

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-532403

(P2014-532403A)

(43) 公表日 平成26年12月8日(2014.12.8)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B O 6 3

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 90 頁)

(21) 出願番号	特願2014-537742 (P2014-537742)	(71) 出願人	512272591
(86) (22) 出願日	平成24年10月30日 (2012.10.30)		ゲノミク ビジョン
(85) 翻訳文提出日	平成26年6月26日 (2014.6.26)		フランス国 9 2 2 2 0 バグネウク ル
(86) 国際出願番号	PCT/IB2012/002422		エ デス メウニエルス 8 0 - 8 4
(87) 国際公開番号	W02013/064895	(74) 代理人	100097456
(87) 国際公開日	平成25年5月10日 (2013.5.10)		弁理士 石川 徹
(31) 優先権主張番号	61/553, 906	(72) 発明者	アアロン ベンシモン
(32) 優先日	平成23年10月31日 (2011.10.31)		フランス国 エフ - 9 2 1 6 0 アントニ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		5 ルエ クロス デ ル 'アバイエ
		(72) 発明者	マウリジオ セッピ
			フランス国 エフ - 9 2 1 3 0 イシ - レ
			ス - モウリネアウク 2 ビス ルエ ヘ
			ンリ タリエル

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ゲノムモールスコードを分子コーミングと併用する乳癌及び卵巣癌遺伝子並びに遺伝子座BRCA1及びBRCA2におけるゲノム再編成の検出、可視化、及び高解像度物理マッピングの方法

(57) 【要約】

BRCA1及びBRCA2遺伝子中のゲノム再編成を、分子コーミングを用いて高解像度で検出する方法、及び卵巣癌又は乳癌に対する素因を含む、これらの再編成と関連する疾患又は障害に対する素因を決定する方法。この方法のためのプローブを作製するのに有用なプライマー及び該方法を実施するためのキット。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

各々のポリヌクレオチドがBRCA1及び/又はBRCA2遺伝子を含むゲノムの一部に結合する少なくとも2つのポリヌクレオチドを含む組成物であって、該少なくとも2つのポリヌクレオチドの各々が、少なくとも200個の連続するヌクレオチドを含み、かつAlu反復ヌクレオチド配列の10%未満を含む、前記組成物。

【請求項 2】

前記少なくとも2つのポリヌクレオチドがBRCA1を含むゲノムの一部に結合する、請求項1記載の組成物。

【請求項 3】

前記少なくとも2つのポリヌクレオチドがBRCA2を含むゲノムの一部に結合する、請求項1又は請求項2記載の組成物。

【請求項 4】

前記少なくとも2つのポリヌクレオチドの各々が、少なくとも500～最大6000個の連続するヌクレオチドを含み、かつAlu反復ヌクレオチド配列の10%未満を含む、請求項1～3のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 5】

前記少なくとも2つのポリヌクレオチドが、検出可能な標識又はマーカーで各々タグ化されている、請求項1～4のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 6】

異なる検出可能な標識又はマーカーで各々タグ化されている少なくとも2つのポリヌクレオチドを含む、請求項1～5のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 7】

異なる検出可能な標識又はマーカーで各々タグ化されている少なくとも3つのポリヌクレオチドを含む、請求項1～5のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 8】

異なる検出可能な標識又はマーカーで各々タグ化されている少なくとも4つのポリヌクレオチドを含む、請求項1～5のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 9】

同じ又は異なる視覚的に検出可能なマーカーで各々独立にタグ化されている3～10のポリヌクレオチドを含む、請求項1～5のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 10】

同じ又は異なる視覚的に検出可能なマーカーで各々独立にタグ化されている11～20のポリヌクレオチドを含む、請求項1～5のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 11】

少なくとも2つの異なる検出可能な標識又はマーカーのうちの1つで各々タグ化された少なくとも2つのポリヌクレオチドを含む、請求項1～4のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 12】

BRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA遺伝子、BRCA1又はBRCAフランキング配列又はイントロン中の重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成を検出する方法であって：

- (i) DNAサンプルを単離すること、
- (ii) 該サンプルを分子コーミングすること、
- (iii) 分子コーミングされたDNAを、プローブとしての請求項5記載の組成物と、ハイブリダイゼーションが起こるのに十分な時間及び条件下で接触させること、
- (iv) 請求項5記載の組成物又は請求項6～11のいずれか一項記載の組成物の該DNAサンプルに対するハイブリダイゼーションを可視化すること、並びに
- (v) 該可視化を、再編成も突然変異も含まない正常な又は標準的なBRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA遺伝子、BRCA1又はBRCAフランキング配列又はイントロンの対照サンプルから得られる可視化と比較すること

10

20

30

40

50

を含む、前記方法。

【請求項 13】

前記プローブが、1.5kbを超える再編成又は突然変異を検出するように選択される、請求項12記載の方法。

【請求項 14】

卵巣癌又は乳癌に対する素因を、コード又は非コードBRCA1又はBRCA2遺伝子座配列中で検出される遺伝子再編成又は突然変異の種類に基づいて予測又は評価することをさらに含む、請求項10又は13記載の方法。

【請求項 15】

対象の治療的処置に対する感受性を、コード又は非コードBRCA1又はBRCA2遺伝子座配列中で検出される遺伝子再編成又は突然変異の種類に基づいて決定することをさらに含む、請求項10又は13記載の方法。

【請求項 16】

BRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA2遺伝子、BRCA1又はBRCA2フランキンギ配列又はイントロン中の重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成を検出するキットであって、

a) 各々のポリヌクレオチドがBRCA1もしくはBRCA2遺伝子を含むゲノムの一部に結合する少なくとも2つのポリヌクレオチドであって、該少なくとも2つのポリヌクレオチドの各々が、少なくとも200個の連続するヌクレオチドを含み、かつ反復ヌクレオチド配列を含まず、ここで、該少なくとも2つのポリヌクレオチドが、視覚的に検出可能なマーカーでタグ化されており、かつBRCA1もしくはBRCA2遺伝子座、BRCA1もしくはBRCA2遺伝子、BRCA1もしくはBRCA2フランキンギ配列もしくはイントロンの特定のセグメント中の重複、欠失、逆位、挿入、転座、もしくは大きな再編成を同定するように選択されている、少なくとも2つのポリヌクレオチド、並びに任意に

b) BRCA1もしくはBRCA2遺伝子座、BRCA1もしくはBRCA2遺伝子、BRCA1もしくはBRCA2フランキンギ配列もしくはイントロン中の重複も、欠失も、逆位も、挿入も、転座も、大きな再編成も有さない対象についてのハイブリダイゼーションプロファイルを記述する標準；

c) 分子コーミングを実施するのに必要な1以上のエレメント、

d) 使用説明書、及び/又は

e) 包装材料

を含む、前記キット。

【請求項 17】

前記少なくとも2つのポリヌクレオチドが、卵巣癌又は乳癌と関連するBRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA2遺伝子、BRCA1又はBRCA2フランキンギ配列又はイントロンの特定のセグメント中の重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成を同定するように選択される、請求項16記載のキット。

【請求項 18】

前記少なくとも2つのポリヌクレオチドが、特定の治療剤、薬物、又は処置に感受性のある卵巣癌又は乳癌の種類と関連するBRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA2遺伝子、BRCA1又はBRCA2フランキンギ配列又はイントロンの特定のセグメント中の重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成を同定するように選択される、請求項16記載のキット。

【請求項 19】

ゲノムDNAを含むサンプル中で、BRCA1遺伝子の5'末端にまたがるゲノム配列からなる多数のタンデムコピーのリピート単位のリピート配列をインビトロで検出する方法であって、該リピート配列が、少なくとも3コピーの該リピート単位からなり、かつ該方法が：

- 該プライマーから始まるPCRによる重合を可能にするために、第一のプライマーと標的ゲノム配列の5'末端とのハイブリダイゼーション及び第二のプライマーと該標的配列の3'末端とのハイブリダイゼーションを可能にする条件を提供すること；

- 該プライマーとハイブリダイズした配列を増幅させること；

10

20

30

40

50

-それにより得られたアンプリコンを、特にプローブで検出し、かつそのサイズ又はその内容、特に、そのヌクレオチド配列を決定することを含む、前記方法。

【請求項 20】

前記リピート単位が、BRCA1遺伝子のエキソン1a、1b、及び2を包含し、かつ任意にNBR2遺伝子の5'末端の配列を包含する、請求項19記載の方法。

【請求項 21】

下流プライマー及び上流プライマーが：

下流プライマーについて：

-好ましくは、エキソン2の3'末端から2~4kb離れた、より好ましくは、エキソン2の3'末端から2.5~3kb離れた、BRCA1のエキソン2と3の間の領域中のポリヌクレオチド配列、又は

-エキソン2の3'末端から2kb以内、好ましくは、エキソン2の3'末端から1.5kb以内、及びより好ましくは1kb以内にある、BRCA1のエキソン2と3の間の領域中のポリヌクレオチド配列

上流プライマーについて：

-BRCA1のエキソン1aから2kb以内、好ましくは、BRCA1のエキソン1aの1.5kb以内、及びより好ましくは1kb以内にある、BRCA1遺伝子とNBR2遺伝子の間の領域中のポリヌクレオチド配列、又は

-BRCA1のエキソン1a内、もしくはエキソン1b内、もしくはエキソン1aと1bの間の領域中のポリヌクレオチド配列、又は

-エキソン1bと2の間の領域中、もしくはエキソン2中、もしくはエキソン2と3の間の領域中のポリヌクレオチド配列

の群からそれぞれ選択される、請求項19又は20記載の方法。

【請求項 22】

前記プライマーが：BRCA1-A3A-F(配列番号25)、BRCA1-A3A-R(配列番号26)、BRCA1-Synt1-F(配列番号125)、及びBRCA1-Synt1-R(配列番号126)、又はそれらの逆相補配列の群から選択される、請求項19~21のいずれか一項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の背景)

(発明の分野)

本発明は、BRCA1及びBRCA2遺伝子及び遺伝子座のゲノム再編成を、分子コーミングを用いて高解像度で検出する方法に関するものであり、また、卵巣癌又は乳癌に対する素因を含む、これらの再編成と関連する疾患又は障害に対する素因を決定する方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

(関連技術の説明)

乳癌は、女性の最も一般的な悪性腫瘍であり、女性人口の約10%に影響を及ぼしている。発生率は毎年増加しつつあり、約140万人の女性が毎年世界中で乳癌であると診断され、約460,000人がこの疾患が原因で死亡すると推定される。遺伝性乳癌及び卵巣癌感受性遺伝子BRCA1(MIM#113705)及びBRCA2(MIM# 600185)の生殖系列突然変異は浸透率が高い(Kingらの文献、2003)、(Nathansonらの文献、2001)。スクリーニングは、家族歴陽性の個体の遺伝子カウンセリング及び突然変異保有者における早期診断又は予防に重要である。BRCA1又はBRCA2突然変異が同定された場合、予測的検査が18歳を超える家族全員に提案される。女性が検査で陰性反応を示した場合、その人のリスクは再び、一般集団のリスクになる。女性が検査で陽性反応を示した場合、個別の監視プロトコルが提案され：これには、若年齢からの乳房撮影スクリーニング、及び場合により、予防的手術が含まれる。抗エス

10

20

30

40

50

トロゲン剤による乳癌の化学的予防も、現在、臨床試験で検討されており、今後、処方される可能性がある。

【 0 0 0 3 】

大半の有害な突然変異は、未成熟な終止コドンを生じる小さなフレームシフト(挿入もしくは欠失)又は点突然変異か、保存されたドメイン中のミスセンス突然変異か、或いは異常な転写物プロセッシングをもたらすスプライス部位突然変異かのいずれかからなる(Szaboらの文献、2000)。しかしながら、突然変異には、DNAシーケンシングと組み合わせた従来のPCRベースの突然変異スクリーニングによる検出から漏れる大きなゲノム領域の欠失及び重複を含む、より複雑な再編成も含まれる(Mazoyerの文献、2005)。

【 0 0 0 4 】

これらの複雑な再編成を検出することができる技術としては、ロングレンジPCR又はタンパク質トランシェンションテスト(PTT)と組み合わせたサザンブロット解析、短い蛍光断片の定量的マルチプレックスPCR(QMPSF)(Hofmannらの文献、2002)、リアルタイムPCR、蛍光DNAマイクロアレイアッセイ、マルチプレックスライゲーション依存性プローブ増幅(MLPA)(Casilliらの文献、2002)、(Hofmannらの文献、2002)、及び高解像度オリゴヌクレオチドアレイ比較ゲノムハイブリダイゼーション(aCGH)(Rouleauらの文献、2007)、(Staafらの文献、2008)が挙げられる。qPCR-HRM及びEMMAなどの、事前スクリーニングと定量的情報の両方を提供する新しい手法が最近になって開発され、大量並列シーケンシングと組み合わせたゲノム捕捉が、乳癌及び卵巣癌に関与する21の遺伝子に影響を及ぼす小さな突然変異と大きな再編成の同時検出のために提案されている(Walshらの文献、2010)。

【 0 0 0 5 】

分子コーミングは、特殊処理したガラス表面に均一かつ不可逆的に付着している単一DNA分子の直接可視化のためのFISHベースの強力な技術である(Herrick及びBensimonの文献、2009);(Schurra及びBensimonの文献、2009)。この技術は、ゲノムにわたるDNAの構造及び機能解析をかなり改善し、ゲノム全体を、1回の解析で、高解像度で(kb範囲で)可視化することができる。分子コーミングは、モザイク現象、ヘテロ接合性の消失(LOH)、コピー数多型(copy number variations)(CNV)、並びに複雑な再編成、例えば、転座及び逆位などの、ゲノム不均衡の検出に特に適しており(Caburetらの文献、2005)、したがって、乳癌遺伝子中で潜在的に検出可能な突然変異の範囲を拡大する。分子コーミングは、第一世代の「カラーバーコーディング」スクリーニング法を用いて、BRCA1((Gadらの文献、2001)、(Gadらの文献、2002a)、(Gadらの文献、2003)、及びBRCA2(Gadらの文献、2002b)中の大きな再編成の検出にうまく利用されている。しかしながら、これらの技術は解像度を欠いており、BRCA1及びBRCA2中の並びにそれらの周辺の大きな再編成を正確に検出することができない。

【 0 0 0 6 】

本明細書に開示されているような従来技術と対照的に、本発明者らは、ゲノムDNAサンプルの高解像度の目視検査、突然変異したエキソンの正確なマッピング、ロバスト統計による突然変異サイズの正確な測定、BRCA1及びBRCA2遺伝子構造又は再編成の同時検出、遺伝子の逆位又は転座の検出、並びにBRCA1及びBRCA2遺伝子座のAlu配列などの反復DNA配列と関連する問題の実質的な排除を提供する新規の遺伝子モールスコード分子コーミング法を提供する。

【 発明の概要 】

【 0 0 0 7 】

(発明の概要)

BRCA1及びBRCA2遺伝子は、乳癌及び卵巣癌感受性に高い浸透率で関与している。BRCA1及びBRCA2点突然変異について陰性である家族歴陽性の乳癌患者の約2%~4%は、これら2つの遺伝子のうちの1つ、特に、BRCA1に大きな遺伝子変化(欠失又は重複)を保有すると予想することができる。しかしながら、大きな再編成は、直接シーケンシングで見落とされる。分子コーミングは、ゲノム全体を、1回の解析で、高解像度で調べることができる、単一DNA分子の直接可視化のためのFISHベースの強力な技術である。分子コーミングに

基づく新規の予測的遺伝子検査が本明細書に開示されている。その目的のために、コード領域及び非コード領域をカバーし、かつ両方の遺伝子に隣接する大きなゲノム部分を含む、特異的なBRCA1及びBRCA2「ゲノムモルスコード」(GMC)を設計した。GMCは、ゲノムDNAの特定の部分に沿って分布した一連のカラーシグナルであり、このシグナルは、本発明のプローブとのプローブハイブリダイゼーションによって生じる。GMCの背後にある概念は、WIPO特許出願WO/2008/028931号(これは引用により組み込まれている)において以前に定義されており、検査すべき巨大分子上の関心対象の少なくとも1つのドメインの存在の検出方法に関連している。

【0008】

測定戦略がGMCシグナルについて開示され、6人の家族歴陽性の乳癌患者と10人の対照患者とを検査することにより検証されている。1つ又はいくつかのエキソンの欠失及び重複に対応し、かつ3kb~40kbの範囲のサイズを有する、大きな再編成を両方の遺伝子(BRCA1及びBRCA2)上で検出した。重要なことに、開発されたGMCにより、両方の遺伝子上のいくつかのタンデムリピート重複の場所を明確に突き止めること、及びBRCA1のAluに富んだ問題のある5'領域中の大きな再編成を正確にマッピングすることが可能になった。この開発された新しい分子コーミング遺伝子検査は、BRCA1及びBRCA2中の大きな再編成のスクリーニングのための有益なツールであり、臨床の場で、点突然変異の検出を可能にするアッセイと任意に組み合わせることができる。

【0009】

第二世代の高解像度BRCA1及びBRCA2ゲノムモルスコード(GMC)の設計に基づく、従来のカラーバーコーディング法と比べた実質的な技術的改善が本明細書に開示されている。重要なことに、反復配列をDNAプローブから除去し、それにより、バックグラウンドノイズを低下させ、GMC内のカラーシグナル長のロバストな測定を可能にした。両方のGMCを、10人の健常対照由来のサンプルで統計的に検証し、その後、乳癌家族歴陽性の6人の乳癌患者で検査した。CGHで得られる解像度(1~3kb)と同様の解像度で、大きな再編成を検出した。突然変異の検出は、反復エレメントが豊富なゲノム領域中に局在するタンデムリピート重複又は突然変異などの、問題のある突然変異さえも検出する、この技術のロバスト性を証明するものである。開発された分子コーミングプラットフォームは、BRCA1及びBRCA2中の大きな再編成の同時検出を可能にし、乳癌及び卵巣癌のための新規の遺伝子検査及び検査キットを提供する。

【図面の簡単な説明】

【0010】

(図面の簡単な説明)

特許又は出願ファイルは、カラーで作成された少なくとも1つの図面を含む。

【図1】図1A及び1B: ヒトBRCA1及びBRCA2ゲノム領域のドットプロットアラインメント。GRCh37ゲノムアセンブリ(hg19とも呼ばれる、2009年4月公開)に基づく、及びJDotterソフトウェア(URL: http://_athena.bioc.uvic.ca/tools/JDotter)を用いた、BRCA1をコードするBAC RP11-831F13(ch17:41172482-41379594)から得られた207-kbのゲノム領域(1A)及びBRCA2をコードするBAC RP11-486017(ch13:32858070-33030569)から得られた172-kbのゲノム領域(1B)の自己アラインメントを示すドットプロットマトリックス。主対角線は、配列とそれ自体とのアラインメントを表し、一方、主対角線から外れる線は、配列内の類似又は反復パターンを表す。濃い領域が多数の反復配列を含むのに対し、薄い領域は全く含まない。遺伝子は、5' 3'方向の矢印として表されている。反復配列をコードし、DNAプローブには含まれない、ゲノム領域のサイズ及びBAC座標は、表中、左に示されている。下のパネルは、バイオインフォマティクス解析から得られた、妨害する可能性のある反復配列を含まないDNAプローブの名前及びサイズ(kbで表す)(BRCA1について35個及びBRCA2について27個)を示す。

【図2】図2A、2B、2C、及び2D: BRCA1及びBRCA2ゲノム領域の高解像度物理マッピング用に設計されたコンピュータ生成ゲノムモルスコード。プローブの色は、ここでは、グレースケールのバリエーションとして表されており: 青のプローブは、黒の四角形として示

され、緑のプローブは、白の四角形として示され、赤のプローブは、グレーの四角形として示されている。(2A)完全なBRCA1 GMCは、200kbのゲノム領域をカバーし、異なる色(緑、赤、又は青)の18のシグナル(S1B1~S18B)から構成される。各シグナルは、1つ(例えば、S2B1)~3つの小さい水平バー(例えば、S15B1)から構成され、各バーは、単一のDNAプローブに対応する。BRCA1遺伝子(81.2kb)をコードする領域は、7つの「モチーフ」(g1b1~g7b1)から構成される。各モチーフは、1つ~3つの小さい水平バー及び黒の「ギャップ」(シグナルなし)から構成される。(2B)BRCA1遺伝子特異的シグナル及びエキソンの相対位置の拡大表示。(2C)完全なBRCA2 GMCは、172kbのゲノム領域をカバーし、異なる色(緑、赤、又は青)の14のシグナル(S1B2~S14B2)から構成される。各シグナルは、1つ(例えば、S14B2)~5つの小さい水平バー(例えば、S1B2)から構成される。BRCA2遺伝子(84.2kb)をコードする領域は、5つのモチーフ24(g1b2~g5b2)から構成される。各モチーフは、2つ~4つの小さい水平バー及び黒のギャップから構成される。(2D)BRCA2遺伝子特異的シグナル及びエキソンの相対位置の拡大表示。欠失又は挿入は、存在する場合、これらのモチーフによってカバーされる領域中に現われる。

【図3】図3A及び3B:対照患者におけるBRCA1及びBRCA2ゲノムモースコードシグナルの検証。もとの顕微鏡画像は、3チャンネルの画像からなり、ここで、各チャンネルは、所与のフルオロフォアからのシグナルであり-これらは、顕微鏡検査の手順において個別に獲得される。これらのチャンネルは、ここでは、異なる色合いとしてグレースケールで表されており:青のプローブは黒で示され、緑のプローブは白で示され、赤のプローブはグレーで示されており、一方、バックグラウンド(シグナルの欠如)は、薄いグレーである。略図において、図2と同じ慣例が使用されている。縦横比は維持されておらず、シグナルは、プローブの視認性を改善するために、「拡大」されている(すなわち、DNA繊維の方向に対して垂直に引き伸ばされている)。1人の対照患者(大きな再編成の欠如)における典型的なBRCA1(3A)及びBRCA2(3B)ゲノムモースコードシグナル並びに測定されたモチーフ長(kb)が報告されている。顕微鏡による可視化の後に得られたBRCA1及びBRCA2シグナルは、表の上部に示されており、これには、関心対象の遺伝子に関連するモチーフの位置が含まれる。通常、20~40枚の画像(画像の数)を選択し、モチーフをGVLabソフトウェアで測定した。各モチーフについて、以下の値を決定した:理論的に計算される長さ(計算値(kb))、平均測定長(μ (kb))、標準偏差(SD(kb))、変動係数(CV(%))、 μ と計算値の差(デルタ)、及び伸張係数(SF=(計算値/ μ) \times 2)。突然変異がない場合、SF値は、1.8~2.2の間に含まれ、デルタ値は、-1.9kb~1.9kbの間に含まれる(詳細については、実施例1の材料及び方法を参照されたい)。

【図4】図4A、4B、及び4C:乳癌患者で検出される既知のBRCA1の大きな再編成。図2及び3と同様に、略図及び顕微鏡画像は、以下の対応を伴ってグレーの色合いとして表されている:(薄いグレーのバックグラウンド上で)青は黒として示され、緑は白として示され、赤は濃いグレーとして示されており、顕微鏡画像の縦横比は、明瞭にするために修正されている場合がある。乳癌患者から回収されたEBV不死化Bリンパ球から単離されたDNAを、分子コーミングにより解析して、以前にaCGHにより特徴付けられた既知の大きな再編成を確認した(表3参照)。7つのうち3つの大きな再編成が図に示されている:(4A)青のシグナルS7B1のタンデムリピート重複として見える、Dup ex 13(症例1)。g4B1モチーフ(16.5kb)を、野生型及び突然変異アレルを含む40枚の画像の混合群でまず測定し、以下の値を得た: μ (BRCA1^{wt}+BRCA1^{mt}シグナル)=19kb \pm 3.5kb、デルタ=2.5kb(デルタ 2kbであるので、重複が確認される)。その後、画像を2つのグループに分けた:21枚の画像をBRCA1^{wt}に分類し、19枚の画像をBRCA1^{mt}に分類した。その後、サイズを、2つのアレルのモチーフ平均サイズの差として計算した: μ (BRCA1^{wt})=16.1 \pm 1.6kb、 μ (BRCA1^{mt})=22.2 \pm 2.0kb、突然変異サイズ= μ (BRCA1^{mt})- μ (BRCA1^{wt})=6.1 \pm 1.6kb。下のパネルは、MLPA断片の表示(左)及び正規化されたMLPAの結果(右)を示し、矢印は、重複していると解釈されるエキソンを示す。(4B)シグナルS7B1とS8B1の間の大きなゲノム部分を含む、青のシグナルS7B1の欠失として見える、Del ex 8~13(症例6)。g4B1(16.5kb)及びg5b1(19.7kb)モチーフを23枚の画像の混合群でまず測定し、以下の値を得た。g4b1について: μ (BRCA1^{wt}+BRCA1^{mt})

= $17.5 \pm 4.0\text{kb}$ 、デルタ = -2.2kb (デルタ - 2kb) ;その後、13枚の画像をBRCA1^{wt}に分類し、10枚の画像をBRCA1^{mt}に分類した: $\mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}}) = 20.8 \pm 1.6\text{kb}$ 、 $\mu(\text{BRCA1}^{\text{mt}}) = 13.3 \pm 1.1\text{kb}$ 、 $\mu(\text{BRCA1}^{\text{mt}}) - \mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}}) = -7.5 \pm 1.6\text{kb}$ 。g5b1について: $\mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}} + \text{BRCA1}^{\text{mt}}) = 12.8 \pm 5.5\text{kb}$ 、デルタ = -3.7kb (デルタ - 2kb) ;その後、13枚の画像をBRCA1^{wt}に分類し、10枚の画像をBRCA1^{mt}に分類した: $\mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}}) = 18.3 \pm 1.3\text{kb}$ 、 $\mu(\text{BRCA1}^{\text{mt}}) = 5.8 \pm 0.5\text{kb}$ 、 $\mu(\text{BRCA1}^{\text{mt}}) - \mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}}) = -12.5 \pm 1.0\text{kb}$ 。全体の突然変異サイズ = 突然変異サイズg4B1 + 突然変異サイズg5b1 = $-20 \pm 2.8\text{kb}$ 。(4C) 緑のシグナルS10B1並びにS11B1及びS12B1を含むBRCA1の上流の5'領域の大きなゲノム部分の欠失として見える、Del ex 2(症例2)。BRCA1遺伝子中の欠失の存在を確認するために、g7B1(17.7kb)モチーフを20枚の画像の混合群でまず測定し、以下の値を得た: $\mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}} + \text{BRCA1}^{\text{mt}}) = 12.3 \pm 2.9\text{kb}$ 、デルタ = -5.4kb (デルタ - 2kb であるので、欠失が確認される)。BRCA1遺伝子内の突然変異サイズを測定するために、その後、11枚の画像をBRCA1^{wt}に分類し、9枚の画像をBRCA1^{mt}に分類して、以下の値を得た: $\mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}}) = 18.1 \pm 0.7\text{kb}$ 、 $\mu(\text{BRCA1}^{\text{mt}}) = 8.1 \pm 1.6\text{kb}$ 、突然変異サイズ = $\mu(\text{BRCA1}^{\text{mt}}) - \mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}}) = -10 \pm 1.5\text{kb}$ 。BRCA1の上流の欠失したゲノム領域を含めて、全体の突然変異サイズを決定するために、本発明者らは、シグナルS8B1とS14B1の間のゲノム領域(89.9kb)を測定しなければならなかった。S8B1 ~ S14B1領域を19枚の画像でまず測定し、以下の値を得た: $\mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}} + \text{BRCA1}^{\text{mt}}) = 62.3 \pm 18.4\text{kb}$ 、デルタ = -27.6kb 。その後、11枚の画像をBRCA1^{wt}に分類し、8枚の画像をBRCA1^{mt}に分類し、以下の値を得た: $\mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}}) = 92.2 \pm 3.2\text{kb}$ 、 $\mu(\text{BRCA1}^{\text{mt}}) = 51.4 \pm 2.2\text{kb}$ 、突然変異サイズ = $\mu(\text{BRCA1}^{\text{mt}}) - \mu(\text{BRCA1}^{\text{wt}}) = -40.8 \pm 3.5\text{kb}$ 。顕微鏡による可視化の後に得られた、野生型(= BRCA1^{wt})と突然変異アレル(= BRCA1^{mt})の両方に由来するBRCA1シグナルが、上のパネルに示されている。欠失した大きな再編成の位置、性質(欠失又は重複)、及びサイズ(kbで表す)は、オレンジで示されている。BRCA1遺伝子特異的シグナル及び突然変異したエキソンの相対位置の拡大表示は、下のパネルに示されている。mt、突然変異アレル;wt、野生型アレル。

【図5】図5。BRCA1に使用したGMC。BRCA1遺伝子領域を解析するための高解像度ゲノムモデルスコアの別の例がここに示されている。図2と同様に、略図は、以下の対応を伴って表されている: 青のプロープは黒として示され、緑のプロープは白として示され、赤のプロープは濃いグレーとして示されている。

【図6】図6: BRCA1のエキソン18~20中の重複 図2に記載されているGMCを、略図に示すように修飾されたプロープ標識とともに、このサンプル上でハイブリダイズさせた。図2及び3と同様に、略図及び顕微鏡画像は、以下の対応を伴ってグレーの色合いで表されている: (薄いグレーのバックグラウンド上で) 青は黒として示され、緑は白として示され、赤は濃いグレーとして示されており、顕微鏡画像の縦横比は、明瞭にするために修正されている場合がある。目視検査により、赤のシグナルS5B1のタンデム重複があるように見える。測定後、突然変異は、エキソン18~20をコードするゲノムの部分に限定される、 $6.7 \pm 1.2\text{kb}$ のサイズを有すると推定された。推定された突然変異サイズは、文献(Staaafの文献、2008)に報告されている 8.7kb と完全に一致している。測定及び統計解析に関する詳細は、実施例1に見出すことができる。

【図7】図7 9: BRCA1(A) 及びBRCA2(B) GMCから除外されたAlu配列の例。

【発明を実施するための形態】

【0011】

(発明の詳細な説明)

(定義)

物理マッピングは: 分子生物学的手法を用いた、ゲノムDNA上の特定のエレメント、突然変異、又はマーカーの位置を規定する遺伝子地図の作成である。物理マッピングは、解析されるゲノムDNAの事前シーケンシングを必要としない。

【0012】

FISH: 蛍光インサイチュハイブリダイゼーション。

分子コーミング: 特殊処理したガラス表面に均一かつ不可逆的に付着している単一DNA分

10

20

30

40

50

子の直接可視化のためのFISHベースの技術。

【0013】

予測的遺伝子検査: 出生後、多くの場合、中年期以降に現われる障害と関連する遺伝子突然変異を検出するために使用される、ヒト生体サンプル(例えば: 血液)から単離されたDNA分子の直接解析を含むスクリーニング法。これらの検査は、遺伝子障害を有する家族の一員がいるが、検査の時点で自分自身に障害の特徴がない人々にとって役立ち得る。予測的検査は、人が、遺伝的基礎がある障害、例えば、特定のタイプの癌を発症する可能性を増大させる突然変異を同定することができる。

【0014】

ポリヌクレオチド: この用語は、天然のDNA及びRNAポリヌクレオチド分子(配列とも表記される)、並びに例えば、その安定性を増大させる修飾された構造を有するDNA又はRNA類似体を包含する。分子コーミングに使用されるゲノムDNAは、通常、生体サンプルから単離されるような、修飾されていない形態にある。プライマーとして使用される、ポリヌクレオチド、通常、DNAは、修飾されていなくても、修飾されていてもよいが、DNAを増幅させる際に使用するのに好適な形態にある。同様に、プローブとして使用されるポリヌクレオチドは、相補的標的配列に結合することができる未修飾又は修飾ポリヌクレオチドであることができる。この用語は、他のポリヌクレオチドの断片、例えば、5、10、15、20、30、40、50、75、100、200、又はそれよりも多くの連続ヌクレオチドを有する断片であるポリヌクレオチドを包含する。

【0015】

BRCA1遺伝子座: この遺伝子座は、81kbのサイズ(リファレンスゲノムビルドGRCh37/hg19)を有する、塩基対41,196,311~塩基対41,277,499の、17番染色体の長(q)腕のバンド21に位置するヒトBRCA1遺伝子(遺伝子ID:672、参照配列NM_007294)のコード部分、並びにそのイントロン及びフランキング配列を包含する。フランキング配列に続いて、BRCA1 GMCには:BRCA1遺伝子の上流の102kb(41,277,500~41,379,500)及びBRCA1遺伝子の下流の24kb(41,196,310~41,172,310)が含まれている。したがって、BRCA1 GMCは、207kbのゲノム領域をカバーしている。

【0016】

BRCA2遺伝子座: この遺伝子座は、84kbのサイズ(リファレンスゲノムビルドGRCh37/hg19)を有する、塩基対32,889,617~塩基対32,973,809の、13番染色体の長(q)腕の位置12.3(13q12.3)に位置するヒトBRCA2遺伝子(遺伝子ID:675、参照配列NM_000059.3)のコード部分、並びにそのイントロン及びフランキング配列を包含する。フランキング配列に続いて、BRCA2 GMCには:BRCA2遺伝子(32,857,616~32,889,616)の上流の32kb及びBRCA2遺伝子(32,973,810~33,029,810)の下流の56kbが含まれている。したがって、BRCA2 GMCは、172kbのゲノム領域をカバーしている。

【0017】

生殖系列再編成: 体細胞で起こる体細胞再編成と区別されるべき、有性生殖する生物体の配偶子を生じる任意の生体細胞で起こる遺伝子再編成を伴う遺伝子突然変異。

【0018】

点突然変異: 遺伝物質であるDNA又はRNAの1塩基ヌクレオチドと別のヌクレオチドとの置換を生じさせる遺伝子突然変異。多くの場合、点突然変異という用語は、1塩基対の挿入又は欠失も含む。

【0019】

フレームシフト突然変異: 3で均等に割り切れないいくつかのヌクレオチドの、DNA配列からのインデル(挿入又は欠失)によって生じる遺伝子突然変異。コドンによる遺伝子発現のトリプレット性が原因で、挿入又は欠失によってリーディングフレーム(コドン集団)が変化し、オリジナルとは完全に異なる翻訳が生じることがある。

【0020】

タンデムリピート重複: 2以上の隣接するコピーを生じさせて、タンデムリピートを生じさせるように重複しているDNAのストレッチを特徴とする突然変異。

【0021】

タンデムリピート配列: 遺伝子増幅をもたらす配列の2以上の隣接するコピーからなるDNAのストレッチ。リピート配列中のこの配列の単一のコピーをリピート単位と呼ぶ。自然に生じる遺伝子増幅は、通常、完全に保存的であるわけではない、すなわち、特に、リピート単位の両端は、再編成され、突然変異し、及び/又は切断され得る。本発明において、90%を上回る相同性を有する2以上の隣接配列は、等価なりリピート単位からなるリピート配列とみなされる。別途指定されない限り、タンデムリピート配列内のリピート単位の向きは想定されない。

【0022】

複雑な再編成: 単純な欠失又は重複と区別することができる任意の遺伝子再編成。例としては、転座又は逆位がある。

10

【0023】

プローブ: この用語は、相補的なポリヌクレオチド配列(標的)にハイブリダイズし、したがって、相補的な配列を同定するのに役立つ本発明のポリヌクレオチドに対して、その通常の意味で使用される。通常、プローブは、ひとたびその相補体に結合すれば、それが検出されるのを可能にするマーカー、例えば、化学的又は放射性マーカーでタグ化される。本明細書に記載のプローブは、通常、目で見えるマーカー、例えば、特定の色を有する蛍光色素、例えば、青、緑、又は赤の色素でタグ化される。本発明によるプローブは、BRCA1又はBRCA2、そのエキソン又はフランキング配列の特定の部分又はセグメントを認識するように選択される。BRCA1について、プローブは、通常、長さが200bp~5,000bpの範囲である。BRCA2について、プローブは、通常、長さが200bp~6,000bpの範囲である。本発明のプローブの名前及びサイズは、図2に記載されている。本発明による代表的なプローブ、例えば、BRCA1-1A(3,458bp)又はBRCA2-1(2,450bp)は、表1及び2に記載されている。本発明の特定の実施態様において、プローブは、「反復ヌクレオチド配列を含まない」と言われる。そのようなプローブは、本明細書で定義されているような反復配列を欠いている関心対象のゲノム領域中に位置し得る。

20

【0024】

検出可能な標識又はマーカー: ポリヌクレオチドに付着させることができる任意の分子であって、その位置が、例えば、蛍光顕微鏡法、酵素検出、放射能などの手段によって決定されることができ、又は2010年2月18日に公開されたUS出願番号US2010/0041036A1号に記載されている分子。

30

【0025】

プライマー: この用語は、ポリヌクレオチド合成の出発点としての役割を果たす核酸分子(配列とも表記される)としてのその従来の意味を有する。特に、プライマーは、20~40ヌクレオチド長を有することができ、また、標的と塩基対形成せず、その3'末端に十分なヌクレオチド、特に、少なくとも20個のヌクレオチドを提供し、該標的とハイブリダイズするヌクレオチドを含むことができる。本明細書に記載されている本発明のプライマーを用いて、BRCA1又はBRCA2のプローブを生成させ、例えば、1対のプライマーを用いて、鋳型DNAとしての細菌人工染色体からPCRアンプリコンを生成させる。本明細書で使用するプライマーの配列は、表8の配列番号1~配列番号130として参照されている。場合により(詳細は表1)、プライマーは、クローニングを容易にするために、これらに対する追加の配列をその5'末端に含んでいた。これらの追加の配列は、フォワードプライマーについては、配列番号134(ポリAとAscIのための制限部位とを含む)、及びリバースプライマーについては、配列番号135(ポリAとPacIのための制限部位とを含む)である。

40

【0026】

表1及び2及び8には、代表的なプライマー配列及び対応するプローブ座標が記載されている。

【0027】

ゲノムモルスコード: GMCは、特定のゲノム領域を物理的にマッピングするために設計された、一連の「ドット」(特定のサイズ及び色を有するDNAプローブ)及び「ダッシュ」(

50

DNAプローブ間に位置する特定のサイズを有する無色のスペース)である。特定の遺伝子又は遺伝子座のGMCは、他の遺伝子又は遺伝子座のGMCによって得られるシグナルと区別することができる独特のカラー「シグナチャー」によって特徴付けられる。高解像度GMC用のDNAプローブの設計は、特殊なパイオインフォマティクス解析及び関心対象のゲノム領域のプラスミドベクターへの物理的クローニングを必要とする。低解像度CBCは、パイオインフォマティクス解析もクローニング手順もなしで確立されている。

