	G
rs12946015	T	NA	chr17	BRCA1	41478455	C
rs13058031	A	NA	chr22	CHEK2	29273966	G
rs132280	T	NA	chr22	CHEK2	29540920	C
rs13332145	G	NA	chr16	FANCA	89081075	A
rs13333659	T	NA	chr16	FANCA	89038880	G
rs13339649	G	NA	chr16	PALB2	23098422	A
rs134195	C	NA	chr22	CHEK2	28656691	T
rs1359393	A	NA	chr13	RB1	48383104	G
rs1359688	T	NA	chr13	RB1	49146072	A

【表３１】

（表１８の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs138125275	A	NA	chr10	PTEN	89579689	G
rs141184053	A	NA	chr10	PTEN	89451879	-
rs141670949	A	NA	chr13	RB1	49350399	-
rs142703354	G	NA	chr10	PTEN	89579697	T
rs144848	C	NA	chr13	BRCA2	32906729	A
rs1460819	C	NA	chr13	BRCA2	32857769	A
rs1468087	G	NA	chr13	BRCA2	32683151	A
rs147173441	A	NA	chr10	PTEN	89295976	-
rs148550648	C	NA	chr13	RB1	48592100	T
rs1557670	C	NA	chr16	PALB2	23292173	A
rs16940016	A	NA	chr16	PALB2	23322445	G
rs16956822	A	NA	chr17	TP53	7499349	G
rs16968177	G	NA	chr17	BRCA1	41080815	A
rs16985575	C	NA	chr22	CHEK2	28217319	T
rs16986280	C	NA	chr22	CHEK2	28695642	T
rs17077875	G	NA	chr13	BRCA2	33376118	A
rs17078082	G	NA	chr13	BRCA2	33485961	A
rs17085	G	NA	chr13	RB1	48414487	A
rs17098687	C	NA	chr10	PTEN	89579599	G
rs17107183	A	NA	chr11	ATM	107452482	G
rs17199565	G	NA	chr16	PALB2	23273704	A
rs17256755	A	NA	chr16	PALB2	23336365	C
rs17431184	C	NA	chr10	PTEN	89720251	T
rs17451544	G	NA	chr22	CHEK2	29553039	A
rs1753621	T	NA	chr13	RB1	49499060	C
rs17834230	G	NA	chr13	RB1	49377189	A
rs17856697	G	NA	chr17	TP53	7348625	A
rs17881556	C	NA	chr17	TP53	7570869	T
rs17882626	G	NA	chr17	TP53	7306727	A
rs183078	G	NA	chr13	RB1	49513352	A
rs1834456	C	NA	chr11	ATM	108858032	A
rs1884816	C	NA	chr22	CHEK2	29106733	T
rs191994935	T	NA	chr13	RB1	48878279	C
rs1935580	C	NA	chr10	PTEN	90197181	T
rs195993	T	NA	chr16	PALB2	24017961	C

【表３２】

（表１８の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs196014	T	NA	chr16	PALB2	23989600	G
rs1974953	A	NA	chr11	ATM	108887701	G
rs201071425	GT	NA	chr13	RB1	48433748	-
rs201404152	C	NA	chr13	RB1	48461537	T
rs2025416	C	NA	chr13	BRCA2	32821976	T
rs205013	A	NA	chr13	BRCA2	32807586	T
rs206321	C	NA	chr13	BRCA2	32990780	A
rs2076505	A	NA	chr22	CHEK2	28424507	G
rs2077873	T	NA	chr10	PTEN	89315395	C
rs2078326	C	NA	chr13	BRCA2	32859674	A
rs2086824	C	NA	chr16	FANCA	89471246	A
rs2089115	C	NA	chr17	BRCA1	40858841	T
rs2128243	G	NA	chr11	ATM	108509754	A
rs2143180	A	NA	chr22	CHEK2	28298336	G
rs2213645	G	NA	chr22	CHEK2	29361159	A
rs2228128	C	NA	chr17	TP53	7400815	T
rs2287357	A	NA	chr16	FANCA	89250145	G
rs2287498	T	NA	chr17	TP53	7592560	C
rs2290294	T	NA	chr11	ATM	107904379	C
rs2292954	G	NA	chr16	FANCA	89613123	A
rs2292957	C	NA	chr16	FANCA	89653173	T
rs2433340	G	NA	chr10	PTEN	90160023	A
rs2488273	C	NA	chr10	PTEN	90116871	T
rs2575384	T	NA	chr16	PALB2	23837694	C
rs2596242	C	NA	chr13	RB1	49505805	T
rs2640738	C	NA	chr11	ATM	108464209	T
rs2640779	T	NA	chr11	ATM	108381247	C
rs2640784	G	NA	chr11	ATM	108409442	A
rs2640785	A	NA	chr11	ATM	108409784	T
rs2673813	T	NA	chr10	PTEN	89801899	G
rs2673822	C	NA	chr10	PTEN	89793086	G
rs2806634	A	NA	chr13	BRCA2	32826186	G
rs2806638	G	NA	chr13	BRCA2	32833878	A

【表３３】

（表１８の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs2806639	A	NA	chr13	BRCA2	32811607	G
rs3092989	A	NA	chr13	BRCA2	32889363	G
rs34140758	A	NA	chr10	PTEN	89726794	C
rs34598902	T	NA	chr17	TP53	7915912	C
rs34704253	C	NA	chr13	RB1	49417493	T
rs34870602	G	NA	chr10	PTEN	89705371	C
rs35264225	G	NA	chr16	FANCA	89643464	C
rs35743999	C	NA	chr13	RB1	49417531	-
rs35749740	C	NA	chr16	FANCA	90114833	T
rs35758127	A	NA	chr17	BRCA1	41727924	G
rs36047689	A	NA	chr16	PALB2	23717833	G
rs365873	C	NA	chr13	BRCA2	32547131	T
rs3742318	C	NA	chr13	BRCA2	33017043	T
rs3744258	G	NA	chr17	TP53	7623394	A
rs3751688	A	NA	chr16	FANCA	89634439	G
rs3785361	T	NA	chr16	PALB2	23363399	A
rs3785414	T	NA	chr16	FANCA	89250399	C
rs3812996	G	NA	chr16	PALB2	23077748	A
rs3950176	A	NA	chr22	CHEK2	29630337	G
rs399622	C	NA	chr13	BRCA2	33212785	A
rs4073930	C	NA	chr16	PALB2	23195646	T
rs4151122	T	NA	chr17	TP53	7342682	C
rs4287627	A	NA	chr17	TP53	7932788	G
rs4411548	T	NA	chr17	BRCA1	40658533	C
rs447529	G	NA	chr16	PALB2	23633423	C
rs4554861	A	NA	chr11	ATM	107839211	G
rs4577093	T	NA	chr16	PALB2	23234654	C
rs470097	A	NA	chr22	CHEK2	28373744	C
rs472826	T	NA	chr11	ATM	107623767	G
rs4753808	A	NA	chr11	ATM	107465180	G
rs478839	G	NA	chr10	PTEN	89731870	A
rs488512	T	NA	chr11	ATM	107729106	C
rs492661	T	NA	chr11	ATM	107567754	C
rs4941698	G	NA	chr13	BRCA2	33485053	A
rs4943021	G	NA	chr13	BRCA2	33514547	T