【0028】

反復ヌクレオチド配列:BRCA1及びBRCA2遺伝子座は、異なる種類の反復配列:SINE、LINE、LTR、及びAluを含む。ゲノム配列中に大量に存在するが、プローブ中には存在しない、すなわち、本発明のBRCA1及びBRCA2 GMCから除去された反復配列は、主に、約300bpの長さを有するAlu配列である(さらなる詳細については、図S1、S1、S2、及びS3を参照されたい)。これは、主に、参照ゲノム中に存在するパーセンテージと比べたDNAプローブ内の残存Alu配列のパーセンテージが、10%未満、好ましくは2%未満であることを意味する。したがって、ポリヌクレオチドは、上で引用した反復配列の種類から選択される少なくとも1種類の反復配列(例えば、Alu、SINE、LINE、又はLTR)が検討されるプローブ中に含まれないとき、「反復ヌクレオチド配列を含まない」と言われ、これは、該プローブが、参照ゲノム中に存在するパーセンテージと比べて10%未満、好ましくは2%未満を含むことを意味する。BRCA1及び2遺伝子座に見られるAluリピートの例は、図7A及び7Bに示されており、一方、表3及び4には、BRCA1のゲノム領域をカバーするBACクローンRP11-831F13(図7A)又はBRCA2のゲノム領域をカバーするBACクローンRP11-486017(図7B)に含まれる、Repeat Maskerによって同定されたリピートが記載されている。どちらの場合も、Aluリピートは、本発明者らのプローブがハイブリダイズする領域及びこのプローブ設計から除外された領域で別々にカウントされる。

【0029】

本明細書で使用される「遺伝子内の大きな再編成」という用語は、遺伝子配列中に観察することができる欠失及び重複事象を指し、該配列は、限定された見方では、イントロン及びエキソンを;並びに広い見方では、イントロン、エキソン、該遺伝子の5'領域、及び該遺伝子の3'領域を含む。遺伝子内の大きな再編成は、ゲノム物質の任意の獲得又は損失にも及び、結果として、関心対象の遺伝子の発現を伴うこともある。

【0030】

本明細書で使用される「遺伝子座」という用語は、遺伝子又は他の関心対象の配列の染色体上での特定の位置を指す。BRCA1及びBRCA2について、この用語は、BRCA1及びBRCA2遺伝子を指し、イントロン及びフランキング配列は、BRCA1/BRCA2 + イントロン及びフランキング配列を指す。

【0031】

本明細書で使用される「核酸」という用語は、ヌクレオチド、例えば、デオキシリボヌクレオチドもしくはリボヌクレオチド、又は2つの天然の核酸の場合と同様に配列特異的な様式で天然の核酸とハイブリダイズすることができる、例えば、ワトソンクリック型塩基対形成相互作用に参与することができる、PNAなどの、合成で生成された化合物から構成されるポリマー又は分子を意味する。核酸は、一本鎖であっても、二本鎖であっても、部分二重鎖であってもよい。

【0032】

本明細書で使用される「リボ核酸」及び「RNA」という用語は、リボヌクレオチドから構成されるポリマー又は分子を意味する。

【0033】

本明細書で使用される「デオキシリボ核酸」及び「DNA」という用語は、デオキシリボヌクレオチドから構成されるポリマー又は分子を意味する。

【0034】

本明細書で使用される「サンプル」という用語は、1以上の関心対象の成分を含む、通常、流体の形態にあるが、必ずしもそうである必要はない、材料又は材料の混合物を指す

。分子コーミングのために、サンプルは、診断用途向けの生体源由来の、通常、患者由来のゲノムDNAを含む。本発明は、サンプルに対するインピトロでの実施に好適な手段、特に、ポリヌクレオチド、及び方法に関する。

【0035】

「ヌクレオシド」及び「ヌクレオチド」という用語は、既知のプリン及びピリミジン塩基だけでなく、修飾されている他の複素環塩基も含む部分を含むことが意図される。そのような修飾としては、メチル化されたプリン又はピリミジン、アシル化されたプリン又はピリミジン、アルキル化されたりボース又は他の複素環が挙げられる。さらに、「ヌクレオシド」及び「ヌクレオチド」という用語は、従来のリボース及びデオキシリボース糖だけでなく、他の糖も含む部分を含む。修飾されたヌクレオシド又はヌクレオチドは、例えば、水酸基の1つ又は複数が、ハロゲン原子もしくは脂肪族基と置換されているか、又はエーテル、アミンなどとして官能基化されている、糖部分上の修飾も含む。

10

【0036】

本明細書で使用される「ストリンジェントな条件」という用語は、所望のレベルの特異性をアッセイで提供するための相補性が十分な核酸、例えば、表面結合した及び溶液相の核酸の結合対の生成に適合している一方、所望の特異性を提供するための相補性が不十分な結合メンバー間での結合対の形成にはあまり適合していない条件を指す。ストリンジェントなアッセイ条件は、ハイブリダイゼーション条件と洗浄条件の両方の合計又は組合せ(全体)である。

20

【0037】

核酸ハイブリダイゼーションに関する(例えば、分子コーミングに、又はGMCに有用なプローブの同定に必要とされる)「ストリンジェントなハイブリダイゼーション」及び「ストリンジェントなハイブリダイゼーション洗浄条件」は、配列依存的であり、異なる実験パラメータの下では異なる。本発明の範囲内の核酸を同定するために使用することができるストリンジェントなハイブリダイゼーション条件としては、例えば、50%ホルムアミド、5×SSC、及び1%SDSを含むバッファー中、42℃でのハイブリダイゼーション、又は5×SSC及び1%SDSを含むバッファー中、65℃でのハイブリダイゼーション(どちらも0.2×SSC及び0.1%SDSによる65℃での洗浄を含む)を挙げることができる。例示的なストリンジェントなハイブリダイゼーション条件としては、40%ホルムアミド、1M NaCl、及び1%SDSのバッファー中、37℃でのハイブリダイゼーション、及び1×SSC中、45℃での洗浄を挙げることができる。或いは、フィルターに結合したDNAとの、0.5M NaHPO₄、7%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、1mM EDTA中、65℃でのハイブリダイゼーション、及び0.1×SSC/0.1%SDS中、68℃での洗浄を利用することができる。またさらなるストリンジェントなハイブリダイゼーション条件としては、60℃以上及び3×SSC(450mM塩化ナトリウム/45mMクエン酸ナトリウム)でのハイブリダイゼーション、又は30%ホルムアミド、1M NaCl、0.5%サルコシンナトリウム、50mM MES、pH 6.5を含む溶液中、42℃でのインキュベーションが挙げられる。当業者は、代替的ではあるが、同等のハイブリダイゼーション及び洗浄条件を利用して、同様のストリンジェンシーの条件を提供することができることを容易に認識するであろう。

30

【0038】

所与のゲノム遺伝子座に位置するプローブ又はプライマーとは、ヒトゲノムのこの遺伝子座の配列にハイブリダイズするプローブ又はプライマーを意味する。通常、プローブは二本鎖であり、したがって、所与の遺伝子座の配列と同一である鎖及び所与の遺伝子座の配列と逆相補的であるもう1つの鎖を含む。プライマーは一本鎖であり、別途文脈により指定又は指示されない限り、その配列は、所与の遺伝子座の配列と同一である。指定される場合、配列は、所与の遺伝子座の配列と逆相補的であってもよい。ある実施態様において、核酸が、表面結合した核酸に特異的にハイブリダイズするかどうかを決定する条件を示す洗浄条件のストリンジェンシー。核酸を同定するために使用される洗浄条件としては、例えば、約0.02Mの塩濃度、pH 7、及び少なくとも約50℃もしくは約55℃～約60℃の温度;又は約0.15M NaClの塩濃度、72℃で約15分間;又は約0.2×SSCの塩濃度、少なくとも約

40

50

50 もしくは約55 ~ 約60 の温度で約15 ~ 約20分間;又はハイブリダイゼーション複合体を、0.1%SDSを含む約2×SSCの塩濃度の溶液で、室温で15分間、2回洗浄し、その後、0.1%SDSを含む0.1×SSCで、68 で15分間2回洗浄すること;又は同等の条件を挙げることができる。洗浄のためのストリンジェントな条件は、例えば、0.2×SSC/0.1%SDS、42 であることもできる。

【0039】

ストリンジェントなアッセイ条件の具体的な例は、合計の一価陽イオン濃度が1.5Mである塩ベースのハイブリダイゼーションバッファー中、65 での回転ハイブリダイゼーションと、それに続く、0.5×SSC及び0.1×SSCによる室温での洗浄である。

【0040】

ストリンジェントなアッセイ条件は、少なくとも上記の代表的な条件と同じくらいストリンジェントであるハイブリダイゼーション条件であり、その場合、所与の組の条件は、所望の特異性を提供するのに十分な相補性を欠くさらなる結合複合体が、上記の特定の条件と比べて該所与の組の条件で実質的に生じない場合、少なくともストリンジェントであるとみなされ、その場合、「実質的に超えない」とは、約5倍未満、通常、3倍未満であることを意味する。その他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は当業者に公知であり、適宜、利用することができる。

【0041】

「感度」は、サンプル中の関心対象の核酸を検出するアッセイの能力を説明するものである。例えば、サンプル中の低濃度の関心対象の核酸を検出することができる場合、アッセイは高い感度を有する。逆に、サンプル中の高濃度の関心対象の核酸しか検出しない場合、所与のアッセイは低い感度を有する。所与のアッセイの感度は、利用される試薬の特異性(例えば、標識の種類、結合分子の種類など)、利用されるアッセイ条件、利用される検出プロトコルなどを含む、いくつかのパラメータによって決まる。分子コーミング及びGMCハイブリダイゼーションとの関連において、所与のアッセイの感度は、表面に固定した核酸の性質、ハイブリダイゼーション及び洗浄条件の性質、標識系の性質、検出系の性質などのうちの1つ又は複数によって決まり得る。

【0042】

(高解像度BRCA1及びBRCA2ゲノムモールスコードの設計)

分子コーミングは、BRCA1及びBRCA2遺伝子中の大きな再編成を検出するために既に使用されているが、当初使用されたハイブリダイゼーションDNAプローブは、低解像度「カラーバーコーディング」スクリーニング法の一部であり、BRCA1及びBRCA2遺伝子座を一部しかカバーしないコスミド、PAC、及びロングレンジPCR生成物から構成されていた。重要なことに、該DNAプローブは、これら2つの遺伝子座に特に大量に存在する反復配列もコードしていた(Gadらの文献、2001)、(Gadらの文献、2002b)。結果として、該プローブの検出は、個々のカラーシグナルの重畳(例えば、緑のシグナルと赤のシグナルの重畳から生じる黄色のスポット)及び強いバックグラウンドノイズをもたらすことが多く、画質を低下させ、シグナル長を測定するためのロバストな戦略の開発を妨げた。そのような低解像度スクリーニング法では、タンデムリピート重複などの複雑な突然変異の明確な可視化が可能にならなかった(Schurra及びBensimonの文献、2009)、(Herrick及びBensimonの文献、2009)。

【0043】

本発明者らは、より多くのBRCA1及びBRCA2ゲノム領域をカバーすることにより及び妨害反復配列をDNAプローブから除去することにより設計された高解像度ゲノムモールスコード(GMC)が、従来のカラーバーコーディング法に付随する問題を解決することを見出した。

【0044】

反復配列を可視化するために、ゲノムリファレンスコンソーシアム(Genome Reference Consortium)のGRCh37ゲノムアセンブリ(hg19とも呼ばれる、2009年4月公開)に基づいて、DNAプローブクローニングに使用されるBACクローンのドットプロットアラインメントをま

10

20

30

40

50

ず実施した。Repeat Masker解析(www._repeatmasker.org)に基づくと、BRCA1をコードするBAC及びBRCA2をコードするBAC中のAlu反復DNAのパーセンテージは、それぞれ、35%及び17%であった(データは示さない)。これにより、BRCA1については、反復配列中で濃いドット-プロットマトリックス(ヒトゲノム中のわずかに0.25 Alu/kbの平均値と比べて1kbのDNA当たり1.6個のAlu配列)、及びBRCA2については、より薄いドット-プロットマトリックス(0.64 Alu/DNAのkb)が得られた(図1A及び1B)。

【0045】

顕著により少ない反復配列を有するBRCA1遺伝子座の35のゲノム領域及びBRCA2遺伝子座の27の領域を同定し、それらを用いて、分子コーミングと関連する可視化プロセスと適合するDNAハイブリダイゼーションプローブを設計し、クローニングした。DNAハイブリダイゼーションプローブの名前、サイズ、及び色、並びにこれらのプローブによってカバーされるエキソンを図1に示し、表1(BRCA1)及び2(BRCA2)に記載する。同じ色の隣接するDNAプローブがシグナルを形成する。したがって、ゲノムモールスコードは、ゲノムDNAの特定の部分に沿って分布した一連のカラーシグナルから構成される。色は、BRCA1とBRCA2とで異なる一連の独特の反復しないシグナルを生成させるように選択された。BRCA1/BRCA2 GMC DNAプローブから除外された、反復配列をコードするゲノム領域のサイズ及びBAC座標を表3及び4に示す。257個のAlu配列をBRCA1 GMCから除外し、85個のAlu配列をBRCA2 GMCから除外した。両方のGMCから除去されたAlu配列の例を図7に示す。

【0046】

ゲノムモールスコードの認識及び測定を容易にするために、遺伝子上に位置するシグナルを、「モチーフ」と呼ばれる特定のパターンにグループ化した。設計されたBRCA1及びBRCA2ゲノムモールスコードの電子的再構築を図2に示す。この設計では、BRCA1ゲノムモールスコードは、上流遺伝子NBR1、NBR2、LOC100133166、及びTMEM106A、並びに偽遺伝子BRCA1を含む200kbの領域をカバーする。完全なBRCA1ゲノムモールスコードは、18のシグナル(S1B1~S18B)から構成され、8つのBRCA1特異的シグナルは、7つのモチーフ(g1b1~g7b1)にグループ化される(図2A及びB)。BRCA2ゲノムモールスコードは、14のシグナル(S1B2~S14B2)から構成される172kbのゲノム領域をカバーし、7つのBRCA2特異的シグナルは、5つのモチーフ(g1b2~g5b2)にグループ化される(図2C及び2D)。欠失又は挿入は、存在する場合、これらのモチーフによってカバーされるゲノム領域中で検出される。

【0047】

(対照患者におけるBRCA1及びBRCA2ゲノムモールスコードシグナルの検証)

新たに設計されたゲノムモールスコードを、10人の無作為に選ばれた対照患者から単離されたゲノムDNAでまず検証した。1人の対照ドナーについての典型的な可視化されたシグナル及び測定されたモチーフ長を、BRCA1を上及びBRCA2を下にして、図3に報告する。各ゲノムモールスコードについて、通常、様々なモチーフの長さを測定することにより、20~30枚の画像を解析した(図3の画像の数を参照)。重要なことに、全てのモチーフについて、測定値は、計算値と常に類似していた(図3の μ と計算値を比較されたい)。BRCA1及びBRCA2のシグナル測定の口バスト性は、10人の対照患者全員の測定されたモチーフ長の平均を計算することにより、及び平均測定値を計算値と比較することにより決定された(表S1参照)。BRCA1について、本発明者らは、-0.2kb~+0.8kbの範囲のデルタ値(μ と計算値の差)を得たのに対し、BRCA2デルタ値は、-0.3kb~+0.4kbの範囲であり、これにより、開発された測定法の正確さが強調され、分子コーミングの解像度が約 ± 1 kbであることが確認された(Michaletらの文献、1997)。分子コーミングは、 $1\mu\text{m}$ が2kbに相当するという物理距離と輪郭長の相関関係で、DNA分子を均一に伸張させる(Michaletらの文献、1997)。結果として、大きな再編成がない場合、導出される伸張係数(SF)は、 $2\text{kb}/\mu\text{m}$ (± 0.2)に近い値を有する。これは、解析された対照ドナー全員で確認され、SF値は、 $1.8\sim 2.2\text{kb}/\mu\text{m}$ の範囲であった(図3のSF参照)。したがって、BRCA1とBRCA2の両方に大きな再編成が存在する場合、SF値は、 $2.3\text{kb}/\mu\text{m}$ (欠失の場合)又は $1.7\text{kb}/\mu\text{m}$ (重複の場合)であると予想され、対応するデルタ値は、 2kb (重複の場合)又は -2kb (欠失の場合)であると予想される。重要なことに、大きな再編成の存在は、対応するゲノムモールスコードの目視

検査によって常に検証される。

【0048】

(乳癌患者における既知のBRCA1の大きな再編成の検出)

次に、分子コーミングを、重度の乳癌家族歴を有し、かつBRCA1又はBRCA2のどちらかに大きな再編成を有することが知られている患者由来の6つのサンプルに適用した(事前スクリーニングをMLPA又はQMPSFにより実施した)。重要なことに、分子コーミング解析は盲検であり、これは、患者の各々について、突然変異の内容が検査前には不明であったことを意味する。なぜなら、突然変異の内容は、全サンプルの検査が終了した後に初めて操作者に明らかにされたからである。6つの異なる大きな再編成が同定された(表5参照)。重要なことに、6つの既知の突然変異は全て、aCGH及び切断点シーケンシングによって最近特徴付けられたが(Rouleauの文献、2007)、これらは、分子コーミングによって正確に同定され、特徴付けられた。3つの最も重要な既知のBRCA1の大きな再編成の完全な特徴付けを図4に報告し、本明細書において、以下に記載する。

10

【0049】

(エキソン13(BRCA1)の重複)

分子コーミングによる目視検査により、この突然変異は、青のシグナルS7B1の部分タンデム重複のように見える(図4A、上のパネル)。測定後、該突然変異は、エキソン13をコードするDNAプローブBRCA1-8の一部に限定される6.1kbのサイズを有すると推定された。推定された突然変異サイズは、文献(Pugetの文献、1999)に報告されている6.1kbと完全に一致し、乳癌インフォメーションコア(Breast Cancer Information Core)のデータベースによれば、この突然変異は、BRCA1の中で最も頻度の高い10個の突然変異に属している(Szaboの文献、2000)。重複は、MLPAなどの定量的な方法で検出することが難しく、偽陽性シグナルを生じることが多い(Cavaliereの文献、2007、Staafの文献、2008)。したがって、特徴付けられた患者をMLPAでも解析し、エキソン13の重複を確認した。より重要なことに、本発明者らは、エキソン1A+1Bの重複も検出したが(図4A、下のパネル)、この突然変異は、分子コーミングでは検出することができなかった(エキソン13の重複は、存在するならば、2つの異なるS10B1シグナルを生じたであろう)。したがって、本発明者らは、MLPAで検出されるエキソン1A+1B突然変異が偽陽性シグナルであると考えている。偽陽性シグナルのリスクは、分子コーミングではより限定されている。

20

【0050】

(エキソン8~エキソン13の欠失(BRCA1))

目視検査により、突然変異は、シグナルS7B1とS8B1の間の大きなゲノム部分を含む、青のシグナルS7B1の欠失のように見えるものとして現われた(図4B)。測定後、該突然変異は、エキソン8~エキソン13をコードするBRCA1遺伝子の部分に26.7kbのサイズを有すると推定された。文献に報告されているサイズは23.8kbであり、これは、フランス人集団における再発性突然変異である(Mazoyerの文献、2005、Rouleauの文献、2007)。

30

【0051】

(エキソン2の5'領域の欠失(BRCA1))

目視検査により、突然変異は、緑のシグナルS10B1の欠失、並びにS11B1及びS12B1を含むBRCA1の上流の5'領域の大きなゲノム部分のように見えた(図4C)。測定後、この突然変異は、エキソン2をコードするBRCA1遺伝子の部分、NBR2遺伝子全体(シグナルS11B1)、NBR2と偽遺伝子BRCA1の間のゲノム領域(シグナルS12B1)、及びBRCA1の一部(シグナルS13B1)を包含する37.1kbのサイズを有すると推定された。重要なことに、この種の再編成の報告されたサイズは、当初は13.8~36.9kbの範囲(Mazoyerの文献、2005)、ごく最近では40.4~58.1kb(Rouleauの文献、2007)で大きなばらつきがある。6つの異なるエキソン1~2欠失は、いくつかの異なる集団で16回報告されている(Sluisiterの文献、2010)。本明細書で報告された再編成は、同一のサイズ(36 934bp)で3回記載されている。組換えのホットスポットは、BRCA1の存在によって説明される。分子コーミングは、この極めて相同な領域中の事象でさえも特徴付けることができることが分かった。

40

【0052】

50

本明細書で報告された結果は、BRCA1及びBRCA2遺伝子中の大きな再編成の検出のための分子コーミングに基づく新規の遺伝子検査の開発を開示及び例示している。大きな再編成は、BRCA1遺伝子中の有害な生殖系列突然変異の10～15%及びBRCA2遺伝子中の1～7%に相当する(Mazoyerの文献、2005)。特異的な高解像度GMCを設計し、一連の16の生体サンプルで検査し、関連する測定戦略のロバスト性を10の対照サンプルで統計的に検証し、6つの異なる大きな再編成を、重度の乳癌家族歴を有する患者由来のサンプルで検出し、特徴付けた。新たに設計された、反復配列を欠くGMCのロバスト性は、本発明者らの分子コーミング法によって、同じサンプルに対する高解像度の拡大aCGH(11k)で得られた結果が、1～2kbの範囲の解像度で確認された(Rouleauらの文献、2007)という事実によって支持される。

【0053】

タンデムリピート重複は、検出が最も難しい大きな再編成である。aCGH及びMLPAなどの他の技術とは異なり、ハイブリダイズしたDNAプローブを高解像度で可視化する分子コーミングの能力によって、本明細書中、症例1(BRCA1 Dup Ex 13)に示すように、タンデムリピート重複の正確なマッピング及び特徴付けが可能になる。aCGHを用いて、重複の存在及びサイズを決定することができるが、タンデムリピート重複の正確な位置及び向きは決定することができない。MLPAなどのPCRベースの技術では、突然変異を保有するサンプル中の重複したエキソンの数と対照サンプル中のエキソンの数の比が、突然変異したサンプルにおける3コピーの特定のエキソンの存在及び野生型サンプルにおける2コピーの存在を示す、少なくとも1.5であるとき、重複が存在すると考えられる。1.5という比は、MLPAでは明確に示すことが難しい。MLPAは、症例1(BRCA1 Dup Ex 13)で観察されているように、偽陽性シグナルを生じることが多い。MLPAの限界は、いくつかの最近の研究で強調されている(Cavalieriらの文献、2008)、(Staafらの文献、2008)。MLPAは、コード配列に限定され、21のプローブという限られたカバレッジのために、偽陰性スコアを生じることもある(Cavalieriらの文献、2008)。さらに、MLPAでは、通常非常に大きなイントロン領域又は影響されるフランキング領域中の欠失又は重複切断点の位置に関する限られた情報しか提供されず、したがって、再編成の配列特徴付けのための骨の折れるマッピングを余儀なくされる。Staafらは、最近、MLPAを、CGHなどの他の突然変異特徴付け手段によって補完される必要があるスクリーニングツールとみなすべきであると提唱した(Staafらの文献、2008)。本発明者らは、分子コーミングをそのようなMLPA又はaCGHの代替技術として提案しているが、それは、分子コーミングによって、重複が明確に同定及び可視化されるからである。

【0054】

本明細書に開示される分子コーミングの別の利点は、BRCA1遺伝子の5'領域、並びにNBR2遺伝子、BRCA1偽遺伝子、及びNBR1遺伝子を含むBRCA1の上流のゲノム領域を含む、非コード領域をカバーするその能力であった。最近の研究により、重複した領域及び高密度のAluリピートが存在するため、この再編成が生じやすいゲノム領域で利用できるPCR又はaCGHプローブを設計することが極めて難しいことが示されている(Rouleauらの文献、2007)、(Staafらの文献、2008)。ゲノム再編成は、通常、Aluリピートを含む短鎖散在反復配列(short interspersed nuclear elements)(SINE)、長鎖短鎖散在反復配列(long interspersed nuclear elements)(LINE)、又は単純なリピート配列間の不均等な相同組換えによって生じる。

【0055】

本明細書中、症例3及び2(BRCA1 Del Ex 2)に示すように、分子コーミングは、この難しい領域内での正確な物理マッピングを可能にする。これらの症例において、本発明者らは、それぞれ、38.5kb及び37.1kbの突然変異サイズを測定した。症例3及び2は、同じ家族に属するので、aCGHで確認したとき、検出された突然変異は、どちらの症例でも同じであった(Rouleauらの文献、2007)。これら2つの症例間での1.4kbという測定差は、分子コーミングアッセイの1～2kbの解像力範囲(definition range)の範囲内にあるので、許容される。該突然変異は、Pugetらにより初めて記載されたものであり、Pugetらは、第一世代の分子コーミング「カラーバーコーディング」スクリーニング法で突然変異サイズ(37kb)を決

定した(Pugetらの文献、2002)。aCGHで推定されたサイズは、このゲノム領域中で利用できるオリゴヌクレオチド配列の密度が低く、また、配列相同性が原因で22someオリゴヌクレオチドの感度が低いために、40.4~58.1kbの範囲であった(Rouleauらの文献、2007)。したがって、分子コーミングは、多数の反復エレメントを含む、シーケンシングが難しいゲノム領域の解析に使用することができる。本明細書において、本発明者らは、BRCA1中の高濃度のAlu配列が分子コーミングの障害にならないことを示している。

【0056】

(乳癌患者におけるこれまでに特徴付けられていないBRCA1の大きな再編成の検出)

さらなるサンプルを検査し、本発明者らは、他の技術では正確に記述することができなかった再編成を分子コーミングにより特徴付けた。1つのそのような例を以下で詳述する。

10

【0057】

(BRCA1のエキソン1a、1b、及び2、並びにNBR2の一部の三重重複)

本発明者らは、サンプル#7(Institut Claudius Regaud, Toulouse, Franceにより提供されたもの)を、図5に記載のプロープのセットを用いて、分子コーミングにより解析した。目視検査により、S9B1プロープの末端からS11B1プロープの反対の末端にまで及ぶモチーフg7b1の長さが異なるBRCA1遺伝子の2つのアレルを同定した。該突然変異は、プロープ色スワッピング実験で確認したとき、SYNT1プロープ(配列番号133)及びS10B1プロープの部分を含む三重重複であるように見える。5~10kbの間に含まれるサイズを有するDNAセグメントのこの三重重複は、BRCA1遺伝子のエキソン1a、1b、及び2、並びにおそらくは、NB

20

【0058】

そのような三重重複は、このゲノム領域中ではまだ報告されていない。これは、突然変異を検出する関連技術がこれまでなかったことによる可能性がある。したがって、本発明者らは、この突然変異に特異的な検査を設計した。これらの検査を用いて、この三重重複についてスクリーニングし、又はこの三重重複を、この領域での再編成が疑われるサンプル中で確認することができる。PCR、定量的PCR(qPCR)、MLPA、aCGH、シーケンシング...などの、いくつかの種類の可能な検査がある。

【0059】

所与の配列のいくつかのコピーを提供する定量技術(qPCR、MLPA、aCGH、...)の結果は、該配列のさらなるコピーのタンデム性の直接的評価を提供するものではない。本明細書で報告される三重重複は、BRCA1のエキソン1a、1b、及び/もしくは2内の配列、並びに/又はこれらのエキソン間の配列が多数の(2倍体ゲノム当たり2よりも多くの)コピーで存在する場合に疑うことができる。一般的に言って、これらの結果が、重複した配列について決定された閾値を上回る(合計3コピーの重複した配列を有する)場合、サンプルは、(2つの別々のアレル中の配列の重複ではなく)単一のアレル上の三重重複を有することが疑われるべきである。三重重複及びそのタンデム性の確認は、PCR検査によるか、又はこの節及び実施例の節に記載されている分子コーミング検査によるかのいずれかで得ることができる。

30

【0060】

これはより直接的な方法であるので、本発明者らは、本明細書中、実施例の節において、いくつかのPCR設計を詳述する。当業者は、一般に知られている共通の分子生物学的方法により、例えば、記載された配列範囲内でプライマー位置を修飾することにより、及び/又は実験条件(PCRのアニーリング温度、伸長時間、...)を修飾することにより、これらの検査を適応させることができる。また、これらの検査を、他の突然変異も探索される「マルチプレックス」検査に含めることもできる。例えば、三重重複を検出するために設計された、以下に記載されている1つ又はいくつかのプライマー対を、異なるアンプリコンを標的とする1つ又はいくつかの他のプライマー対と同時に使用することができる。これらの適応の他に、記載されている分子検査について、いくつかの一般的な変種が存在する。とはいえ、これらの変種は、記載されている検査と機能的に同一のままであり、本発明者

40

50

らの設計のこれらの変種への適応は、当業者によって容易に実現可能である。例えば、シーケンシングを標的化リシーケンシングに置き換えることができ、その場合、関心対象の領域におけるカバレッジを増大させるために、関心対象の領域が、他のゲノム領域について、シーケンシング工程前に単離される。別の例として、増幅後のDNAの量を一般的なアガロース電気泳動によって評価する半定量PCRがQMPSFに取って代わることができる。

【0061】

これらの結果は、開発された分子コーミングプラットフォームが、特に、ハイリスク乳癌家系におけるタンデムリピート重複、CNV、並びに転座及び逆位などのBRCA1及びBRCA2の他の複雑な再編成の遺伝子スクリーニングのための有益なツールであることを示している。

10

【0062】

開発された分子診断ツールの際立った用途は、予測的遺伝子検査としてものである。しかしながら、本明細書に開示される方法及びツールは、例えば、PARP阻害剤の開発に関連するBRCA突然変異細胞のスクリーニングのための併用診断検査として又は該併用診断検査において適用することができる。そのような遺伝子検査は、臨床血液サンプルだけでなく、循環細胞及び不均一な細胞集団、例えば、腫瘍組織にも適用することができる。

【実施例】

【0063】

(実施例1)

20

(材料及び方法)

(事前患者スクリーニング)

ゲノムモルスコードをBRCA1又はBRCA2で有害な突然変異が検出されない患者(対照患者)由来の10個のサンプルで検証した。遺伝子検査を、乳癌家族歴陽性で、かつBRCA1又はBRCA2のどちらかに影響を及ぼす大きな再編成を有することが知られている患者由来の6つのサンプルで検証した。全ヒトゲノムDNAをEBV不死化リンバ芽球様細胞株から得た。大きな再編成の事前スクリーニングは、Casilliら及びTournierらによって記載されている条件(Casilliらの文献、2002)でのQMPSFアッセイ(短い蛍光断片の定量的マルチプレックスPCR)で、又はSALSA MLPAキットP002(MRC Holland, Amsterdam, The Netherlands)をBRCA1に及びP045(MRC-Holland)をBRCA2に用いるMLPA(マルチプレックスライゲーション依存性プローブ増幅)によって実施した。16人の患者全員が、BRCA1及びBRCA2解析に関する自筆の同意書を提出した。

30

【0064】

(分子コーミング)

(サンプル調製)

全ヒトゲノムDNAをEBV不死化リンバ芽球様細胞株から得た。45 μ Lの 10^6 個の細胞のPBS懸濁液を、事前に50 $^{\circ}$ Cで平衡化した1 \times PBS中で調製した等容量の1.2%Nusieve GTGアガロース(Lonza, Basel, Switzerland)と混合した。プラグを4 $^{\circ}$ Cで30分間固化させておき、その後、細胞膜を可溶化し、タンパク質を、250 μ Lの0.5M EDTA pH 8.0、1%サルコシル(Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA)、及び2mg/mLプロテイナーゼK(Eurobio, Les Ulis, France)中、50 $^{\circ}$ Cでの終夜インキュベーションにより消化し、プラグを、10mM Tris、1mM EDTA pH 8.0中、室温で3回洗浄した。その後、プラグを、0.5M 7EDTA pH 8.0中、4 $^{\circ}$ Cで保存するか、又はすぐに使用した。保存したプラグは、使用前に、10mM Tris、1mM EDTA pH 8.0中で30分間、3回洗浄した。

40

【0065】

(プローブ調製)

BRCA1及びBRCA2プローブは全て、PCRアンプリコンをインサートとして用いて、TOPOクローニングにより、pCR2.1-Topo又はpCR-XL-Topo(Invitrogen)プラスミドにクローニングした。アンプリコンは、細菌人工染色体(BAC)を鋳型DNAとして用いて得られた。以下のBAC: BRCA1用の207-kbのBACRP11-831F13(ch17: 41172482-41379594, Invitrogen, USA);及

50

びBRCA2用の172-kbのBAC RP11-486017(ch13: 32858070-33030569, Invitrogen, USA)を使用した。プライマー配列及びプローブ座標については、表1及び2を参照されたい。プライマー配列は、配列番号1～配列番号130として参照されている。場合により(表1に詳述したように)、クローニングを容易にするために、追加の人工配列をプライマーの5'末端に付加した。これらの人工配列は、フォワードプライマー用の配列番号134(フォワードプライマープレフィックス)及びフォワードプライマー用の配列番号135(リバースプライマープレフィックス)であり、両方とも、ポリA並びにそれぞれ、AscI及びPacIのための制限部位を含む。

【0066】

配列番号131(BRCA1-1A)、配列番号132(BRCA1-1B)、及び配列番号133(BRCA1-SYNT1)は、プローブ配列の例である。

10

【0067】

プラスミド全体をランダムプライミングによるプローブ標識のための鋳型として使用した。簡潔に述べると、ビオチン(Biota)標識のために、200ngの鋳型を、終夜標識反応で、製造業者の指示に従って、DNA Bioprimeキット(Invitrogen)で標識した。Alexa-488(A488)又はジゴキシゲニン(Dig)標識のために、同じキット及びプロトコルを使用した。関連する標識dNTP、すなわち、Dig-11-dUTP(Roche Diagnostics, Meylan, France)又はA488-7-OBEA dCTP(Invitrogen)及びその非標識同等品をどちらも100 µMで、かつ他の全てのdNTPを200 µMで含むようにdNTP混合物を修飾した。標識プローブを-20 °Cで保存した。各カバースリップについて、5 µLの各標識プローブ(標識反応産物の1/10)を10 µgのヒトCot-1及び10 µgのニシン精子DNA(両方ともInvitrogen製)と混合し、エタノール中で沈殿させた。その後、ペレットを、22 µLの50%ホルムアミド、30%Blocking Aid(Invitrogen)、1×SSC、2.5%サルコシル、0.25%SDS、及び5mM NaClに再懸濁させた。

20

【0068】

(ゲノムDNAコーミング及びプローブハイブリダイゼーション)

ゲノムDNAを、3 µM Yoyo-1(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)を含む40mM Tris、2mM EDTA中、暗所、室温での1時間のインキュベーションにより染色した。その後、プラグを1mLの0.5M MES pH 5.5に移し、68 °Cで20分間インキュベートして、アガロースを溶解させ、その後、1.5Uの アガロースI(New England Biolabs, Ipswich, MA, USA)とともに、42 °Cで一晩インキュベートした。該溶液を、1mLの0.5M MES pH 5.5を既に含むコーミング容器に移し、DNAコーミングを、専用力カバースリップ(Combicoverslip)(両方ともGenomic Vision, Paris, France製)上で、分子コーミングシステムを用いて実施した。

30

【0069】

その後、DNAがコーミングされたコーミカバースリップ(Combicoverslip)を60 °Cで4時間焼く。該カバースリップを-20 °Cで保存するか、又はすぐにハイブリダイゼーションに使用した。コーミングの質(DNA分子の直線性及び密度)を、FITCフィルターセット及び40倍空気対物レンズを備えた落射蛍光顕微鏡下で推定した。新たにコーミングされたカバースリップを、1 µLのYoyo-1溶液を含む1mLのProLong-gold溶液(両方ともInvitrogen製)のうちの20 µLにマウントする。ハイブリダイゼーションの前に、カバースリップを、70%、90%、及び100%エタノール浴中での3分間の連続インキュベーションにより脱水し、その後、室温で10分間風乾させた。プローブミックス(20 µL; プローブ調製を参照)をカバースリップ上で行き渡らせ、その後、90 °Cで5分間変性させておき、ハイブリダイザー(Dako)中、37 °Cで一晩ハイブリダイズさせておいた。カバースリップを、50%ホルムアミド、1×SSC中で、5分間3回、その後、2×SSC中で、3×3分間洗浄した。

40

【0070】

ランダムプライミング反応で利用された修飾ヌクレオチド(上記参照)に応じて、連続2層又は3層のフルオロフォア又はストレプトアビジンコンジュゲート抗体で検出を実施した。ビオチン標識プローブの検出のために、使用された抗体は、1番目及び3番目の層については、ストレプトアビジン-A594(Invitrogen, Molecular Probes)、2番目の層についてはビオチン化ヤギ抗ストレプトアビジン(Vector Laboratories)であり; A488標識プローブ

50

の検出のために、使用された抗体は、1番目については、ウサギ抗A488(InVitrogen, Molecular Probes)、2番目の層については、ヤギ抗ウサギA488(InVitrogen, Molecular Probes)であり;ジゴキシゲニン標識プローブの検出のために、使用された抗体は、1番目の層については、マウス抗Dig(Jackson ImmunoResearch)、2番目の層については、ラット抗マウスAMCA(Jackson ImmunoResearch)、及び3番目の層については、ヤギ抗マウスA350(InVitrogen, Molecular Probes)であった。

【 0 0 7 1 】

20分間のインキュベーション工程を、各層について、湿潤チャンバー中、37℃で実施し、層と層の間を、2×SSC、0.1%Tween中、室温で、連続3回3分間洗浄した。PBS中でのさらに3回の3分間の洗浄、並びに70%、90%、及び100%エタノール中での連続3分間の洗浄による脱水を実施した後、カバースリップを標本化した。

10

【 0 0 7 2 】

(画像の獲得)

画像の獲得は、カスタマイズされた自動化蛍光顕微鏡(Image Xpress Micro, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)を40倍の倍率で用いて実施し、画像解析及びシグナル測定は、ソフトウェアImageJ(<http://rsbweb.nih.gov/ij>)及びJMeasure(Genomic Vision, Paris, France)を用いて実施した。BRCA1及びBRCA2プローブに対応するハイブリダイゼーションシグナルは、プローブの連続によって作られる特定のパターンに基づいて操作者によって選択された。同じDNA繊維に属する全てのモチーフシグナルについて、操作者は、セグメントの末端を設定し、その内容及び長さ(kb)を1:1スケールの画像上で決定した。その後、データをスプレッドシートとして出力した。最終的な解析では、無傷のモチーフシグナルのみを検討し、繊維の切断がBRCA1又はBRCA2モチーフ内で生じなかったことを確認した。

20

【 0 0 7 3 】

(統計解析)

分子コーミングは、1µmが2kbに相当するという物理距離と輪郭長の相関関係で、DNA分子を均一に伸張させる(Michaletらの文献、1997)。結果として、大きな再編成がない場合、導出される伸張係数(SF)は、2kb/µm(±0.2)に近い値を有する。

【 0 0 7 4 】

7つ全てのBRCA1モチーフ(g1b1~g7b1)及び5つ全てのBRCA2モチーフ(g1b2~g5b2)を20個全ての生体サンプルで測定した。10人の健常対照で測定された全てのモチーフの平均値サイズは、関連する統計解析を含め、表S1に報告されている。6人の乳癌患者で測定された全てのモチーフのサイズは、関連する統計解析を含め、表S2に報告されている。各モチーフについて、以下の値を決定した:測定された画像の数(n)、理論的に計算される長さ(計算値(kb))、平均測定長(μ (kb))、標準偏差(SD(kb))、変動係数(CV(%))、 μ と計算値の差(デルタ)、及び伸張係数($SF = (\text{計算値} / \mu) \times 2$)(Michaletらの文献、1997)。突然変異がない場合、デルタ値は、-1.9kb~1.9kbの間に含まれ、SF値は、1.8~2.2の間に含まれる。BRCA1又はBRCA2上の大きな再編成の存在を、対応するGMCの目視検査によりまず同定した。数多くのデータから、本発明者らは、BRCA1とBRCA2の両方に大きな再編成が存在する場合、デルタ ≥ 2 kb(重複の場合)又はデルタ ≤ -2 kb(欠失の場合)であり、かつ対応するSF値は、 ≥ 2.3 kb/µm(欠失の場合)又は ≤ 1.7 kb/µm(重複の場合)であることを立証した。大きな再編成の存在を確認するために、関心対象のモチーフ(複数可)を、野生型(wt)及び突然変異(mt)アレルを含む、全画像群(通常、20~40枚)でまず測定した。その後、大きな再編成が存在する場合、突然変異サイズを測定することを目的として、画像をwt及びmtアレルに対応する2つのグループに分けた。2つのグループのn枚の画像の各々において、以下の値を計算した: μ (kb)、SD(kb)、CV(%)。その後、野生型アレルの μ 値を突然変異アレルの μ 値と比較した。この目的のために、本発明者らは、平均の標準誤差($SEM = SD / \sqrt{n}$)及び95%信頼区間($95\%CI = \mu \pm 2 \times SEM$)を計算した。その後、突然変異サイズを2つのアレルの平均サイズの差として計算した:突然変異サイズ = $\mu(BRCA1^{mt}) - \mu(BRCA1^{wt})$ 。関連誤差を以下の式に従って計算した:

30

40

50

誤差 = ((($\mu^{mt} + 2 \times SEM^{mt}$) - ($\mu^{wt} - 2 \times SEM^{wt}$)) - (($\mu^{mt} - 2 \times SEM^{mt}$) - ($\mu^{wt} + 2 \times SEM^{wt}$))) / 2.