【表３４】
（表１８の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs4943043	C	NA	chr13	BRCA2	33534926	T
rs4968031	A	NA	chr16	PALB2	23765774	G
rs4968044	C	NA	chr16	PALB2	23074431	T
rs516091	G	NA	chr11	ATM	107663103	C
rs517118	G	NA	chr13	BRCA2	32970586	A
rs533531826	AGGAAGGA GGGGAGAG CAGGTAGG AGGGAGGA GC	NA	chr10	PTEN	89879755	-
rs556153	C	NA	chr11	ATM	107673628	T
rs55645971	G	NA	chr13	BRCA2	33189589	C
rs564444	C	NA	chr11	ATM	107625409	T
rs5752851	G	NA	chr22	CHEK2	29398459	A
rs5752866	A	NA	chr22	CHEK2	29498118	G
rs5762497	G	NA	chr22	CHEK2	28546346	T
rs5762930	A	NA	chr22	CHEK2	29378708	C
rs5762981	C	NA	chr22	CHEK2	29480954	T
rs57985356	G	NA	chr17	TP53	7735063	T
rs58040082	G	NA	chr17	BRCA1	41555780	A
rs597788	T	NA	chr11	ATM	108256859	C
rs5997320	G	NA	chr22	CHEK2	28270372	T
rs5997443	T	NA	chr22	CHEK2	29521631	C
rs60030426	C	NA	chr16	FANCA	90068417	T
rs6006075	T	NA	chr22	CHEK2	29640019	C
rs60543910	A	NA	chr17	TP53	7928643	G
rs60791058	G	NA	chr22	CHEK2	29515642	A
rs61227616	G	NA	chr10	PTEN	89445636	T
rs61348941	T	NA	chr13	BRCA2	33401101	C
rs62045818	C	NA	chr16	FANCA	89047654	T
rs62059804	A	NA	chr17	TP53	7453505	C
rs62070781	T	NA	chr16	FANCA	89361222	C

【表３５】

（表１８の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs6503369	C	NA	chr17	BRCA1	41463821	G
rs652243	G	NA	chr11	ATM	107470916	A
rs6561461	A	NA	chr13	RB1	49118569	G
rs6561487	G	NA	chr13	RB1	49521542	T
rs6586129	T	NA	chr10	PTEN	90137045	C
rs667131	C	NA	chr13	RB1	49485613	A
rs683763	T	NA	chr10	PTEN	89807680	G
rs701848	C	NA	chr10	PTEN	89726745	T
rs7069120	A	NA	chr10	PTEN	90101723	G
rs7076715	G	NA	chr10	PTEN	89459041	A
rs7086211	G	NA	chr10	PTEN	90056152	A
rs7100988	G	NA	chr10	PTEN	89339054	A
rs7127880	T	NA	chr11	ATM	107600570	C
rs71327329	G	NA	chr22	CHEK2	29327347	A
rs71475111	A	NA	chr11	ATM	108885698	G
rs7184655	C	NA	chr16	FANCA	89601554	T
rs7197490	T	NA	chr16	FANCA	89691798	C
rs7220814	G	NA	chr17	TP53	7290695	A
rs7222675	C	NA	chr17	BRCA1	41705105	T
rs7224790	C	NA	chr17	BRCA1	41748964	G
rs72820004	A	NA	chr10	PTEN	90096580	G
rs72820016	T	NA	chr10	PTEN	90136998	C
rs72820018	C	NA	chr10	PTEN	90144956	T
rs72842820	A	NA	chr17	TP53	7329134	G
rs730517	T	NA	chr22	CHEK2	29550379	G
rs73184603	G	NA	chr13	RB1	49453685	C
rs73191734	C	NA	chr13	RB1	48868999	T
rs7319930	T	NA	chr13	BRCA2	33311005	G
rs73233606	G	NA	chr17	TP53	7750936	A
rs73235718	A	NA	chr17	TP53	7837228	G
rs73237655	G	NA	chr17	TP53	7911911	A
rs732508	G	NA	chr17	BRCA1	41526526	A
rs7337786	G	NA	chr13	BRCA2	33479823	T
rs73481288	A	NA	chr13	RB1	48689348	G

【表３６】

（表１８の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs73540400	A	NA	chr16	PALB2	23287060	G
rs73550211	A	NA	chr16	PALB2	23718623	G
rs73557760	G	NA	chr11	ATM	107493106	C
rs73882474	C	NA	chr22	CHEK2	29523092	T
rs73977765	G	NA	chr17	TP53	7728764	A
rs74150466	G	NA	chr10	PTEN	89260712	A
rs74150467	T	NA	chr10	PTEN	89260724	A
rs74406212	G	NA	chr10	PTEN	89926667	A
rs74765359	T	NA	chr17	BRCA1	41088292	C
rs74899331	A	NA	chr16	FANCA	89267096	C
rs75022285	A	NA	chr10	PTEN	89980912	G
rs75128833	T	NA	chr13	RB1	48527317	C
rs75263440	C	NA	chr16	FANCA	89421388	A
rs75318090	T	NA	chr10	PTEN	89861266	A
rs75764178	T	NA	chr13	RB1	48592112	G
rs75967297	C	NA	chr13	BRCA2	33526366	A
rs76154312	C	NA	chr11	ATM	108639173	T
rs76523936	T	NA	chr13	RB1	48711833	C
rs76682226	C	NA	chr13	RB1	48505462	T
rs76730553	T	NA	chr17	TP53	7771462	C
rs76933266	T	NA	chr10	PTEN	89980900	C
rs77057175	A	NA	chr17	BRCA1	41643970	G
rs77077633	C	NA	chr13	BRCA2	33437517	T
rs77495014	T	NA	chr13	RB1	49448209	C
rs77661220	G	NA	chr11	ATM	108597413	T
rs78048465	C	NA	chr13	RB1	49485591	T
rs78208831	A	NA	chr16	FANCA	89087705	G
rs78236738	G	NA	chr11	ATM	108584854	C
rs78430727	A	NA	chr10	PTEN	90116882	G
rs78579751	T	NA	chr16	FANCA	89198762	C
rs78744936	A	NA	chr17	TP53	7461343	G
rs7895674	A	NA	chr10	PTEN	90096625	G
rs7897058	G	NA	chr10	PTEN	89787293	A
rs79037983	A	NA	chr22	CHEK2	28459665	G

【表３７】
（表１８の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs7912780	T	NA	chr10	PTEN	90096642	A
rs79201073	A	NA	chr16	FANCA	89611199	G
rs79207621	A	NA	chr13	RB1	48584933	G
rs792212	T	NA	chr10	PTEN	90174153	C
rs792224	G	NA	chr10	PTEN	90109816	C
rs79230416	C	NA	chr16	FANCA	89517502	G
rs79278399	A	NA	chr13	BRCA2	32794568	T
rs7934423	T	NA	chr11	ATM	108849093	C
rs79375168	T	NA	chr13	BRCA2	32880009	C
rs7937558	T	NA	chr11	ATM	108495541	C
rs79401250	G	NA	chr16	PALB2	23871457	T
rs79651004	G	NA	chr13	BRCA2	32707287	A
rs79750876	T	NA	chr17	BRCA1	41710104	C
rs79833791	C	NA	chr16	FANCA	90012737	T
rs79840905	G	NA	chr10	PTEN	89323144	A
rs798980	A	NA	chr13	BRCA2	32750571	C
rs799524	C	NA	chr13	BRCA2	32523928	T
rs799923	A	NA	chr17	BRCA1	41251931	G
rs80201685	A	NA	chr13	BRCA2	32820039	G
rs80333342	C	NA	chr22	CHEK2	28728983	T
rs8051733	G	NA	chr16	FANCA	90024206	A
rs8052423	T	NA	chr16	FANCA	89269178	G
rs8054767	A	NA	chr16	PALB2	24029774	C
rs8055868	A	NA	chr16	PALB2	23348251	G