【 0 0 7 5 】

(実施例2: 本発明の遺伝子モールスコード及び分子コーミングと従来のカラーバーコード法との比較)

(第1部 .BRCA1及びBRCA2の大きな再編成の特徴付けへの分子コーミングの以前の適用: 低解像度カラーバーコード(CBC)の設計)

分子コーミングは、BRCA1及びBRCA2遺伝子中の大きな再編成を検出するために、Gadらによって既に使用されている(Gadの文献、GenChrCan 2001、Gadの文献、JMG 2002)。当初使用されたハイブリダイゼーションDNAプローブは、コスミド、PAC、及びロングレンジPCR産物から構成される低解像度「カラーバーコーディング」スクリーニング法の一部であった。いくつかのプローブは小さく、6~10kbの範囲であり、BRCA1及びBRCA2遺伝子座のごく一部をカバーしていた。他のプローブは、非常に大きく(BRCA1用の120kbの大きさがあるPAC 103014、及びBRCA2用の180kbの大きさがあるBAC 486017)、全ての反復配列を含む、遺伝子座全体をカバーしていた。したがって、妨害する可能性のある反復配列を同定するためのパイオインフォマティクス解析は実施すらされていない。より重要なことに、これまで、どの反復配列もCBCの設計から除外されたことがない。このため、スクリーニングされた突然変異の特徴付けが不完全に終わることが多かった(第3部参照)。結果として、プローブの検出は、個々のカラーシグナルの重畳(例えば、異なるカラーシグナルの重畳から生じる黄/白スポット)及び強いバックグラウンドノイズをもたらすことが多く、画質を低下させ、シグナル長を測定するためのロバストな戦略の開発を妨げた。さらに、どのDNAプローブも、単離され、インサートベクターにクローニングされることがなかった。BRCA1カラーバーコード(CBC)が、わずか7つのDNAプローブ((Gadらの文献、Genes Chromosomes and cancer 31:75-84(2001)))から構成されていたのに対し、BRCA2 CBCは、わずか8つのDNAプローブから構成されていた(Gadらの文献、J Med Genet(2002))。このDNAプローブの数の少なさのために、高解像度物理マッピングが可能にならなかった。

【 0 0 7 6 】

重要なことに、そのような低解像度スクリーニング法では、タンデムリピート重複又は三重重複などの複雑な突然変異の明確な可視化が可能にならなかった。対照的に、タンデムリピート重複及び三重重複の完全な特徴付けは、高解像度GMCで可能である(実施例1参照)。さらに、全ての突然変異エキソンの正確な物理マッピングは、問題となることが多く、さらなる骨の折れるシーケンシング実験が必要となる。このため、スクリーニングされた突然変異の特徴付けが不完全に終わることが多かった(第3章参照)。

【 0 0 7 7 】

(第2部 .BRCA1及びBRCA2の大きな再編成の特徴付けへの分子コーミングの新しい適用: 高解像度ゲノムモールスコード(GMC)の設計及び遺伝子検査の開発)

本発明の新規性に関する重要な点は、BRCA1ゲノム領域とBRCA2ゲノム領域の両方についての高解像度ゲノムモールスコード(GMC)の設計及びクローニングである。BRCA1 GMCが、35のDNAプローブから構成されているのに対し(図1)、BRCA2 GMCは、27のDNAプローブから構成されている(図2)。

【 0 0 7 8 】

比較図1: コンピュータで生成された(上)及び顕微鏡で観察された(下)高解像度のBRCA1 GMC。

比較図2: コンピュータで生成された(上)及び顕微鏡で観察された(下)BRCA2の高解像度GMC。

【 0 0 7 9 】

反復配列を欠くBRCA1中の35のゲノム領域及びBRCA2中の27の領域を同定し、これらを用いて、対応するDNAハイブリダイゼーションプローブを設計し、クローニングした。利用されたDNAハイブリダイゼーションプローブの詳細(名前、サイズ、座標、色、及びカバーされるエキソンの性質)は全て上に記載されている。クローニングされたDNAプローブによ

り、欠失したエキソンの正確な物理マッピングが可能になり、BRCA1及びBRCA2中の大きな再編成の同時検出が可能になる。上記の解像度の改善によって、本発明者らは、その観察結果を乳癌及び卵巣癌のためのロバストな予測的遺伝子検査の開発につなげることが可能になった(実施例1参照)。

【0080】

(第3部:高解像度GMCにより、低解像度CBCでは特徴付けることができない複雑な突然変異(例えば:タンデムリピート重複及び三重重複)の明確な検出及び可視化が可能になる)

以下は、低解像度CBCでは特徴付けることができなかった(又は一部しか特徴付けることができなかった)が、高解像度GMCで正確かつ明確に特徴付けることができた複雑な突然変異の選択された例である:

【0081】

(3.1 BRCA1 Dup ex 18-20)

(CBC:)

Gadらによって作成された画像(Gadらの文献、Oncogene 2001の図1の症例IC171712)は低い解像度を有しており、欠失したエキソンの性質及び特に内容は、目視検査では規定することができない。結果として、突然変異のサイズは決定されておらず、作成された画像が測定に関して問題があったことを裏付けるものである。

【0082】

(GMC:(実施例1の表S2参照))

目視検査により、この突然変異は、赤いシグナルS5B1のタンデム重複のように見える。測定後、該突然変異は、エキソン18~20をコードするゲノムの部分に限定される、 6.7 ± 1.2 kbのサイズを有すると推定された。推定された突然変異サイズは、文献(Staaafの文献、2008)に報告されている8.7kbと完全に一致している。測定及び統計解析に関する詳細は、実施例1に見出すことができる。

【0083】

比較図3:CBC(上)及びGMC(下)によるBRCA1突然変異Dup ex 18-20の特徴付け

【0084】

(3.2 BRCA1 Del ex 8-13)

(CBC:)

Gadらによって作成された画像(Gadらの文献、Oncogene 2001の図1の症例IC657)は、低い解像度を有しており、欠失したエキソンの性質は、目視検査では明確に規定することができない。測定後の突然変異のサイズは、 20.0 ± 9.6 kbであり、重大な標準偏差を有していた。

【0085】

(GMC:(図4B、実施例1参照))

目視検査により、突然変異は、明らかに、シグナルS7B1とS8B1の間の大きなゲノム部分を含む、青のシグナルS7B1の欠失のように見えた。測定後、突然変異は、 20 ± 2.8 kbのサイズを有し、より小さい誤差を有すると推定された。

【0086】

(3.3 BRCA1 Dup ex 13(6.1kb))

(CBC:)

突然変異に関連する顕微鏡画像は、これまで提供されてこなかった。推定された突然変異サイズは、 5.8 ± 1.8 kbであったが(Gadらの文献、Oncogene 2001の図3の症例IARC3653)、目視検査で裏付けられていない。

【0087】

(GMC:(図4A、実施例1参照))

分子コーミングによる目視検査により、この突然変異は、青のシグナルS7B1の部分的タンデム重複のように見える。測定後、該突然変異は、エキソン13をコードするDNAプローブBRCA1-8の部分に限定される、 6.1 ± 1.6 kbのサイズを有すると推定された。推定された突然変異サイズは、文献(Pugetの文献、1999)に報告されている6.1kbと完全に一致してお

10

20

30

40

50

り、乳癌インフォメーションコアデータベースによれば、この突然変異は、BRCA1中の最も頻度の高い10の突然変異に属している(Szaboの文献、2000)。したがって、画像と測定結果の間には完全な相関性があり、文献中に存在する値との相関性がある。

【0088】

(3.4 BRCA1のエキソン1a、1b、及び2、並びにNBR2の一部のタンデムリピート三重重複)(CBC:)

タンデム三重重複は、これまでCBCを用いて報告されていない。

【0089】

(GMC:)

分子コーミングによる目視検査により、S9B1プローブの末端からS11B1プローブの反対の末端にまで及ぶモチーフg7b1の長さが異なるBRCA1遺伝子の2つのアレルをInstitut Claudius Regaud, Toulouse, Franceにより提供されたサンプルで同定した。突然変異は、プローブ色スワッピング実験で確認したとき、SYNT1及びS10B1プローブの部分を含む三重重複であるように見えた。5~10kb、及びおそらくは、6~8kbの間に含まれるサイズを有するDNAセグメントこの三重重複は、BRCA1遺伝子のエキソン1a、1b、及び2、並びにおそらくは、NBR2遺伝子の5'先端の部分を含む。

【0090】

CBCは、せいぜい、この突然変異を単一のプローブの長さの増加として検出するぐらいであつたろうし、したがって、該突然変異をタンデム三重重複として特徴付けることができなかったであろう。分子コーミングとは異なり、MLPA又はaCGHなどの現在の分子診断技術はいずれも、重複又は三重重複が(BRCA1内で)タンデムになっているか、それとも(BRCA1の外に)散在しているかを評価することができない。この観察は、リスク評価の点で明確な相違を生じるが、それは、BRCA1遺伝子座の外の反復ゲノム部分に臨床的意義があるという証拠がないからである。分子コーミングは、突然変異がBRCA1遺伝子内で生じ、したがって、臨床的に有意義であることを強調するものである。

【0091】

CBCと比べたGMCの以下の重要な利点は、上の実施例から明白である：

- 高解像度の目視検査
- 突然変異エキシソンの正確なマッピング
- ロバスト統計による突然変異サイズの正確な測定
- BRCA1及びBRCA2の同時検出
- 逆位及び転座の検出
- GMC BRCA1及びBRCA2についての妨害反復配列(AIu配列)の不在。

【0092】

(BRCA1の5'領域中の三重重複を検出するために特異的な検査)

上記の三重重複又は緊密な三重重複を明確に検出するためのPCR検査は、2つの方法：

- a-三重重複していないアレルでは現れないPCR断片の三重重複したアレルでの出現；又は
- b-PCR断片のサイズの変化

のうちのどちらか1つによって、三重重複していない形態と三重重複したアレルとを区別することができる。

【0093】

三重重複における配列の構成を用いて、PCR増幅がタンデムリピート中でのみ可能となるように、プライマー対を設計することができる。該プライマーのうちの一方が、増幅配列中に位置し、かつBRCA遺伝子と同じ向き(5'から3')にある場合、もう一方は、第一のプライマーの上流に位置する増幅配列内の配列の逆相補体であり(すなわち、第一のプライマーの位置から第二のプライマーへの方向は、BRCA遺伝子の3'末端から5'末端への方向と同じであり)、非突然変異サンプルでのPCRは、プライマーの向きがそれを許さないので、不可能である。逆に、三重重複サンプルでは、リピート単位上でハイブリダイズする第一のプライマーは、第一のプライマーのリピート単位のすぐ上流のリピート単位中でハイブリダイズする第二のプライマーに対して正しく配向している。したがって、PCRが可能で

ある。三重重複サンプルでは、このように設計されたプライマーの対を用いて、2つのPCR断片が得られるはずである。重複のあるサンプルでは、1つの断片しか現われないであろう。より小さいPCR断片(又は重複の場合、唯一の断片)のサイズは、以下の距離の合計である:

第一の(下流)プライマーから下流(BRCA1遺伝子に対して3'方向)の切断点まで測定されるD、及び

第二の(上流)プライマーから上流(BRCA1遺伝子に対して5'方向)の切断点まで測定されるU。

【0094】

したがって、この測定は、両方の切断点の位置範囲を提供するものであり、下流の切断点は、下流プライマーの位置から(下流方向に)s以下離れており、上流の切断点は、上流プライマーの位置から(上流方向に)s以下離れている。加えて、三重重複配列のサイズ(L)は、2つのプライマー間の距離であるU+Dの合計であるので、Lは、PCR断片のサイズから容易に推定することができる。

【0095】

より大きい断片のサイズは、Lとより小さい断片のサイズの合計である。したがって、より小さい断片のサイズをより大きい断片のサイズから引くことにより、三重重複配列のサイズを第二の独立の評価において容易に評価することができる。これにより、切断点の位置に関する不確実性が低下する。したがって、このように設計された検査により、三重重複の正確な特徴付けが可能になる。ここで同定される三重重複の位置を所与として、三重重複を検出するために使用されるプライマー対は、以下の下流及び上流プライマーのうちの1つ又はいくつかの組合せを含むことができる(下流プライマーとして設計されるプライマーは、BRCA1遺伝子に対して順方向にあり、一方、上流プライマーは、BRCA1遺伝子の第一鎖と逆相補的である)。プライマーの組合せを選ぶ際、下記の規定に加えて、下流プライマーが上流プライマーの下流に位置するように、プライマー位置を選ばなければならない。

【0096】

下流プライマーは:

- i) 好ましくは、エキソン2の3'末端から2~4kb離れた、より好ましくは、エキソン2の3'末端から2.5~3kb離れた、BRCA1のエキソン2と3の間の領域中
- ii) エキソン2の3'末端から2kb以内、好ましくは、1.5kb以内、及びより好ましくは、エキソン2の3'末端から1kb以内にある、BRCA1のエキソン2と3の間の領域中に位置することができる。

【0097】

上流プライマーは:

- i) BRCA1のエキソン1aから2kb以内、好ましくは、1.5kb以内、及びより好ましくはBRCA1のエキソン1aの1kb以内にある、BRCA1遺伝子とNBR2遺伝子の間の領域中;
- ii) BRCA1のエキソン1a内、又はエキソン1b内、又はエキソン1aと1bの間の領域中;
- iii) エキソン1bと2の間の領域、又はエキソン2中、又はエキソン2と3の間の領域中に位置することができる。

【0098】

そのような組合せの例は、プライマーBRCA1-Synt1-R(配列番号126)及びBRCA1-A3A-F(配列番号25)からなるプライマー対である。

【0099】

上の組合せは、包括的であることが意図されるものではなく、当業者は、プライマーの向き及び相対位置が記載されている通りに選ばれることを条件として、上流及び下流プライマーのための他の位置を同様に選ぶことができる。プライマーのいくつかの組合せを別々の実験で又は単一の実験で 사용할ことができる(どちらの場合にも、全ての「上流」プライマーは、全ての「下流」プライマーの上流に位置しなければならない。4つ以上のプライマーを同時に使用する場合(マルチプレックスPCR)、得られるPCR断片の数は、切断

点の正確な位置によって変動し(PCR断片は、非突然変異サンプルでは全く出現しない)、突然変異の特徴付けは難しい。したがって、少なくとも1つの断片がマルチプレックスPCRで観察される場合、別のプライマー対を用いる追加実験を実施することが望ましい。

【0100】

重要なことに、前段落に記載されている設計の場合、三重重複配列の向きは、あまり重要ではなく:実際、三重重複において、リピート単位のうちの少なくとも2つは同じ向きを共有し、少なくとも1つのPCR断片が増幅されるはずである。これは、逆方向リピートの場合と同様に、重複についても当てはまり、PCR断片は、逆(対向)方向の2つの別々の位置でハイブリダイズするプライマーのうちの1つから得られ、一方、直接タンデムリピートは、上記のような2つのプライマーからPCR断片を生成させる。

10

【0101】

三重重複及びそのタンデム性を明らかにするための別のタイプのPCR検査は、反復配列にまたがる(両方のプライマーが増幅配列の外側に残る)、又は切断点にまたがる(一方のプライマーが増幅配列の内部にあり、もう一方が増幅配列の外側にある)、又は増幅配列に完全に含まれるプライマー対を用いた、リピート配列のごく一部又は全体の増幅を必要とする。これらの検査により、所与のサイズのPCR断片が正常サンプル中に生成する一方、1つのアレル中に三重重複を有するサンプルでは、「正常」断片のサイズのもの1つと、リピート配列のサイズのもの2つを含む、1以上の追加のPCR断片が出現する。突然変異が存在する場合、これらの検査から、いくつかの解釈ができる結果が生じることが多い。単一の実験を実施して、突然変異を明らかにする場合、(一連の)補足的な検査を本明細書に提示されている設計に従って実施し、正確な解釈を確認することができる。ここで同定される三重重複の位置を所与として、三重重複を検出するために使用されるプライマー対は、少なくとも1つの下流プライマー及び1つの上流プライマーを含む、以下のプライマーのうちの1つ又はいくつかの組合せを含むことができる。下流プライマーとして設計されるプライマーは、BRCA1遺伝子配列に対して逆相補的であり、一方、上流プライマーは、BRCA1遺伝子に対して順方向にある。プライマーの組合せを選ぶ際、下記の規定に加えて、下流プライマーが上流プライマーの下流に位置するように、プライマー位置を選ばなければならない。

20

【0102】

下流プライマーは:

30

i) BRCA1遺伝子のエキソン3中;又は

ii) 好ましくは、エキソン2の3'末端から2kb超かつ10kb未満、より好ましくは、3kb超かつ8kb未満、及びさらにより好ましくは、エキソン2の3'末端から4kb超かつ6kb未満のBRCA1のエキソン2と3の間の領域中に位置することができる。

【0103】

上流プライマーは:

i) BRCA1のエキソン1aから10kb未満かつBRCA1のエキソン1aから1kb超、好ましくは、8kb未満かつ2kb超、及びより好ましくは、BRCA1のエキソン1aの6kb未満かつ4kb超のBRCA1遺伝子とNBR2遺伝子の間の領域中;又は

40

ii) エキソン1a中、エキソン1b中、もしくはBRCA1のエキソン1aと1bの間の領域中;又は

iii) エキソン2中、もしくはBRCA1のエキソン1bと2の間の領域中、もしくはエキソン2と3の間の領域中

iii)

iv)

に位置することができる。

【0104】

そのような組合せの例は、プライマーBRCA1-A3A-F(配列番号25)及びBRCA1-A3A-R(配列番号26)からなる、並びにプライマーBRCA1-Synt1-F(配列番号125)及びBRCA1-Synt1-R(配列番号126)からなるプライマー対である。

50

v) i)に記載の下流プライマー及びii)に記載の上流プライマー
vi) i)に記載の下流プライマー及びiii)に記載の上流プライマー
vii) ii)に記載の下流プライマー及びi)に記載の上流プライマー

【0105】

本発明の具体的な実施態様は、以下のものを含む：

1. 遺伝子座BRCA1又はBRCA2中の1以上の大きな又は複雑な突然変異又はゲノム再編成を同時に検出するための核酸組成物であって、200を上回るヌクレオチドを含み、かつ各々の該遺伝子の特異的な少なくとも2つのカラー標識プローブを含み、該プローブが、高解像度で視覚的に検出可能であり、かつ反復ヌクレオチド配列を含まない、前記核酸組成物。

10

【0106】

2. 遺伝子座BRCA1又はBRCA2中の1以上の大きな又は複雑な突然変異又はゲノム再編成を同時に検出するための実施態様1記載の核酸組成物であって、200を上回るヌクレオチドを含み、かつ各々の該遺伝子の特異的な少なくとも3つのカラー標識プローブを含み、該プローブが、高解像度で視覚的に検出可能であり、かつ反復ヌクレオチド配列を含まない、前記核酸組成物。

【0107】

3. BRCA1又はBRCA2遺伝子中の1以上の大きな又は複雑な突然変異又はゲノム再編成を同時に検出するための実施態様1又は2記載の核酸組成物であって、600を上回るヌクレオチドを含み、かつ各々の該遺伝子の特異的な少なくとも3つのカラー標識プローブを含み、該プローブが、高解像度で視覚的に検出可能であり、かつ反復ヌクレオチド配列を含まない、前記核酸組成物。

20

【0108】

4. 前記プローブが、一本鎖DNA繊維上、又は関心対象のポリヌクレオチド配列上、又は検査すべきゲノム上で同時に可視化される、実施態様1、2、又は3記載の組成物。

【0109】

5. 以下の突然変異：重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成の検出を可能にする、BRCA1又はBRCA2遺伝子座の特異的な少なくとも5つのカラー標識シグナルプローブを含む、実施態様1、2、3、又は4記載の組成物。

【0110】

6. 以下の突然変異：重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成の検出を可能にする、BRCA1又はBRCA2遺伝子座の特異的な少なくとも7つのカラー標識シグナルプローブを含む、実施態様1～4記載の組成物。

30

【0111】

7. 以下の突然変異：重複、三重重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成の検出を可能にする、BRCA1又はBRCA2遺伝子座の特異的な少なくとも9つのカラー標識シグナルプローブを含む、実施態様1～4記載の組成物。

【0112】

8. 以下の突然変異：重複、三重重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成の検出を可能にする、BRCA1又はBRCA2遺伝子座の特異的な少なくとも14のカラー標識シグナルプローブを含む、実施態様1～7記載の組成物。

40

【0113】

9. 以下の突然変異：重複、三重重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成の検出を可能にする、BRCA1又はBRCA2遺伝子座の特異的な少なくとも18のカラー標識シグナルプローブを含む、実施態様1～8記載の組成物。

【0114】

10. 検出されるゲノム再編成又は突然変異が1.5キロベース(kb)を超える、実施態様1～9記載の組成物。

【0115】

11. BRCA1又はBRCA2遺伝子座のコード又は非コード配列中の1以上の特定の大きな遺伝子

50

再編成又は突然変異の検出(有無)及び任意に特徴付けを含む、対象における乳癌又は卵巣癌の感受性の予測的遺伝子検査であって、該再編成が、実施態様1~10記載の組成物のいずれかによって可視化される、前記予測的遺伝子検査。

【0116】

12. 治療的処置に対する対象の感受性の検出方法であって、BRCA1又はBRCA2遺伝子又は遺伝子座のコード又は非コード配列中の1以上の遺伝子再編成又は突然変異を、該遺伝子再編成を実施態様1~10記載の組成物のいずれかを用いることによる分子コーミングによって可視化することにより同定することを含む、前記検出方法。

【0117】

13. 流体又は循環細胞又は生体サンプルの組織中での分子コーミング技術による少なくとも1つの大きな遺伝子再編成又は突然変異の検出方法であって、

a) 検査すべき遺伝物質を、工程a)のハイブリダイゼーションを高解像度で可視化する実施態様1~10記載の少なくとも2つのカラー標識プローブと接触させる工程、及び任意に

b) 工程b)の結果を、BRCA1又はBRCA2遺伝子又は遺伝子座中に再編成も突然変異も保有しない標準化された遺伝物質で得られる結果と比較する工程を含む、前記方法。

【0118】

14. 以下のものを含む組成物:

実施態様1~10記載の2以上のオリゴヌクレオチドプローブ;

該オリゴヌクレオチドプローブに相補的なプローブ;

ストリンジェントな条件下で実施態様1~10記載の該プローブにハイブリダイズするプローブ;

表1もしくは2記載のプライマー(配列番号1~配列番号130)の対を用いるPCRにより増幅されたプローブ;又は

BRCA1-1A(配列番号131)、BRCA1-1B(配列番号132)、もしくはBRCA1-SYNT1(配列番号133)を含むプローブ。

【0119】

15. BRCA1用の配列番号1~配列番号70及び配列番号125~配列番号130からなるプライマーの群から選択されるプライマーの組。

【0120】

16. BRCA2用の配列番号71~配列番号124からなるプライマーの群から選択されるプライマーの組。

【0121】

17. BRCA1又はBRCA2のコード配列、イントロン配列、又はフランキング配列を実施態様15又は16記載のプライマー対を用いて増幅することにより生成される単離又は精製されたプローブ。

【0122】

18. 配列番号131(BRCA1-1A)、配列番号132(BRCA1-1B)、もしくは配列番号133(SYNT1)のポリヌクレオチド配列を含むか、又はストリンジェントな条件下で配列番号131もしくは配列番号132もしくは配列番号133にハイブリダイズする単離又は精製されたプローブ。

【0123】

19. その各々が、BRCA1及び/又はBRCA2遺伝子を含むゲノムの一部に結合する少なくとも2つのポリヌクレオチドを含む組成物であって、該少なくとも2つのポリヌクレオチドの各々が、少なくとも200個の連続するヌクレオチドを含み、かつAlu反復ヌクレオチド配列の10%未満を含む、前記組成物。

【0124】

20. 前記少なくとも2つのポリヌクレオチドがBRCA1を含むゲノムの一部に結合する、実施態様19記載の組成物。

【0125】

21. 前記少なくとも2つのポリヌクレオチドがBRCA2を含むゲノムの一部に結合する、実

10

20

30

40

50

施態様19記載の組成物。

【0126】

22. 前記少なくとも2つのポリヌクレオチドの各々が、少なくとも500～最大6000個の連続するヌクレオチドを含み、かつAlu反復ヌクレオチド配列の10%未満を含む、実施態様19記載の組成物。

【0127】

23. 前記少なくとも2つのポリヌクレオチドが、検出可能な標識又はマーカーで各々タグ化されている、実施態様19記載の組成物。

【0128】

24. 異なる検出可能な標識又はマーカーで各々タグ化されている少なくとも2つのポリヌクレオチドを含む、実施態様19記載の組成物。

【0129】

25. 異なる検出可能な標識又はマーカーで各々タグ化されている少なくとも3つのポリヌクレオチドを含む、実施態様19記載の組成物。

【0130】

26. 異なる検出可能な標識又はマーカーで各々タグ化されている少なくとも4つのポリヌクレオチドを含む、実施態様19記載の組成物。

【0131】

27. 同じ又は異なる視覚的に検出可能なマーカーで各々独立にタグ化されている3～10のポリヌクレオチドを含む、実施態様19記載の組成物。

【0132】

28. 同じ又は異なる視覚的に検出可能なマーカーで各々独立にタグ化されている11～20のポリヌクレオチドを含む、実施態様19記載の組成物。

【0133】

29. 少なくとも2つの異なる検出可能な標識又はマーカーのうちの1つで各々タグ化された少なくとも2つのポリヌクレオチドを含む、実施態様19記載の組成物。

【0134】

30. BRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA遺伝子、BRCA1又はBRCAフランキング配列又はイントロン中の重複、三重重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成を検出する方法であって：DNAサンプルを単離すること、該サンプルを分子コーミングすること、分子コーミングされたDNAを、プローブとしての実施態様5記載の組成物と、ハイブリダイゼーションが起こるのに十分な時間及び条件下で接触させること、実施態様5記載の組成物の該DNAサンプルに対するハイブリダイゼーションを可視化すること、並びに該可視化を、再編成も突然変異も含まない正常な又は標準的なBRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA遺伝子、BRCA1又はBRCAフランキング配列又はイントロンの対照サンプルから得られる可視化と比較すること、を含む、前記方法。

【0135】

31. 該プローブが、1.5kbを超える再編成又は突然変異を検出するように選択される、実施態様30記載の方法。

【0136】

32. 卵巣癌又は乳癌に対する素因を、コード又は非コードBRCA1又はBRCA2遺伝子座配列中で検出される遺伝子再編成又は突然変異の種類に基づいて予測又は評価することをさらに含む、実施態様30記載の方法。

【0137】

33. 対象の治療的処置に対する感受性を、コード又は非コードBRCA1又はBRCA2遺伝子座配列中で検出される遺伝子再編成又は突然変異の種類に基づいて決定することをさらに含む、実施態様30記載の方法。

【0138】

34. BRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA2遺伝子、BRCA1又はBRCA2フランキング配列又はイントロン中の重複、欠失、三重重複、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成を検

10

20

30

40

50

出するキットであって、各々のポリヌクレオチドがBRCA1もしくはBRCA2遺伝子を含むゲノムの一部に結合する少なくとも2つのポリヌクレオチドであって、該少なくとも2つのポリヌクレオチドの各々が、少なくとも200個の連続するヌクレオチドを含み、かつ反復ヌクレオチド配列を含まず、ここで、該少なくとも2つのポリヌクレオチドが、視覚的に検出可能なマーカーでタグ化されており、かつBRCA1もしくはBRCA2遺伝子座、BRCA1もしくはBRCA2遺伝子、BRCA1もしくはBRCA2フランキング配列もしくはイントロンの特定のセグメント中の重複、欠失、逆位、挿入、転座、もしくは大きな再編成を同定するように選択されている、少なくとも2つのポリヌクレオチド、並びに任意にBRCA1もしくはBRCA2遺伝子座、BRCA1もしくはBRCA2遺伝子、BRCA1もしくはBRCA2フランキング配列もしくはイントロン中の重複も、欠失も、逆位も、挿入も、転座も、大きな再編成も有さない対象についてのハイブリダイゼーションプロファイルを記述する標準；分子コーミングを実施するのに必要な1以上のエレメント、使用説明書、及び/又は包装材料を含む、前記キット。

10

【0139】

35. 前記少なくとも2つのポリヌクレオチドが、卵巣癌又は乳癌と関連するBRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA2遺伝子、BRCA1又はBRCA2フランキング配列又はイントロンの特定のセグメント中の重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成を同定するように選択される、実施態様34記載のキット。

【0140】

36. 前記少なくとも2つのポリヌクレオチドが、特定の治療剤、薬物、又は処置に感受性のある種類の卵巣癌又は乳癌と関連するBRCA1又はBRCA2遺伝子座、BRCA1又はBRCA2遺伝子、BRCA1又はBRCA2フランキング配列又はイントロンの特定のセグメント中の重複、欠失、逆位、挿入、転座、又は大きな再編成を同定するように選択される、実施態様34記載のキット。

20

【0141】

37. ゲノムDNAを含むサンプル中で、BRCA1遺伝子の5'末端にまたがり、かつ少なくとも3コピーの配列からなるゲノム配列の増幅を検出する方法。したがって、本発明は、特に、ゲノムDNAを含むサンプル中で、BRCA1遺伝子の5'末端にまたがるゲノム配列からなる多数のタンデムコピーのリピート単位のリピート配列をインビトロで検出する方法であって、該リピート配列が、少なくとも3コピーの該リピート単位からなり、かつ该方法が：

- 該プライマーから始まるPCRによる重合を可能にするために、第一のプライマーと標的ゲノム配列の5'末端とのハイブリダイゼーション及び第二のプライマーと該標的配列の3'末端とのハイブリダイゼーションを可能にする条件を提供すること；

30

- 該プライマーとハイブリダイズした配列を増幅させること；

- それにより得られたアンプリコンを、特にプローブで検出し、かつそのサイズ又はその内容、特に、そのヌクレオチド配列を決定することを含む、前記方法に関する。

【0142】

38. 前記増幅配列が少なくとも2kb長である、実施態様37記載の方法。

【0143】

39. 前記増幅配列が少なくとも5kb長である、実施態様37記載の方法。

40

【0144】

40. 前記増幅配列が最大でも20kb長である、実施態様37記載の方法。

【0145】

41. 前記増幅配列が最大でも10kb長である、実施態様37記載の方法。

【0146】

42. 前記増幅配列が、少なくとも2kb長、及び最大でも20kb長である、実施態様37記載の方法。

【0147】

43. 前記増幅配列が、少なくとも5kb長、及び最大でも10kb長である、実施態様37記載の方法。

50

【 0 1 4 8 】

44. 前記増幅配列が、BRCA1遺伝子のエキソン1a、1b、及び2のうちの少なくとも1つを含む、実施態様37～43のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 4 9 】

45. 前記増幅配列が、BRCA1遺伝子のエキソン1a、1b、及び2を含む、実施態様37～43のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 0 】

46. 遺伝子増幅の検出が、増幅領域中に含まれる配列のコピーを定量することによって達成される、実施態様37～45のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 1 】

47. 遺伝子増幅の検出が、増幅配列を包含するゲノム配列のサイズを測定することによって達成される、実施態様37～46のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 2 】

48. 遺伝子増幅の検出が、ポリメラーゼ連鎖反応又は他のDNA増幅技術を利用することによって達成される、実施態様37～47のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 3 】

49. 遺伝子増幅の検出が、定量的ポリメラーゼ連鎖反応によって達成される、実施態様37～48のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 4 】

50. 遺伝子増幅の検出が、マルチプレックスライゲーション依存性プローブ増幅 (MLPA) によって達成される、実施態様37～48のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 5 】

51. 遺伝子増幅の検出が、アレイベースの比較ゲノムハイブリダイゼーション (aCGH) によって達成される、実施態様37～48のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 6 】

52. 遺伝子増幅の検出が、短い断片の迅速マルチプレックスPCR (QMPSF) によって達成される、実施態様37～48のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 7 】

53. 下流プライマー及び上流プライマーが：

下流プライマーについて：

- 好ましくは、エキソン2の3'末端から2～4kb離れた、より好ましくは、エキソン2の3'末端から2.5～3kb離れた、BRCA1のエキソン2と3の間の領域中のポリヌクレオチド配列、又は

- エキソン2の3'末端から2kb以内、好ましくは、エキソン2の3'末端から1.5kb以内、及びより好ましくは、1kb以内にある、BRCA1のエキソン2と3の間の領域中のポリヌクレオチド配列

上流プライマーについて：

- BRCA1のエキソン1aから2kb以内、好ましくは、BRCA1のエキソン1aの1.5kb以内、及びより好ましくは1kb以内にある、BRCA1遺伝子とNBR2遺伝子の間の領域中のポリヌクレオチド配列、又は

- BRCA1のエキソン1a内、もしくはエキソン1b内、もしくはエキソン1aと1bの間の領域中のポリヌクレオチド配列、又は

- エキソン1bと2の間の領域中、もしくはエキソン2中、もしくはエキソン2と3の間の領域中のポリヌクレオチド配列

の群からそれぞれ選択される、実施態様37～48のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 8 】

54. BRCA1-A3A-F (配列番号25)、BRCA1-A3A-R (配列番号26)、BRCA1-Synt1-F (配列番号125)、及びBRCA1-Synt1-R (配列番号126)、又はそれらの逆相補配列から選択される2以上のプライマーを用いる、実施態様37～48のいずれかーに記載の方法。

【 0 1 5 9 】

55.Synt 1プローブ(配列番号133)を用いる、実施態様37～48のいずれかに記載の方法

。

【表 1】

表 1: BRCA1 GMCをコードするDNAプロロープの説明

プロロープ名	プロロープサイズ (bp)	フォワードプライマー ¹	リバースプライマー ²	開始 ³	終了 ³	シグナル	モチーフ	色	遺伝子	BRCA1 エキソン
BRCA1-1A	3548	aaaaggcgccgggacggaagctatgatgt	aaaattaataaGGGCAGAGGTGACAGGCTCA	4237	7784	S1B1		G		
BRCA1-1B	3561	aaaaggcgccgctctgacctgacgtgaccttga	aaaattaataaATCAGCAACAGTCCCATTC	7842	11402	S1B1		G		
BRCA1-2	1900	aaaaggcgccgcccagacactagctgttcttaacc	aaaattaataaGGCAGTGGGAGGCAATTTAG	12936	14935	S1B1		G		
BRCA1-3	4082	aaaaggcgccgcttcttgaaatctgggctctctgc	aaaattaataaGCTGTTGCTTTCTTTGAGGTG	20012	24093	S2B1	g1b1	R	BRCA1	25 + 26
BRCA1-4	2600	aaaaggcgccgcccacaggtatgtgggcagaga	aaaattaataaCCTCTGTTGATGGGTCATAG	28528	31129	S3B1	g2b1	R	BRCA1	22+23
BRCA1-5	1400	aaaaggcgccgttggtagaccaggtgaaatga	aaaattaataaCAAAATTATGTGTGGAGGCAGA	38009	42947	S4B1	g3b1	G	BRCA1	
BRCA1-6	2924	aaaaggcgccgaagAACGTGCTCTTTTACG	aaaattaataaAAAAGTCTGATAACAGCTCGAGA	45870	45898	S5B1	g3b1	G	BRCA1	19
BRCA1-7	2200	aaaaggcgcccttcgattcccttaagatgcttcc	aaaattaataaCACAGTCTGTGTAATTAATTGAT	48151	50350	S6B1	g3b1	G	BRCA1	15 + 16
BRCA1-8	3839	aaaaggcgccaggaagagctcagatacaaac	aaaattaataaTGCCATAGATAGAGGCTTTT	58754	62592	S7B1	g4b1	B	BRCA1	13+14
BRCA1-9	2688	aaaaggcgccgcoatctcttctctctctct	aaaattaataaTTGACCTATTGCTGAATGTTG	64151	66836	S7B1	g4b1	B	BRCA1	
BRCA1-11	2917	aaaaggcgccgttttaccaggaaggattttcg	aaaattaataaCCTTGATCACAGATGTATGTATGAGTT	83652	86568	S8B1	g5b1	B	BRCA1	5 + 6 + 7
BRCA1-12	2014	aaaaggcgccgcccagggccttttaaagggtta	aaaattaataaTAGGGGTGGATATGGGTGAA	93876	95889	S9B1	g6b1	B	BRCA1	3
BRCA1-13A	1279	aaaaggcgccgacctctcaacggaagagc	aaaattaataaagcagggctgagggttct	103601	104879	S10B1	g7b1	G	BRCA1	1a + 1b + 2
BRCA1-15	3563	aaaaggcgccctatctgctggccactttacca	aaaattaataaTCTCGAGCCTTGAACATCCT	113539	117101	S11B1		R	NR2	
BRCA1-16	965	aaaaggcgccgctcagcttctcattccagt	aaaattaataaAAACGTTACATGTATGCCCTAA	117852	118816	S11B1		R	NR2	
BRCA1-17	1574	aaaaggcgccgcttggccagatccccagtagt	aaaattaataaCTGAGCCCGAGAGTTCTGCT	119183	120756	S11B1		R	NR2	
BRCA1-18	1376	aaaaggcgccggggcccaaaaaccagtaaga	aaaattaataaGGGATTGACGCTTCACAGAT	127190	128565	S12B1		B		