【表３８】

（表１８の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs8062311	A	NA	chr16	FANCA	90027838	G
rs872345	T	NA	chr17	TP53	7720858	A
rs920679	G	NA	chr11	ATM	108038477	A
rs9534076	C	NA	chr13	BRCA2	32864488	G
rs9534154	A	NA	chr13	BRCA2	32886213	G
rs9566949	C	NA	chr13	BRCA2	32565539	T
rs9568672	C	NA	chr13	BRCA2	33528456	G
rs9568679	T	NA	chr13	BRCA2	33536160	C
rs9590684	A	NA	chr13	BRCA2	32570500	G
rs9595227	G	NA	chr13	BRCA2	32836633	A
rs9595871	T	NA	chr13	RB1	48794101	C
rs9666351	G	NA	chr11	ATM	108468768	A
rs9895916	A	NA	chr17	TP53	7950394	G
rs9898682	A	NA	chr17	BRCA1	41738823	G
rs990253	A	NA	chr11	ATM	108494855	G
rs9902697	C	NA	chr17	BRCA1	41682852	G
rs9905358	G	NA	chr17	BRCA1	41555474	A
rs9908405	C	NA	chr17	TP53	7467461	A
rs9914497	T	NA	chr17	BRCA1	41009445	C
rs9923604	C	NA	chr16	FANCA	90068980	G
rs9940479	C	NA	chr16	PALB2	23964004	T

【表３９】

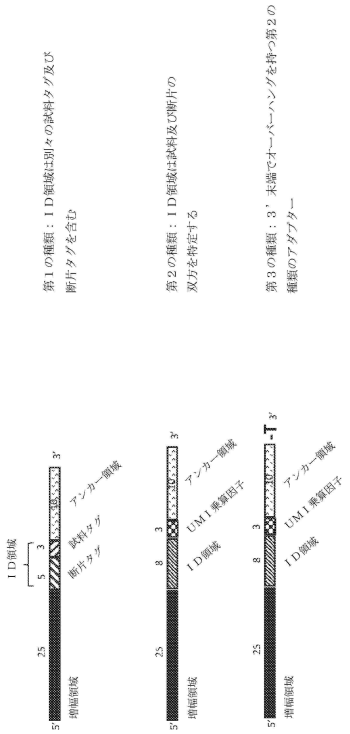
表１９：肺プローブを使用して検出された陽性対照ＤＮＡ試料中の予想されるＳＮＰの一覧

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs10509544	G	NA	chr10	PTEN	90168074	T
rs10852891	A	NA	chr17	TP53	7490810	G
rs11078685	T	NA	chr17	TP53	7411447	C
rs11078708	C	NA	chr17	TP53	7720091	G
rs11078716	T	NA	chr17	TP53	7820183	G
rs11079387	G	NA	chr17	BRCA1	41510850	A
rs11202435	G	NA	chr10	PTEN	89295958	T
rs12250975	G	NA	chr10	PTEN	89282145	A
rs12416046	G	NA	chr10	PTEN	89861218	A
rs1320304	C	NA	chr17	BRCA1	41673990	T
rs1544724	G	NA	chr17	TP53	7621777	T
rs1553468	G	NA	chr17	BRCA1	40849842	A
rs1984518	G	NA	chr17	BRCA1	41521666	T
rs2228129	C	NA	chr17	TP53	7402600	T
rs2287499	G	NA	chr17	TP53	7592168	C
rs2302764	C	NA	chr17	TP53	7360110	T
rs2846412	T	NA	chr11	ATM	108384207	C
rs4151120	A	NA	chr17	TP53	7342148	T
rs4383207	G	NA	chr17	TP53	7936282	A
rs472817	A	NA	chr13	BRCA2	32983250	G
rs4934378	C	NA	chr10	PTEN	89867693	T
rs566238	T	NA	chr11	ATM	107706832	C
rs56872996	G	NA	chr17	TP53	7928924	A
rs57752647	G	NA	chr17	TP53	7381256	T
rs60034915	T	NA	chr10	PTEN	89872699	C
rs62059833	T	NA	chr17	TP53	7514544	C
rs6761	T	NA	chr17	TP53	7417663	C
rs693963	C	NA	chr13	BRCA2	32979138	T
rs701893	A	NA	chr10	PTEN	90144950	G
rs7069968	T	NA	chr10	PTEN	90043824	C
rs番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs7077182	G	NA	chr10	PTEN	90216244	C
rs7092284	A	NA	chr10	PTEN	89451838	G
rs7092392	A	NA	chr10	PTEN	89451853	G
rs7097903	C	NA	chr10	PTEN	90049968	G
rs73245806	A	NA	chr17	TP53	7947908	T

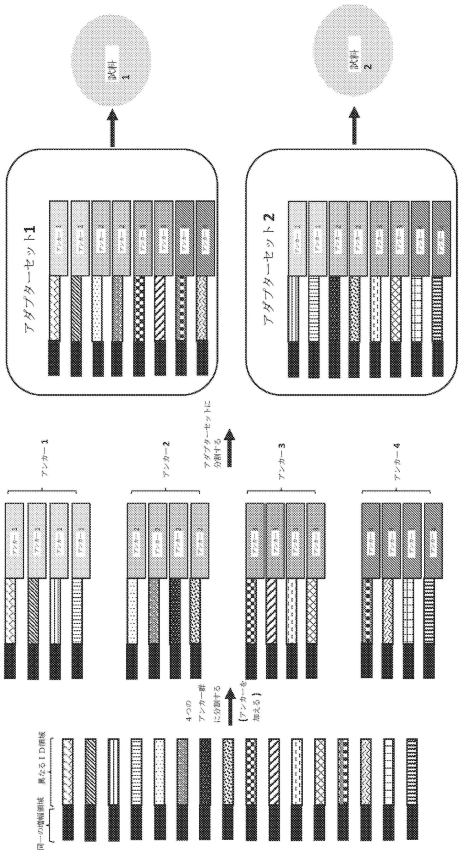
【表４０】
（表１９の続き）

ｒｓ番号	変異型	ｃｄｓ効果	染色体	遺伝子	位置	参照
rs7359598	C	NA	chr17	BRCA1	40897470	T
rs78790828	A	NA	chr17	TP53	7830280	G
rs7895494	C	NA	chr10	PTEN	89379732	A
rs7904229	A	NA	chr10	PTEN	90221561	C
rs8068764	C	NA	chr17	BRCA1	41490161	T
rs9891119	C	NA	chr17	BRCA1	40507980	A
rs9901673	A	NA	chr17	TP53	7484101	C
rs9903378	C	NA	chr17	TP53	7588006	A