10

20

30

40

<i>BRCAL-19</i>	1969	aaaagcgcgccGCCATCCAGTCCAGTCTCAT	aaaattaataaTGCAGTTCTACCCCTCCACTTG	130024	131891	S12B	I	B	
<i>BRCAL-22</i>	3912	aaaagcgcgccCGGGTAAGTGGTGAGCTTTC	aaaattaataaGACTGTCTCATTTAAAGGCACTTTTT	148370	152281	S13B	I	G	¹ WBCA I + NBR I
<i>BRCAL-23</i>	2990	aaaagcgcgccTGGCTAGTGTCTTTGGCCCTGT	aaaattaataaTTCAGTGTCTCTCTCTCATTTTC	154738	157727	S14B	I	R	NBR I
<i>BRCAL-24</i>	1813	aaaagcgcgccTGTCCAGACTAGCCACAGTACCA	aaaattaataaAAAGCGCTTCTTCATATTTCTCC	158538	160350	S14B	I	R	NBR I
<i>BRCAL-25</i>	735	aaaagcgcgccACCACAC TCTTCTGTTTGTATGT	aaaattaataaGGCACATGTACACCATGGAA	165696	166430	S15B	I	G	NBR I
<i>BRCAL-26</i>	3233	aaaagcgcgccTTGTAGGTTGCCCGTTC	aaaattaataaTTCAGAGAGCTGGGCTTAAA	167936	171168	S15B	I	G	NBR I
<i>BRCAL-27</i>	2419	aaaagcgcgccggaggcaatcggaaatgaa	aaaattaataaagggatccatgctgctt	172299	174717	S15B	I	G	NBR I
<i>BRCAL-29</i>	970	aaaagcgcgccCCCTCTAGATAC TTTGTGCTTTTG	aaaattaataaTCTGGCAGTCCAAATTCAGG	277732	278701	S16B	I	B	
<i>BRCAL-30</i>	951	aaaagcgcgccTCCCATGACTGCATCATCTT	aaaattaataaTTGAGATCAGGTGCTATCTCTC	281267	282217	S16B	I	B	
<i>BRCAL-31</i>	629	aaaagcgcgccAAAACTCAACCCCAACACATCA	aaaattaataaCCAAAGAAATCAGCAAGAGAGAGA	282779	283407	S16B	I	B	
<i>BRCAL-32</i>	601	aaaagcgcgccGACCTCATAGAGGTAGTGGAAAGAA	aaaattaataaGCTCAAGCCCTTTAGAAAGAAACA	283805	284405	S16B	I	B	
<i>BRCAL-33</i>	648	aaaagcgcgccGCACCTGGGGAAAAGGTAGAA	aaaattaataaCTCTTCAACCCACAGACAGATGC	284755	285402	S16B	I	B	
<i>BRCAL-34</i>	962	aaaagcgcgccCAATACCCCAATACAAATGTAATGC	aaaattaataaCTGGGGGATACTGAAACTGTGC	289229	290190	S17B	I	B	
<i>BRCAL-35</i>	4638	aaaagcgcgccATCAAGAAAGCCTTCCCAAGGT	aaaattaataaTCTCTTGGAGCTAAGGAGCTG	290944	295581	S17B	I		MEM 106A
<i>BRCAL-36</i>	2944	aaaagcgcgccTTCAGAACTTCCAAATACGGACT	aaaattaataaGATGGAGCTGGGGTGAAT	296903	299846	S17B	I	B	MEM 106A
<i>BRCAL-37</i>	1302	aaaagcgcgccCGTGAGATTGCTACAGGAC	aaaattaataaCAAGGCAATTTGAAAGGTGTC	302021	303322	S18B	I	G	
<i>BRCAL-38</i>	1464	aaaagcgcgccAGAGGAATAGACCATCCAGAAGT	aaaattaataaTCTCCAGCACTAAAAAC TGC	304919	306382	S18B	I	G	

注: ¹ AseIのための制限部位配列(GGCGGCGCC)を含む12塩基(aaaagcgcgcc)がクローニング目的で付加されている。

² PacIのための制限部位配列(TTAATTA)を含む12塩基(aaaattaataa)がクローニング目的で付加されている

³ NCBIビルド36.1(hg18)による、BAC RP11-831F13に対する座標; ¹B=青、G=緑、R=赤

【表 2】

表 2: BRCA2 GMCをコードするDNAプロローブの説明

プロローブ名	プロローブサイズ (bp)	フォワードプライマー	リバースプライマー	開始 ¹	終了 ¹	シグナル	モチーフ	色 ²	遺伝子	BRCA2エキソン
BRCA2-1	2450	AAATGGAGGTCAGGGAACAA	TGGAAGTTTGGGATGCAG	39	2488	S1B2		R		
BRCA2-2	4061	TCCTCAATGTGCAAGGCAATC	TCCTGACCATGTGGCAATAA	3386	7446	S1B2		R		
BRCA2-3a	3822	AATCAGCCCAACCTTCAGC	GCCCAGGACAACATTTTCA	8935	12756	S1B2		R		
BRCA2-3b	3930	CCCTCGCATGTATGATCTGA	CTCCTGAAGTCTCTGAAACG	12808	16737	S1B2		R		
BRCA2-3c	3953	TGAAATCTTTTCCCTCTCATCC	AGATTGGGCACATCGAAAAAG	16756	20708	S1B2		R		
BRCA2-5	1903	GGTCTTGAACACCTGCTACCC	CACTCCGGGGGTCTCTAGAT	31031	32933	S2B2	g1b2	B	BRCA2	1+2
BRCA2-6	4103	TCCTTAACCTGTTCTGGTCAAA	TGGCTAGAAATTCAAACACTGA	35073	39175	S2B2	g1b2	B	BRCA2	3
BRCA2-7	1854	TTGAAGTGGGGTTTTTAAGTTACAC	CCAGCCAAATTCACATCACA	39617	41470	S2B2	g1b2	B	BRCA2	4
BRCA2-11	5206	TTGGGACAAATTCGAGGAAAT	TGCAGGTTTGTGAAGAGTTTCA	52411	57616	S3B2	g2b2	G	BRCA2	11
BRCA2-12	5734	TGGCAATGACTGCATTAGG	TCCTTGAAGGCAAACTCTTCCA	59208	64941	S4B2	g2b2	G	BRCA2	12+13
BRCA2-13	3251	GGAATTGTTGAAGTCACTGAGTTGT	ACCACCAAGGGGGGAAAC	68200	71450	S5B2	g3b2	R	BRCA2	14
BRCA2-14	1681	CAAGTCTTCAGAATGCCAGAGA	TAAACCCAGGACAAACAGC	72505	74185	S5B2	g3b2	R	BRCA2	15+
BRCA2-15	4216	GGCTGTTTGTGAGGAGAGG	GAAACCAAGGAATGGGGTTT	76757	80972	S6B2	g3b2	R	BRCA2	16*
BRCA2-18	2572	TGTTAGGGAGGAAGGAGCAA	GGATGTAACCTGTTACCCCTTGAA A	93846	96417	S7B2	g4b2	R	BRCA2	17+18
BRCA2-19	2125	TCAATAGCATGAATCTGTTGTGAA	GAGGTCTGCCACAAGTTTCC	96951	99075	S7B2	g4b2	R	BRCA2	22+23+24
BRCA2-20	2559	GGCCCACTGGAGGTTTAAT	TTCCTTTCAATTTGTACAGAAACC	99537	102095	S7B2	g4b2	R	BRCA2	25*
BRCA2-21	1568	TGAATCAATGTGTGTGTCAT	GTGTAGGGTCCAGCCCTATG	102609	104176	S8B2	g5b2	B	BRCA2	

10

20

30

40

BRCA2-22a	3787	CTGAGGCTAGGAAAGCTGGA	CTGAGGCTAGGAAAGCTGGA	104612	108398	S8B2	g5b2	B	BRCA2	
BRCA2-22b	3606	GGTTATCCAGGATAGAATGG	AGAAAATGTGGGTGTAAACAG	108408	112013	S8B2	g5b2	B	BRCA2	26
BRCA2-25	5052	CAGCAAACTTCAGCCATTGA	GGGACATGSCAACCAATAC	123134	128185	S9B2		R		
BRCA2-26	2353	GCACTTTCACGTCCTTTGGT	CGTCGTATTCAGGAGCCATT	130493	132845	S10B2		R		
BRCA2-27	2058	CCCAGCTGGCAAACTTTT	TCGGAGGTAAATCCCATGAC	133176	135233	S10B2		R		
BRCA2-28a	4158	TCAAGAGCCCATGCTGACATC	AGGTAGGGTGGGGAAGAAGA	137121	141278	S11B2		R		
BRCA2-29	2335	TGAGTCTACTTTGCCCATAGAGG	TTTTCGCTTCGGGAGCTTTA	153394	155728	S12B2		G		
BRCA2-30	2121	TTTTGCCTGCTTCATCCTC	GGTTTTAAACCTGCACATGAA	160291	161435	S13B2		B		
BRCA2-31	4803	TGAAATTTTGTATGTGGTGCAT	TTTGAAATCTGTGGAGGTCTAGC	161435	166237	S13B2		B		
BRCA2-32	2609	GTACCAAGGGTGGCAGAAAG	ATGGTGTGGTTGGGTAGGA	169818	172426	S14B2		G		

注:

³ NCBIビルド36.1(hg18)による、BAC RPI1-486017に対する座標⁴ B=青、G=緑、R=赤

【表 3】

表 3

プローブ中の全Alu配列 30 (10%)

除外された領域中の全Alu配列 270 (90%)

	スコア	%	%	%	クエリー配列中の位置 (hg18)			+	一致する リピート	リピート クラス/ファミリー	リピート中の位置			連鎖 id	Alu 配列 (カウント)
					開始	終了	(残数)				(残数)	終了	開始		
除外された領域1	2519	7.1	1.0	0.0	132	441	- 308672	+	AluSp	SINE/Alu	1	313	0	1	7
	25	72. 0	0.0	0.0	1136	1160	- 307953	+	AT_リッチ	低複雑性	1	25	0	2	
	22	58. 3	0.0	0.0	1627	1662	- 307451	+	GC_リッチ	低複雑性	1	36	0	3	
	223	19. 3	3.5	0.0	1708	1764	- 307349	+	(CGG)n	単純	2	60	0	4	
	21	57. 1	0.0	0.0	1959	1986	- 307127	+	GC_リッチ	低複雑性	1	28	0	5	
	2280	7.5	2.7	0.7	2142	2434	- 306679	+	AluSz	SINE/Alu	1	299	-13	6	
	2216	10. 4	0.0	1.4	2436	2733	- 306380	+	AluSx1	SINE/Alu	1	294	-18	7	
	2480	4.4	2.0	0.3	2734	3026	- 306087	+	AluY	SINE/Alu	1	298	-13	8	
	1117	15. 8	0.6	0.0	3305	3475	- 305638	C	AluJr	SINE/Alu	-11	301	130	9	
	364	13. 5	0.0	0.0	3482	3533	- 305580	C	MER66A	LTR/ERV1	-140	338	287	10	
	749	11. 9	5.9	0.8	3557	3674	- 305439	C	AluJr	SINE/Alu	-187	125	2	9	
	1741	6.0	17. 9	1.0	3746	3996	- 305117	C	AluY	SINE/Alu	-18	293	1	11	
プローブ1A	273	26. 3	2.9	0.8	4677	4880	- 304233	+	G-リッチ	低複雑性	1	208	0	12	1
	22	40. 9	0.0	0.0	5327	5348	- 303765	+	GC_リッチ	低複雑性	1	22	0	13	
	2331	9.6	0.7	0.3	5904	6205	- 302908	+	AluSx	SINE/Alu	1	303	-9	14	
除外された領域2															0
プローブ1B	2512	6.3	0.3	3.2	9150	9467	- 299646	+	AluY	SINE/Alu	1	309	-2	15	2
	313	24. 8	17. 9	0.0	9930	10046	- 299067	C	L2b	LINE/L2	0	337 5	3238	16	
	374	31. 1	1.9	6.6	10058	10260	- 298853	C	L2b	LINE/L2	-179	320 8	3005	16	
	958	15. 6	0.0	7.1	10508	10687	- 298426	+	FRAM	SINE/Alu	8	175	-1	17	
除外された領域3	1420	7.5	0.0	0.6	11598	11771	- 297342	C	AluSc	SINE/Alu	-2	307	135	18	7
	2332	8.4	0.7	0.3	11783	12078	- 297035	C	AluSp	SINE/Alu	-16	297	1	19	
	486	10. 1	0.0	15. 1	12079	12129	- 296984	C	AluSc	SINE/Alu	-218	91	47	18	
	1515	13. 5	0.9	0.5	12130	12344	- 296769	C	AluSx	SINE/Alu	-94	218	3	20	
	2169	8.4	1.4	1.7	12353	12507	- 296606	C	AluY	SINE/Alu	-20	291	133	21	
	2672	4.7	0.0	0.0	12508	12807	-	C	AluY	SINE/Alu	-11	300	1	22	

10

20

30

40

						296306									
	2169	8.4	1.4	1.7	12808	12941	- 296172	C	AluY	SINE/Alu	-179	132	3	21	
プロープ2	2169	8.4	1.4	1.7	12808	12941	- 296172	C	AluY	SINE/Alu	-179	132	3	21	2
	486	10. 1	0.0	15. 1	12942	12979	- 296134	C	AluSc	SINE/Alu	-177	132	99	18	
	381	34. 8	4.9	0.6	13095	13256	- 295857	+	MIRc	SINE/MIR	18	186	-82	23	
	219	29. 5	2.8	2.8	13304	13411	- 295702	C	L2c	LINE/L2	-202	318 5	3078	24	
	449	3.2	0.0	0.0	13485	13546	- 295567	+	SVA_E	その他	1318	137 9	-3	25	
	601	28. 4	18. 6	0.0	14578	14771	- 294342	+	MIRb	SINE/MIR	24	253	-15	26	
除外された領域 4	1845	17. 3	1.6	2.3	15074	15380	- 293733	+	AluJr	SINE/Alu	1	305	-7	27	6
	1568	15. 0	10. 5	1.0	15388	15653	- 293460	+	AluJb	SINE/Alu	1	291	-21	28	
	352	26. 1	6.5	2.0	15654	15791	- 293322	+	MIR3	SINE/MIR	35	178	-30	29	
	689	11. 4	0.0	0.0	16242	16346	- 292767	C	L1MB5	LINE/L1	0	617 4	6070	30	
	2643	5.6	0.0	0.0	16374	16678	- 292435	C	AluY	SINE/Alu	-6	305	1	31	
	2125	10. 7	3.8	0.3	16912	17200	- 291913	C	AluSq2	SINE/Alu	-13	299	1	32	
	381	2.2	0.0	0.0	17660	17705	- 291408	+	(CA)n	単純	2	47	0	33	
	280	25. 0	14. 8	3.4	17883	17993	- 291120	+	MIR3	SINE/MIR	44	166	-102	34	
	2337	11. 2	0.0	0.3	18230	18541	- 290572	+	AluSq2	SINE/Alu	1	311	-1	35	
	201	35. 9	0.0	11. 3	18752	18908	- 290205	C	L2c	LINE/L2	-1	338 6	3246	36	
	254	32. 5	5.9	2.6	19294	19505	- 289608	+	L2b	LINE/L2	3073	328 6	-89	37	
	217	21. 9	0.0	0.0	19530	19570	- 289543	+	(CA)n	単純	2	42	0	38	
	2506	8.1	0.0	0.0	19616	19923	- 289190	C	AluY	SINE/Alu	-3	308	1	39	
	639	21. 8	3.1	2.2	19966	20118	- 288995	+	MIRb	SINE/MIR	6	162	-106	40	
プロープ3	639	21. 8	3.1	2.2	19966	20118	- 288995	+	MIRb	SINE/MIR	6	162	-106	40	0
	1555	15. 4	8.4	2.6	20654	20974	- 288139	C	MER44A	DNA/TcMT	0	339	1	41	
	381	16. 3	15. 1	7.4	21186	21311	- 287802	C	MER5A	DNA/hAT- Charlie	-54	135	1	42	
	229	22. 5	6.5	4.2	21507	21599	- 287514	C	X8_LINE	LINE/CR1	-29	267	173	43	
	200	38. 8	3.6	2.9	22836	22973	- 286140	+	MIR	SINE/MIR	49	187	-75	44	
	1354	22. 8	13. 0	2.1	23166	23655	- 285458	+	MLT1E2	LTR/ERV1-MaLR	2	541	-86	45	
	399	20. 9	0.0	6.0	23697	23808	- 285305	C	MIR	SINE/MIR	-75	193	97	46	
除外された領域 5	2288	12. 0	0.7	0.0	24330	24637	- 284476	C	AluSx1	SINE/Alu	0	312	3	47	11
	2339	9.7	0.3	0.3	25459	25758	- 283355	C	AluSx	SINE/Alu	-12	300	1	48	
	1409	9.1	0.0	0.0	25759	25933	- 283180	C	AluSq2	SINE/Alu	-4	308	134	49	

10

20

30

40

	1785	12.8	0.0	1.6	25934	26184	-282929	C	AluSx	SINE/Alu	-12	300	54	50	
	916	10.5	0.0	2.5	26186	26309	-282804	+	AluSx	SINE/Alu	178	298	-14	51	
	1897	16.1	0.7	1.0	26638	26936	-282177	C	AluJr	SINE/Alu	-14	298	1	52	
	189	21.1	13.8	7.6	27056	27142	-281971	C	L2a	LINE/L2	-3	3423	3332	53	
	713	22.6	2.4	3.6	27280	27307	-281806	C	AluJb	SINE/Alu	-144	168	141	54	
	1795	13.9	7.9	0.7	27308	27587	-281526	C	AluJb	SINE/Alu	-12	300	1	55	
	713	22.6	2.4	3.6	27588	27728	-281385	C	AluJb	SINE/Alu	-172	140	1	54	
	2417	7.8	0.0	1.7	27734	28039	-281074	C	AluSc	SINE/Alu	-7	302	2	56	
	2080	14.0	1.0	1.9	28040	28353	-280760	C	AluSz	SINE/Alu	-1	311	1	57	
ブローブ4	200	17.6	0.0	0.0	29069	29102	-280011	+	C-リッチ	低複雑性	146	179	0	58	1
	2386	8.5	1.3	1.6	29863	30169	-278944	+	AluSc8	SINE/Alu	1	306	-6	59	
除外された領域 6	2494	7.4	0.0	0.0	31175	31470	-277643	C	AluSg	SINE/Alu	-14	296	1	60	16
	886	20.8	3.0	0.5	31677	31814	-277299	+	MER3	DNA/hAT-Charlie	1	142	-67	61	
	1112	16.3	0.0	1.8	31815	31980	-277133	C	AluJo	SINE/Alu	-13	299	137	62	
	886	20.8	3.0	0.5	31981	32044	-277069	+	MER3	DNA/hAT-Charlie	143	207	-2	61	
	396	0.0	0.0	0.0	32317	32360	-276753	+	(CA)n	単純	2	45	0	63	
	2102	9.2	0.0	0.0	32415	32675	-276438	C	AluSx3	SINE/Alu	-15	297	37	64	
	2319	9.0	0.0	1.7	32917	33217	-275896	+	AluY	SINE/Alu	1	296	-15	65	
	2269	10.2	2.4	0.0	33230	33524	-275589	+	AluSp	SINE/Alu	1	302	-11	66	
	1969	16.6	0.0	0.3	33980	34275	-274838	C	AluJb	SINE/Alu	-16	296	2	67	
	2311	8.8	0.3	2.3	34281	34585	-274528	C	AluSq2	SINE/Alu	-13	299	1	68	
	199	36.4	1.5	0.0	34736	34801	-274312	+	MIRc	SINE/MIR	60	126	-142	69	
	809	26.0	0.7	9.3	34870	34901	-274212	+	MIR	SINE/MIR	5	33	-229	70	
	1727	18.2	0.0	5.9	34902	35038	-274075	+	AluSx	SINE/Alu	1	136	-176	71	
	1897	14.9	0.0	0.4	35039	35313	-273800	+	AluSx	SINE/Alu	1	274	-38	72	
	1727	18.2	0.0	5.9	35314	35496	-273617	+	AluSx	SINE/Alu	137	303	-9	71	
	809	26.0	0.7	9.3	35497	35710	-273403	+	MIR	SINE/MIR	34	230	-32	70	
	1810	17.4	1.3	1.6	35711	36014	-273099	C	AluJb	SINE/Alu	-9	303	1	73	
	809	26.0	0.7	9.3	36015	36046	-273067	+	MIR	SINE/MIR	231	262	0	70	
	670	20.9	3.3	12.7	36048	36228	-272885	+	FRAM	SINE/Alu	1	166	0	74	
	437	34.5	4.7	6.3	36250	36506	-272607	+	MIRb	SINE/MIR	2	254	-14	75	
	2289	9.9	0.0	3.9	36764	37086	-272027	+	AluSx1	SINE/Alu	1	311	-1	76	

10

20

30

40

	2440	4.5	0.0	1.1	37090	37406	- 271707	+	AluY	SINE/Alu	1	311	0	77	
	1364	10. 9	0.0	0.0	37407	37581	- 271532	+	AluSc8	SINE/Alu	133	307	-5	78	
	1601	18. 5	0.3	4.8	37615	37916	- 271197	+	AluJr	SINE/Alu	2	290	-22	79	
プロープ5	325	27. 1	8.8	10. 6	38602	38717	- 270396	+	L2c	LINE/L2	2331	244 6	-973	80	1
	2107	10. 4	0.3	3.2	38718	39005	- 270108	+	AluSx1	SINE/Alu	1	280	-32	81	
	414	0.0	0.0	0.0	39006	39051	- 270062	+	(CAA)n	単純	3	48	0	82	
	325	27. 1	8.8	10. 6	39052	39115	- 269998	+	L2c	LINE/L2	2447	250 9	-910	80	
	218	28. 1	9.7	3.2	39093	39298	- 269815	+	L2c	LINE/L2	2464	268 2	-737	80	
除外された領域 7	218	28. 1	9.7	3.2	39093	39298	- 269815	+	L2c	LINE/L2	2464	268 2	-737	80	9
	198	0.0	0.0	0.0	39435	39456	- 269657	+	(TTA)n	単純	2	23	0	83	
	1165	10. 7	0.0	0.0	39457	39605	- 269508	C	AluSx	SINE/Alu	-27	285	137	84	
	1808	10. 0	11. 9	1.0	39609	39877	- 269236	C	AluSp	SINE/Alu	-15	298	1	85	
	984	11. 4	0.0	0.8	39890	40020	- 269093	C	AluSx	SINE/Alu	-179	133	4	84	
	1982	13. 2	0.3	5.6	40025	40342	- 268771	C	AluSz	SINE/Alu	-10	302	1	86	
	2106	14. 2	0.6	0.6	40380	40690	- 268423	+	AluSz	SINE/Alu	1	311	-1	87	
	460	35. 3	7.3	3.8	40691	41046	- 268067	+	L2c	LINE/L2	3015	338 2	-5	80	
	2297	10. 7	0.0	0.7	41122	41420	- 267693	C	AluSz	SINE/Alu	-15	297	1	88	
	205	30. 4	0.0	0.0	41578	41633	- 267480	+	(TA)n	単純	1	56	0	89	
	1733	20. 1	0.3	0.3	41635	41928	- 267185	C	AluJr4	SINE/Alu	-16	296	3	90	
	2129	12. 4	0.7	0.0	42139	42429	- 266684	C	AluSx	SINE/Alu	-16	296	4	91	
	2203	10. 4	1.0	0.0	42431	42719	- 266394	C	AluSp	SINE/Alu	-15	298	7	92	
プロープ6	189	0.0	0.0	0.0	44176	44196	- 264917	+	(CAG)n	単純	2	22	0	93	2
	2434	8.6	0.0	0.0	44364	44664	- 264449	C	AluY	SINE/Alu	-9	302	2	94	
	2200	10. 7	1.6	1.6	44923	45230	- 263883	+	AluSp	SINE/Alu	1	308	-5	95	
	804	27. 1	11. 1	9.7	45271	45749	- 263364	C	L3	LINE/CR1	-188	391 1	3427	96	
除外された領域 8	2148	13. 0	0.3	0.0	45943	46243	- 262870	C	AluSg	SINE/Alu	-7	303	2	97	6
	2489	7.2	0.3	0.3	46349	46653	- 262460	C	AluSq2	SINE/Alu	-7	305	1	98	
	2380	8.9	0.0	1.6	46776	47089	- 262024	C	AluSc	SINE/Alu	0	309	1	99	
	413	12. 9	2.7	4.2	47300	47372	- 261741	+	L1PA8	LINE/L1	6086	615 7	-15	100	
	436	5.8	0.0	0.0	47373	47424	- 261689	C	AluSz6	SINE/Alu	-12	300	249	101	
	198	0.0	0.0	0.0	47427	47448	- 261665	+	(A)n	単純	1	22	0	102	
	2545	6.1	0.0	0.0	47532	47826	-	+	AluY	SINE/Alu	1	295	-16	103	

10

20

30

40

							261287								
	827	16.6	0.0	6.1	47965	48103	-261010	+	FLAM_C	SINE/Alu	1	131	-12	104	
ブローブ7	2366	9.4	0.3	0.0	49470	49768	-259345	C	AluSp	SINE/Alu	-13	300	1	105	1
	21	42.9	0.0	0.0	50235	50255	-258858	+	AT_リッチ	低複雑性	1	21	0	106	
除外された領域 9	352	36.9	5.3	1.6	50840	51026	-258087	+	L1M5	LINE/L1	5465	5658	-584	107	16
	307	30.7	16.0	0.6	51006	51149	-257964	+	L1MC	LINE/L1	5649	5814	-2068	108	
	2314	7.3	0.0	1.8	51258	51580	-257533	+	AluY	SINE/Alu	1	311	0	109	
	2432	6.5	0.0	0.3	51642	51931	-257182	+	AluSp	SINE/Alu	1	289	-24	110	
	1598	17.3	0.3	5.7	51946	52103	-257010	C	AluJb	SINE/Alu	-19	293	142	111	
	2332	9.0	0.3	1.4	52104	52403	-256710	C	AluSp	SINE/Alu	-16	297	1	112	
	1569	17.0	0.3	5.7	52404	52538	-256575	C	AluJb	SINE/Alu	-171	141	15	111	
	754	14.3	0.9	0.0	52591	52702	-256411	+	AluJr	SINE/Alu	6	118	-194	113	
	198	10.3	0.0	0.0	53274	53302	-255811	+	(TA)n	単純	1	29	0	114	
	2130	12.4	0.0	0.7	53303	53592	-255521	C	AluSx	SINE/Alu	-24	288	1	115	
	1263	13.1	1.1	0.0	54309	54483	-254630	+	AluSx1	SINE/Alu	135	311	-1	116	
	514	11.2	1.6	5.1	54497	54618	-254495	+	GA-リッチ	低複雑性	63	180	0	117	
	210	15.2	0.0	0.0	54620	54652	-254461	+	A-リッチ	低複雑性	1	33	0	118	
	190	27.9	0.0	0.0	55008	55050	-254063	C	L2c	LINE/L2	-15	3372	3330	119	
	1334	8.6	0.0	0.0	55101	55262	-253851	C	AluSx1	SINE/Alu	-14	298	137	120	
	1447	17.3	2.4	0.8	55382	55629	-253484	+	AluJb	SINE/Alu	37	288	-24	121	
	21	39.3	0.0	0.0	56454	56481	-252632	+	AT_リッチ	低複雑性	1	28	0	122	
	2264	11.3	0.0	1.0	56869	57169	-251944	C	AluSx1	SINE/Alu	-14	298	1	123	
	2295	9.9	0.6	0.6	57258	57570	-251543	C	AluSp	SINE/Alu	0	313	1	124	
	660	16.5	0.0	12.2	57575	57624	-251489	C	FLAM_C	SINE/Alu	-10	123	81	125	
	2194	11.5	0.3	0.3	57625	57920	-251193	C	AluSx1	SINE/Alu	-16	296	1	126	
	660	16.5	0.0	12.2	57921	58007	-251106	C	FLAM_C	SINE/Alu	-53	80	1	125	
	1846	11.2	10.0	0.0	58454	58743	-250370	+	AluSq2	SINE/Alu	1	312	0	127	
ブローブ8	211	30.5	3.4	0.0	59728	59786	-249327	C	L2b	LINE/L2	-7	3368	3308	128	3
	1431	8.3	0.0	0.6	59852	60031	-249082	C	AluSp	SINE/Alu	-133	180	2	129	
	1870	13.5	1.8	2.1	60059	60340	-248773	+	AluJo	SINE/Alu	1	281	-31	130	
	398	16.9	2.2	5.8	60348	60436	-248677	+	FLAM_A	SINE/Alu	42	127	-15	131	
除外された領域 10	1908	14.1	5.0	0.0	62695	62991	-246122	C	AluSz	SINE/Alu	0	312	1	132	4

10

20

30

40

	219	26.6	7.8	0.0	63055	63118	-245995	C	L2a	LINE/L2	-5	3421	3353	133	
	2274	8.9	0.7	2.0	63394	63567	-245546	C	AluSx	SINE/Alu	-5	307	134	134	
	2444	8.1	0.0	0.0	63568	63865	-245248	C	AluY	SINE/Alu	-13	298	1	135	
	2274	8.9	0.7	2.0	63866	64000	-245113	C	AluSx	SINE/Alu	-179	133	2	134	
ブローブ9	951	10.3	0.8	0.0	64794	64919	-244194	+	AluSx4	SINE/Alu	179	305	-7	136	1
	447	25.2	3.4	0.0	65518	65636	-243477	C	L1ME2z	LINE/L1	-3	6441	6319	137	
	390	4.2	0.0	0.0	65637	65684	-243429	+	(CA)n	単純	1	48	0	138	
	319	27.9	1.2	0.0	65785	65870	-243243	+	L2c	LINE/L2	3295	3381	-6	139	
	468	29.4	4.9	2.4	66559	66913	-242200	+	L1ME4a	LINE/L1	5471	5849	-275	140	
除外された領域 11	468	29.4	4.9	2.4	66559	66913	-242200	+	L1ME4a	LINE/L1	5471	5849	-275	140	29
	2423	10.3	0.3	0.0	66917	67227	-241886	+	AluSp	SINE/Alu	1	312	-1	141	
	1271	20.6	1.3	7.2	67277	67586	-241527	C	AluJb	SINE/Alu	-18	294	2	142	
	1136	14.8	3.9	1.1	67686	67910	-241203	C	L1MB3	LINE/L1	-142	6149	5936	143	
	319	20.7	0.0	1.7	67920	67978	-241135	C	MER66C	LTR/ERV1	-133	422	365	144	
	637	14.4	0.0	0.0	67980	68076	-241037	C	L1MB3	LINE/L1	-239	5941	5845	143	
	2023	12.9	0.0	3.4	68567	68869	-240244	+	AluSx1	SINE/Alu	1	293	-19	145	
	1001	10.2	0.0	0.0	69082	69208	-239905	C	AluSq	SINE/Alu	-11	302	176	146	
	1879	16.8	1.0	0.7	69264	69566	-239547	+	AluJb	SINE/Alu	1	304	-8	147	
	233	30.9	0.6	0.0	69730	69811	-239302	+	MIRb	SINE/MIR	64	155	-113	148	
	2043	11.6	0.0	0.4	69909	70185	-238928	C	AluSx1	SINE/Alu	-11	301	26	149	
	2040	15.7	0.3	0.3	74836	75147	-233966	+	AluJb	SINE/Alu	1	312	0	150	
	2323	11.2	0.0	0.0	75632	75942	-233171	+	AluSz	SINE/Alu	2	312	0	151	
	1259	12.3	0.0	0.0	75957	76126	-232987	+	AluSc5	SINE/Alu	130	299	-13	152	
	317	18.6	11.4	0.0	76427	76496	-232617	+	MIR3	SINE/MIR	125	202	-6	153	
	818	16.1	2.8	6.4	76513	76691	-232422	+	L1PREC2	LINE/L1	5984	6156	-4	154	
	213	14.6	3.9	6.0	76911	76961	-232152	C	L2b	LINE/L2	-8	3367	3318	155	
	859	14.5	1.5	0.8	77008	77138	-231975	+	AluSz	SINE/Alu	2	133	-179	156	
	792	26.0	4.7	0.4	77151	77382	-231731	+	MIR	SINE/MIR	20	261	-1	157	
	1679	14.3	6.3	2.0	77567	77852	-231261	C	AluJr	SINE/Alu	-14	298	1	158	
	39	73.2	0.0	1.8	77874	77905	-231208	+	AT_リッチ	低複雑性	1	32	0	159	
	2010	11.5	1.0	3.5	77906	78201	-230912	C	AluSx	SINE/Alu	-23	289	1	160	
	39	73.2	0.0	1.8	78202	78225	-230888	+	AT_リッチ	低複雑性	1	24	0	161	

10

20

30

40

	719	20.3	0.0	0.0	78226	78343	-230770	C	AluJo	SINE/Alu	-194	118	1	162	
	2399	7.0	0.3	2.0	78356	78657	-230456	C	AluSp	SINE/Alu	-15	298	2	163	
	2302	11.2	0.3	0.3	78796	79106	-230007	C	AluSp	SINE/Alu	-2	311	1	164	
	813	14.2	2.5	0.0	79584	79703	-229410	+	AluJr	SINE/Alu	1	123	-189	165	
	1195	11.6	0.0	3.6	79875	80047	-229066	C	AluSc8	SINE/Alu	-16	296	130	166	
	891	8.6	2.8	2.2	80061	80238	-228875	+	{TA}n	単純	2	180	0	167	
	2249	9.9	0.7	0.0	80275	80566	-228547	C	AluSx	SINE/Alu	-18	294	1	168	
	2011	15.6	0.0	0.0	80729	81029	-228084	C	AluSg	SINE/Alu	-8	302	2	169	
	2222	11.8	0.3	0.0	81042	81337	-227776	C	AluSz	SINE/Alu	-15	297	1	170	
	1207	21.6	6.4	5.7	81444	81606	-227507	C	AluJb	SINE/Alu	-4	298	134	171	
	2190	9.2	0.0	0.3	81607	81890	-227223	C	AluY	SINE/Alu	-12	299	17	172	
	2382	8.4	0.0	0.0	81894	82190	-226923	C	AluSc5	SINE/Alu	-15	297	1	173	
	1612	18.7	2.8	0.7	82193	82481	-226632	C	AluJo	SINE/Alu	-16	296	2	174	
	1207	21.6	6.4	5.7	82482	82605	-226508	C	AluJb	SINE/Alu	-169	133	2	171	
	2381	9.5	0.0	0.0	82721	83024	-226089	+	AluSx	SINE/Alu	1	304	-8	175	
	629	20.6	2.8	0.0	83049	83155	-225958	C	FLAM_A	SINE/Alu	-32	110	1	176	
	1596	9.9	0.0	0.0	83361	83561	-225552	+	AluSx	SINE/Alu	1	201	-111	177	
	402	9.6	0.0	0.0	83562	83613	-225500	+	AluSx	SINE/Alu	251	302	-10	177	
	207	0.0	0.0	0.0	83620	83642	-225471	+	(GAA)n	単純	2	24	0	178	
ブローブ11	23	56.7	0.0	0.0	83927	83956	-225157	+	AT_リッチ	低複雑性	1	30	0	179	2
	756	19.5	4.0	0.6	84063	84237	-224876	C	MER104	DNA/TcMar-Tc2	0	181	1	180	
	1710	19.9	0.0	1.0	84774	85075	-224038	C	AluJr	SINE/Alu	-12	300	2	181	
	298	26.3	15.7	0.7	85233	85366	-223747	C	L2a	LINE/L2	0	3426	3273	182	
	1918	12.8	4.3	0.3	85401	85681	-223432	+	AluJb	SINE/Alu	18	309	-3	183	
	700	18.2	0.0	6.0	86439	86596	-222517	+	L1M4	LINE/L1	4729	4877	-1269	184	
除外された領域 12	700	18.2	0.0	6.0	86439	86596	-222517	+	L1M4	LINE/L1	4729	4877	-1269	184	18
	2561	5.3	0.3	0.0	86599	86898	-222215	C	AluY	SINE/Alu	-10	301	1	185	
	1921	12.4	6.0	1.6	86905	87203	-221910	C	AluSz6	SINE/Alu	0	312	1	186	
	645	18.4	0.0	5.2	87205	87347	-221766	+	L1M4	LINE/L1	4873	5008	-1138	184	
	1844	13.9	3.5	0.3	87599	87885	-221228	+	AluSz	SINE/Alu	1	296	-16	187	
	2072	10.9	3.0	1.6	87965	88268	-220845	+	AluSz6	SINE/Alu	1	308	-4	188	
	2020	8.0	8.4	0.0	88269	88554	-220559	+	AluSp	SINE/Alu	1	313	0	189	