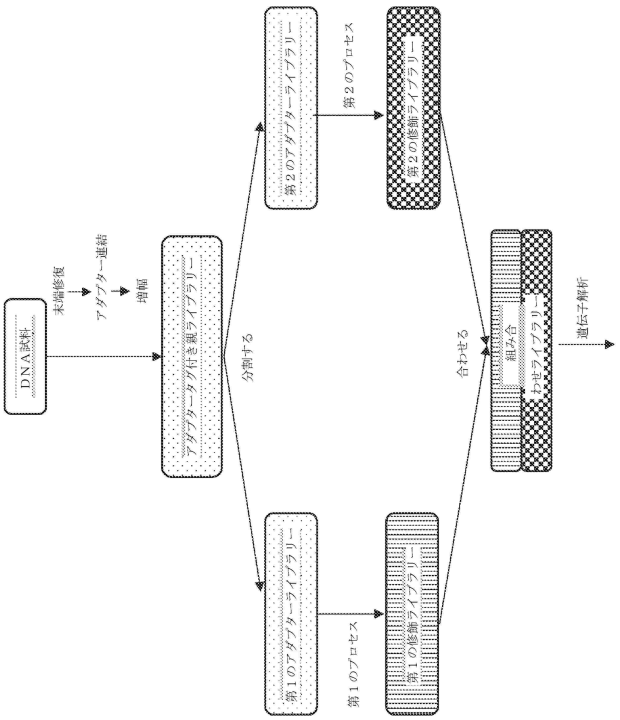
【図面】
【図１】



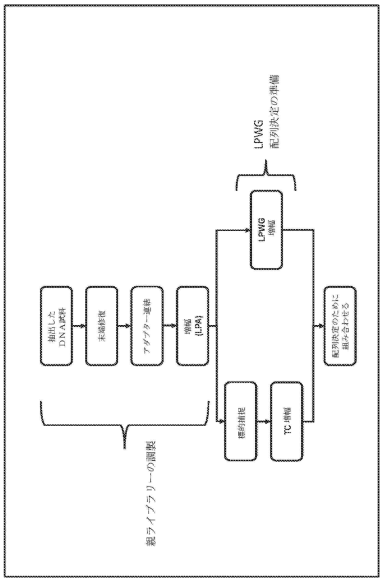
【図２】



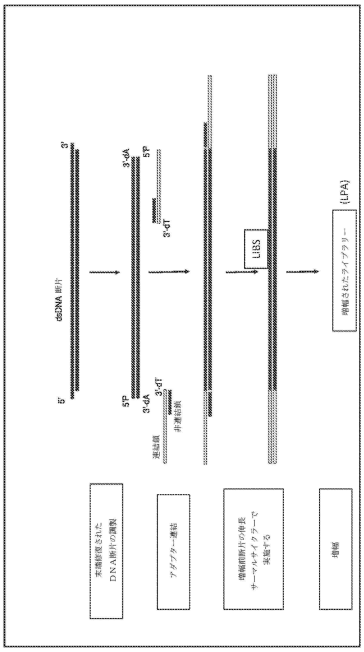
【図３】


DNA試料
末端修復
アダプター連結
増幅
アダプタータグ付き親ライブラリー
分割する
第１のアダプターライブラリー
第２のアダプターライブラリー
第１のプロセス
第２のプロセス
第１の修飾ライブラリー
第２の修飾ライブラリー
合わせる
組み合わせライブラリー
遺伝子解析

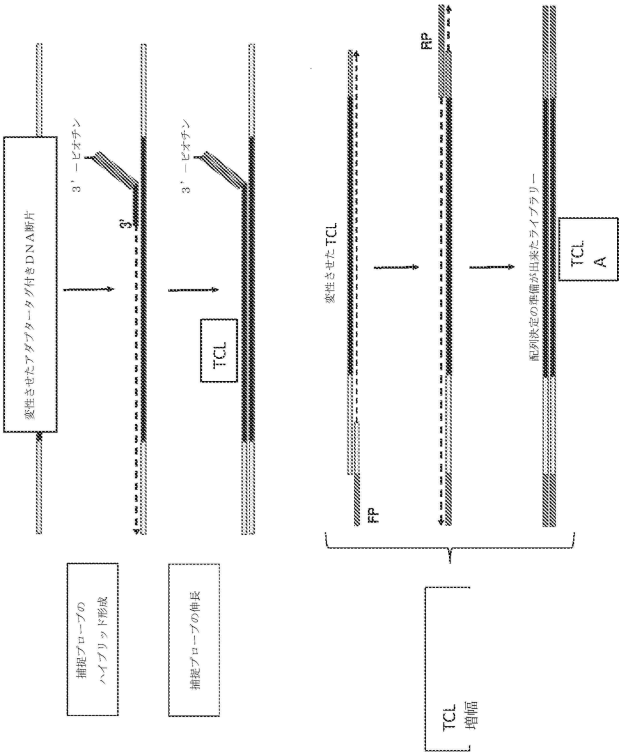
【図４】


抽出したDNA試料
末端修復
アダプター連結
増幅(LPA)
LPWG増幅
LPWG配列決定の準備
配列決定のために組み合わせる
親ライブラリーの調製
断片増幅
TC増幅

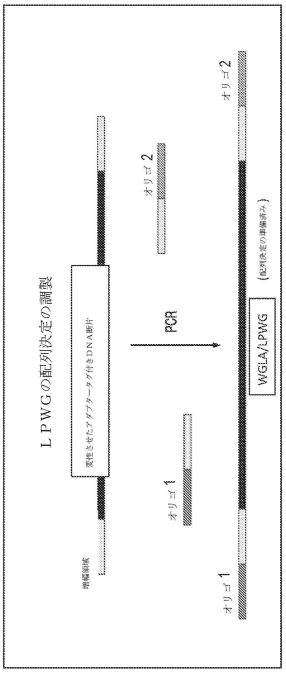
【図５】


dsDNA断片
5'
3'-dA
5'P
5'-dT
3'-dT
連結鎖
非連結鎖
LIBS
増幅されたライブラリー
(LPA)
末端修復されたDNA断片の調製
アダプター連結
増幅断片の両末端をサーマルサイクラーで変性する
増幅

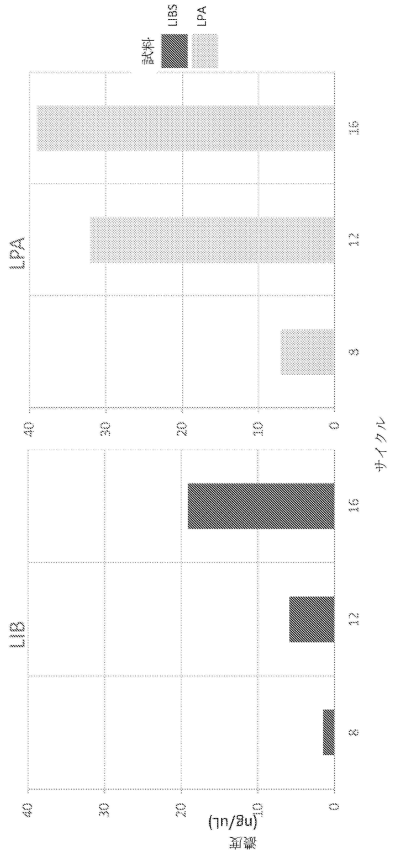
【図６】


変性させたアダプタータグ付きDNA断片
3'ービオチン
3'ービオチン
TCL
捕捉プローブのハイブリッド形成
捕捉プローブの伸長
変性させたTCL
RP
FP
配列決定の準備が出来たライブラリー
TCL A
TCL増幅

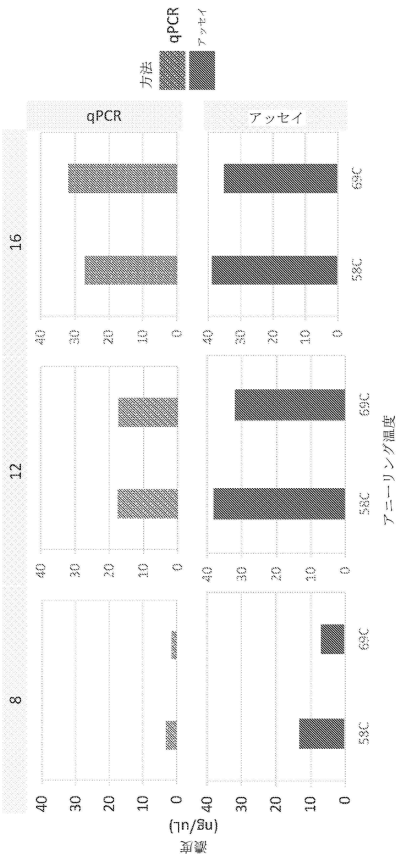
【図７】


ＬＰＷＧの配列決定の調製
PCR
WGLA/PWG
オリゴ１
オリゴ２

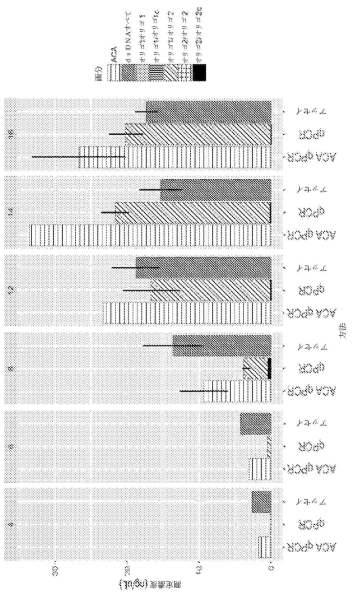
【図８】


試料
LIBS
LPA
LPA
LIB
濃度
(ng/uL)
サイクル

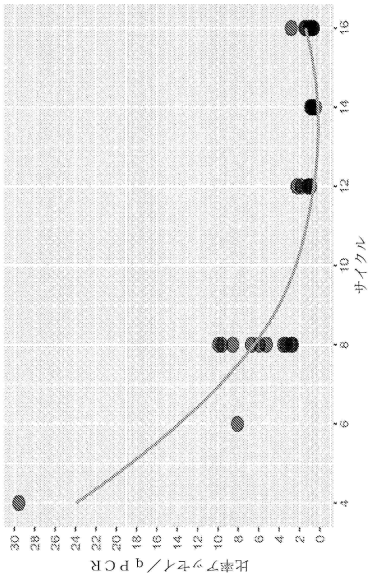
【図９】


方法
qPCR
アッセイ
アニーリング温度
濃度
(ng/uL)