10

20

30

40

	249	11.9	0.0	0.0	88567	88608	-220505	+	(TCTA)n	単純	1	42	0	190	
	1260	19.2	0.5	1.4	88609	88832	-220281	C	AluJr	SINE/Alu	-90	222	1	191	
	2443	7.5	0.0	0.0	89435	89729	-219384	C	AluY	SINE/Alu	-16	295	1	192	
	231	23.6	6.4	2.6	89730	89827	-219286	+	Tigger10	DNA/TcMT	101	204	-1639	193	
	1848	18.3	0.3	0.7	89841	90140	-218973	+	AluJb	SINE/Alu	1	299	-13	194	
	836	13.2	2.5	0.0	90229	90349	-218764	+	AluSz	SINE/Alu	1	124	-188	195	
	2379	9.7	0.0	0.0	90355	90652	-218461	+	AluSx	SINE/Alu	1	298	-14	196	
	771	27.4	5.0	8.2	90653	90773	-218340	+	Tigger10	DNA/TcMT	841	948	-895	197	
	2275	11.6	0.0	0.0	90774	91074	-218039	+	AluSx	SINE/Alu	1	301	-11	198	
	2415	7.0	0.0	0.3	91077	91407	-217706	+	AluY	SINE/Alu	2	311	0	199	
	771	27.4	5.0	8.2	91408	91630	-217483	+	Tigger10	DNA/TcMT	949	1180	-663	197	
	2276	9.3	1.0	0.0	91631	91920	-217193	C	AluSx4	SINE/Alu	-18	294	2	200	
	771	27.4	5.0	8.2	91921	91972	-217141	+	Tigger10	DNA/TcMT	1181	1229	-614	197	
	1010	20.2	1.6	0.0	91975	92162	-216951	+	AluJr4	SINE/Alu	109	299	-13	201	
	217	26.7	1.6	1.6	92163	92223	-216890	+	(CATATA)n	単純	5	65	0	202	
	2319	9.6	0.7	0.0	92336	92638	-216475	C	AluSp	SINE/Alu	-8	305	1	203	
	1942	13.2	0.4	0.4	92899	93202	-215911	C	AluSc8	SINE/Alu	0	312	1	204	
	2094	11.2	3.1	0.3	93338	93623	-215490	+	AluSx1	SINE/Alu	2	295	-17	205	
	887	20.1	0.0	0.0	93624	93767	-215346	C	AluJo	SINE/Alu	-32	280	137	206	
	252	33.6	6.9	0.0	93795	93910	-215203	+	Tigger15a	DNA/TcMT	530	653	-62	207	
ブローブ12	252	33.6	6.9	0.0	93795	93910	-215203	+	Tigger15a	DNA/TcMT	530	653	-62	207	2
	468	11.4	8.6	0.0	93927	93996	-215117	C	AluSq2	SINE/Alu	-13	299	224	208	
	395	24.4	2.5	2.5	93999	94116	-214997	C	Charlie4z	DNA/hAT-Charlie	-46	121	4	209	
	2373	8.8	0.3	0.0	94759	95052	-214061	+	AluSx4	SINE/Alu	2	296	-16	210	
	23	43.5	0.0	0.0	95358	95380	-213733	+	AT_リッチ	低複雑性	1	23	0	211	
	258	25.6	10.1	1.2	95449	95527	-213586	C	L2c	LINE/L2	-16	3371	3286	212	
	377	18.3	9.1	7.7	95752	95905	-213208	C	L1MC5	LINE/L1	-36	7925	7770	213	
除外された領域13	377	18.3	9.1	7.7	95752	95905	-213208	C	L1MC5	LINE/L1	-36	7925	7770	213	15
	728	16.7	11.4	0.0	95916	96047	-213066	C	AluJo	SINE/Alu	-26	286	140	214	
	2235	10.5	0.3	0.3	96061	96354	-212759	C	AluSq2	SINE/Alu	-18	294	1	215	
	823	23.1	9.4	1.1	96357	96637	-212476	C	L1MC5	LINE/L1	-444	7517	7255	213	
	2036	13.5	0.0	1.0	96696	96992	-212121	+	AluSx4	SINE/Alu	1	294	-18	216	

10

20

30

40

	2148	11.7	0.3	1.3	96996	97302	-211811	+	AluSg	SINE/Alu	1	304	-6	217	
	738	27.7	8.5	2.2	97396	97904	-211209	C	L2a	LINE/L2	-12	3414	2870	218	
	1585	12.8	0.0	20.1	97915	98272	-210841	C	AluJr4	SINE/Alu	-14	298	1	219	
	1845	13.4	4.1	2.4	98298	98588	-210525	C	AluSx4	SINE/Alu	-15	297	2	220	
	497	11.0	33.0	0.0	98722	98821	-210292	+	FLAM_C	SINE/Alu	1	133	-10	221	
	237	31.1	10.1	0.0	98916	99034	-210079	+	MIR3	SINE/MIR	5	135	-73	222	
	2590	5.3	0.0	0.0	100020	100320	-208793	+	AluYk4	SINE/Alu	1	301	-11	223	
	1949	8.9	3.7	2.2	100331	100600	-208513	+	AluSg	SINE/Alu	2	275	-35	224	
	2347	7.8	0.0	0.0	100630	100937	-208176	+	AluY	SINE/Alu	1	311	0	225	
	2326	10.1	0.7	0.0	100941	101248	-207865	+	AluSp	SINE/Alu	3	312	-1	226	
	590	26.8	13.0	0.5	101876	102152	-206961	C	L2a	LINE/L2	-2	3424	3117	227	
	1614	16.1	1.7	2.8	102162	102300	-206813	+	AluJb	SINE/Alu	1	134	-168	228	
	2330	9.8	0.0	3.6	102301	102617	-206496	+	AluY	SINE/Alu	1	306	-5	229	
	1614	16.1	1.7	2.8	102618	102771	-206342	+	AluJb	SINE/Alu	135	291	-11	228	
	2237	9.1	2.0	0.0	102886	103183	-205930	C	AluSc5	SINE/Alu	-8	304	1	230	
ブローブ13A	270	0.0	0.0	0.0	104284	104313	-204800	+	(TTTTG)n	単純	1	30	0	231	1
	1650	4.5	5.5	0.0	104318	104516	-204597	C	AluSx	SINE/Alu	-37	275	66	232	
除外された領域14	8064	14.0	7.8	5.5	106203	107278	-201835	+	LTR12C	LTR/ERV1	3	1140	-439	233	10
	2324	10.1	0.0	0.3	107279	107586	-201527	+	AluY	SINE/Alu	2	308	-3	234	
	8064	14.0	7.8	5.5	107587	108052	-201061	+	LTR12C	LTR/ERV1	1141	1579	0	233	
	939	10.0	0.0	6.1	108354	108493	-200620	C	FLAM_C	SINE/Alu	-11	132	1	235	
	2397	8.1	0.0	1.6	109001	109308	-199805	C	AluY	SINE/Alu	-7	304	2	236	
	790	13.7	1.6	1.6	109726	109849	-199264	C	FLAM_C	SINE/Alu	-19	124	1	237	
	2100	13.8	0.3	0.0	109852	110149	-198964	C	AluSz	SINE/Alu	-13	299	1	238	
	696	27.4	7.1	0.9	110153	110362	-198751	C	MIRc	SINE/MIR	-1	267	45	239	
	248	31.0	6.2	0.0	110411	110523	-198590	C	L1M5	LINE/L1	-747	5447	5328	240	
	189	7.4	0.0	0.0	110917	110943	-198170	+	(TAA)n	単純	2	28	0	241	
	1606	7.3	0.0	0.0	111079	111269	-197844	+	AluY	SINE/Alu	104	294	-17	242	
	2148	15.1	0.0	0.0	111309	111619	-197494	C	AluSz6	SINE/Alu	-1	311	1	243	
	431	16.2	14.1	0.0	111625	111723	-197390	C	MIRb	SINE/MIR	-67	201	89	244	
	327	26.0	0.0	12.2	112010	112101	-197012	+	MIRc	SINE/MIR	37	118	-150	245	
	1373	9.8	0.6	0.6	112104	112286	-196827	C	AluSc	SINE/Alu	0	309	127	246	

10

20

30

40

	2444	7.5	0.0	2.9	11228 8	11260 7	- 196506	C	AluY	SINE/Alu	0	311	1	247	
	251	22. 8	3.5	1.7	11261 0	11266 7	- 196446	+	MIR	SINE/MIR	104	162	-100	245	
	180	29. 8	18. 2	1.0	11290 1	11298 8	- 196125	+	MER5A	DNA/hAT- Charlie	68	170	-19	248	
	2303	12. 0	0.0	0.0	11316 2	11347 0	- 195643	C	AluSz	SINE/Alu	-3	309	1	249	
ブローブ15	804	14. 4	1.6	0.0	11554 9	11567 3	- 193440	+	FLAM_C	SINE/Alu	2	128	-15	250	1
	7181	6.4	0.7	0.1	11570 5	11697 7	- 192136	+	L1PA5	LINE/L1	4875	615 4	0	251	
除外された領域 15	1884	13. 3	1.9	0.4	11713 5	11740 4	- 191709	+	AluSz	SINE/Alu	1	274	-38	252	2
	180	0.0	0.0	0.0	11741 1	11743 0	- 191683	+	(CAAAA)n	単純	1	20	0	253	
	2240	12. 3	1.0	0.0	11744 1	11774 9	- 191364	+	AluSq2	SINE/Alu	1	312	0	254	
	224	37. 7	0.0	0.0	11775 8	11783 4	- 191279	+	L2	LINE/L2	458	534	- 2885	255	
ブローブ16	652	29. 2	9.5	7.2	11817 5	11859 5	- 190518	+	LTR33B	LTR/ERVL	53	482	-21	256	0
	722	16. 5	0.0	2.5	11859 9	11872 2	- 190391	+	MER21C	LTR/ERVL	1	121	-817	257	
	2342	12. 3	0.0	2.8	11877 1	11889 7	- 190216	C	L1PREC2	LINE/L1	0	616 0	6034	258	
除外された領域 16	2262	9.2	2.7	0.0	11889 8	11918 9	- 189924	C	AluSg4	SINE/Alu	-12	300	1	259	1
ブローブ17	2262	9.2	2.7	0.0	11889 8	11918 9	- 189924	C	AluSg4	SINE/Alu	-12	300	1	259	1
	2342	12. 3	0.0	2.8	11919 0	11942 9	- 189684	C	L1PREC2	LINE/L1	-127	603 3	5803	258	
	1975	21. 0	10. 4	1.1	11943 0	12005 1	- 189062	+	MER21C	LTR/ERVL	111	790	-148	257	
	279	35. 6	6.5	1.6	12005 4	12034 3	- 188770	+	L2c	LINE/L2	3030	334 9	-38	260	
	440	17. 1	4.2	6.9	12061 7	12073 5	- 188378	+	MLT1M	LTR/ERVL-MaLR	83	198	-474	261	
除外された領域 17	1069	13. 8	0.0	1.3	12085 7	12101 6	- 188097	+	AluJo	SINE/Alu	135	292	-20	262	12
	28	62. 9	0.0	0.0	12103 5	12106 9	- 188044	+	AT_リッチ	低複雑性	1	35	0	263	
	2240	6.4	1.1	0.0	12107 2	12133 8	- 187775	+	AluY	SINE/Alu	3	272	-39	264	
	2197	11. 4	0.0	0.7	12145 3	12174 9	- 187364	C	AluSx	SINE/Alu	-17	295	1	265	
	265	28. 2	1.4	1.4	12184 1	12191 2	- 187201	+	MIRb	SINE/MIR	197	268	0	266	
	503	30. 5	4.4	5.3	12199 8	12224 6	- 186867	+	MIRb	SINE/MIR	19	265	-3	267	
	1266	11. 9	0.0	1.1	12227 8	12245 3	- 186660	C	AluSp	SINE/Alu	-13	300	127	268	
	726	22. 5	0.0	0.0	12245 7	12262 9	- 186484	+	(TATATG) n	単純	4	176	0	269	
	23	34. 8	0.0	0.0	12263 0	12265 2	- 186461	+	AT_リッチ	低複雑性	1	23	0	270	
	940	11. 3	0.8	0.0	12265 3	12277 6	- 186337	C	AluSp	SINE/Alu	-188	125	1	268	
	26	60. 6	0.0	0.0	12343 9	12347 1	- 185642	+	AT_リッチ	低複雑性	1	33	0	271	
	2378	7.4	0.0	1.0	12347 5	12377 3	- 185340	+	AluY	SINE/Alu	1	296	-15	272	
	784	13.	0.0	0.0	12427	12438	-	+	AluSx	SINE/Alu	1	107	-205	273	

10

20

30

40

		1			5	1	184732								
	2735	4.2	0.0	0.0	12485 3	12516 1	- 183952	C	AluY	SINE/Alu	-2	309	1	274	
	2424	8.1	0.0	0.0	12583 6	12613 1	- 182982	C	AluY	SINE/Alu	-3	308	13	275	
	1876	10. 7	1.6	5.1	12654 5	12672 8	- 182385	C	AluSx	SINE/Alu	-17	295	108	276	
	2573	5.1	0.0	0.0	12672 9	12702 3	- 182090	C	AluY	SINE/Alu	-15	296	2	277	
	1876	10. 7	1.6	5.1	12702 4	12714 3	- 181970	C	AluSx	SINE/Alu	-205	107	1	276	
ブローブ18	25	72. 0	0.0	0.0	12724 6	12727 0	- 181843	+	AT_リッチ	低複雑性	1	25	0	278	1
	240	21. 1	16. 9	4.0	12757 7	12766 5	- 181448	+	MIR3	SINE/MIR	94	193	-15	279	
	1262	8.1	1.7	1.1	12766 6	12783 8	- 181275	+	AluSp	SINE/Alu	124	297	-16	280	
	2123	13. 3	16. 2	0.4	12786 4	12827 0	- 180843	C	LTR7C	LTR/ERV1	0	471	1	281	
	576	20. 3	3.1	3.9	12848 7	12861 4	- 180499	C	MER2B	DNA/TcMT	0	336	210	282	
除外された領域 18	576	20. 3	3.1	3.9	12848 7	12861 4	- 180499	C	MER2B	DNA/TcMT	0	336	210	282	4
	1973	10. 5	4.9	5.6	12863 1	12893 5	- 180178	C	AluY	SINE/Alu	-8	303	1	283	
	1150	5.9	0.0	0.0	12893 6	12907 0	- 180043	C	AluSz	SINE/Alu	-177	135	1	284	
	187	33. 4	7.1	9.9	12928 6	12932 4	- 179789	+	L2	LINE/L2	2142	218 1	- 1238	285	
	2251	10. 0	0.0	1.0	12932 5	12962 4	- 179489	C	AluSg4	SINE/Alu	-14	298	2	286	
	187	33. 4	7.1	9.9	12962 5	12964 8	- 179465	+	L2	LINE/L2	2182	219 2	- 1227	285	
	1745	16. 7	3.5	0.0	12964 9	12993 5	- 179178	C	AluJb	SINE/Alu	-15	297	1	287	
	187	33. 4	7.1	9.9	12993 6	13010 9	- 179004	+	L2	LINE/L2	2193	237 4	- 1045	285	
ブローブ19	187	33. 4	7.1	9.9	12993 6	13010 9	- 179004	+	L2	LINE/L2	2193	237 4	- 1045	285	2
	548	25. 0	0.0	0.0	13035 3	13046 4	- 178649	+	MER81	DNA/hAT-Bkjk	2	113	-1	288	
	397	20. 0	3.0	1.0	13060 4	13070 4	- 178409	+	LTR88b	LTR/Gypsy?	722	824	-13	289	
	1038	18. 1	0.0	0.6	13083 9	13100 4	- 178109	+	AluSz6	SINE/Alu	7	171	-141	290	
	207	0.0	0.0	0.0	13102 3	13104 5	- 178068	+	(CAAAAA) n	単純	2	24	0	291	
	1739	17. 6	0.0	2.7	13114 4	13144 5	- 177668	+	AluJr	SINE/Alu	1	294	-18	292	
除外された領域 19	1739	17. 6	0.0	2.7	13114 4	13144 5	- 177668	+	AluJr	SINE/Alu	1	294	-18	292	18
	683	21. 3	8.9	2.2	13148 5	13165 2	- 177461	C	MIRb	SINE/MIR	-35	233	55	293	
	290	24. 9	15. 2	3.1	13181 8	13196 2	- 177151	+	L2c	LINE/L2	3225	338 6	-1	294	
	2015	12. 0	0.6	1.3	13197 5	13210 8	- 177005	+	AluSx	SINE/Alu	1	135	-177	295	
	2358	8.6	0.0	3.0	13210 9	13242 1	- 176692	+	AluY	SINE/Alu	1	304	-7	296	
	2015	12. 0	0.6	1.3	13242 2	13259 8	- 176515	+	AluSx	SINE/Alu	136	310	-2	295	
	369	16. 2	0.0	2.9	13268 2	13275 1	- 176362	C	L1MC5	LINE/L1	-523	743 8	7371	297	

10

20

30

40

	3496	8.6	2.0	1.4	13275 2	13323 7	- 175876	+	LTR15	LTR/ERV1	1	671	-4	298	
	378	23. 8	13. 4	0.5	13324 2	13338 2	- 175731	C	L1MC5	LINE/L1	-547	749 5	7255	297	
	2042	13. 2	0.3	0.7	13344 1	13373 6	- 175377	+	AluSx	SINE/Alu	1	295	-17	299	
	2238	9.5	0.0	0.0	13374 0	13402 3	- 175090	+	AluSg	SINE/Alu	1	284	-26	300	
	371	4.7	0.0	0.0	13403 7	13407 9	- 175034	+	AluSz6	SINE/Alu	244	286	-26	301	
	694	29. 0	9.4	4.0	13418 3	13470 1	- 174412	C	L2a	LINE/L2	0	337 5	2870	302	
	1211	10. 9	39. 0	1.0	13470 5	13493 3	- 174180	C	AluSx3	SINE/Alu	-14	298	1	303	
	651	22. 9	0.8	0.0	13494 3	13506 4	- 174049	C	AluSz	SINE/Alu	-187	125	3	303	
	1658	16. 3	4.3	2.1	13508 3	13535 8	- 173755	C	AluSz	SINE/Alu	-30	282	1	304	
	2301	11. 2	0.3	0.0	13549 2	13579 4	- 173319	+	AluSx	SINE/Alu	1	304	-8	305	
	375	28. 3	11. 6	1.6	13587 1	13611 0	- 173003	+	MIRc	SINE/MIR	2	268	0	306	
	2136	11. 4	1.0	0.7	13695 4	13725 1	- 171862	+	AluSc8	SINE/Alu	1	299	-13	307	
	2368	7.1	1.0	0.3	13725 3	13754 9	- 171564	+	AluSp	SINE/Alu	3	301	-12	308	
	801	26. 6	8.3	0.7	13819 9	13845 2	- 170661	C	L2a	LINE/L2	-1	342 5	3153	309	
	1432	15. 2	6.6	0.3	13849 0	13860 6	- 170507	+	AluJb	SINE/Alu	1	117	-195	310	
	195	6.9	0.0	0.0	13860 7	13863 5	- 170478	+	(CA)n	単純	2	30	0	311	
	1432	15. 2	6.6	0.3	13863 6	13878 8	- 170325	+	AluJb	SINE/Alu	118	287	-25	310	
	254	12. 8	0.0	0.0	13879 3	13883 1	- 170282	+	L1ME3	LINE/L1	6124	616 2	0	312	
	1283	15. 2	0.6	4.5	13883 9	13916 2	- 169951	C	SVA_F	その他	-615	760	449	313	
	2029	2.1	0.0	0.0	13916 3	13939 5	- 169718	+	SVA_C	その他	1152	138 4	0	314	
	1528	7.5	0.0	1.5	13957 9	13978 1	- 169332	C	AluY	SINE/Alu	-13	298	99	315	
	3520	7.6	0.2	2.8	13978 2	14025 6	- 168857	C	LTR2	LTR/ERV1	0	463	1	316	
	7381	7.3	2.1	0.0	14025 7	14118 6	- 167927	C	Harleq-int	LTR/ERV1	0	784 7	6898	316	
	3412 0	6.3	0.8	0.3	14118 7	14540 2	- 163711	C	Harleq-int	LTR/ERV1	-996	590 0	1666	316	
	384	4.2	0.0	0.0	14542 3	14547 0	- 163643	+	L1PA3	LINE/L1	6103	615 0	-5	317	
	637	8.0	4.9	1.9	14548 0	14558 1	- 163532	C	Harleq-int	LTR/ERV1	- 5222	167 4	1570	316	
	5813	9.7	2.9	2.2	14559 5	14678 1	- 162332	C	Harleq-int	LTR/ERV1	- 5816	108 0	1	316	
	3514	7.8	0.4	0.2	14678 3	14723 4	- 161879	C	LTR2	LTR/ERV1	-10	453	1	316	
	775	7.8	0.0	0.0	14723 5	14733 6	- 161777	C	AluY	SINE/Alu	-209	102	1	315	
	2256	9.6	0.3	0.7	14789 2	14819 4	- 160919	+	AluSp	SINE/Alu	1	302	-11	318	
ブローブ22	2246	7.9	3.5	0.0	14871 2	14900 1	- 160112	C	AluSg	SINE/Alu	-9	301	2	319	2
	21	42. 9	0.0	0.0	15081 4	15083 4	- 158279	+	GC_リッチ	低複雑性	1	21	0	320	

10

20

30

40

	740	14.6	0.0	6.6	151349	151478	-157635	C	FLAM_C	SINE/Alu	-21	122	1	321	
除外された領域 20	2502	6.8	0.0	0.3	152355	152661	-156452	C	AluY	SINE/Alu	-5	306	1	322	5
	794	13.7	1.6	1.6	152695	152818	-156295	C	FLAM_C	SINE/Alu	-19	124	1	323	
	2085	13.3	1.3	0.0	152821	153120	-155993	C	AluSz	SINE/Alu	-8	304	1	324	
	563	32.8	6.6	1.5	153132	153370	-155743	C	MIRc	SINE/MIR	-10	258	3	325	
	791	18.7	9.2	4.2	153566	153838	-155275	+	L1MC5	LINE/L1	7642	7927	-34	326	
	2240	9.6	0.0	0.7	153853	154145	-154968	+	AluSc8	SINE/Alu	3	293	-19	327	
	28	67.9	0.0	0.0	154149	154176	-154937	+	AT_リッチ	低複雑性	1	28	0	328	
	2160	9.6	2.2	3.9	154350	154662	-154451	+	AluY	SINE/Alu	1	308	-3	329	
ブロープ23	216	27.8	3.8	1.2	154848	154927	-154186	+	L2a	LINE/L2	3302	3383	-43	330	1
	298	25.0	4.6	4.6	155156	155264	-153849	+	L2b	LINE/L2	3256	3364	-11	331	
	1947	15.3	0.3	0.7	156525	156824	-152289	+	AluJb	SINE/Alu	1	299	-13	332	
	252	27.7	8.2	5.8	156901	157034	-152079	C	L1MC	LINE/L1	-2228	5654	5518	333	
	441	0.0	0.0	0.0	157109	157157	-151956	+	(CA)n	単純	2	50	0	334	
	315	28.3	5.2	0.0	157159	157290	-151823	C	L1M5	LINE/L1	-655	5468	5326	335	
除外された領域 21	813	14.2	0.0	3.5	157768	157887	-151226	C	AluJo	SINE/Alu	-196	116	1	336	3
	2245	13.2	0.0	0.0	157903	158212	-150901	C	AluSz	SINE/Alu	-2	310	1	337	
	958	19.8	6.9	0.9	158305	158506	-150607	C	AluJr	SINE/Alu	-12	300	87	338	
ブロープ24	515	29.2	0.6	1.3	158572	158727	-150386	C	MIR	SINE/MIR	-106	156	2	339	0
	559	23.7	7.7	1.8	159274	159428	-149685	C	Tigger16b	DNA/TcMT	-16	321	158	340	
	276	19.7	0.0	0.0	159632	159697	-149416	C	L1MA9	LINE/L1	-19	6293	6228	341	
	1903	14.2	6.8	0.3	159698	160008	-149105	C	Tigger3a	DNA/TcMT	0	348	18	342	
	304	29.1	1.7	10.2	160014	160193	-148920	C	L1MA9	LINE/L1	-93	6219	6054	341	
	26	69.2	0.0	0.0	160250	160275	-148838	+	AT_リッチ	低複雑性	1	26	0	343	
除外された領域 22	30	60.0	0.0	0.0	160373	160402	-148711	+	AT_リッチ	低複雑性	1	30	0	344	16
	1901	16.8	0.3	0.3	160410	160707	-148406	C	AluJb	SINE/Alu	-14	298	1	345	
	2429	6.6	2.3	0.0	160926	161228	-147885	+	AluY	SINE/Alu	1	310	-1	346	
	2151	12.8	0.3	1.0	161239	161543	-147570	+	AluSq2	SINE/Alu	1	303	-9	347	
	812	17.1	0.0	1.6	161559	161687	-147426	C	FLAM_A	SINE/Alu	-13	129	3	348	
	2239	11.0	0.3	1.3	161748	162056	-147057	C	AluSz6	SINE/Alu	-6	306	1	349	
	637	9.0	0.8	11.5	162165	162289	-146824	C	L1MA9	LINE/L1	-33	6279	6167	350	
	2152	13.0	0.0	0.0	162300	162590	-	C	AluSx	SINE/Alu	-12	300	2	351	

10

20

30

40

		0			0	8	146515								
	853	17.8	0.0	0.0	162600	162728	-146385	C	FLAM_C	SINE/Alu	-14	129	1	352	
	2348	9.8	0.0	0.0	162759	163053	-146060	C	AluSc	SINE/Alu	-13	296	2	353	
	753	24.7	0.0	0.7	163054	163199	-145914	C	AluJb	SINE/Alu	-32	280	136	354	
	1899	16.7	2.0	0.0	163202	163494	-145619	C	AluSz6	SINE/Alu	-12	300	2	355	
	21	67.9	0.0	0.0	163511	163538	-145575	+	AT_リッチ	低複雑性	1	28	0	356	
	1411	15.6	1.9	12.5	163577	163884	-145229	C	AluJo	SINE/Alu	-23	289	11	357	
	2314	10.8	0.0	0.0	163906	164201	-144912	C	AluSx	SINE/Alu	-16	296	1	358	
	2470	9.1	0.3	0.0	164346	164653	-144460	+	AluSc	SINE/Alu	1	309	0	359	
	629	21.8	7.3	0.0	164831	164954	-144159	+	AluJb	SINE/Alu	4	136	-176	360	
	1493	17.2	4.8	2.0	164955	165244	-143869	+	AluJo	SINE/Alu	2	299	-13	361	
	2231	9.3	0.0	1.4	165251	165587	-143526	+	AluSq2	SINE/Alu	1	312	0	362	
ブロープ25	5877	8.3	2.5	6.2	166057	166719	-142394	C	L1PA7	LINE/L1	-1	6153	5491	363	0
除外された領域 23	5877	8.3	2.5	6.2	166057	166719	-142394	C	L1PA7	LINE/L1	-1	6153	5491	363	3
	2432	7.4	0.0	0.7	166720	167015	-142098	C	AluY	SINE/Alu	-17	294	1	364	
	5877	8.3	2.5	6.2	167016	167038	-142075	C	L1PA7	LINE/L1	-664	5490	5490	363	
	2296	11.5	0.0	0.0	167039	167343	-141770	C	AluSx3	SINE/Alu	-7	305	1	365	
	5877	8.3	2.5	6.2	167344	167416	-141697	C	L1PA7	LINE/L1	-664	5490	5420	363	
	2527	8.4	0.0	0.0	167417	167725	-141388	C	AluY	SINE/Alu	-2	309	1	366	
	5877	7.4	1.0	0.3	167726	168279	-140834	C	L1PA7	LINE/L1	-735	5419	4870	363	
ブロープ26	5877	7.4	1.0	0.3	167726	168279	-140834	C	L1PA7	LINE/L1	-735	5419	4870	363	2
	1566	16.2	8.3	0.3	169630	169907	-139206	C	AluJb	SINE/Alu	-12	300	1	367	
	266	33.0	2.3	1.4	169960	170120	-138993	C	MIRb	SINE/MIR	-96	172	5	368	
	1633	22.3	0.0	0.7	170506	170806	-138307	+	AluJr	SINE/Alu	1	299	-13	369	
除外された領域 24	2359	8.0	0.3	0.7	171255	171556	-137557	C	AluY	SINE/Alu	-9	302	2	370	3
	2345	8.4	0.0	1.0	171557	171854	-137259	C	AluSg	SINE/Alu	-12	298	4	371	
	2440	6.5	0.0	2.6	171895	172204	-136909	C	AluY	SINE/Alu	-9	302	1	372	
ブロープ27	500	17.8	10.2	1.4	173641	173784	-135329	+	L1MC4a	LINE/L1	7729	7994	-1	373	0
除外された領域 25	1743	15.8	0.3	6.0	174758	174905	-134208	+	AluJb	SINE/Alu	2	145	-167	374	8
	2453	8.3	0.3	0.0	174906	175207	-133906	+	AluSp	SINE/Alu	1	303	-10	375	
	1743	15.8	0.3	6.0	175208	175375	-133738	+	AluJb	SINE/Alu	146	301	-11	374	
	2487	8.2	0.0	0.0	175378	175681	-133432	+	AluSg7	SINE/Alu	1	304	-8	376	

10

20

30

40

	1773	15.8	0.3	6.0	276759	276906	-32207	+	AluJb	SINE/Alu	2	145	-167	377	
	2466	8.3	0.3	0.0	276907	277207	-31906	+	AluSp	SINE/Alu	1	302	-11	378	
	1773	15.8	0.3	6.0	277208	277375	-31738	+	AluJb	SINE/Alu	146	301	-11	377	
	2510	8.5	0.0	0.0	277378	277684	-31429	+	AluSg7	SINE/Alu	1	307	-5	379	
ブローブ29															0
除外された領域 26	2477	7.4	0.0	0.0	278774	279071	-30042	+	AluY	SINE/Alu	1	298	-13	380	6
	2212	9.4	0.3	5.3	279406	279724	-29389	+	AluSp	SINE/Alu	1	304	-9	381	
	2283	10.4	0.3	0.0	279909	280205	-28908	+	AluSg	SINE/Alu	1	298	-12	382	
	2288	9.1	0.0	0.7	280216	280501	-28612	+	AluY	SINE/Alu	1	284	-27	383	
	235	22.6	7.0	2.2	280538	280623	-28490	+	L1ME4a	LINE/L1	5948	6037	-87	384	
	1552	21.2	4.2	0.3	280624	280910	-28203	C	AluJb	SINE/Alu	-14	298	1	385	
	2217	8.9	1.4	0.7	280919	281210	-27903	C	AluY	SINE/Alu	-17	294	1	386	
ブローブ30	288	7.0	0.0	0.0	281782	281824	-27289	+	(GGA)n	単純	1	43	0	387	0
除外された領域 27	2005	17.0	0.0	0.0	282404	282703	-26410	C	AluSz6	SINE/Alu	-11	301	2	388	1
ブローブ31															0
除外された領域 28	2341	8.6	0.7	0.7	283434	283734	-25379	+	AluSx1	SINE/Alu	1	301	-11	389	1
ブローブ32															0
除外された領域 29	331	28.5	9.8	2.3	283817	283938	-25175	+	MIRb	SINE/MIR	18	148	-120	390	0
ブローブ33	328	29.2	3.2	14.3	285397	285474	-23639	+	MIRb	SINE/MIR	3	70	-198	392	0
除外された領域 30	328	29.2	3.2	14.3	285397	285474	-23639	+	MIRb	SINE/MIR	3	70	-198	392	10
	2457	7.7	0.0	0.3	285475	285773	-23340	C	AluY	SINE/Alu	-13	298	1	393	
	328	29.2	3.2	14.3	285774	285818	-23295	+	MIRb	SINE/MIR	71	114	-154	392	
	408	34.7	8.7	2.2	285879	285923	-23190	C	L2c	LINE/L2	-38	3349	3305	394	
	1815	17.3	0.0	3.3	285924	286070	-23043	+	AluJb	SINE/Alu	1	145	-167	395	
	2404	7.7	0.3	0.3	286071	286369	-22744	+	AluSc5	SINE/Alu	1	299	-13	396	
	1815	17.3	0.0	3.3	286370	286532	-22581	+	AluJb	SINE/Alu	146	301	-11	395	
	408	34.7	8.7	2.2	286533	286611	-22502	C	L2c	LINE/L2	-83	3304	3221	394	
	2426	8.9	0.0	0.0	286612	286903	-22210	+	AluSg	SINE/Alu	1	292	-18	397	
	408	31.6	7.5	2.4	286904	287093	-22020	C	L2c	LINE/L2	-167	3220	3009	394	
	1897	18.1	0.0	0.3	287133	287435	-21678	+	AluSz6	SINE/Alu	1	302	-10	398	
	2477	8.5	0.7	0.0	287436	287740	-21373	+	AluSg	SINE/Alu	1	307	-3	399	
	236	28.4	6.8	6.1	287743	287888	-21225	C	L2c	LINE/L2	-495	2924	2778	394	

10

20

30

40

	2425	7.2	0.7	0.0	287918	288210	-20903	+	AluSx4	SINE/Alu	5	299	-13	400	
	1966	14.8	0.0	0.7	288319	288601	-20512	+	AluJb	SINE/Alu	1	281	-31	401	
	198	19.2	9.4	1.8	288602	288648	-20465	C	L2c	LINE/L2	-823	2596	2545	394	
	370	33.9	7.3	3.9	288662	288761	-20352	C	L2c	LINE/L2	-927	2492	2386	394	
	1455	18.4	8.1	5.3	288762	288900	-20213	C	MER2	DNA/TcMT	-1	344	212	402	
	1649	18.9	1.0	1.7	288901	289197	-19916	C	AluJr	SINE/Alu	-17	295	1	403	
	1455	18.4	8.1	5.3	289198	289390	-19723	C	MER2	DNA/TcMT	-134	211	3	402	
ブローブ34	1455	18.4	8.1	5.3	289198	289390	-19723	C	MER2	DNA/TcMT	-134	211	3	402	0
	370	31.2	4.9	4.4	289391	289699	-19414	C	L2c	LINE/L2	-1034	2385	2033	394	
	274	29.6	20.4	8.6	289992	290173	-18940	C	MIRb	SINE/MIR	-48	220	16	404	
	254	16.1	1.4	10.9	290149	290218	-18895	+	MIR	SINE/MIR	96	159	-103	405	
除外された領域31	254	16.1	1.4	10.9	290149	290218	-18895	+	MIR	SINE/MIR	96	159	-103	405*	2
	1998	16.9	0.0	0.3	290222	290534	-18579	+	AluJb	SINE/Alu	1	312	0	406	
	2584	6.3	0.0	0.0	290614	290913	-18200	C	AluY	SINE/Alu	-11	300	1	407	
ブローブ35	25	76.1	0.0	0.0	291372	291417	-17696	+	AT_リッチ	低複雑性	1	46	0	408	0
	21	38.1	0.0	0.0	291399	291419	-17694	+	AT_リッチ	低複雑性	1	21	0	409	
	228	6.7	0.0	0.0	293811	293840	-15273	+	(CAGCC)n	単純	3	32	0	410	
除外された領域32	1075	11.7	0.0	1.4	295607	295751	-13362	+	FLAM_C	SINE/Alu	1	143	0	411	3
	2297	12.3	0.0	0.3	296215	296522	-12591	+	AluSx1	SINE/Alu	1	307	-5	412	
	2261	8.2	0.7	0.0	296524	296803	-12310	+	AluSg	SINE/Alu	22	303	-7	413	
ブローブ36	611	31.6	6.1	1.2	296940	297170	-11943	C	MIRb	SINE/MIR	-1	267	26	414	1
	796	17.6	2.3	0.0	299588	299718	-9395	C	FLAM_C	SINE/Alu	-8	135	2	415	
除外された領域33	2282	9.0	0.3	0.3	299917	300205	-8908	+	AluSq4	SINE/Alu	1	289	-23	416	3
	1752	16.3	2.0	1.7	300991	301290	-7823	+	AluSz6	SINE/Alu	2	302	-10	417	
	2156	13.3	0.7	0.3	301631	301930	-7183	C	AluSz6	SINE/Alu	-10	302	2	418	
ブローブ37															0
除外された領域34	1844	12.7	7.6	0.0	303366	303641	-5472	+	AluSz6	SINE/Alu	1	297	-15	419	6
	186	4.3	0.0	0.0	303712	303734	-5379	+	(TCTG)n	単純	2	24	0	420	
	1799	15.9	0.0	0.7	303735	304005	-5108	C	AluSx3	SINE/Alu	-43	269	1	421	
	1627	16.8	0.6	8.1	304121	304299	-4814	C	AluJb	SINE/Alu	-3	309	129	422	
	2369	10.8	0.3	0.0	304300	304604	-4509	C	AluSc	SINE/Alu	-2	307	2	423	
	1627	16.0	0.6	8.1	304600	304740	-4371	C	AluJb	SINE/Alu	-184	128	14	422	

10

20

30

40

		8			5	2									
	365	16.1	8.5	0.0	304786	304873	-4240	C	FRAM	SINE/Alu	0	133	24	424	
ブローブ38	219	3.6	0.0	0.0	305000	305027	-4086	+	(CA)n	単純	2	29	0	425	0
	201	7.4	0.0	0.0	305028	305054	-4059	+	(TC)n	単純	2	28	0	426	
	262	36.0	0.0	0.0	305840	305978	-3135	+	(TGG)n	単純	1	139	0	427	
除外された領域 35	980	19.5	0.0	1.2	306413	306573	-2540	C	AluJb	SINE/Alu	-18	294	134	428	9
	1683	16.0	0.0	1.5	306574	306841	-2272	C	AluJr	SINE/Alu	-14	298	35	429	
	1081	16.8	6.0	8.0	306893	306924	-2189	C	Charlie5	DNA/hAT-Charlie	-1	2623	2600	430	
	2498	7.1	0.0	0.0	306925	307220	-1893	+	AluSg	SINE/Alu	1	296	-14	431	
	351	0.0	0.0	0.0	307222	307260	-1853	+	(TA)n	単純	2	40	0	432	
	1081	16.8	6.0	8.0	307261	307290	-1823	C	Charlie5	DNA/hAT-Charlie	-25	2599	2574	430	
	2429	10.1	0.0	0.0	307291	307597	-1516	C	AluSg	SINE/Alu	-3	307	1	433	
	1081	16.8	6.0	8.0	307598	307634	-1479	C	Charlie5	DNA/hAT-Charlie	-51	2573	2537	430	
	1814	18.1	3.4	0.0	307635	307932	-1181	+	AluJr	SINE/Alu	1	308	-4	434	
	1081	16.8	6.0	8.0	307933	307957	-1156	C	Charlie5	DNA/hAT-Charlie	-88	2536	2509	430	
	1804	16.6	1.0	1.0	307958	308258	-855	C	AluJb	SINE/Alu	-11	301	1	435	
	1081	16.8	6.0	8.0	308259	308509	-604	C	Charlie5	DNA/hAT-Charlie	-116	2508	2251	430	
	180	0.0	0.0	0.0	308538	308557	-556	+	(TTG)n	単純	2	21	0	436	
	2319	9.2	0.0	0.3	308558	308843	-270	C	AluSx	SINE/Alu	-25	287	3	437	
	26	80.0	0.0	0.0	308875	308914	-199	+	AT_リッチ	低複雑性	1	40	0	438	
	765	15.0	4.4	0.0	308915	309027	-86	+	AluJo	SINE/Alu	1	118	-194	439	
	435	14.5	0.0	0.0	309052	309113	0	C	AluSz6	SINE/Alu	-13	299	238	440	