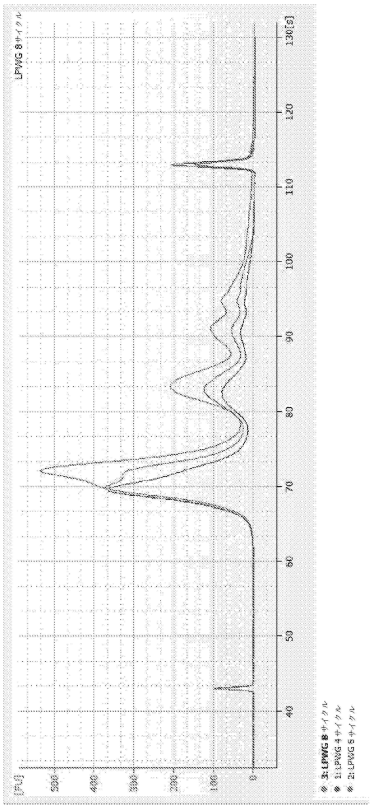
【図１０】



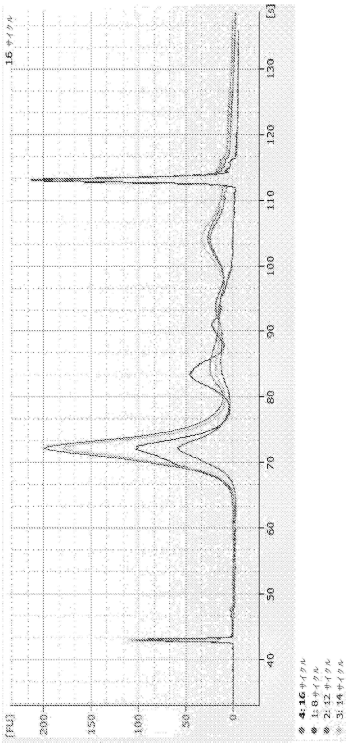
【図１１】



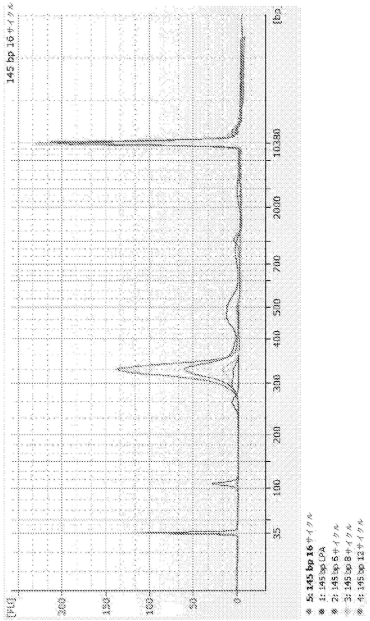
【図１２Ａ】



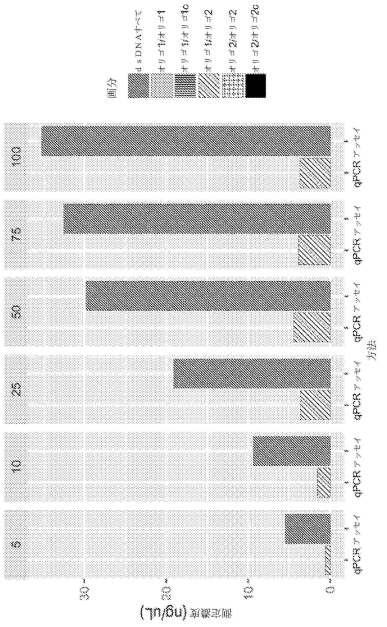
【図１２Ｂ】



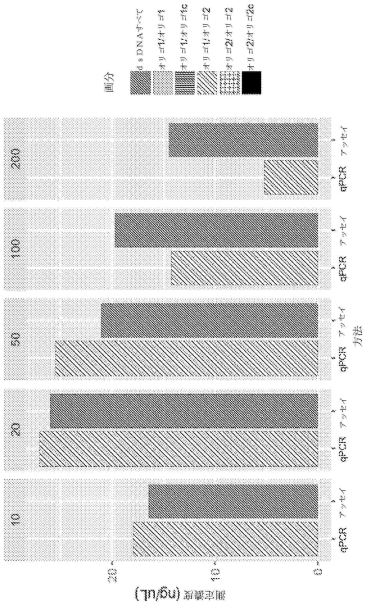
【図１３】



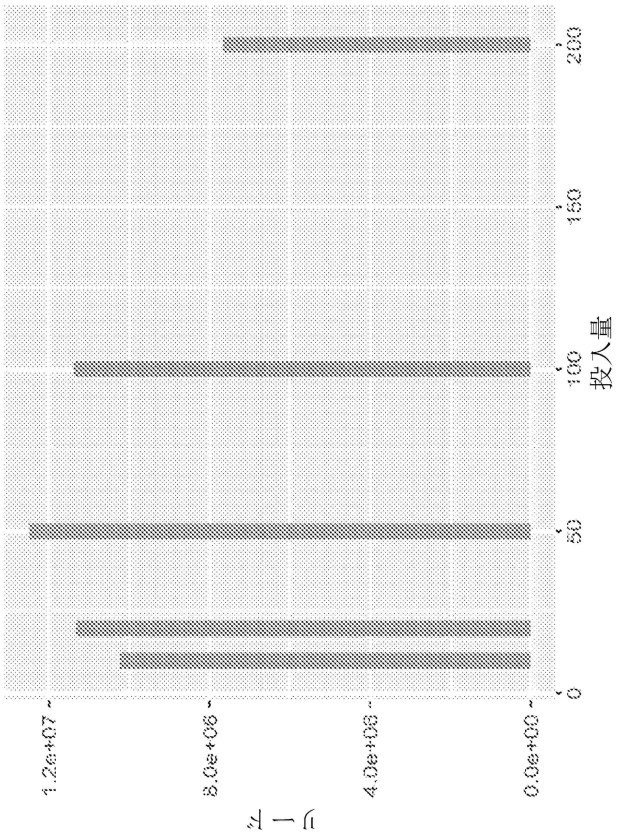
【図１４】



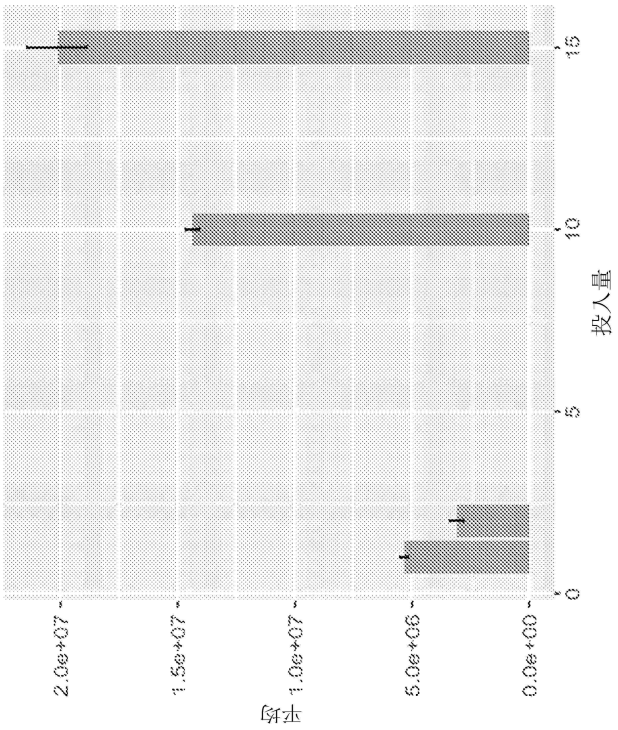
【図１５】



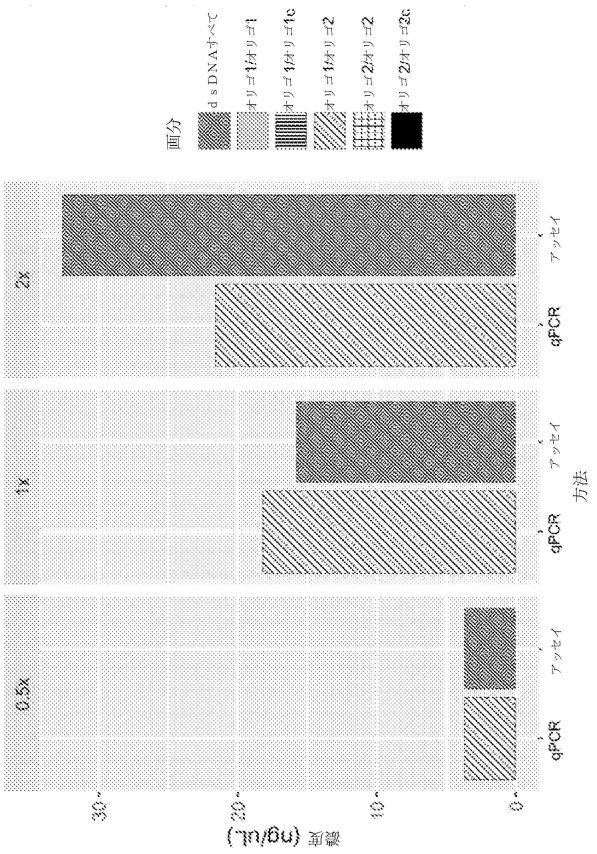
【図１６】



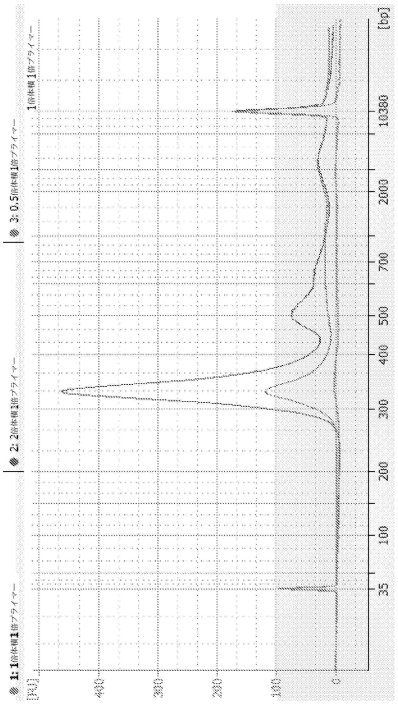
【図１７】



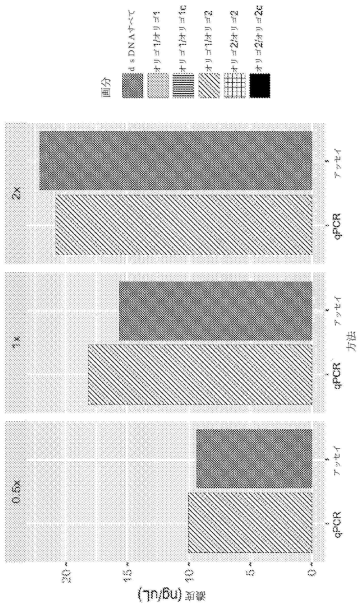
【図１８】



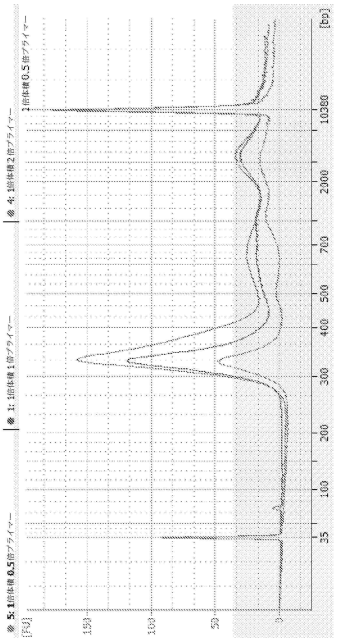
【図１９】



【図２０】



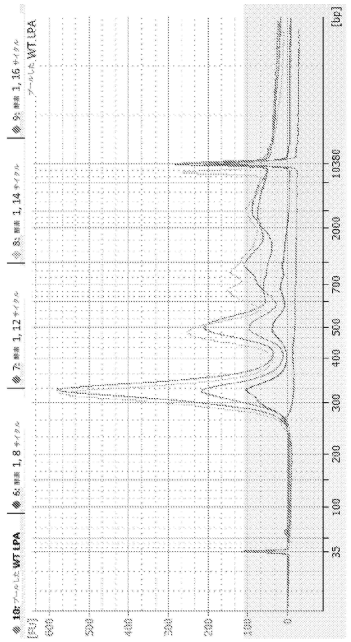
【図２１】



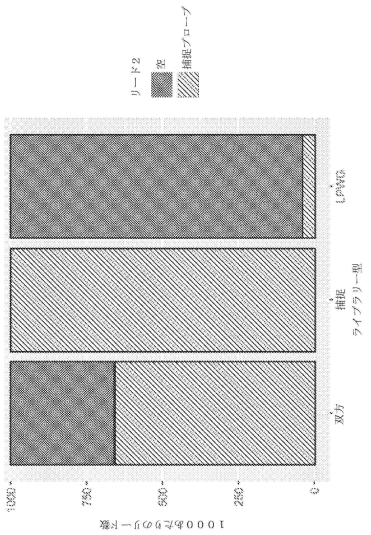
【図２２】



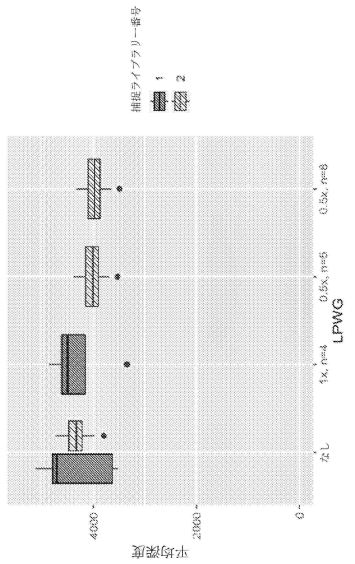
【図２３】



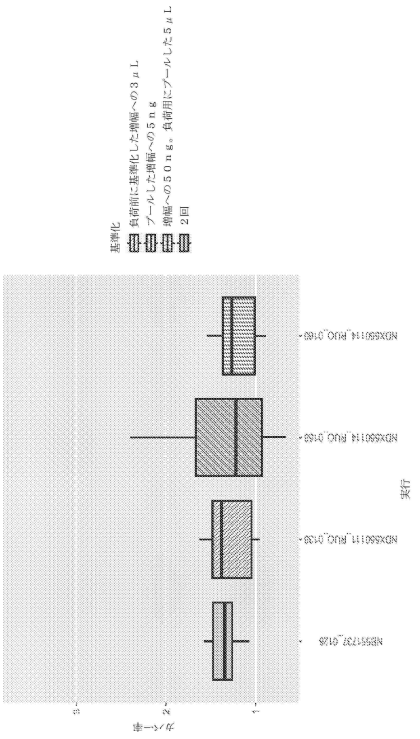
【図２４】



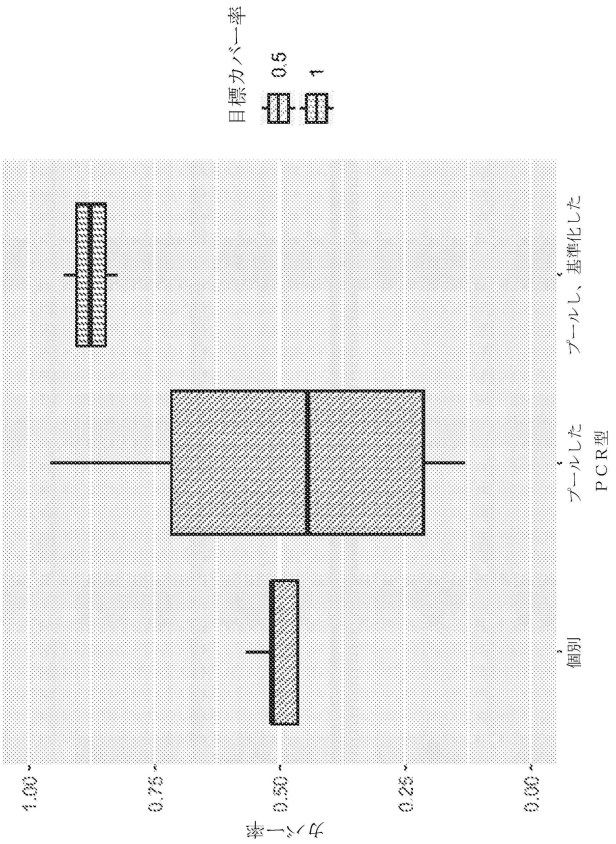
【図２５】



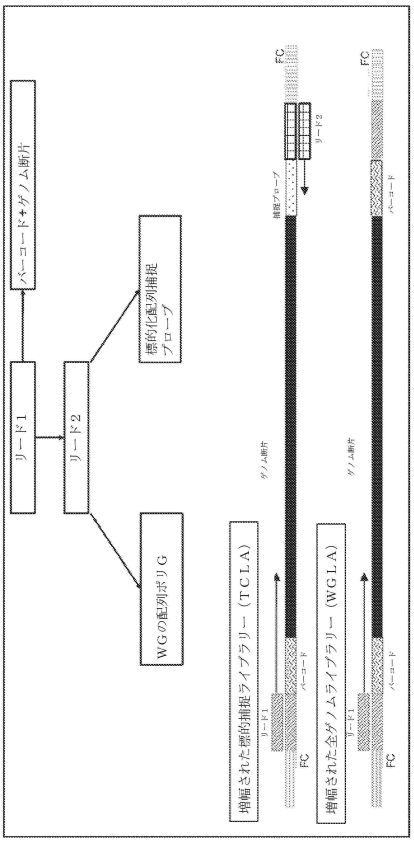
【図２６】



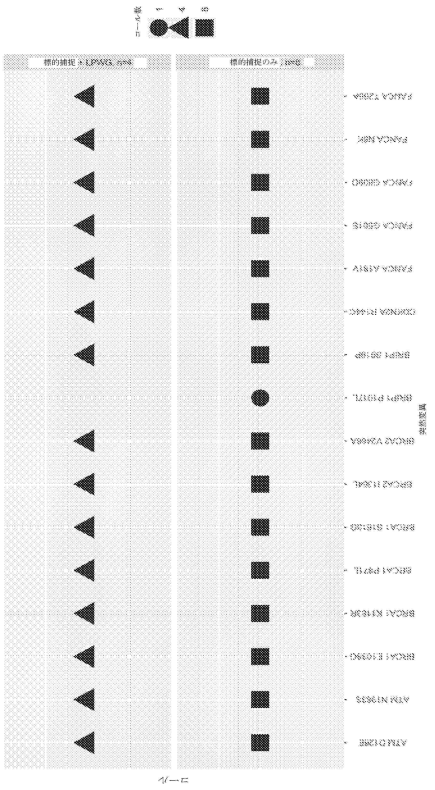
【図２７】



【図２８】



【図２９】



【配列表】
20245121560000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/022640

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q 1/6876(2018.01)i; **C12Q 1/6827**(2018.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/6876(2018.01); C12N 15/10(2006.01); C12P 21/00(2006.01); C12Q 1/68(2006.01); C12Q 1/6806(2018.01); C12Q 1/6888(2018.01); G06F 19/18(2011.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models
Japanese utility models and applications for utility models

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: capture probe, adaptor, quality control, ligation, amplification, multiple library, genetic analysis