10

20

30

【 0 1 6 2 】

【表 4】

表 4

プローブ中の全Alu配列 11 (10,5
%)
除外された領域中の全Alu配列 93 (89,4
%)

	スコア	%	%	%	クエリー配列中の位置 (hg18)			+	一致する リピート	リピート クラス/ファミリー	リピート中の位置			連鎖 id	Alu 配列 (カウント)
					開始	終了	(残数)				(残数) 開始	終了	開始 (残数)		
除外された領域 1															0
プローブ1	398	34. 5	9.7	1.3	240	456	17204 4	C	L3	LINE/CR1	-715	338 4	3150	1	0
除外された領域 2	2477	7.0	0.6	1.0	2534	2845	16965 5	+	AluY	SINE/Alu	1	311	0	2	2
	2391	8.5	0.0	2.3	2948	3254	16924 6	+	AluSg	SINE/Alu	3	302	-8	3	
プローブ2	21	42. 9	0.0	0.0	4058	4078	16842 2	+	AT_リッチ	低複雑性	1	21	0	4	0
	181	13. 3	0.0	0.0	5187	5216	16728 4	C	L2b	LINE/L2	-2	337 3	3344	5	
	21	53. 6	0.0	0.0	5344	5371	16712 9	+	AT_リッチ	低複雑性	1	28	0	6	
	25	44. 0	0.0	0.0	6259	6283	16621 7	+	AT_リッチ	低複雑性	1	25	0	7	
	36	69. 4	0.0	0.0	6261	6296	16620 4	+	AT_リッチ	低複雑性	1	36	0	8	
	300	32. 4	7.6	6.2	6346	6569	16593 1	C	L2c	LINE/L2	-139	324 8	3022	9	
除外された領域 3	2134	12. 3	3.6	0.3	7463	7763	16473 7	C	AluSp	SINE/Alu	-2	311	1	10	3
	4581	12. 2	3.9	2.7	7764	8038	16446 2	+	Tigger1	DNA/TcMar- Tigger	1552	182 9	-589	11	
	2268	12. 5	0.0	0.0	8039	8350	16415 0	C	AluSz	SINE/Alu	0	312	1	12	
	4581	12. 2	3.9	2.7	8351	8579	16392 1	+	Tigger1	DNA/TcMar- Tigger	1830	205 2	-366	11	
	2110	12. 2	0.4	0.4	8580	8896	16360 4	+	AluSc	SINE/Alu	1	309	0	13	
	4581	12. 6	5.9	2.5	8897	9223	16327 7	+	Tigger1	DNA/TcMar- Tigger	2053	241 8	0	11	
プローブ3a	4581	12. 6	5.9	2.5	8897	9223	16327 7	+	Tigger1	DNA/TcMar- Tigger	2053	241 8	0	11	0

10

20

30

40

	722	28. 2	6.0	0.9	9919	10136	- 16236 4	C	MIRb	SINE/MIR	-14	254	26	14	
	566	16. 8	1.6	2.4	11054	11181	- 16131 9	+	L1MB8	LINE/L1	6051	617 7	-1	15	
	216	15. 8	0.0	0.0	11954	11991	- 16050 9	+	T-リッチ	低複雑性	143	180	0	16	
除外された領域 4															0
ブロープ3b	1039	34. 0	8.2	3.8	14509	15076	- 15742 4	C	L2b	LINE/L2	0	337 5	2752	17	0
	580	10. 9	8.9	0.0	15077	15177	- 15732 3	+	L1MB4	LINE/L1	6070	617 9	-1	18	
	1039	29. 2	11. 7	4.9	15178	15625	- 15687 5	C	L2b	LINE/L2	-668	275 1	2301	17	
	392	34. 2	7.0	0.0	15699	15856	- 15664 4	+	MER5B	DNA/hAT-Charlie	5	173	-5	19	
	260	27. 0	2.2	1.1	16498	16587	- 15591 3	+	MER5B	DNA/hAT-Charlie	1	91	-87	20	
	356	35. 0	9.7	1.8	16639	17148	- 15535 2	+	L2b	LINE/L2	687	126 5	- 2154	21	
除外された領域 5	356	35. 0	9.7	1.8	16639	17148	- 15535 2	+	L2b	LINE/L2	687	126 5	- 2154	21	0
ブロープ3c	582	29. 9	8.9	3.0	17310	18031	- 15446 9	+	L2b	LINE/L2	1332	216 3	- 1256	21	0
	570	21. 9	5.8	0.6	18054	18209	- 15429 1	+	MER5A1	DNA/hAT-Charlie	2	165	-1	22	
	615	26. 7	6.3	7.5	18211	18297	- 15420 3	+	L2b	LINE/L2	2215	228 5	- 1134	21	
	463	12. 4	0.0	0.0	18298	18386	- 15411 4	C	L1PB1	LINE/L1	0	615 1	6063	23	
	615	26. 7	6.3	7.5	18387	18553	- 15394 7	+	L2b	LINE/L2	2286	246 6	-953	21	
	616	28. 0	8.3	2.9	18583	18810	- 15369 0	C	MIR	SINE/MIR	0	262	23	24	
	251	27. 6	7.8	4.5	18895	19023	- 15347 7	+	L2b	LINE/L2	2618	275 0	-669	21	
	180	24. 4	18. 9	0.9	19184	19278	- 15322 2	+	L2b	LINE/L2	3029	314 0	-235	21	
	288	25. 5	5.2	0.0	19430	19517	- 15298 3	+	MIR	SINE/MIR	108	206	-62	25	
	409	20. 3	0.9	13. 5	20554	20661	- 15183 9	+	MER20	DNA/hAT-Charlie	6	101	-118	26	
除外された領域 6	2283	10. 6	0.0	0.7	20878	21178	- 15132	C	AluSx1	SINE/Alu	-13	299	1	27	9

10

20

30

40

						2									
	2650	5.7	0.0	0.0	21294	21593	- 15090 7	C	AluYk4	SINE/Alu	-12	300	1	28	
	411	30. 1	0.0	0.0	21609	21711	- 15078 9	C	MIR	SINE/MIR	-2	260	158	29	
	271	27. 3	6.5	0.0	21747	21823	- 15067 7	+	L1MEg	LINE/L1	117	198	- 6002	30	
	1322	24. 0	7.1	2.2	21910	22707	- 14979 3	+	L1MEg	LINE/L1	667	148 1	- 4719	30	
	2394	10. 8	0.0	0.0	22717	23021	- 14947 9	+	AluSx	SINE/Alu	1	305	-7	31	
	367	22. 0	15. 0	5.0	23105	23289	- 14921 1	+	L1MEg	LINE/L1	1665	187 8	- 4246	30	
	2251	12. 5	1.6	0.0	23290	23594	- 14890 6	+	AluSx1	SINE/Alu	1	310	-2	32	
	367	23. 5	14. 9	3.8	23595	23754	- 14874 6	+	L1MEg	LINE/L1	1858	203 5	- 4165	30	
	21	66. 7	0.0	0.0	23863	23883	- 14861 7	+	AT_リッチ	低複雑性	1	21	0	33	
	2312	9.8	0.0	0.0	23884	24168	- 14833 2	C	AluSg4	SINE/Alu	-27	285	1	34	
	354	27. 4	23. 6	0.1	24296	24462	- 14803 8	+	MIRb	SINE/MIR	44	240	-28	35	
	2271	11. 0	0.0	0.3	25061	25359	- 14714 1	C	AluSq2	SINE/Alu	-14	298	1	36	
	204	31. 0	5.5	4.3	25745	25835	- 14666 5	+	L2c	LINE/L2	3252	334 3	-44	37	
	189	38. 0	1.8	2.7	26973	27083	- 14541 7	+	L2	LINE/L2	2741	285 0	-569	38	
	3579	15. 7	3.5	1.5	28391	28663	- 14383 7	+	L1MA9	LINE/L1	5556	582 3	-489	39	
	2204	10. 2	0.0	1.4	28664	28973	- 14352 7	+	AluSx	SINE/Alu	1	312	0	40	
	3579	15. 7	3.5	1.5	28974	29408	- 14309 2	+	L1MA9	LINE/L1	5824	627 9	-33	39	
	2260	11. 5	0.0	1.9	29420	29733	- 14276 7	C	AluSx	SINE/Alu	-3	309	2	41	
	388	29. 1	18. 1	0.4	30060	30252	- 14224 8	+	MIRb	SINE/MIR	40	266	-2	42	
	2247	9.7	0.3	0.7	30637	30936	- 14156 4	+	AluSp	SINE/Alu	1	299	-14	43	
ブローブ5	467	24. 0	10. 4	0.0	32206	32359	- 14014	C	MER3	DNA/hAT-Charlie	-21	188	19	44	0

10

20

30

40

							1								
	637	15.5	13.4	4.7	32864	32983	- 139517	C	Charlie1a	DNA/hAT-Charlie	0	1455	1322	45	
除外された領域 7	637	15.5	13.4	4.7	32864	32983	- 139517	C	Charlie1a	DNA/hAT-Charlie	0	1455	1322	45	2
	2301	10.8	0.0	0.3	32984	33289	- 139211	+	AluSz	SINE/Alu	1	305	-7	46	
	637	16.9	15.4	3.0	33290	33571	- 138929	C	Charlie1a	DNA/hAT-Charlie	-134	1321	988	45	
	594	21.1	7.8	0.0	33607	33772	- 138728	C	Charlie1a	DNA/hAT-Charlie	-590	865	687	45	
	1745	21.7	7.6	1.8	33787	34341	- 138159	C	Charlie1a	DNA/hAT-Charlie	-804	651	67	45	
	2280	10.4	1.0	0.0	34508	34805	- 137695	C	AluSc8	SINE/Alu	-11	301	1	47	
	25	69.2	0.0	0.0	34861	34899	- 137601	+	AT_リッチ	低複雑性	1	39	0	48	
ブロープ6	551	28.8	9.0	2.0	35403	35590	- 136910	+	MIRb	SINE/MIR	8	208	-60	49	0
	346	34.6	12.2	4.0	35890	36193	- 136307	C	L2c	LINE/L2	-79	3308	2981	50	
	243	37.6	5.5	5.5	36411	36666	- 135834	+	L2c	LINE/L2	2910	3165	-222	51	
	186	15.2	15.2	0.0	36661	36706	- 135794	C	L2a	LINE/L2	-98	3328	3276	52	
	278	36.5	4.1	0.8	36911	37059	- 135441	+	MER5B	DNA/hAT-Charlie	7	153	-25	53	
	232	39.2	2.9	0.0	37056	37157	- 135343	C	L2c	LINE/L2	-648	2771	2667	50	
	293	29.1	12.7	9.0	37286	37553	- 134947	C	L2c	LINE/L2	-2	3385	3109	54	
	22	59.1	0.0	0.0	37814	37835	- 134665	+	AT_リッチ	低複雑性	1	22	0	55	
	1767	14.8	2.6	0.3	38038	38350	- 134150	C	L1MC2	LINE/L1	-158	6186	5867	56	
	2581	4.4	10.9	0.0	38351	38783	- 133717	C	MER9a3	LTR/ERVk	0	512	33	57	
	2503	12.5	5.4	0.2	38790	39214	- 133286	C	L1MC2	LINE/L1	-471	5873	5427	56	
除外された領域 8	2503	12.5	5.4	0.2	38790	39214	- 133286	C	L1MC2	LINE/L1	-471	5873	5427	56	1
	2575	6.6	0.0	0.3	39220	39520	- 13298	C	AluY	SINE/Alu	-11	300	1	58	

10

20

30

40

						0									
ブローフ7	447	30.7	12.8	1.3	40106	40462	132038	C	L2a	LINE/L2	0	3426	2972	59	1
	1324	19.2	10.7	1.0	40694	40974	131526	C	AluJr	SINE/Alu	-2	310	3	60	
除外された領域 9	2608	5.3	1.3	0.0	41606	41907	130593	C	AluY	SINE/Alu	-5	306	1	61	10
	1898	14.0	0.4	0.0	43234	43497	129003	+	AluSx	SINE/Alu	1	265	-47	62	
	2028	8.5	0.4	1.2	43498	43755	128745	+	AluY	SINE/Alu	41	296	-15	63	
	1289	15.4	0.4	8.1	43837	44089	128411	C	AluJb	SINE/Alu	-14	298	64	64	
	1897	13.9	0.0	0.0	44300	44565	127935	C	AluSx1	SINE/Alu	-2	310	45	65	
	311	17.9	0.0	1.5	44716	44783	127717	+	MER53	DNA/hAT	12	78	-115	66	
	491	14.9	0.0	1.1	44783	44870	127630	+	MER53	DNA/hAT	107	193	0	67	
	480	14.4	4.8	11.0	45770	45894	126606	C	MER44D	DNA/TcMar-Tigger	-2	703	586	68	
	1057	7.7	1.6	2.7	45879	46064	126436	C	MER44D	DNA/TcMar-Tigger	-79	626	444	68	
	2405	12.7	5.6	1.2	46064	46728	125772	C	Tigger7	DNA/TcMar-Tigger	-1653	838	145	69	
	919	18.1	0.0	0.0	46776	46930	125570	C	MER44D	DNA/TcMar-Tigger	-549	156	2	68	
	1210	14.2	11.8	0.8	47131	47342	125158	C	AluSx	SINE/Alu	0	312	78	70	
	967	18.1	0.0	0.0	47500	47648	124852	+	AluJb	SINE/Alu	152	300	-12	71	
	208	22.0	1.1	6.0	47867	47953	124547	+	(TATG)n	単純_リピート	3	85	0	72	
	4691	7.6	0.2	0.6	49683	50307	122193	C	L1PA10	LINE/L1	-11	6157	5536	73	
	1758	20.7	0.7	0.0	50462	50766	121734	+	AluJr4	SINE/Alu	1	307	-5	74	
	2343	10.9	0.0	0.3	51130	51431	121069	+	AluSz	SINE/Alu	1	301	-11	75	
	1741	18.6	1.4	0.3	51949	52244	120256	C	AluJo	SINE/Alu	-9	303	5	76	
ブローフ11															0

10

20

30

40

除外された領域 10	2443	0.4	0.0	0.8	57693	57950	- 11455 0	+	AluYa5	SINE/Alu	41	296	-14	77	3
	203	29. 1	9.0	3.8	57957	58056	- 11444 4	+	MIRc	SINE/MIR	63	167	-101	78	
	2301	9.7	1.0	0.3	58059	58356	- 11414 4	+	AluSx	SINE/Alu	1	300	-12	79	
	219	18. 6	3.1	15. 8	58361	58424	- 11407 6	+	MIR	SINE/MIR	200	256	-6	80	
	1903	12. 7	4.4	9.5	58558	58831	- 11366 9	C	Tigger3a	DNA/TcMar- Tigger	0	348	61	81	
	2336	9.7	0.0	1.0	58832	59130	- 11337 0	+	AluSx	SINE/Alu	1	296	-16	82	
	1903	12. 7	4.4	9.5	59131	59220	- 11328 0	C	Tigger3a	DNA/TcMar- Tigger	-288	60	1	81	
ブローブ12	1903	12. 7	4.4	9.5	59131	59220	- 11328 0	C	Tigger3a	DNA/TcMar- Tigger	-288	60	1	81	1
	270	39. 8	0.0	0.0	60002	60119	- 11238 1	+	L4	LINE/RTE-X	1467	158 4	-445	83	
	180	11. 1	0.0	0.0	60235	60261	- 11223 9	+	(A)n	単純_リピート	1	27	0	84	
	474	10. 8	9.2	0.0	60778	60842	- 11165 8	C	AluSq10	SINE/Alu	-236	76	6	85	
	612	13. 2	0.9	0.0	60849	60962	- 11153 8	C	Charlie1a	DNA/hAT-Charlie	-26	142 9	1315	86	
	1915	18. 2	4.9	0.7	60965	61374	- 11112 6	C	Charlie1a	DNA/hAT-Charlie	-617	838	412	86	
	321	29. 3	5.9	2.1	61403	61538	- 11096 2	C	Charlie1a	DNA/hAT-Charlie	- 1314	141	1	86	
	1905	12. 3	7.7	1.4	61652	61988	- 11051 2	C	Tigger4b	DNA/TcMar- Tigger	-1	360	3	87	
	656	22. 7	6.7	8.5	62213	62511	- 10998 9	C	L1MC4a	LINE/L1	- 1844	603 8	5745	88	
	309	32. 5	6.3	3.3	63088	63262	- 10923 8	C	MIRc	SINE/MIR	-19	249	70	89	
	307	26. 2	21. 7	1.0	63277	63442	- 10905 8	+	HAL1	LINE/L1	42	241	- 2266	90	
	820	26. 3	16. 0	3.2	63465	64265	- 10823 5	+	HAL1	LINE/L1	271	117 2	- 1335	90	
	744	23. 8	8.6	6.5	64278	64682	- 10781 8	+	HAL1	LINE/L1	1215	162 7	-880	90	
	646	29. 9	9.2	1.7	64710	64981	- 10751 9	+	HAL1	LINE/L1	1667	195 8	-549	90	

10

20

30

40

除外された領域 11	646	29. 9	9.2	1.7	64710	64981	- 10751 9	+	HAL1	LINE/L1	1667	195 8	-549	90	4
	2221	11. 7	2.0	0.0	65009	65307	- 10719 3	+	AluSz6	SINE/Alu	1	305	-7	91	
	741	28. 5	17. 7	5.0	65308	65642	- 10685 8	+	HAL1	LINE/L1	15	396	- 2111	92	
	1932	12. 4	0.4	0.0	65643	65900	- 10660 0	+	AluSx	SINE/Alu	42	300	-12	93	
	741	25. 5	7.2	8.2	65901	66135	- 10636 5	+	HAL1	LINE/L1	397	625	- 1882	92	
	513	26. 8	6.3	2.2	66162	66382	- 10611 8	+	HAL1	LINE/L1	743	972	- 1535	92	
	226	27. 4	8.6	9.6	66385	66535	- 10596 5	+	HAL1	LINE/L1	1945	209 4	-413	92	
	2516	7.3	0.0	1.3	66536	66850	- 10565 0	+	AluY	SINE/Alu	1	311	0	94	
	226	27. 4	8.6	9.6	66851	66926	- 10557 4	+	HAL1	LINE/L1	2095	216 6	-341	92	
	4820	10. 2	2.1	0.0	66927	67600	- 10490 0	+	LTR12_	LTR/ERV1	1	688	0	95	
	226	27. 4	8.6	9.6	67601	67698	- 10480 2	+	HAL1	LINE/L1	2167	226 8	-239	92	
	2139	11. 2	0.0	0.0	67853	68168	- 10433 2	C	AluY	SINE/Alu	0	311	2	96	
ブローブ13	460	25. 0	6.8	1.9	69115	69261	- 10323 9	+	L2a	LINE/L2	1657	181 0	- 1609	97	0
	850	28. 6	3.9	2.3	69391	69648	- 10285 2	+	L2a	LINE/L2	2735	299 6	-423	97	
	345	23. 9	19. 3	1.4	69670	69788	- 10271 2	+	L2a	LINE/L2	3286	342 5	-1	97	
	327	31. 5	8.0	3.0	69875	70100	- 10240 0	C	L2	LINE/L2	-923	249 6	2260	98	
除外された領域 12	2153	8.9	2.0	1.0	71648	71776	- 10072 4	+	AluSx	SINE/Alu	1	129	-183	99	3
	225	0.0	0.0	0.0	71777	71801	- 10069 9	+	(TAAA)n	単純_リピート	2	26	0	100	
	2153	8.9	2.0	1.0	71802	71965	- 10053 5	+	AluSx	SINE/Alu	130	296	-16	99	
	2223	8.1	0.0	9.2	72116	72437	- 10006 3	C	AluSp	SINE/Alu	-18	295	1	101	
ブローブ14	967	25. 5	2.0	3.7	73109	73356	-99144	C	MIR	SINE/MIR	-2	260	17	102	0
除外された領域 13	2433	9.2	0.0	0.3	74262	74565	-97935	+	AluSx1	SINE/Alu	1	303	-9	103	5

10

20

30

40

	1011	11. 4	0.0	0.7	74578	74717	-97783	+	AluJb	SINE/Alu	1	139	-173	104	
	2204	12. 2	0.0	0.3	74720	75007	-97493	+	AluSx	SINE/Alu	2	288	-24	105	
	2390	11. 0	0.7	0.0	75008	75315	-97185	+	AluSx	SINE/Alu	1	310	-2	106	
	1873	27. 2	6.0	3.0	75901	76439	-96061	C	L2a	LINE/L2	-8	341 8	2826	107	
	2284	9.4	1.4	0.0	76440	76725	-95775	C	AluSx	SINE/Alu	-22	290	1	108	
	1873	25. 9	6.3	2.2	76726	77867	-94633	C	L2a	LINE/L2	-594	282 5	1505	107	
ブローブ15	1873	25. 9	6.3	2.2	76726	77867	-94633	C	L2a	LINE/L2	-594	282 5	1505	107	1
	24	54. 8	0.0	0.0	77993	78023	-94477	+	AT_リッチ	低複雑性	1	31	0	109	
	1987	14. 5	0.7	2.3	78087	78396	-94104	C	AluJr	SINE/Alu	-6	306	2	110	
	654	26. 9	11. 1	3.8	80306	80775	-91725	C	HAL1	LINE/L1	-1	250 6	2003	111	
	366	24. 7	22. 2	0.4	80915	81145	-91355	C	HAL1	LINE/L1	-698	180 9	1529	111	
除外された領域 14	366	24. 7	22. 2	0.4	80915	81145	-91355	C	HAL1	LINE/L1	-698	180 9	1529	111	15
	362	14. 3	0.0	0.0	81186	81241	-91259	C	AluJo	SINE/Alu	-10	302	247	112	
	810	18. 7	0.0	0.0	81247	81369	-91131	C	AluJo	SINE/Alu	-189	123	1	113	
	2337	10. 8	1.0	0.0	81439	81745	-90755	C	AluSq2	SINE/Alu	-2	310	1	114	
	222	12. 8	0.0	0.0	81790	81828	-90672	+	(T)n	単純_リピート	1	39	0	115	
	645	22. 8	3.0	3.0	81861	82095	-90405	C	HAL1	LINE/L1	- 1173	133 4	1100	111	
	2246	12. 8	0.0	0.0	82608	82904	-89596	+	AluSz	SINE/Alu	1	297	-15	116	
	870	26. 0	8.8	4.5	82945	83220	-89280	+	L1MC5	LINE/L1	6652	691 5	- 1046	117	
	2237	11. 4	0.0	0.7	83221	83518	-88982	+	AluSx1	SINE/Alu	1	296	-16	118	
	870	26. 0	8.8	4.5	83519	83591	-88909	+	L1MC5	LINE/L1	6916	700 7	-954	117	
	1689	17. 8	3.1	2.0	83592	83884	-88616	+	AluJb	SINE/Alu	3	298	-14	119	
	870	23. 0	4.9	4.9	83885	84043	-88457	+	L1MC5	LINE/L1	7008	718 7	-774	117	
	2385	8.7	0.0	0.3	84076	84374	-88126	C	AluSx3	SINE/Alu	-1	311	14	120	
	361	24. 7	11. 5	6.8	84442	84667	-87833	C	HAL1	LINE/L1	- 1433	107 4	839	111	
	2526	7.4	0.3	0.0	84867	85175	-87325	C	AluSg4	SINE/Alu	-2	310	1	121	
	524	30. 4	1.8	0.6	85327	85495	-87005	C	HAL1	LINE/L1	- 2066	441	271	111	
	510	25. 4	7.2	6.6	85541	85640	-86860	+	MIR	SINE/MIR	78	186	-76	122	
	2302	10. 3	0.0	0.0	85641	85941	-86559	C	AluSx1	SINE/Alu	-11	301	1	123	
	510	25. 4	7.2	6.6	85942	86021	-86479	+	MIR	SINE/MIR	187	259	-3	122	
	1959	12. 4	5.7	0.0	86679	86960	-85540	C	AluSq2	SINE/Alu	-14	298	1	124	
	3783	12. 4	2.8	0.3	87785	88389	-84111	C	Tigger1	DNA/TcMar- Tigger	0	241 8	1799	125	

10

20

30

40

	2326	9.8	6.7	0.8	88390	88749	-83751	C	THE1D	LTR/ERV1-MaLR	0	381	1	126	
	6464	20.4	3.7	4.3	88750	89064	-83436	C	THE1D-int	LTR/ERV1-MaLR	0	1651	1336	126	
	1687	11.7	0.4	0.4	89065	89294	-83206	C	AluSz6	SINE/Alu	-16	296	67	127	
	2204	13.9	0.0	0.0	89295	89603	-82897	+	AluSg	SINE/Alu	2	310	0	128	
	6464	20.4	3.7	4.3	89604	90942	-81558	C	THE1D-int	LTR/ERV1-MaLR	-316	1335	5	126	
	2155	11.9	7.3	1.1	90947	91303	-81197	C	THE1D	LTR/ERV1-MaLR	0	381	3	126	
	2716	11.2	3.1	1.9	91308	91627	-80873	C	Tigger1	DNA/TcMar-Tigger	-617	1801	1473	125	
	2474	7.4	0.3	0.0	91628	91926	-80574	C	AluSp	SINE/Alu	-12	301	2	129	
	2716	11.2	3.1	1.9	91927	92061	-80439	C	Tigger1	DNA/TcMar-Tigger	-946	1472	1341	125	
	691	18.9	2.0	4.8	92060	92209	-80291	C	Tigger1	DNA/TcMar-Tigger	-2271	147	2	130	
	2112	13.6	0.7	0.3	92309	92610	-79890	+	AluSz	SINE/Alu	1	303	-9	131	
	23	65.2	0.0	0.0	93071	93093	-79407	+	AT_リッチ	低複雑性	1	23	0	132	
	259	25.2	8.8	1.4	93163	93299	-79201	+	Charlie16a	DNA/hAT-Charlie	195	341	-1	133	
	2340	9.7	0.7	0.0	93378	93675	-78825	+	AluSq2	SINE/Alu	1	300	-12	134	
ブローブ18	202	33.9	10.4	2.4	94305	94419	-78081	+	MIR3	SINE/MIR	82	205	-3	135	0
	206	12.9	0.0	0.0	94740	94770	-77730	+	(TTTA)n	単純_リピート	2	32	0	136	
	615	27.6	3.3	3.8	94907	95117	-77383	+	MIR	SINE/MIR	34	243	-19	137	
除外された領域15	323	25.3	7.1	7.8	96452	96602	-75898	C	HAL1b	LINE/L1	-1336	673	523	138	1
	2395	10.5	0.0	0.0	96603	96907	-75593	C	AluY	SINE/Alu	-6	305	1	139	
	323	25.3	7.1	7.8	96908	97051	-75449	C	HAL1b	LINE/L1	-1487	522	380	138	
ブローブ19	323	25.3	7.1	7.8	96908	97051	-75449	C	HAL1b	LINE/L1	-1487	522	380	138	1
	1346	25.5	13.0	3.7	97232	97965	-74535	C	L2a	LINE/L2	-1	3425	2625	140	
	795	20.8	10.2	0.0	97979	98175	-74325	C	L2a	LINE/L2	-869	2550	2334	140	
	1175	5.3	0.0	0.0	98188	98319	-74181	C	AluY	SINE/Alu	-179	132	1	141	
	957	25.0	3.7	5.0	98323	98646	-73854	C	L2a	LINE/L2	-1091	2328	2009	140	
	1822	28.0	5.5	2.8	98660	99147	-73353	C	L2a	LINE/L2	-1465	1954	1460	140	
除外された領域16	1822	28.0	5.5	2.8	98660	99147	-73353	C	L2a	LINE/L2	-1465	1954	1460	140	1
	2307	7.8	3.8	0.0	99148	99440	-73060	+	AluY	SINE/Alu	1	304	-7	142	
	1822	28.8	8.3	1.8	99441	100520	-71980	C	L2a	LINE/L2	-1960	1459	259	140	
ブローブ20	1822	28.8	8.3	1.8	99441	100520	-71980	C	L2a	LINE/L2	-1960	1459	259	140	0

10

20

30

40

	229	9.1	0.0	0.0	10054 0	10058 3	-71917	C	L1MA1	LINE/L1	0	630 2	6259	143	
除外された領域 17	1871	12. 6	0.0	0.0	10223 7	10249 0	-70010	+	AluSx	SINE/Alu	44	297	-15	144	1
ブローブ21	236	24. 6	4.5	2.9	10276 1	10282 7	-69673	C	HAL1b	LINE/L1	- 1785	224	157	138	0
	1602	16. 4	3.7	0.3	10290 9	10321 7	-69283	C	MLT1C	LTR/ERV1-MaLR	-19	448	130	145	
	7752	5.3	1.0	0.2	10321 8	10417 5	-68325	+	LTR13A	LTR/ERVK	1	966	0	146	
除外された領域 18	7752	5.3	1.0	0.2	10321 8	10417 5	-68325	+	LTR13A	LTR/ERVK	1	966	0	146	1
	1602	16. 4	3.7	0.3	10417 6	10418 9	-68311	C	MLT1C	LTR/ERV1-MaLR	-338	129	115	145	
	1941	15. 5	0.3	0.7	10419 0	10448 5	-68015	C	AluSx3	SINE/Alu	-16	296	2	147	
	1279	12. 0	10. 2	1.1	10449 0	10473 4	-67766	+	MER47A	DNA/TcMar- Tigger	30	296	-70	148	
ブローブ22a	1279	12. 0	10. 2	1.1	10449 0	10473 4	-67766	+	MER47A	DNA/TcMar- Tigger	30	296	-70	148	1
	1976	26. 4	3.6	4.5	10481 0	10573 2	-66768	C	L1MDa	LINE/L1	- 3919	269 9	1780	149	
	298	16. 3	0.0	0.0	10574 1	10578 9	-66711	+	MER47A	DNA/TcMar- Tigger	307	355	-11	150	
	181	32. 9	3.5	2.3	10621 7	10630 3	-66197	+	L2	LINE/L2	2804	289 1	-528	151	
	667	17. 2	9.0	0.0	10637 8	10649 9	-66001	+	AluJr	SINE/Alu	1	133	-179	152	
	584	28. 8	7.0	1.0	10693 3	10711 8	-65382	C	MIRb	SINE/MIR	-63	205	9	153	
	979	25. 1	18. 2	0.2	10728 8	10765 5	-64845	C	LTR16	LTR/ERV1	-4	434	1	154	
除外された領域 19															0
ブローブ22b	850	11. 8	48. 0	1.0	10847 2	10867 5	-63825	+	AluSz	SINE/Alu	1	300	-12	155	1
	2071	22. 6	7.5	3.2	10867 9	10983 2	-62668	C	L1MC4a	LINE/L1	-5	787 7	6672	156	
	1300	27. 4	6.7	5.3	10982 6	11055 7	-61943	C	L1MC4a	LINE/L1	- 1660	622 2	5481	156	
	503	25. 1	17. 0	0.4	11150 5	11171 6	-60784	C	MIR	SINE/MIR	-14	248	2	157	
	26	76. 9	0.0	0.0	11182 3	11184 8	-60652	+	AT_リッチ	低複雑性	1	26	0	158	
	25	48. 0	0.0	0.0	11182 6	11185 0	-60650	+	AT_リッチ	低複雑性	1	25	0	159	
除外された領域 20	2266	11. 9	0.0	0.7	11202 9	11233 8	-60162	C	AluSz6	SINE/Alu	-1	311	4	160	5
	434	30. 8	9.8	1.8	11239 7	11243 9	-60061	C	MIRc	SINE/MIR	-18	250	211	161	
	347	21. 8	1.3	0.0	11244 0	11251 7	-59983	+	MADE2	DNA/TcMar- Mariner	1	79	-1	162	
	434	30. 8	9.8	1.8	11251 8	11267 8	-59822	C	MIRc	SINE/MIR	-58	210	30	161	
	709	17. 2	7.0	5.1	11350 9	11356 5	-58935	C	MIR	SINE/MIR	-48	214	158	163	
	1081	17. 9	1.0	2.0	11356 6	11377 0	-58730	C	MER6B	DNA/TcMar- Tigger	-3	207	5	164	
	709	17. 2	7.0	5.1	11377 1	11388 4	-58616	C	MIR	SINE/MIR	-105	157	40	163	
	922	13. 4	0.0	0.8	11508 7	11522 0	-57280	+	FLAM_C	SINE/Alu	1	133	-10	165	
	2194	12.	0.0	0.3	11585	11615	-56347	C	AluSx	SINE/Alu	-14	298	1	166	

10

20

30

40

		4			5	3									
	21	52.4	0.0	0.0	116662	116682	-55818	+	AT_リッチ	低複雑性	1	21	0	167	
	228	22.7	0.0	0.0	118269	118312	-54188	C	MARNA	DNA/TcMar-Mariner	-263	323	280	168	
	334	29.6	11.7	2.5	118335	118514	-53986	C	MARNA	DNA/TcMar-Mariner	-358	228	33	168	
	258	28.7	4.7	4.7	119667	119816	-52684	C	MER5A1	DNA/hAT-Charlie	-7	159	10	169	
	2160	12.5	0.0	0.0	121296	121598	-50902	+	AluSz6	SINE/Alu	1	303	-9	170	
	2590	4.8	0.3	2.6	121961	122276	-50224	C	AluY	SINE/Alu	-2	309	1	171	
	2312	9.6	0.3	1.0	122525	122837	-49663	C	AluSq2	SINE/Alu	-1	311	1	172	
ブローブ25	383	25.5	1.0	1.0	124840	124938	-47562	+	L3	LINE/CR1	2392	2490	-1609	173	0
	314	31.5	4.2	0.7	124992	125135	-47365	+	MIRc	SINE/MIR	119	267	-1	174	
	347	26.4	16.3	1.0	125363	125534	-46966	+	L3	LINE/CR1	2843	3040	-1059	173	
	274	30.5	0.9	3.8	125573	125681	-46819	C	L2c	LINE/L2	-15	3372	3267	175	
	501	32.6	2.8	3.6	125939	126189	-46311	+	L3	LINE/CR1	3577	3825	-274	173	
	399	25.0	5.7	0.2	126418	126549	-45951	C	MLT1H1	LTR/ERVL-MaLR	-368	181	1	176	
	24	45.8	0.0	0.0	127392	127415	-45085	+	AT_リッチ	低複雑性	1	24	0	177	
	283	26.2	12.5	0.9	127944	128047	-44453	C	L1MC5	LINE/L1	-36	7925	7810	178	
	327	26.4	0.0	0.0	128140	128230	-44270	C	L1MC5	LINE/L1	-396	7565	7475	178	
除外された領域 21	327	26.4	0.0	0.0	128140	128230	-44270	C	L1MC5	LINE/L1	-396	7565	7475	178	3
	504	29.0	6.4	3.1	128273	128412	-44088	C	L1MC4	LINE/L1	-20	8022	7869	179	
	2235	10.0	0.3	4.5	128413	128733	-43767	+	AluSz6	SINE/Alu	1	308	-4	180	
	504	29.0	6.4	3.1	128734	128841	-43659	C	L1MC4	LINE/L1	-174	7868	7766	179	
	27	40.7	0.0	0.0	128958	128984	-43516	+	AT_リッチ	低複雑性	1	27	0	181	
	2216	10.3	0.0	0.7	129002	129293	-43207	C	AluSx1	SINE/Alu	-22	290	1	182	
	26	69.2	0.0	0.0	129304	129329	-43171	+	AT_リッチ	低複雑性	1	26	0	183	
	716	29.2	6.6	2.7	129439	129758	-42742	C	L1MC4	LINE/L1	-495	7547	7216	179	
	284	25.5	7.7	12.0	129803	129944	-42556	C	L1ME4a	LINE/L1	-90	6034	5888	184	
	2477	8.5	0.0	0.0	129945	130249	-42251	C	AluSx	SINE/Alu	-7	305	1	185	
	284	25.5	7.7	12.0	130250	130445	-42055	C	L1ME4a	LINE/L1	-237	5887	5710	184	
ブローブ26	348	38.5	0.5	2.2	130725	130910	-41590	C	MIRb	SINE/MIR	-35	233	51	186	0
	494	23.5	3.3	1.6	130919	131039	-41461	C	L1M6	LINE/L1	-4691	1805	1683	187	
	379	28.8	9.6	4.4	131119	131336	-41164	C	MLT1J	LTR/ERVL-MaLR	-48	464	236	188	
	22	63.6	0.0	0.0	131455	131476	-41024	+	AT_リッチ	低複雑性	1	22	0	189	