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2018-0142234 A1 (RESOLUTION BIOSCIENCE, INC.) 24 May 2018 (2018-05-24) See paragraphs [0044], [0049], [0090], [0095], [0134], [0151], [0261], [0283], [0322], [0642], [0651].	1-6
A		15
A	WO 2008-070375 A2 (COMPLETE GENOMICS, INC.) 12 June 2008 (2008-06-12) See the whole document.	1-6,15
A	JANG, HYUNJUNG et al., 'Quality control probes for spot-uniformity and quantitative analysis of oligonucleotide array', Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, vol. 19, issue 7, pp. 658-665 See the whole document.	1-6,15
A	BISWAS, MADHURIMA et al., 'Sample quality control in agilent NGS solutions', Agilent, 2018, pp. 1-14, <URL: https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-ngs-electrophoresis-samplequalitycontrol-tapestation-5994-0127en-agilent.pdf> See the whole document.	1-6,15

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
25 July 2022	**25 July 2022**
Name and mailing address of the ISA/KR **Korean Intellectual Property Office** **189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon** **35208, Republic of Korea** Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Authorized officer **HEO, Joo Hyung** Telephone No. **+82-42-481-5373**

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/022640

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2018-0179578 A1 (RESOLUTION BIOSCIENCE, INC.) 28 June 2018 (2018-06-28) See the whole document.	1-6,15

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/022640

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☑ Claims Nos.: **8,11,18**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Claims 8, 11, 18 refer to an unsearchable claim which does not comply with PCT Rule 6.4(a).