10

20

30

40

	559	27.4	4.7	5.1	131889	132146	-40354	+	L2a	LINE/L2	3170	3426	0	190	
	350	23.1	2.6	0.0	132152	132229	-40271	C	L1ME5	LINE/L1	-321	5873	5794	191	
	443	28.0	21.4	3.8	132249	132461	-40039	C	MIR	SINE/MIR	-4	258	8	192	
	269	25.0	12.0	0.7	132474	132606	-39894	C	L1M5	LINE/L1	-339	5784	5637	193	
	582	25.6	0.8	0.0	132696	132828	-39672	+	L2a	LINE/L2	3293	3426	0	194	
除外された領域 22	2247	9.0	0.0	0.0	132904	133181	-39319	C	AluSg	SINE/Alu	-31	279	2	195	1
ブローブ27	2247	9.0	0.0	0.0	132904	133181	-39319	C	AluSg	SINE/Alu	-31	279	2	195	1
	2851	6.5	2.2	0.3	133284	133639	-38861	+	THE1C	LTR/ERV1-MaLR	3	365	-10	196	
	10891	9.9	3.9	0.6	133640	135167	-37333	+	THE1C-int	LTR/ERV1-MaLR	1	1578	-2	196	
	2549	7.5	2.2	4.5	135168	135307	-37193	+	THE1C	LTR/ERV1-MaLR	19	160	-215	196	
除外された領域 23	2549	7.5	2.2	4.5	135168	135307	-37193	+	THE1C	LTR/ERV1-MaLR	19	160	-215	196	2
	2027	12.1	0.0	8.5	135308	135638	-36862	C	AluSx1	SINE/Alu	-6	306	2	197	
	2549	7.5	2.2	4.5	135639	135862	-36638	+	THE1C	LTR/ERV1-MaLR	161	375	0	196	
	256	26.8	7.8	2.7	136283	136424	-36076	C	L1M6B	LINE/L1	-156	213	65	198	
	2419	8.7	0.0	0.7	136753	137063	-35437	C	AluSq2	SINE/Alu	-3	309	1	199	
ブローブ28a	289	30.0	4.7	5.4	137189	137336	-35164	C	L2a	LINE/L2	-4	3422	3276	200	1
	258	29.4	6.7	1.8	137612	137715	-34785	+	MIRb	SINE/MIR	116	224	-44	201	
	397	25.0	3.8	2.5	139471	139630	-32870	C	Charlie18a	DNA/hAT-Charlie	-2	340	179	202	
	1647	17.7	2.4	4.0	139631	140006	-32494	+	L1MB4	LINE/L1	5777	6146	-34	203	
	458	5.7	0.0	0.0	140640	140692	-31808	C	AluYb8	SINE/Alu	-260	58	6	204	
	245	20.4	2.0	0.0	140696	140744	-31756	C	L1M5	LINE/L1	-453	5671	5622	205	
	360	20.5	13.3	0.0	141105	141238	-31262	C	L1ME4a	LINE/L1	-7	6117	5952	206	
除外された領域 24	604	23.5	13.9	0.4	141588	141796	-30704	C	MIRc	SINE/MIR	-10	258	22	207	9
	355	33.1	1.8	3.6	141846	142014	-30486	C	MIR3	SINE/MIR	-23	185	20	208	
	290	30.1	1.1	0.0	142104	142196	-30304	C	MIR3	SINE/MIR	-1	207	114	209	
	245	23.2	11.5	6.1	142805	142882	-29618	C	L2c	LINE/L2	-20	3367	3286	210	
	189	7.4	0.0	0.0	143821	143847	-28653	+	(CTGGGG)n	単純_リピート	6	32	0	211	
	24	54.2	0.0	0.0	144054	144077	-28423	+	GC_リッチ	低複雑性	1	24	0	212	
	183	8.0	0.0	0.0	144078	144102	-28398	+	(CTG)n	単純_リピート	1	25	0	213	
	1181	17.2	11.5	1.5	145589	145671	-26829	+	MER33	DNA/hAT-Charlie	1	81	-243	214	
	2001	15.5	0.0	0.3	145672	145974	-26526	+	AluJr	SINE/Alu	1	302	-10	215	
	1181	17.	11.	1.5	14597	14618	-26315	+	MER33	DNA/hAT-Charlie	82	324	0	214	

10

20

30

40

		2	5		5	5									
	188	32.9	7.8	1.1	146389	146554	-25946	C	L2	LINE/L2	-1148	2271	2095	216	
	247	23.3	8.6	4.0	146683	146808	-25692	+	L2c	LINE/L2	3229	3358	-17	217	
	2357	7.8	0.3	0.0	146879	147193	-25307	+	AluSp	SINE/Alu	1	313	0	218	
	295	29.2	6.9	0.0	147406	147535	-24965	+	HAL1	LINE/L1	150	288	-2219	219	
	793	22.6	5.8	4.9	147869	148110	-24390	C	MER46C	DNA/TcMar-Tigger	0	338	95	220	
	1758	10.8	0.0	0.4	148122	148352	-24148	C	AluJb	SINE/Alu	-81	231	2	221	
	722	16.0	7.9	7.5	148393	148639	-23861	+	L1MB2	LINE/L1	5942	6178	-5	222	
	298	22.6	0.0	0.0	148651	148712	-23788	C	MER46C	DNA/TcMar-Tigger	-274	64	3	220	
	2096	9.5	4.7	1.6	149417	149712	-22788	+	AluSx1	SINE/Alu	1	305	-7	223	
	2301	9.8	0.9	2.2	149713	150028	-22472	+	AluSq	SINE/Alu	1	312	-1	224	
	264	29.2	8.3	12.8	150088	150137	-22363	C	MIRb	SINE/MIR	-17	251	202	225	
	2099	11.0	0.3	7.2	150138	150465	-22035	C	AluSx	SINE/Alu	-5	307	1	226	
	266	27.9	6.0	7.6	150466	150634	-21866	C	MIRc	SINE/MIR	-67	201	38	225	
	278	21.4	15.0	4.8	151220	151310	-21190	+	L2a	LINE/L2	3303	3405	-21	227	
	2280	10.7	0.0	0.0	151311	151601	-20899	C	AluSx1	SINE/Alu	-21	291	1	228	
	278	21.4	15.0	4.8	151602	151622	-20878	+	L2a	LINE/L2	3406	3426	0	227	
	28	68.6	0.0	0.0	152478	152512	-19988	+	AT_リッチ	低複雑性	1	35	0	229	
	2204	11.1	1.3	0.0	152585	152906	-19594	+	AluSx	SINE/Alu	10	312	0	230	
	2129	11.3	0.0	0.7	152925	153250	-19250	C	AluSz	SINE/Alu	0	312	1	231	
ブローブ29	1328	11.5	3.0	4.3	154064	154300	-18200	C	L1MA6	LINE/L1	-7	6293	6060	232	1
	1331	9.1	0.5	0.0	154301	154486	-18014	+	L1MA6	LINE/L1	5791	5977	-323	232	
	1253	11.9	0.0	0.0	154521	154688	-17812	+	AluSp	SINE/Alu	137	304	-9	233	
	186	4.3	0.0	0.0	154690	154712	-17788	+	(CA)n	単純_リピート	2	24	0	234	
	505	17.1	1.7	4.4	155541	155656	-16844	C	Charlie4z	DNA/hAT-Charlie	0	167	55	235	
除外された領域 25	2345	9.2	0.0	4.8	155799	156123	-16377	+	AluSg4	SINE/Alu	1	310	-2	236	6
	2161	10.1	2.1	0.0	156545	156830	-15670	C	AluSx	SINE/Alu	-20	292	1	237	
	2127	12.2	0.0	1.7	156920	157222	-15278	C	AluSz	SINE/Alu	-14	298	1	238	
	2272	9.2	0.0	1.4	157475	157817	-14683	+	AluSx	SINE/Alu	6	312	0	239	
	2219	3.4	2.7	0.0	157830	157956	-14544	+	AluY	SINE/Alu	1	127	-184	240	
	369	0.0	0.0	0.0	157957	157997	-14503	+	(TAAA)n	単純_リピート	2	42	0	241	
	2219	3.4	2.7	0.0	157998	158132	-14368	+	AluY	SINE/Alu	128	269	-42	240	

10

20

30

40

プローブ30	2231	12.0	0.3	0.7	160325	160633	-11867	C	AluSx1	SINE/Alu	-4	308	1	242	2
	1987	14.8	0.3	5.8	160810	161034	-11466	C	Tigger3a	DNA/TcMar-Tigger	-20	328	106	243	
	1922	13.6	0.0	0.7	161035	161313	-11187	+	AluSx	SINE/Alu	1	277	-35	244	
	270	0.0	0.0	0.0	161319	161348	-11152	+	(TAAA)n	単純_リポート	3	32	0	245	
	1987	14.8	0.3	5.8	161349	161461	-11039	C	Tigger3a	DNA/TcMar-Tigger	-243	105	2	243	
プローブ31	408	29.6	1.0	11.8	161656	161862	-10638	+	MER20B	DNA/hAT-Charlie	2	188	-595	246	0
	628	26.9	8.4	2.9	162861	163086	-9414	C	MIR	SINE/MIR	-23	239	2	247	
	542	30.2	3.3	0.9	163485	163698	-8802	C	L2	LINE/L2	-745	2674	2456	248	
	428	34.8	16.6	1.9	164306	164914	-7586	+	L3	LINE/CR1	655	1352	-2747	249	
	181	19.1	4.8	0.0	165048	165089	-7411	+	MIRb	SINE/MIR	144	187	-81	250	
	879	27.8	2.1	1.3	165105	165341	-7159	+	Tigger13a	DNA/TcMar-Tigger	12	250	-521	251	
	450	29.4	10.1	0.0	165344	165571	-6929	+	Tigger13a	DNA/TcMar-Tigger	342	592	-179	252	
	460	22.3	7.1	4.4	165562	165716	-6784	+	Tigger13a	DNA/TcMar-Tigger	607	765	-6	253	
	308	24.3	0.0	0.0	165721	165786	-6714	+	MIRb	SINE/MIR	197	262	0	254	
	195	36.4	1.0	1.0	165816	165915	-6585	+	L3	LINE/CR1	1344	1443	-2656	249	
	585	27.5	20.2	0.7	166018	166396	-6104	+	L1M5	LINE/L1	2518	2973	-3173	255	
除外された領域 26	585	27.5	20.2	0.7	166018	166396	-6104	+	L1M5	LINE/L1	2518	2973	-3173	255	6
	2492	6.5	0.0	0.0	166397	166690	-5810	C	AluY	SINE/Alu	-16	295	2	256	
	1414	15.4	1.4	19.3	166699	166938	-5562	C	AluJb	SINE/Alu	-2	300	115	257	
	276	3.0	0.0	0.0	166939	166971	-5529	+	(TC)n	単純_リポート	2	34	0	258	
	1414	15.4	1.4	19.3	166972	167083	-5417	C	AluJb	SINE/Alu	-188	114	1	257	
	237	28.2	10.3	2.2	167084	167217	-5283	+	L1M5	LINE/L1	2981	3118	-3028	255	
	746	18.4	0.0	3.8	167220	167355	-5145	+	FLAM_C	SINE/Alu	2	132	-11	259	
	299	25.1	8.5	1.1	167398	167562	-4938	+	L1M5	LINE/L1	3219	3395	-2751	255	
	1486	16.0	0.0	3.7	167618	167867	-4633	C	AluJo	SINE/Alu	-20	292	52	260	
	771	30.1	6.1	5.2	167896	168116	-4384	+	L1M5	LINE/L1	3410	3626	-2520	255	
	2460	9.3	0.3	0.0	168117	168428	-4072	C	AluSp	SINE/Alu	0	313	1	261	
	771	30.1	6.1	5.2	168429	168679	-3821	+	L1M5	LINE/L1	3627	3886	-2260	255	
	706	21.9	4.8	8.3	168751	169044	-3456	+	L1M5	LINE/L1	3929	4208	-1938	255	
	2031	12.3	1.4	0.7	169045	169336	-3164	+	AluSx1	SINE/Alu	1	294	-18	262	
	716	22.1	1.1	5.0	169349	169534	-2966	+	L1M4	LINE/L1	2	180	-6362	263	
	927	20.	1.2	1.7	16954	16971	-2782	C	FAM	SINE/Alu	-13	172	1	264	

10

20

30

40

		2			6	8									
	2029	23. 8	8.0	2.8	16972 0	17077 6	-1724	+	L1M4	LINE/L1	188	129 8	- 5244	263	
ブローブ32	2029	23. 8	8.0	2.8	16972 0	17077 6	-1724	+	L1M4	LINE/L1	188	129 8	- 5244	263	0
	1480	20. 6	5.8	0.0	17077 6	17122 1	-1279	+	L1M2	LINE/L1	1	472	- 6377	265	
	607	26. 4	0.7	0.0	17123 3	17137 6	-1124	+	L1M2b	LINE/L1	498	642	- 6567	266	
	3991	25. 2	2.7	3.3	17134 8	17250 0	0	+	L1M2	LINE/L1	581	164 2	- 5207	265	
除外された領域 27	3991	25. 2	2.7	3.3	17134 8	17250 0	0	+	L1M2	LINE/L1	581	164 2	- 5207	265	0

【 0 1 6 3 】

表 5

MLPA及び分子コーミングによって検出される6つの特徴付けられた大きい再配列の説明

サンプル	遺伝子	MLPA状況	分子コーミング	切断点(bp)	機序	突然変異名	参考文献
1	<i>BRCA1</i>	Dup ex 13	6.1 ± 1.6 kb / Dup ex 13	38483825-38489905	Alu-Alu HR	c.4186-1785_4358-1667dup6081	Puget らの文献 (1998)
2	<i>BRCA1</i>	Del ex 2	40.8 ± 3.5 kb / Del ex 2	NBR1 38 562 663 - 38 562 427 ; BRCA1 38 525 728 - 38 525 492	偽遺伝子 → Alu	c.-53024_80+3832del36936	Puget N. の文献, 2002. Am J Hum Genet 70 :858-865
3	<i>BRCA1</i>	Del ex 2	39.0 ± 2.6 kb / Del ex 2	NBR1 38 562 663 - 38 562 427 ; BRCA1 38 525 728 - 38 525 492	偽遺伝子 → Alu	c.-33024_80+3832del36936	Puget N. の文献, 2002. Am J Hum Genet 70 :858-865
4	<i>BRCA1</i>	Dup ex 18-20	6.7 ± 1.2 kb / Dup ex 18-20	38460514-38470596	Alu-Alu HR	c.5075- 1093_5277+2089dup10082	Staaf らの文献 (2008)
5	<i>BRCA1</i>	Del ex 15	4.1 ± 1.2 kb / Del ex 15	38478177_38481174	Alu-Alu HR	c.4184+857_4676-1396del	Puget らの文献 (1999b)
6	<i>BRCA1</i>	Del ex 8-13	20 ± 2.8 kb / Del ex 8-13	38,507,324-38,483,568	Alu-Alu HR	c.442-1901_4358-1404del23763	Puget らの文献 (1999b)

患者は全て、高解像度aCGHによって以前に特徴付けられ、報告された値は、Rouleauらによって初めて記載された(Rouleauらの文献,2007)。

10

20

30

40

【表 6】

表6: 10人の対照血液ドナーにおけるBRCA1及びBRCA2シグナル測定のプロバスト性

BRCA1- 平均測定モチーフ長

血液ドナー	g1b1	g2b1	g3b1	g4b1	g5b1	g6b1	g7b1
7232	8.6	10.0	13.3	16.9	19.9	9.9	16.5
7673	8.4	9.9	14.2	17.5	20.8	11.2	18.2
7639	7.7	8.8	11.5	15.3	18.0	8.4	15.0
7671	7.6	10.6	11.0	16.7	19.4	9.6	16.0
7672	8.4	10.0	13.0	16.8	20.2	9.9	17.3
An 8	7.1	8.2	12.2	14.9	18.7	8.2	15.9
An 11	8.6	9.4	11.8	16.4	20.5	9.6	17.4
An 12	8.6	11.0	12.5	17.0	20.8	11.2	18.0
An 13	8.7	9.9	13.6	17.1	20.2	9.8	17.6
An 14	8.4	9.8	12.2	16.5	20.2	9.5	17.5
μ (測定値)	8.2	9.7	12.5	16.5	19.9	9.7	16.9
SD	0.5	0.8	0.9	0.8	0.9	0.9	1.0
計算値	8.5	9.5	12.3	16.5	19.7	9.3	17.7
デルタ	0.3	-0.2	-0.2	0.0	-0.2	-0.4	0.8

10

BRCA2 - 平均測定モチーフ長

血液ドナー	g1b2	g2b2	g3b2	g4b2	g5b2
7232	20.2	24.0	15.6	20.6	21.3
7673	22.6	24.4	16.4	22.3	22.4
7639	19.7	21.3	15.5	19.2	19.4
7671	20.7	22.3	15.9	21.3	21.3
7672	21.2	23.4	16.9	21.7	21.3
An 8	20.6	21.1	15.2	20.3	19.5
An 11	22.1	23.9	15.8	21.9	21.9
An 12	21.7	24.7	17.3	22.9	21.9
An 13	22.6	22.2	16.6	21.2	20.8
An 14	22.6	23.7	17.2	22.3	21.7
μ (測定値)	21.4	23.1	16.2	21.4	21.2
SD	1.0	1.2	0.7	1.1	1.0
計算値	20.7	23.5	16.1	21.1	20.8
デルタ	-0.7	0.4	-0.1	-0.3	-0.4

20

30

【 0 1 6 5 】

【表 7】

症例番号	g4b1 (8.5)						g2b1 (9.5)						g3b1 (12.3)						g4b1 (16.5)											
	n	m (kb)	デルタ	SD	CV (%)	SF	n	m (kb)	デルタ	SD	CV (%)	SF	n	m (kb)	デルタ	SD	CV (%)	SF	SEM	95%CI	偏差	n	m (kb)	デルタ	SD	CV (%)	SF	SEM	95%CI	偏差
1 BRCA1 突然変異 Dup ex 13	Tot	36	8.0	-0.5	1.2	15.0	2.1	36	10.1	0.6	2.4	23.8	1.9	38	11.6	-0.7	2.1	18.1	2.1			40	19.0	2.5	3.5	18.4	1.7			
	wt																					21	16.1		1.6	9.8	2.0	0.3	15.4	16.8
	mut																					19	22.2		2.0	8.9	1.5	0.5	21.3	23.1
	デルタ																						6.1						4.5	7.7
2 Tot Del ex 36kb	Tot	21	8.2	-0.3	1.8	22.0	2.1	18	9.2	-0.3	1.8	19.6	2.1	17	12.0	-0.3	1.9	15.8	2.1			22	15.9	-0.6	2.2	13.8	2.1			
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
3 Tot Del ex 2 39kb	Tot	23	8.8	0.3	3.1	35.1	1.9	25	11.4	1.9	3.3	28.7	1.7	25	11.6	-4.9	3.5	30.4	2.1			25	16.7	0.2	2.2	13.3	2.0			
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
4 Tot Dup ex 18-20	Tot	28	8.0	-0.5	1.3	15.0	2.1	30	9.7	0.2	2.3	24.0	2.0	33	15.0	1.7	3.5	23.3	1.5			30	16.5	0.0	2.8	17.0	2.0			
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
5 Tot Del ex 15	Tot	31	8.0	-0.5	2.0	11.9	2.1	32	9.8	0.3	1.5	15.3	1.9	33	11.7	-0.6	1.9	16.0	2.1			33	14.3	-2.2	2.3	16.1	2.1			
	wt																					12	16.9		1.3	7.6	2.0	0.4	16.2	17.7
	mut																					21	12.8		1.1	8.8	2.6	0.2	12.3	13.3
	デルタ																						4.1						-5.3	-2.8
6 Tot Del ex 8-13	Tot	21	8.8	0.3	0.9	10.2	1.9	22	10.8	1.3	1.9	17.6	1.9	22	11.6	-0.7	1.9	16.4	1.9			23	17.5	-2.2	4.0	23.0	2.2			
	wt																					13	20.8		1.6	7.9	1.6	0.5	19.9	21.7
	mut																					10	13.3		1.1	8.0	2.5	0.3	12.6	14.0
	デルタ																						7.5						-9.0	-5.9

BRCA1 モチーフ g1b1 ~ b4b1

10

20

30

40

症例番号	g5b1 (19.7)										g6b1 (9.3)										g7b1 (17.7)									
	n	m (kb)	デルタ	SD	CV (%)	SF	SEM	95%CI	誤差	n	m (kb)	デルタ	SD	CV (%)	SF	n	m (kb)	デルタ	SD	CV (%)	SF	SEM	95 % CI	誤差						
BRCA1 突然変異 1	Tot	37	18.5	-1.2	2.8	15.1	2.1			34	9.1	-0.2	1.9	20.9	2.0	31	16.2	-1.3	2.5	15.5	2.9									
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
2	Tot	22	19.2	-0.5	1.3	6.8	2.1			18	8.8	-0.5	2.5	28.4	2.1	20	12.3	-1.6	3.1	30.8	2.9									
	wt																11	18.1	0.7	3.9	2.0	0.2	17.7	18.5						
	mut															9	8.1	1.6	19.8	4.4	0.5	7.0	9.2							
	デルタ																-10.0						-11.5	-8.5	1.5					
3	Tot	19	19.6	-0.1	2.7	13.9	2.0			19	10.5	1.2	3.0	36.3	1.8	16	11.9	-5.0	3.8	18.5	1.9									
	wt																5	17.3	0.5	2.9	2.0	0.2	16.9	17.7						
	mut															11	8.7	1.2	13.8	4.1	0.4	8.0	9.4							
	デルタ																-8.6						-9.8	-7.4	1.2					
4	Tot	24	20	0.3	2.3	11	2			23	9.8	0.5	1.6	17	1.9	22	17.2	-0.5	3.1	18.9	2.1									
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
5	Tot	28	19.4	-0.3	1.9	9.8	2.0			22	9.1	0.0	1.2	12.5	2.0	20	17.8	-0.1	2.2	12.1	3.0									
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
6	Tot	23	12.8	-1.7	5.5	43.0	2.6			21	10.5	1.2	1.9	18.1	1.8	20	18.0	0.3	2.4	13.3	2.1									
	wt		13	18.3																										
	mut	10	5.8		0.5	8.6	5.7	0.2	5.5	6.1																				
	デルタ		-12.5						-13.5	-11.5	1.0																			

BRCA1 モナー7 g5b1 ~ g7b1

10

20

30

40

症例番号	g1b2 (20.7)						g2b2 (23.5)						g3b2 (16.1)						g4b2 (21.1)						g5b2 (20.8)					
	n	m	デルタ	SD	CV	SF	n	m	デルタ	SD	CV	SF	n	m	デルタ	SD	CV	SF	n	m	デルタ	SD	CV	SF	n	m	デルタ	SD	CV	SF
1	Tot	24	20.2	0.5	2.6	12.9	20	22.2	-1.3	4.6	20.7	2.1	30	16.1	0.0	2.1	13.0	2.0	28	20.6	-0.3	2.7	13.1	2.0	27	20.7	0.1	2.4	11.6	2.0
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
2	Tot	31	20.2	0.5	2.0	9.9	20	22.2	-1.3	1.0	4.5	2.1	31	15.2	-0.9	1.2	7.9	2.1	28	20.5	-0.6	1.4	6.8	2.1	23	20.9	0.1	2.1	10.0	2.0
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
3	Tot	26	20.3	-0.4	2.2	10.8	20	22.5	1.0	3.4	15.1	2.1	30	16.8	0.7	2.2	13.1	1.9	30	21.0	0.1	2.5	11.9	2.0	28	20.3	0.5	2.9	14.3	2.0
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
4	Tot	21	21.3	0.6	3.2	15.0	19	22.0	1.5	3.7	16.8	2.1	30	16.2	0.1	2.9	17.9	2.0	27	20.7	-0.4	1.9	9.2	2.0	19	20.9	0.1	2.6	12.4	2.0
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
5	Tot	27	21.5	0.8	2.1	9.8	19	22.6	-0.9	2.0	8.8	2.1	29	16.6	0.5	2.2	13.3	1.9	28	22.4	1.3	2.1	9.4	1.9	23	21.3	0.5	2.4	6.6	2.0
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													
6	Tot	21	22.6	1.9	2.0	8.8	18	24.4	0.9	2.7	11.1	1.9	22	18.0	1.9	2.1	11.7	1.8	20	22.8	1.7	0.9	3.9	1.9	17	22.3	1.5	1.4	6.3	1.9
	wt																													
	mut																													
	デルタ																													

BRC A2 モチーフ g1b2 ~ g5b2

10

20

30

40

50

【表 8】

表 8

配列番号	1	BRCA1-1A-F	DNA	ホモ・サピエンス	GGGACGGAAAGCTATGATGT	
配列番号	2	BRCA1-1A-R	DNA	ホモ・サピエンス	GGGCAGAGGTGACAGGTCTA	
配列番号	3	BRCA1-1B-F	DNA	ホモ・サピエンス	CCTCTGACCTGATCCCTTGA	
配列番号	4	BRCA1-1B-R	DNA	ホモ・サピエンス	ATCAGCAACAGTCCCATTCC	
配列番号	5	BRCA1-2-F	DNA	ホモ・サピエンス	GCCCAGACTAGTGTTTCTTAACC	
配列番号	6	BRCA1-2-R	DNA	ホモ・サピエンス	GGCATGAGGCAGCAATTTAG	
配列番号	7	BRCA1-3-F	DNA	ホモ・サピエンス	TCTTTGAATCTGGGCTCTGC	
配列番号	8	BRCA1-3-R	DNA	ホモ・サピエンス	GCTGTTGCTTTCTTTGAGGTG	
配列番号	9	BRCA1-4-F	DNA	ホモ・サピエンス	CACAGGTATGTGGGCAGAGA	10
配列番号	10	BRCA1-4-R	DNA	ホモ・サピエンス	CCTCTGTTGATGGGGTCATAG	
配列番号	11	BRCA1-5-F	DNA	ホモ・サピエンス	TTTGGTAGACCAGGTGAAATGA	
配列番号	12	BRCA1-5-R	DNA	ホモ・サピエンス	CAAATTATGTGTGGAGGCAGA	
配列番号	13	BRCA1-6-F	DNA	ホモ・サピエンス	GAAGAACGTGCTCTTTTCACG	
配列番号	14	BRCA1-6-R	DNA	ホモ・サピエンス	AAAGTCTGATAACAGCTCCGAGA	
配列番号	15	BRCA1-7-F	DNA	ホモ・サピエンス	TTCGATTCCCTAAGATCGTTTC	
配列番号	16	BRCA1-7-R	DNA	ホモ・サピエンス	CACAGTTCTGTGAATTTAATTCGAT	
配列番号	17	BRCA1-8-F	DNA	ホモ・サピエンス	AGGGAAGGCTCAGATACAAAC	
配列番号	18	BRCA1-8-R	DNA	ホモ・サピエンス	TGCCATAGATAGAGGGCTTTT	
配列番号	19	BRCA1-9-F	DNA	ホモ・サピエンス	GCCATCTTCTTTCTCTGCT	
配列番号	20	BRCA1-9-R	DNA	ホモ・サピエンス	TTGACCTATTGCTGAATGTTGG	
配列番号	21	BRCA1-11-F	DNA	ホモ・サピエンス	TTTTACCAAGGAAGGATTTTCG	20
配列番号	22	BRCA1-11-R	DNA	ホモ・サピエンス	GCTTGATCACAGATGTATGTATGAGTT	
配列番号	23	BRCA1-12-F	DNA	ホモ・サピエンス	CCCCAGGGCTTTAAAGGTTA	
配列番号	24	BRCA1-12-R	DNA	ホモ・サピエンス	TAGGGGTGGATATGGGTGAA	
配列番号	25	BRCA1-13A-F	DNA	ホモ・サピエンス	ACTTCTCAACGCGAAGAGC	
配列番号	26	BRCA1-13A-R	DNA	ホモ・サピエンス	GACAGGCTGTGGGGTTTCT	
配列番号	27	BRCA1-15-F	DNA	ホモ・サピエンス	TATCTGCTGGCCACTTACCA	
配列番号	28	BRCA1-15-R	DNA	ホモ・サピエンス	TCTCGAGCCTTGAACATCCT	
配列番号	29	BRCA1-16-F	DNA	ホモ・サピエンス	CGCTCAGCTTTTCATTCCAGT	
配列番号	30	BRCA1-16-R	DNA	ホモ・サピエンス	AAACGTTACATGTATCCCCTAA	
配列番号	31	BRCA1-17-F	DNA	ホモ・サピエンス	CCTGGCCAGTACCCAGTAGT	
配列番号	32	BRCA1-17-R	DNA	ホモ・サピエンス	CTGAGCCCAGAGTTTCTGCT	
配列番号	33	BRCA1-18-F	DNA	ホモ・サピエンス	GGGCCCAAAAACCAGTAAGA	
配列番号	34	BRCA1-18-R	DNA	ホモ・サピエンス	GGGATTGAGCGTTCACAGAT	30
配列番号	35	BRCA1-19-F	DNA	ホモ・サピエンス	GCCATCCAGTCCAGTCTCAT	
配列番号	36	BRCA1-19-R	DNA	ホモ・サピエンス	TGCAGTTCTACCTCCACTTG	
配列番号	37	BRCA1-22-F	DNA	ホモ・サピエンス	CGGGTAAGTGGTGAGCTTTC	
配列番号	38	BRCA1-22-R	DNA	ホモ・サピエンス	GACTGTCAATTTAAAGGCACITTTT	
配列番号	39	BRCA1-23-F	DNA	ホモ・サピエンス	TGGCTAGTGTTTTGGCCTGT	
配列番号	40	BRCA1-23-R	DNA	ホモ・サピエンス	TTCAGTGTGCTTCTCCATTTT	

配列番号	41	BRCA1-24-F	DNA	ホモ・サピエンス	TGTCAGACTAGCCACAGTACCA	
配列番号	42	BRCA1-24-R	DNA	ホモ・サピエンス	AAGCGCTTCTTCATATTCTCC	
配列番号	43	BRCA1-25-F	DNA	ホモ・サピエンス	ACCACACTCTTCTGTTTTGATGT	
配列番号	44	BRCA1-25-R	DNA	ホモ・サピエンス	GGCACATGTACACCATGGAA	
配列番号	45	BRCA1-26-F	DNA	ホモ・サピエンス	TTGTGTAGGTTGCCCGTTC	
配列番号	46	BRCA1-26-R	DNA	ホモ・サピエンス	TTCAGAGAGCTGGGCCTAAA	
配列番号	47	BRCA1-27-F	DNA	ホモ・サピエンス	GGAGGCAATCTGGAATTGAA	
配列番号	48	BRCA1-27-R	DNA	ホモ・サピエンス	GGATCCATGATTGCTGCTTT	
配列番号	49	BRCA1-28-F	DNA	ホモ・サピエンス	TCTCTGCTGTTTTTACAACCTTTTC	
配列番号	50	BRCA1-28-R	DNA	ホモ・サピエンス	GGATCCATGATTGCTGCTTT	
配列番号	51	BRCA1-29-F	DNA	ホモ・サピエンス	CCCTCTAGATACTGTGTCTTTTG	
配列番号	52	BRCA1-29-R	DNA	ホモ・サピエンス	TCTGGCAGTCACAATTCAGG	10
配列番号	53	BRCA1-30-F	DNA	ホモ・サピエンス	TCCCATGACTGCATCATCTT	
配列番号	54	BRCA1-30-R	DNA	ホモ・サピエンス	TTGAGATCAGGTCGATTCCTC	
配列番号	55	BRCA1-31-F	DNA	ホモ・サピエンス	AAAACTCAACCCAAACAGTCA	
配列番号	56	BRCA1-31-R	DNA	ホモ・サピエンス	CCAAGAATCACGAAGAGAGAGA	
配列番号	57	BRCA1-32-F	DNA	ホモ・サピエンス	GACCTCATAGAGGTAGTGAAAGAA	
配列番号	58	BRCA1-32-R	DNA	ホモ・サピエンス	GCTCAAAGCCTTTAGAGAAACA	
配列番号	59	BRCA1-33-F	DNA	ホモ・サピエンス	GCACTGGGGAAAAGGTAGAA	
配列番号	60	BRCA1-33-R	DNA	ホモ・サピエンス	CTCTTCAACCCAGACAGATGC	
配列番号	61	BRCA1-34-F	DNA	ホモ・サピエンス	CAATACCCAATACAATGTAAATGC	
配列番号	62	BRCA1-34-R	DNA	ホモ・サピエンス	CTGGGGATACTGAACTGTGC	
配列番号	63	BRCA1-35-F	DNA	ホモ・サピエンス	ATCAAGAAGCCTTCCAGGT	
配列番号	64	BRCA1-35-R	DNA	ホモ・サピエンス	TCCTTGGACGTAAGGAGCTG	20
配列番号	65	BRCA1-36-F	DNA	ホモ・サピエンス	TTCAGAACTTCCAAATACGGACT	
配列番号	66	BRCA1-36-R	DNA	ホモ・サピエンス	GATGGAGCTGGGGTGAAAT	
配列番号	67	BRCA1-37-F	DNA	ホモ・サピエンス	CGTGAGATTGCTCACAGGAC	
配列番号	68	BRCA1-37-R	DNA	ホモ・サピエンス	CAAGGCATTGGAAAGGTGTC	
配列番号	69	BRCA1-38-F	DNA	ホモ・サピエンス	AGAGGAATAGACCATCCAGAAGT	
配列番号	70	BRCA1-38-R	DNA	ホモ・サピエンス	TCCTCCAGCACTAAAACTGC	
配列番号	71	BRCA2-1-F	DNA	ホモ・サピエンス	AAATGGAGGTACGGGAACAA	
配列番号	72	BRCA2-1-R	DNA	ホモ・サピエンス	TGGAAAGTTTGGGTATGCAG	
配列番号	73	BRCA2-2 -F	DNA	ホモ・サピエンス	TCTCAATGTGCAAGGCAATC	
配列番号	74	BRCA2-2-R	DNA	ホモ・サピエンス	TCTTGACCATGTGGCAAATAA	
配列番号	75	BRCA2-3a-F	DNA	ホモ・サピエンス	AATCACCCCAACCTTCAGC	
配列番号	76	BRCA2-3a-R	DNA	ホモ・サピエンス	GCCCAGGACAAACATTTTCA	
配列番号	77	BRCA2-3b-F	DNA	ホモ・サピエンス	CCCTCGCATGTATGATCTGA	30
配列番号	78	BRCA2-3b-R	DNA	ホモ・サピエンス	CTCCTGAAGTCCTGGAAACG	
配列番号	79	BRCA2-3c-F	DNA	ホモ・サピエンス	TGAAATCTTTCCCTCTCATCC	
配列番号	80	BRCA2-3c-R	DNA	ホモ・サピエンス	AGATTGGGCACATCGAAAAG	
配列番号	81	BRCA2-5-F	DNA	ホモ・サピエンス	GGTCTTGAACACCTGCTACCC	
配列番号	82	BRCA2-5-R	DNA	ホモ・サピエンス	CACTCCGGGGTCTAGAT	

配列番号	83	BRCA2-6-F	DNA	ホモ・サピエンス	TCTTTAACTGTTCTGGGTCACAA	
配列番号	84	BRCA2-6-R	DNA	ホモ・サピエンス	TGGCTAGAATTCAAAACACTGA	
配列番号	85	BRCA2-7-F	DNA	ホモ・サピエンス	TTGAAGTGGGGTTTTTAAGTTACAC	
配列番号	86	BRCA2-7-R	DNA	ホモ・サピエンス	CCAGCCAATTCAACATCACA	
配列番号	87	BRCA2-11-F	DNA	ホモ・サピエンス	TTGGGACAATTCTGAGGAAAT	
配列番号	88	BRCA2-11-R	DNA	ホモ・サピエンス	TGCAGGTTTTGTTAAGAGTTTCA	
配列番号	89	BRCA2-12-F	DNA	ホモ・サピエンス	TGGCAAATGACTGCATTAGG	
配列番号	90	BRCA2-12-R	DNA	ホモ・サピエンス	TCTTGAAGGCCAAACTCTTCCA	
配列番号	91	BRCA2-13-F	DNA	ホモ・サピエンス	GGAATTGTTGAAGTCACTGAGTTGT	
配列番号	92	BRCA2-13-R	DNA	ホモ・サピエンス	ACCACCAAAGGGGGAAAAAC	
配列番号	93	BRCA2-14-F	DNA	ホモ・サピエンス	CAAGTCTTCAGAATGCCAGAGA	10
配列番号	94	BRCA2-14-R	DNA	ホモ・サピエンス	TAAACCCCAGGACAAACAGC	
配列番号	95	BRCA2-15-F	DNA	ホモ・サピエンス	GGCTGTTTGTGAGGAGAGG	
配列番号	96	BRCA2-15-R	DNA	ホモ・サピエンス	GAAACCAGGAAATGGGGTTT	
配列番号	97	BRCA2-18-F	DNA	ホモ・サピエンス	TGTTAGGGAGGAAGGAGCAA	
配列番号	98	BRCA2-18-R	DNA	ホモ・サピエンス	GGATGTAACCTTGTTACCCCTTGAAA	
配列番号	99	BRCA2-19-F	DNA	ホモ・サピエンス	TCAATAGCATGAATCTGTTGTGAA	
配列番号	100	BRCA2-19-R	DNA	ホモ・サピエンス	GAGGTCTGCCACAAGTTTCC	
配列番号	101	BRCA2-20-F	DNA	ホモ・サピエンス	GGCCCACTGGAGGTTTAAT	
配列番号	102	BRCA2-20-R	DNA	ホモ・サピエンス	TTCCTTTCAATTTGTACAGAAACC	
配列番号	103	BRCA2-21-F	DNA	ホモ・サピエンス	TGAATCAATGTGTGTGTGCAT	
配列番号	104	BRCA2-21-R	DNA	ホモ・サピエンス	GTGTAGGGTCCAGCCCTATG	
配列番号	105	BRCA2-22a-F	DNA	ホモ・サピエンス	CTGAGGCTAGGAAAGCTGGA	
配列番号	106	BRCA2-22a-R	DNA	ホモ・サピエンス	CTGAGGCTAGGAAAGCTGGA	20
配列番号	107	BRCA2-22b-F	DNA	ホモ・サピエンス	GGTTTATCCCAGGATAGAATGG	
配列番号	108	BRCA2-22b-R	DNA	ホモ・サピエンス	AGAAAATGTGGGGTGTAACAG	
配列番号	109	BRCA2-25-F	DNA	ホモ・サピエンス	CAGCAAACCTCAGCCATTGA	
配列番号	110	BRCA2-25-R	DNA	ホモ・サピエンス	GGGACATGGCAACCAATAC	
配列番号	111	BRCA2-26-F	DNA	ホモ・サピエンス	GCACTTTACGTCCTTTGGT	
配列番号	112	BRCA2-26-R	DNA	ホモ・サピエンス	CGTCGTATTACAGGAGCCATT	
配列番号	113	BRCA2-27-F	DNA	ホモ・サピエンス	CCCAGCTGGCAAACCTTTT	
配列番号	114	BRCA2-27-R	DNA	ホモ・サピエンス	TCGGAGGTAATCCCATGAC	
配列番号	115	BRCA2-28a-F	DNA	ホモ・サピエンス	TCAAGAGCCATGCTGACATC	
配列番号	116	BRCA2-28a-R	DNA	ホモ・サピエンス	AGGTAGGGTGGGGAAGAAGA	
配列番号	117	BRCA2-29-F	DNA	ホモ・サピエンス	TGAGTCTACTTTGCCATAGAGG	
配列番号	118	BRCA2-29-R	DNA	ホモ・サピエンス	TTTTGCTTTCGGGAGCTTTA	
配列番号	119	BRCA2-30-F	DNA	ホモ・サピエンス	TTTTTGCTGCTTCATCCTC	30
配列番号	120	BRCA2-30-R	DNA	ホモ・サピエンス	GGTTTTTAAACCTGCACATGAA	
配列番号	121	BRCA2-31-F	DNA	ホモ・サピエンス	TGAAATTTTGTATGTGGTGCAT	
配列番号	122	BRCA2-31-R	DNA	ホモ・サピエンス	TTTGAAATCTGTGGAGGTCTAGC	
配列番号	123	BRCA2-32-F	DNA	ホモ・サピエンス	GTACCAAGGGTGGCAGAAAG	
配列番号	124	BRCA2-32-R	DNA	ホモ・サピエンス	ATGGTGTTGGTTGGGTAGGA	