3. ☑ Claims Nos.: **7,9-10,12-14,16-17,19-20**
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2022/022640

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US 2018-0142234 A1	24 May 2018	CN 105531375 A	27 April 2016
		CN 111254500 A	09 June 2020
		EP 2929056 A1	14 October 2015
		EP 3561072 A1	30 October 2019
		JP 2015-536156 A	21 December 2015
		JP 2019-004910 A	17 January 2019
		JP 2021-078515 A	27 May 2021
		JP 6410726 B2	24 October 2018
		JP 6842450 B2	17 March 2021
		US 10907149 B2	02 February 2021
		US 2014-0274731 A1	18 September 2014
		US 2021-0198658 A1	01 July 2021
		US 9932576 B2	03 April 2018
		WO 2014-093330 A1	19 June 2014
WO 2008-070375 A2	12 June 2008	CN 101932729 A	29 December 2010
		CN 102459592 A	16 May 2012
		CN 103290106 A	11 September 2013
		CN 103843001 A	04 June 2014
		CN 103987857 A	13 August 2014
		CN 107267596 A	20 October 2017
		CN 107368705 A	21 November 2017
		EP 2227563 A2	15 September 2010
		EP 2227563 B1	06 June 2012
		EP 2443236 A2	25 April 2012
		EP 2443236 B1	13 May 2015
		EP 2565279 A1	06 March 2013
		EP 2565279 B1	03 December 2014
		EP 2610351 A1	03 July 2013
		EP 2610351 B1	08 July 2015
		EP 2754078 A2	16 July 2014
		EP 2977455 A1	27 January 2016
		EP 2977455 B1	15 April 2020
		EP 2997157 A2	23 March 2016
		JP 2011-520420 A	21 July 2011
		JP 2014-516514 A	17 July 2014
		JP 2014-523233 A	11 September 2014
		JP 2017-184742 A	12 October 2017
		JP 5362738 B2	11 December 2013
		JP 6297972 B2	20 March 2018
		US 10662473 B2	26 May 2020
		US 11098356 B2	24 August 2021
		US 11214832 B2	04 January 2022
		US 2008-0171331 A1	17 July 2008
		US 2008-0213771 A1	04 September 2008
		US 2008-0221832 A1	11 September 2008
		US 2008-0318796 A1	25 December 2008
		US 2009-0075343 A1	19 March 2009
		US 2009-0105961 A1	23 April 2009
		US 2009-0111705 A1	30 April 2009
		US 2009-0111706 A1	30 April 2009

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2022/022640

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		US 2009-0143235 A1	04 June 2009
		US 2009-0176234 A1	09 July 2009
		US 2009-0176652 A1	09 July 2009
		US 2009-0203551 A1	13 August 2009
		US 2009-0263802 A1	22 October 2009
		US 2009-0263872 A1	22 October 2009
		US 2009-0318304 A1	24 December 2009
		US 2010-0105052 A1	29 April 2010
		US 2011-0033854 A1	10 February 2011
		US 2012-0004126 A1	05 January 2012
		US 2012-0100534 A1	26 April 2012
		US 2012-0122699 A1	17 May 2012
		US 2013-0054151 A1	28 February 2013
		US 2013-0054508 A1	28 February 2013
		US 2013-0059737 A1	07 March 2013
		US 2013-0059740 A1	07 March 2013
		US 2013-0096841 A1	18 April 2013
		US 2013-0124100 A1	16 May 2013
		US 2014-0005056 A1	02 January 2014
		US 2014-0051588 A9	20 February 2014
		US 2014-0213461 A1	31 July 2014
		US 2014-0356865 A1	04 December 2014
		US 2014-0378321 A1	25 December 2014
		US 2015-0379192 A9	31 December 2015
		US 2016-0194686 A1	07 July 2016
		US 2016-0378916 A1	29 December 2016
		US 2017-0120213 A1	04 May 2017
		US 2017-0292157 A1	12 October 2017
		US 2018-0002735 A1	04 January 2018
		US 2018-0346980 A1	06 December 2018
		US 2019-0323079 A1	24 October 2019
		US 2020-0190557 A1	18 June 2020
		US 2020-0318183 A1	08 October 2020
		US 7897344 B2	01 March 2011
		US 7901890 B2	08 March 2011
		US 7910302 B2	22 March 2011
		US 7910354 B2	22 March 2011
		US 8298768 B2	30 October 2012
		US 8415099 B2	09 April 2013
		US 8518640 B2	27 August 2013
		US 8551702 B2	08 October 2013
		US 8592150 B2	26 November 2013
		US 8617811 B2	31 December 2013
		US 8880456 B2	04 November 2014
		US 9222132 B2	29 December 2015
		US 9228228 B2	05 January 2016
		US 9238834 B2	19 January 2016
		US 9267172 B2	23 February 2016
		US 9334490 B2	10 May 2016
		US 9499863 B2	22 November 2016

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2022/022640

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		US 9514272 B2	06 December 2016
		US 9523125 B2	20 December 2016
		US 9524369 B2	20 December 2016
		US 9679103 B2	13 June 2017
		WO 2008-058282 A2	15 May 2008
		WO 2008-070352 A2	12 June 2008
		WO 2009-061840 A1	14 May 2009
		WO 2009-073629 A2	11 June 2009
		WO 2009-076238 A2	18 June 2009
		WO 2009-094583 A1	30 July 2009
		WO 2009-097368 A2	06 August 2009
		WO 2010-148039 A2	23 December 2010
		WO 2012-142531 A2	18 October 2012
		WO 2012-142611 A2	18 October 2012
		WO 2013-028739 A1	28 February 2013
		WO 2013-055955 A1	18 April 2013
US 2018-0179578 A1	28 June 2018	US 2016-0053301 A1	25 February 2016

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2019)

フロントページの続き

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

インコーポレイテッド

(72)発明者　フテックオン，カロリン

アメリカ合衆国，９８０３３　ワシントン，カークランド，カークランド　ウェイ　５５０，スイート　２００，シー／オー　レゾリューション　バイオサイエンス，インコーポレイテッド

(72)発明者　リ，マーク

アメリカ合衆国，９８０３３　ワシントン，カークランド，カークランド　ウェイ　５５０，スイート　２００，シー／オー　レゾリューション　バイオサイエンス，インコーポレイテッド

(72)発明者　リム，リー

アメリカ合衆国，９８０３３　ワシントン，カークランド，カークランド　ウェイ　５５０，スイート　２００，シー／オー　レゾリューション　バイオサイエンス，インコーポレイテッド

(72)発明者　ペッカー，イラ

アメリカ合衆国，９８０３３　ワシントン，カークランド，カークランド　ウェイ　５５０，スイート　２００，シー／オー　レゾリューション　バイオサイエンス，インコーポレイテッド

(72)発明者　サイ，チェン－サン

アメリカ合衆国，９８０３３　ワシントン，カークランド，カークランド　ウェイ　５５０，スイート　２００，シー／オー　レゾリューション　バイオサイエンス，インコーポレイテッド

Ｆターム（参考）　4B063　QA01 QA13 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR62 QS25 QS34 QX02