配列番号	125	BRCA1-SYNT1-F	DNA	ホモ・サピエンス	TTCAGAAAATACATCACCCAAGTTC
配列番号	126	BRCA1-SYNT1-R	DNA	ホモ・サピエンス	TACCATTGCCTCTTACCACAA
配列番号	127	BRCA1-S3Big-F	DNA	ホモ・サピエンス	AACCTTGATTAACACTTGAGCTATTTT
配列番号	128	BRCA1-S3Big-R	DNA	ホモ・サピエンス	CATGGGCATTAATTGCATGA
配列番号	129	BRCA1-SExon21-F	DNA	ホモ・サピエンス	CCTGCATGCTCATAATGCTAGA
配列番号	130	BRCA1-SExon21-R	DNA	ホモ・サピエンス	TTGGGATGGGTTTGAAGAGA

配列番号 131 BRCA1-1A DNA

ホモ・サピエンス

GGGACGGAAAGCTATGATGTACACACCGTCCGGGTGGGTGTGCTGGGGTTACCCCTCCCATTTCCCAA
GACCCCTGCCAGGACATAGGCGGACGCGGAGAGAAAAACCAAGAGGCTCCCTCCTTCCCCTTAGCAT
CTCTCTCCCGCCGTGTTAGGAAGTGATGGCTGCCCAAGCTCTTGTCGCACTGGTACACCTGCGTGCA
CGCGTGGGTACACAGCAGGCCGAGCTTCGCGCTTGTCGCGCTCATATTCTACCCCTAAGAACTTCGCTT
GAACTCTGACCTGCCCTATATCCGAGAAAGTCAAATAAGCCCAGTTCGGCCTGTCCCAAACCGGCAGG
GGCCCTCAGACCACACCGGCGGGCTGGACCCCGGCTCTGAGGCCTCTGTTCCAGGGCTCCGCCCAGA
TCTTCTGGGCCCGCCCCCGGCTGCGGGGTGGGAGGAGGGGCCGGGGGGCGCGGCCGCTGGCT
GGGGCGGGCGGAGGGGGGGCCGCGGACCCGGGGCGGGGCTCGGCGGGGCCCGCAGATGCC
GGTGTGGCGGCCGAGCGGCTGCAGTTGCAGGGGCGGGGAGGCGGCGGGGCCCGGAGAGG
GGTGGCGTGGGGGACCGGCGCTAGCCGGGACCATGGAGGGGAGAGCGGCCGCTGCAAGATCGTG
GTGGTGGGAGACGAGAGTGCGGCAAGACGCGCTGCTGCAGGTGTTCCGAAGGACGCCTATCCCG
GGGTGAGGGACCTGCGTCTTGGGAGGGGGACGCTAAGGCTGCTGGGGGTGGGTGACAGGGGCCCT
GGCGACGGATGGGAATGGGTACTCGGTAACAGGGGACAAGAGACAGGGGGTCCGAGGACGCGGGG
AGGCCTTGAGGGCTCAGGAAGGACTGCAGAGGATTGGGTGGGAGGAATTAGGGAGCAGGGTGAGA
TAGATGGGGTTTGGGAGAACCAGAGCATCCGGGAGGGAGGGCGAGGGGAATGTCGGAGGTCCTGGG
CAATGGAGAGGGGAAGAACTAGGGGGCTGAAGGGACCAGAAGGGAACAGGAGAGGTCTGGGAGCT
TAGCAGAGATTCTCCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGAGGAGCTCCCGGGATCTCCCTTTGCCAATCC
CAGACCAACTTGTGTCCAGGGGCTGGGCTGGACGGGGTGTGGGAGTGAGGAGGGCATTATCTGGGG
TGAGGACTTGGAGAGATGATCTCATCTGGATCCATCCGTGTCTGCAGAGTTATGTCCCCACCGTGTGGA
GAACTACACTGCGAGCTTTGAGATCGACAAGCGCCGATTGAGCTCAACATGTGGGACACTTCAGGTAG
CCAAGTCCCTGGGGGTCACCCTGACTTCCAAGGCGGCCACTCTGTCCCTCCCTTGTTAGACCCTTAG
GTTCCAGGTAAGCCAGCCCATCCATCCAATTCCAACAGGAAGGGAAAAATCAATATTCTGCTAAAATCC
AGGGAACTGAGGTAGAACTTGACAGGCCTGACAGAAACCATGTCCTGAAGGAGAAAGCCTAGGATCT
GAGCCCTCAGCTGGGTCTGCCTACCTGGGAAAGTTGGGAAGGAATGGCTTTAATTTGGAACATGTT
CCTTCAGAGATAAGACTGGGTTTAGAAAAGACATTTAGAGGCCAGGCACGGTGGCTCACGCCTGTAATC
CTAGCACTTTGGGAGGCTGGGTGGGGGGATCACCTGAGGTCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGGCCAAC
ATGGTTGAAACTCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAATCGGGCGTGTGGCACGTGCCTGTAATCTCA
GCTACCAGGAGGCTGAGGCAAGAGAATCGCTGGAACCTGGGAGGCGGAGGCTGCAGTGAGCCGAGAT
CATGCCGCTGCACTCCAGCCTGAGCGATAGAGCGAGACTCCATCTCAAAAAATAAAAAAGCAGAAAAAG
ACATTTAGAATGTCTTGAGTGAGGGGTGGTCAGGAGGCTGTTTCTCTCCATTGAACTAGATAAATCTGA
GGTCAAGTCCCAGGAGAATGGGAGAGTGCTCTCCCTGCCACTGCTCTTTCTCCTCCCAACATAAGGAG
GGTTTTATTTTACAAGAGTTCCTTCAGGGCTTAGACTGCCAAAGCCCAGAAAGCACATGCAACATT
TTATGAGAATGTCTATAGATTTATGAGCTTCTCAAAGGGGTCCAAACCTCAGTCAAGAATAAAAAATTAT
TACTTTTTAAACCACTAGGGAAGCAGAGAGCCGTTTCCACCATGTGACCTCCCTTCTGCCCGCTCCCCCA
CTTGGGAAACCCAGACTCCATGATGGGTATTAATGATGGGTATTAATGGTTGCTCTTTCCATTCTCTGCT

10

20

30

CCCAGCATCCCTTGACCAGGATCTGTAAGGTCTCCCATTCCTTCCAGGCCTCCCATCCACTCAGGCCCT
CATGCCCTGTCTTCCTTCAGGTTCTCTTACTATGATAATGTCCGGCCTCTGGCCTATCCTGATTCTGATGC
TGTGCTCATCTGCTTCGACATTAGCCGACCAGAAACACTGGACAGTGTTCTCAAGAAGGTGGGAGCCTG
GGGAAATAGGGCAGCTAGACTGAGGGGGACCAGACCACCATGGTCCTGACATAACATGGGCCAGGAG
GAGGGAGTGATGGCTGGGGTATGGCCATCAGCTGGTTAGCGAGTGAAGCTCTCATCCCTGCCACCCCTG
CCTCCAGCCCCATCCCTCCCAGCCACCCCTTTCCTGAAAGTCCTCAGAGCTGGATACAGCAGCTAGGGG
AGGTGGGGGAGTGAAGGGAGAAGCACTCACAGGATTCTTCTCTGCTCTTCCAACCTCTTGGCAGTGGG
AGTCCCAGATGGAGGGGATGGGATGGGAAGCCTGATCCTGGAGCTCAGGAAAGCCCTGTGGCCTCCTC
TCCAGGCCCCAGTTTCCATGACAAAAGCCAGGGGTGAATGGACAGAAGTCAGCTAGGGCAGCCCCAGT
TCCCAGGTGGGGGAGGGGAGGGTGGGATAAATTTGTTCCAGGAGAGAGTATGGGAAAGGCGAGTG
GGAATGGGAAGTTTCCAGGCTGGCAGACCCTTCATAGCCACTGAGGGAGAAGAGTCCACAGGCCACG
CCAGCCCTCTCCTCCCCGCTGCTTCTCTCACCCCATCCTGCTCTCAAACCAAGCCTAGCATTCTCACCTC
CTTCTCATGTGGGAGAGTCTGAGGGATACATGGTTTCTGCGTGCTTGAGGAAGAGAGGGGCACACTGC
TGGCATGGCACAAGGCTCACGCTGTGCCTCCCTCCACCCCTCCACAATTCTTTTTCTTCTCTACATAGT
GGCAAGGAGAGACTCAAGAGTTCTGCCCCAATGCCAAGGTTGTGCTGGTTGGCTGTAACTGGACATG
CGGACTGACCTGGCCACACTGAGGGAGCTGTCCAAGCAGAGGCTTATCCCTGTTACACATGAGCAGGTG
GGACCCTTGACGTCTGACCTCATCCCAGCCTAGACCTGTCACTCTGCCC

10

配列番号 132 BRCA1-1B DNA ホモ・サピエンス

20

CCTCTGACCTGATCCCTTGACTGCCCCAGCCTTGACATTCAACCCCAGCCCACAGCCTCCATGCCCTTT
CTAAGCTGCAGGCTAAGACCTATAACTTTCTCCCATGCACTCCTTCCTTTTCCAGGGCACTGTGCTGGCCA
AGCAGGTGGGGGCTGTGTCTATGTTGAGTGCTCCTCCCGGTCCTCTGAGCGCAGCGTCAGGGATGTCT
TCCATGTGGCTACAGTGGCCTCCCTTGCCGTGGCCATAGGCAGCTGCGCCGAAGTACTCACGCCGGG
GAATGCAGCGATCCGCTCAGCTGTCAGGACGGCCAGACCGGGGGAATGAGGGCGAGATACACAAGGA
TCGAGCCAAAAGCTGCAACCTCATGTGAGGGGCTAGGAGAGGGCAGAGTGTGAAGAGGGGTGGTGAG
GGACACAATTGTTCCCTGCCTGCGCCCAGGCTTCCTGACCTCCTGATCCTGGCTGGGAAGTTAGGGCA
GGCAGAGCGAGCAATTCTGGGCAGGGGAGCTGGAGGGCAGAAGGGTATCATCGTTTCTCATCTCCTCC
TCCCTCCTCTTCTCCAGTGGATGTTGAGGGAGCTAACAGGGCTGGCATCTGGGGCATGAACTGGGATGG
GGCAGGTGGGCGTTAGGGAAGCTGGTATCAAATGGTGACCTTGGTGGAGTCTCCTATGTGAAGAGTAC
CCTCCCTCTCCACCCCCAGTCCCCATATCCTGGTTCTGGCCCAAGGAAAATGTCCATTCTATGACCTTCTCT
TTTCTCTCCTCTCACTTCTGCAGCTATTCTCACACATCTAACCTCTAGGCAACATGCACTAAATTCAAAG
CAAGGAGAAGCCCTTGCCCCCATCAGTCCACCAGCCCTAGAACCTCCCTTGCTCAACAGTCACCTAAT
AAAGCCCACCTCCATGGAAAACGGCTGTGGCTTTAGTTTTGTTGCTTTTTAAAAAATCAATCTACCAATC
TTTAGCAGTAAGAGGGAAAGTTAGACCTCAGCTGGGGAACCTTCCTGTCCATGTCCACAGATAGAGCAG
AGGACAAAGCCATAGGTTGGATCAGAAGTGTCTTTTAGGAGTCAGAGTTGGGAGAAGGAGACATCCT
GGGACTGTTATCCTAGTTAATGAAGTGGGCAATTCTCAGGCCATTAGGGGGTTTTAGAGCAGACCGAC
ATATAATTAGTCAGCATTTCTCAGCCCAGCCAGGCCTGCTGCTAGTGTGGGAGGGGTCTGCTACCATC
TGTACCCCTGGCTTGGAGCCTGCTGGTACCCTGGGGGTTGTGGGGATAAGGAGGCATCAGGCCGGGCG
CGCTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGTGGGCGGATACAAGTTCAGGAGAT
CGAGACCATCCTGGCTAACACGGTGAAACCCCATCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCCAGGCGCGG
TGGCAGTGCCTGTAGTCCCAGCTGCTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGTGTGAACCCGGGTGAACC

30

40

TGGGAGGCGGAGCTTGCACTGAGCCGAGATTGCGCCACTGCATTCTAGCCTGGATGACAGAGCAAGAC
TCTGTCTCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAGGCATCAAAGCCTCCACATCACAGAAGCTACC
CCTGTACAGCGTGAAGTTTCCTAAGAGGTCAGTAGTTTGATTCTGGGGTCTCCTTAGAGGCTCAGGCCA
GGGACCTTTCTCTCCTCCCATGCTGAGTTTCATGATGGCTTTCAGGGGAGCATCAGCTGTTAGAGTCACC
CCTACCCTGTCCCTTAAAGGAAAGACGGTGGAGAGGACGGCTGAGCGCCTGTTGTCAGGAAAGACAGT
ACTGGTCTGTTTTCTCGGGAGTCTGGTTTCAGATTGTCCTGTATCCCTTCTGGCTCTGGTCCCACTGGC
CTCTTTTCGGTGACATTCTCCCCAGGAACCATCCCTGGCCCTTCCCTCCCCAGCCCTAGCCAGTTCTCCC
AGACACACTGGAAGAGAACACTGACCTTACCCAATCTGCTGGGATCCCACCAAATTTATAGCCCAT
TCCTCCCTCATTATTATTAGCAAGTATGTAAGTGAACACCAACTGTGTGGCATACTGGCTTGGGAG
ATTGCAAGGACCAGTCTCTAAGCTTTTGGAGGCCAGCCAGTGTGGAAGAGAGGTACCTCAGGTGTGA
GGGTGCCATGGCTGAGGGATATTTGTACATGTATGGGATGCTATGGGAGCTCCTTGACGCTGAGAAG
CCAGTCTGTGAGCCAGGTCTGAGGGTGAAGAGGAGTTTCCGGGCAGGGAAGGGGTAGGAAAGG
CACTCTGGGCAGAGGGTACAGCATGTGTAAACACGTGGAGATGAGAATGAGCATAGCACTGTTGGGGC
TCCCATGGCAGGGAGAATAGAAGACAAGGCTAGGAAGGTACACTGAGGCTACTGCAGGGTCCACAGA
GGAATCAGAATTTATTCTGAGGATGAATGAAATCATCCTCAGAGGATGAAGCCACCAGGAATTTAGG
CAGAGAGTGAAGTGATCAGAGTTGTTTTTGGATAGATGGTTATCTGGATGTGGTGTGGAGCTGGGA
GATTTGGCTCTGAGGTGTGCTATTTAAATAATAGCTTCTCGGCAGTGGCTCACACCTATAATCCCAGCC
AAGATTCCTCCTTTGGGAGGCCAAGCTGGGAGGATCGCTTGAGGCCAGGAGTTAGAGACTGCAGTGAG
CTATGATCATGCCATTGTCTTCCAGCCTGAGTGTGAGAGTGAAGCCCTGTCTCTAAAAAAATTA
TAAAAAATAAAAAATAGCTTCTCCTTTCCCTTATGCCAGGTTCCAGTCTTGAGAGGAAAGGAATCCCTAC
CCACCACTCCCTGGATCATCAGATATCCCTATCCCAACCTCTCTATGGGACTAGTTCATCTCAGCCAGTC
TCAAAGATTCTAGGATAACTTCAATGGCATTGAAATTATCTAAGTGTGCTTGGATAACCAACCCCTCAA
ACTGAGACCTGGTTAGGGACTGACTCAAAGACCCTGAGTCTCGGCTAAGGGTACAGGAGAGGGCAGG
GGCTCCAGGCCAGCTAGGTGGATCTCCATCTGTCTCTGAGGACTGACCCTTTCCCCACAAGGACCTGCC
ATAAAAAATCGACTTGCATTCTTTAGCTGAGTGGCTTCTCTTTTCCACTTTGGACTTCTCAGTGTATAGCAG
GTTCAAGCCTGCAACCAACAAAGTGCAGAGTGTGGAGTGTGTTGTGCCCCCTCTTCTCCAACCTCCATA
TCCTGCCATGTGAGCTCAGGGAATGCAATGCATTTAAATATCCATCTAAAGCAAACATAATTAGAAAAA
TCAATCAGCTGGAGGACCCCCCAAAGTTTAATACATTTTCAATACCACCAGGAATGGATTTTTGGTCCCTT
TCTGCAGGTCTGGGTGCCAGACGTTTTATTCTGGGGAGGAGGGCTCTGGGCTGAGGAGCTCAGTGG
GTGGGAGGAGGGAATGGGACTGTTGCTGAT

10

20

30

配列番号 133 BRCA1-SYNT1 DNA ホモ・サピエンス

TTCAGAAAATACATACCCCAAGTTCCCATCCCTACCTGTCTATCCACAAAACCAAGGCATTCTGAGATTA
GTTCAATTTATTATACTAATATAACAAGTGTGTTTAAAGTATCTACTACTATATTCAAGTACTATTCTAGGAG
ATAGAAATGTAGCAGTTTACAAAATAAAGCCTGCTCTCATAGAGCTCATATTCTAGTGTGGTAGACAGTT
GATACGGAATTAAGAATACATGGGAATAAGTGCATTAAAGAGAAAAATTAAGCAGGGTAAGGGGAA
ACAGGTAGTTCAATATCTATGTGGGGGTGAGATGTACATGGGGGGAGTCAGGAAAGGTTTCACTGAGG
TGAGACTAGAGGATAGCTTAATAATGTAAAGAAACACACTATGCAACAATTAGGGGAAGAGCATTCCAA
GAAAGAGGGAGCAGAGAAGGCAAACCCTGAGCAGGACCATGCCTGTGTATGCAGGACATCAGATAGG
TCAAGGTGCTAAAATGTAATAATCCAGGAGGATATTGTAGGGAAAGACTATCAGAGAGGTAGCTGGTA
ACTTCTGGTAGGAACCTATAGGCTATTTTAAATCTTTAGCTTTATTCTGGTCTTTTAAATTTCTTTTTTTT

40

TTCAGACAGAGTCTCGTTCTGTCGCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCACCATCTCGGCTCTCTGTAACCTCC
GCCTCCTGAATTCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGACTAAAGGCATGCACCACCA
TGCCTTGGCCTCCCAAAGTACTGGGATTACAGGAGTGAGCCACCATGCCAGCCATCTTTTAATTTTAAAT
GTTAATTAATTTTGTAGAGACAGGATCTCACTATGATGCCCATGCTGGTCTTGAATGCCTGGCATCAAG
CAATCTTCTGCTTCGGCTTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCTACTATACCCGGCCTTTAGCT
TTCTTCTGAATGTGAACCTTTTTTTTTTTTTTTTGGAGATGGAGTCTCACTCACTCTGCTGCTCAGGCTGGA
GTGCAGTGGTGTGGTCTTGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCTCGGATTGAAGTGATTCTTGTGCCTCAGCA
TTCCAAGTAGCTGGGACTACAGGCGCGTGCTGCCACACCCGGCTAATTTTTTTGTATTTTGGTAGGGAA
GGGGTTTCACCATATTGCCCAGGCTGGTCTTGAAGTCCTGACCTCAAGTGATCCATCTGCCTCGACCGGG
ATTACAGGCGTGAGCCACTACACTTAGCTCTAAATGTGAATTTTTGAAACGGATTTTTTGGATAAAGTCC
AGGCAAGATATCAAAGAACGACTAACCTGGCAGTGTGACAAGAATGTGGTTTTTCTTAAATATTTAAC
TTTTTAGAAAAGGATCACAAGGGCCAGGTGCGGTGGCTCACGCTGTAATCCAGCATTTTGGGAGGGCCA
AGGCGGGGCCAGCCTGGGTGACAGAGAATCCATCTCAAAAAAAGAAAAAAAAAAAAAGAAAAGGATCAC
AAGAAAAGCTTGTGGACAGTAACCTTATTGTGAAGGGTTGTAATACAACCTCTTGAATCATGGGGTTTTT
GACATAGCACAGGGCAGTGAAAAGAAAAACAATGAACTAAGTCAGGAGGCTGGGTTTCTACTACCAGT
TGTGTATATAAGCAGAGCCACCTTGGGCTAACCACTCTACCTGAACCTGTTTCCTTCTCTTGCCATTACCC
CTGCCAGACTCCTTGGGCTATTGCAAGAATAAAATTAATGCTACTTGGGAAAATGCTTCACAACCTGAG
ATGACTTGGGAAAAATGCTTCACAACCTGAGATAACTTGTAACAACATTGGTATTATTACTGGGACCAAA
TGTGACTTTAAAAAGAAAAACAACCTTGACAAAGAAAACCTGATTGGTTACTAAATCCCTATTTCTGAG
ATAAGCTACATTTCAAAGAAATTCTCCGTAAAAGAAAAATTGGATTCAGTTATCATACCAGATGGCTTTC
ATTCTCACCCTGACTCAATTCTGAAACAATTATATTTAGTATGGTAATTATAATCTAACTATATAAAC
ACACTGTAAACACAACTTTGAACAGATGAAAACCTCCGATATGTAAAAAGGTAATGAATGTTGAAGGAA
GACTGTGAAAAGGGGAAAAGAAAAAAATTAATGTTCCCTTCTAGGTCCTGATGAGAGTAAATGTTT
ACTATAAAATGATTCAAATATTTTAAACACTTTTCAAACCAGGCAATATTTTAGGCCTACTGTATATTTG
CATTTTGAGCTTCCAATACGGATAAGTGACTGGAAAAAGCAGCTAGGTTTAGGTTGAAAAACAACAACC
CACCGGGGAACACATTTTAGCAAATCTTCTGAAAGTCAAAAATGTTATAGTCATAGGTAAAAAGTTACA
AAGAACTACCAATTGTCAGAAATAGCTGCCAATATTGACTTAGAAGACAGCAGAAGGAATTTTAGTTCA
AGAAACCTAAAACAGGCTGAAAACCTTACCTACCCTATAGCTACCACAAATAACACTGTTTCCAGTCATG
ATCATTCTGATCACATATTAAGACATAACTGCAATTGTGCTATACTGTACTATATTAAGGAAGTGA
AATATGATCCCTATCCTAGAACTTTCCATACAAATGAATGTAAACACCATAAAAATTAATCTTAAGGCC
GGGCGCGGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGTGGGCGGATCACGAGGTCAG
GAAGTGGAGACCATCCTGGCTAACACGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCCGGG
CGTGGTGGTGGACGCCTGTAGTCCAGCTACTTGGGGGGCCGAGGCAGGAGAATGGCGTGAACCCGG
GAGGCGGAGCTTGCACTGAGCCGAGATGGCGCCACTGCACTCCGGCCTGGGTGAAAGAGCGAGACTC
CGTCTCAAAAACAAAACAAAATAATCTTAAGCCAGGCGCAGTGGCTCACGCCAGCACTTTGGA
AGGCCGAGGCGGGTGGATCACGAGATCAGGACTTCAAGACCAGCCTGACCAACGTGATGAAACCCTAT
CTCTACTAAAAATACAAAATTAGCCGGCCACGGTGGCGTGCGCCTATAATCCAGCTACTCAGGAGGCT
GAGGCAGGAGAAGCGCTTGAACCTGAACCTGGCAGGCGGAGGTTGCACTGAGCCAAGATGGCGCCAC
TGCACTCCAGCCTGGGCGACAGAGCCAGACTCCAACCCCCACCCCGAAAAAAAAGGTCCAGGCCGG
GCGCAGTGGCTCAGGACTGTAATCCCAGCACTTTGGAAGGCTGAGGCGGGTGGATCACAAGGTCAGGA
GATCGAGACCATCTTGGCTAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCCGGGCA
TAGTGGTGGGCGCCTGTAGTCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCCTGAACCCGGGA
GGCGGAGCTGGCAGTGAGCCAAGATCGTGCCACTGCACTCCAGCCTAGGCAGCAGAGCGAGACCGTGT

10

20

30

40

CTCAAAAAACAAAACAAAACAAAACAAAAGTCTGGGAGCGGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACT
TTCGGAGGCCAAGGCAGGAGGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCGAGACCAACCTGACCAATATGGAGAA
ACCCTGTCTCTACTAAAAATACAAAATTAGCTGGTGTGATGGCACATGCCTGCAATCCCAGGTACTCCGG
AGGCTGAGGCAGCAGAATTGCTTGAACCCGGGAGGTGGAGGTTGTAGTGAGCCGAGATTGTGCCACTG
CACTCCAGCCTGGGCAACAAGAGCCAAAGTCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAATT
AATCTTAACAGGAAACAGAAAAAGCAATGAAAAGCTAGAAAACATAATAGTTGATTGAAAATAACAAT
TTAGCATTTTCATTCTTACATCTTTAATTTTTATGTATCTGAGTTTTTAATTGATGGTTTAATTTGCCAGAAT
GAGAAAGAACATCCTATTTTTATGACTCTCTCCCATGGAAATGAAACATAAATGTATCCAAATGCCACAC
TATTGAGGATTTTCCTGATCACTGATTGTCATGAGTAAGTTTTGTGCTTTTTCAAAAGCAGTTTTTTCCTAC
AATGTCATTTCTGCTTCTCTGGCTCTGATTTTCAATAAATTGATAAATTGTGAATCCTGTTTTCCTCTTATT
TTTGTGTTAGCTATAATGTTGAAGGGCAAGGGAGAGGATGGTTATTTATAAATCTTGTATCGCTCTGAAAA
CACAAACATACATTTTCCTTAATCTGATTAAGTCTGACTTCAAATATGAAAAACAACCTTTCATAAAGCAGAAA
AGAATTTACCTTTTTTATTGTGGGTAAGAGGCAATGGTA

10

配列番号 134 フォワードプライマー接頭DNA人工配列

AAAAGGCGCGCC

配列番号 135 リバースプライマー接頭DNA人工配列

AAAATTAATTAA

【 0 1 6 7 】

(参 考 文 献)

【化 1】

Caburet, S., Conti, C., Schurra, C., Lebofsky, R., Edelstein, S.J., and Bensimon, A. (2005). Human ribosomal RNA gene arrays display a broad range of palindromic structures. *Genome Res* 15, 1079-1085.

Casilli, F., Di Rocco, Z.C., Gad, S., Tournier, I., Stoppa-Lyonnet, D., Frebourg, T., and Tosi, M. (2002). Rapid detection of novel BRCA1 rearrangements in high-risk breast-ovarian cancer families using multiplex PCR of short fluorescent fragments. *Hum Mutat* 20, 218-226.

Cavalieri, S., Funaro, A., Pappi, P., Migone, N., Gatti, R.A., and Brusco, A. (2008). Large genomic mutations within the ATM gene detected by MLPA, including a duplication of 41 kb from exon 4 to 20. *Ann Hum Genet* 72, 10-18. 10

Gad, S., Aurias, A., Puget, N., Mairal, A., Schurra, C., Montagna, M., Pages, S., Caux, V., Mazoyer, S., Bensimon, A., *et al.* (2001). Color bar coding the BRCA1 gene on combed DNA: a useful strategy for detecting large gene rearrangements. *Genes Chromosomes Cancer* 31, 75-84.

Gad, S., Bieche, I., Barrois, M., Casilli, F., Pages-Berhouet, S., Dehainault, C., Gauthier-Villars, M., Bensimon, A., Aurias, A., Lidereau, R., *et al.* (2003). Characterization of a 161 kb deletion extending from the NBR1 to the BRCA1 genes in a French breast-ovarian cancer family. *Hum Mutat* 21, 654. 20

Gad, S., Caux-Moncoutier, V., Pages-Berhouet, S., Gauthier-Villars, M., Coupier, I., Pujol, P., Frenay, M., Gilbert, B., Maugard, C., Bignon, Y.J., *et al.* (2002a). Significant contribution of large BRCA1 gene rearrangements in 120 French breast and ovarian cancer families. *Oncogene* 21, 6841-6847.

Gad, S., Klinger, M., Caux-Moncoutier, V., Pages-Berhouet, S., Gauthier-Villars, M., Coupier, I., Bensimon, A., Aurias, A., and Stoppa-Lyonnet, D. (2002b). Bar code screening on combed DNA for large rearrangements of the BRCA1 and BRCA2 genes in French breast cancer families. *J Med Genet* 39, 817-821. 30

Herrick, J., and Bensimon, A. (2009). Introduction to molecular combing: genomics, DNA replication, and cancer. *Methods Mol Biol* 521, 71-101.

Hofmann, W., Wappenschmidt, B., Berhane, S., Schmutzler, R., and Scherneck, S. (2002). Detection of large rearrangements of exons 13 and 22 in the BRCA1 gene in German families. *J Med Genet* 39, E36.

King, M.C., Marks, J.H., and Mandell, J.B. (2003). Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 302, 643-646. 40

Mazoyer, S. (2005). Genomic rearrangements in the BRCA1 and BRCA2 genes. *Hum Mutat* 25, 415-422.

Nathanson, K.L., Wooster, R., and Weber, B.L. (2001). Breast cancer genetics: what we know and what we need. *Nat Med* 7, 552-556.

Puget, N., Gad, S., Perrin-Vidoz, L., Sinilnikova, O.M., Stoppa-Lyonnet, D., Lenoir, G.M., and Mazoyer, S. (2002). Distinct BRCA1 rearrangements involving the BRCA1 pseudogene suggest the existence of a recombination hot spot. *Am J Hum Genet* 70, 858-865.

10

Rouleau, E., Lefol, C., Tozlu, S., Andrieu, C., Guy, C., Copigny, F., Nogues, C., Bieche, I., and Lidereau, R. (2007). High-resolution oligonucleotide array-CGH applied to the detection and characterization of large rearrangements in the hereditary breast cancer gene BRCA1. *Clin Genet* 72,199-207.

Schurra, C., and Bensimon, A. (2009). Combing genomic DNA for structural and functional studies. *Methods Mol Biol* 464, 71-90.

Staaf, J., Torngren, T., Rambech, E., Johansson, U., Persson, C., Sellberg, G., Tellhed, L., Nilbert, M., and Borg, A. (2008). Detection and precise mapping of germline rearrangements in BRCA1, BRCA2, MSH2, and MLH1 using zoom-in array comparative genomic hybridization (aCGH). *Hum Mutat* 29,555-564.

20

Szabo, C., Masiello, A., Ryan, J.F., and Brody, L.C. (2000). The breast cancer information core:database design, structure, and scope. *Hum Mutat* 16, 123-131.

Walsh, T., Lee, M.K., Casadei, S., Thornton, A.M., Stray, S.M., Pennil, C., Nord, A.S., Mandell, J.B., Swisher, E.M., and King, M.C. (2010). Detection of inherited mutations for breast and ovarian cancer using genomic capture and massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 12629-12633.

30

【 0 1 6 8 】

(関連する特許及び特許出願)

【 化 2 】

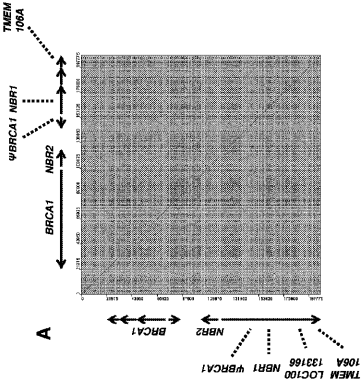
Lebofsky R, Walrafen P, Bensimon A: Genomic Morse Code US 7,985,542 B2 (Appl. 11/516,673)

Murphy PD, Allen AC, Alvares CP, Critz BS, Olson SJ, Schelter DB, Zeng B: Coding sequences of the human BRCA1 gene US 5,750,400

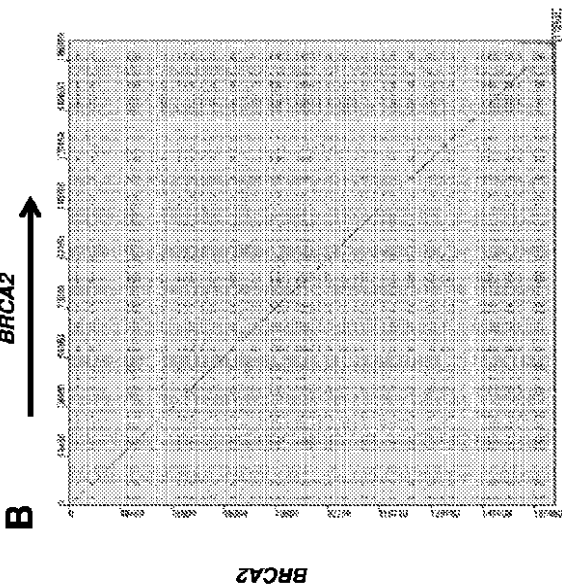
Skolnick MH, Goldgar DE, Miki Y, Swenson J, Kamb A, Harshman KD, Shattuck-eidens DM, Tavtigian SV, Wiseman RW, Futreal AP: 17q-linked breast and ovarian cancer susceptibility gene US 5,710,001

40

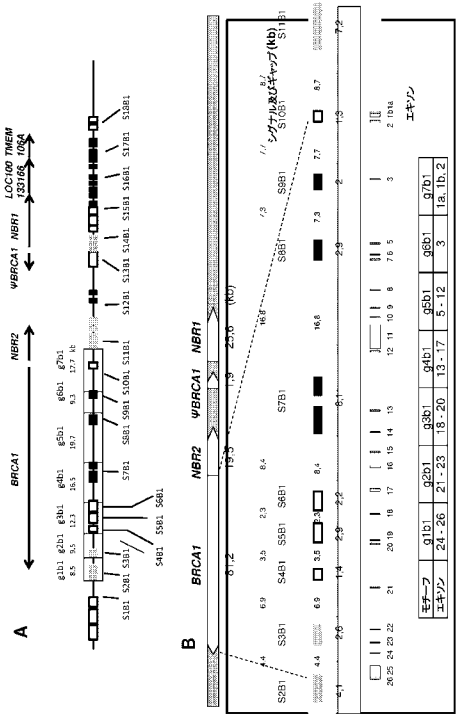
【図 1 A】



【図 1 B】



【図 2 A - B】



【図 2 C - D】

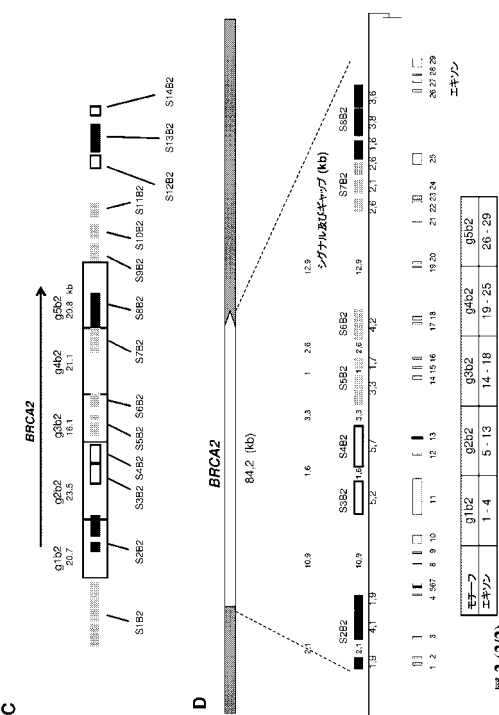


図 2 (1/2)

図 2 (2/2)

【手続補正書】

【提出日】平成26年7月11日(2014.7.11)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2014532403000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/002422

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68 ADD.		
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		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EP0-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/028931 A1 (PASTEUR INSTITUT [FR]; GENOMIC VISION [FR]; LEBOWSKY RONALD [CA]; BENS) 13 March 2008 (2008-03-13) cited in the application the whole document	1-22
X	----- GAD SOPHIE ET AL: "Color bar coding the BRCA1 gene on combed DNA: A useful strategy for detecting large gene rearrangements", GENES CHROMOSOMES & CANCER, JOHN WILEY & SONS, INC. US, vol. 31, no. 1, 1 May 2001 (2001-05-01), pages 75-84, XP002512886, ISSN: 1045-2257, DOI: 10.1002/GCC.1120 cited in the application the whole document ----- -/--	1-22
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim 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
27 February 2013		11/03/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Mueller, Frank

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2012/002422

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	S GAD: "bar code screening on combed DNA for large rearrangements of the BRCA1 and BRCA2 genes in French breast cancer families", J MED GENET, vol. 39, 1 January 2002 (2002-01-01), pages 817-821, XP55054670, cited in the application the whole document -----	1-22
X	THOMAS V O HANSEN ET AL: "Large BRCA1 and BRCA2 genomic rearrangements in Danish high risk breast-ovarian cancer families", BREAST CANCER RESEARCH AND TREATMENT, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, BO, vol. 115, no. 2, 12 June 2008 (2008-06-12), pages 315-323, XP019671286, ISSN: 1573-7217 the whole document -----	1-22
A	WO 98/55650 A1 (UNIV LEIDEN [NL]; BAKKER EGBERT [NL]; DEVILEE PETER [NL]; PETRIJ BOSCH) 10 December 1998 (1998-12-10) the whole document -----	1-22
A	SYLVIE MAZOYER: "Genomic rearrangements in the BRCA1 and BRCA2 genes", HUMAN MUTATION, vol. 25, no. 5, 1 January 2005 (2005-01-01), pages 415-422, XP55054669, ISSN: 1059-7794, DOI: 10.1002/humu.20169 the whole document -----	1-22
X,P	KEVIN CHEESEMAN ET AL: "A diagnostic genetic test for the physical mapping of germline rearrangements in the susceptibility breast cancer genes BRCA1 and BRCA2", HUMAN MUTATION, vol. 33, no. 6, 4 April 2012 (2012-04-04), pages 998-1009, XP55054668, ISSN: 1059-7794, DOI: 10.1002/humu.22060 the whole document -----	1-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2012/002422

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008028931 A1	13-03-2008	EP 2059609 A1	20-05-2009
		IL 197392 A	30-04-2012
		JP 2010502206 A	28-01-2010
		US 2008064114 A1	13-03-2008
		US 2010041036 A1	18-02-2010
		WO 2008028931 A1	13-03-2008

WO 9855650 A1	10-12-1998	AU 754748 B2	21-11-2002
		AU 8039898 A	21-12-1998
		CA 2293674 A1	10-12-1998
		EP 0983389 A1	08-03-2000
		US 6733966 B1	11-05-2004
		US 2005019782 A1	27-01-2005
		WO 9855650 A1	10-12-1998

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72)発明者 ケビン チェエセマン

フランス国 エフ 9 4 5 0 0 チャンピグニ スル マルネ 2 0 アベニュー エドモンド

(72)発明者 エマヌエル コンセイレル

フランス国 エフ 7 5 0 1 5 パリ 1 0 ルエ デ プレロ

(72)発明者 ビエール ワルラフェン

フランス国 エフ 9 2 1 2 0 モントロウゲ 4 アベニュー ジェアン ジャウレス

Fターム(参考) 4B024 AA11 CA01 CA03 CA09 CA11 CA20 HA11 HA12

4B063 QA01 QA13 QA18 QA19 QQ02 QQ03 QQ08 QQ42 QQ52 QR32

QR35 QR55 QR62 QS25 QS32 QX01